

南五味子属叶绿体基因组密码子偏好性分析

刘 涛¹,尹登攀²,金吉芬³,彭志军¹,李兴忠¹,汪得凯^{2*}

(1. 贵州省果树科学研究所, 贵州 贵阳 550027; 2. 浙江理工大学 生命科学与医药学院, 浙江 杭州 310018;
3. 贵州省农作物品种资源研究所, 贵州 贵阳 550027)

摘 要:为探究南五味子属植物叶绿体基因组密码子的使用偏好性及影响因素,利用 Codon W 1.4.2、CUSP 及 EMBOSS 等程序,进行中性绘图、ENC—plot 及 PR2—plot 绘图分析。结果表明,南五味子属 4 个物种的叶绿体基因组密码子总体偏性较弱,只有 *rps14* 的 ENC 值小于 40;物种间的密码子参数高度保守,GC₂ 对 ENC 影响较大;有 31 个密码子 RSCU 大于 1,均以 A/U 结尾;自然选择在 4 个物种叶绿体基因组同义密码子使用偏性中发挥主导作用;南五味子属 4 个物种中分别确定了 18、17、16 和 18 个最优密码子,共有的最优密码子有 14 个;在 $\Delta R_{\text{SCU}} > 0.5$ 的高频密码子中,仅有编码半胱氨酸(Cys)的 UGU 为共有最优密码子。表明南五味子属 4 个物种间密码子偏好性较保守,自然选择是影响密码子偏好性的主要因素。研究结果为南五味子属物种鉴定、保护和遗传改良提供了基础。

关键词:南五味子属;叶绿体基因组;偏好性;最优密码子

中图分类号:S796

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2023)05-0102-08

Analysis of Codon Usage Bias in the Chloroplast Genome of *Kadsura*

LIU Tao¹, YIN Deng-pan², JIN Ji-fen³, PENG Zhi-jun¹, LI Xin-zhong¹, WANG De-kai^{2*}

(1. Citrus Fruit Research Institute in Guizhou Province, Guiyang 550027, Guizhou, China;
2. College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, Zhejiang, China;
3. Institute of Crop Germplasm Resources, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550027, Guizhou, China)

Abstract: To investigate the codon preference and affecting factors of the chloroplast genome of medicinal plants in the *Kadsura* genus, neutral mapping, ENC plot, and PR2 plot analysis were conducted by using programs such as Codon W 1.4.2, CUSP, and EMBOSS. The results indicated that the overall codon bias was weak, except that the ENC value of *rps14* (33.00 ± 0.26) was less than 40. The chloroplast genome codon parameters were highly conserved in the four *Kadsura* species and GC₂ had a greater impact on ENC. There were 31 codons with a relative synonymous codon usage (RSCU) greater than 1 and preferred to end with A/U, indicating that it is more biased towards the use of codons ending with A/U in the four species of *Kadsura*. It was found that natural selection played a dominant role in the synonymous codon usage bias of chloroplast genomes of four *Kadsura* species. Totally, 18, 17, 16 and 18 optimal codons were identified from four *Kadsura* species, respectively, and there were 14 optimal codons in common. Among the high-frequency codons with $\Delta R_{\text{SCU}} > 0.5$, only UGU encoding cysteine (Cys) was the consensus optimal codon, indicating that the high-frequency optimal codon usage differed significantly among four species. In summary, the codon bias of chloroplast genomes in four species of *Kadsura* is weak, and the codon bias among species is relatively conservative. Natural selection is the main factor affecting the codon bias.

收稿日期:2023-03-24 修回日期:2023-05-11

基金项目:贵州省科技平台项目(黔科合服企[2021]8号);浙江理工大学科研启动基金(19042142-Y)。

第一作者:刘 涛,硕士,副研究员。研究方向:果树栽培育种。E-mail:737689429@qq.com

* 通信作者:汪得凯,博士,研究员。研究方向:植物分子遗传。E-mail:kay77@163.com

Key words: *Kadsura*; Chloroplast genome; codon preference; optimal codon

叶绿体在植物光合作用、胁迫响应及生长发育中发挥重要作用,叶绿体基因工程应用于提高作物产量、品质、抗性 & 生物固氮等多个方面^[1-3]还用于生产疫苗等高价值的生物医学产品^[4]。叶绿体高度保守,进化率较低,也是开发植物条形码的理想对象^[5]。植物在长期的进化和自然选择压力下,由于对密码子使用频率的不同造成密码子的使用偏好性(codon usage bias, CUB),其偏好性受基因组组成、GC 含量、基因长度和表达水平、基因中密码子的位置、重组率、mRNA 折叠以及 tRNA 丰度等多种因素的影响^[6]。密码子使用偏好性影响 RNA 加工、蛋白质翻译和折叠等多种过程,进而影响基因表达和细胞的功能^[7]。因此,对密码子偏好性分析有助于理解生物的进化、系统发育关系、宿主-病原体共同进化关系和环境适应、个体基因的分子进化、物种之间的水平基因转移事件等^[8]。此外通过筛选最优密码子,可以优化密码子而提高基因表达水平,进而提高叶绿体基因工程的效率^[9]。

南五味子属(*Kadsura*)为五味子科(Schisandraceae)药用植物^[10]。该属有 10 多种,如緋红南五味子(*K. coccinea*)常称“黑老虎”“冷饭团”等^[11];异形南五味子(*K. heteroclita*)常称为“海风藤”“血通”等^[12];凤庆南五味子(*K. interior*)称为“大鸡血藤”“顺宁鸡血藤”等^[13];中泰南五味子(*K. ananosma*)被称为“消血藤”等^[14]。南五味子属植物作为传统药用植物,具有活血化瘀、行气活血止痛、祛风散寒祛湿等功效^[15]。从中分离到 200 多种化合物,主要成分为木脂素类、三萜类等^[16-17]。现代药理学研究发现,南五味子属植物还具有抗炎、抗氧化、抗乙肝病毒及抗肿瘤等功能^[18-20]。此外,果实富含 20 多种氨基酸和维生素 C 等营养成分,优于龙眼、荔枝等常见热带水果^[21]。近年来,由于黑老虎丰富的营养和独特的风味而作为特色水果备受青睐,已成为脱贫致富的林下产业,在贵州东南、湖北恩施、湖南通道等地区广泛种植^[22-23]。本研究对 4 种南五味子属植物叶绿体基因组密码子组成及密码子偏好性进行分析,为南五味子属植物的物种鉴定、种质资源保护以及性状改良提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

检索 NCBI 数据库,选取南五味子属中测序组装完整且注释良好的 4 个叶绿体基因组序列,分别为緋红南五味子(*K. coccinea*, NC_040116.1)、凤庆

南五味子(*K. interior*, NC_050348)、中泰南五味子(*K. ananosma*, NC_057265.1)和异形南五味子(*K. heteroclita*, NC_057266.1),叶绿体基因组大小分别为 158 573、153 201、145 903 和 153 289 bp。提取蛋白编码基因的 CDS,选取以 ATG 为起始密码子且长度>300 bp 的 CDS 序列,确定 50 条蛋白编码 CDS 用于深入分析。

1.2 方法

1.2.1 南五味子属密码子偏好性分析 叶绿体基因组密码子第 1、2、3 位及总 GC 含量采用 CUSP (<https://www.bioinformatics.nl/emboss-explorer/>)分析,并计算同义密码子的相对使用频率(RSCU);有效密码子数(ENC)用在线工具 chips (<http://emboss.toulouse.inra.fr/cgi-bin/emboss/chips>)计算;相关性分析利用 SPSS 26 软件进行;绘图采用 R 软件进行。

1.2.2 密码子中性绘图分析 分别统计密码子第 1、2 和 3 位碱基 GC 含量(GC₁、GC₂ 和 GC₃),GC₁+GC₂ 的平均值为 GC₁₂,以 GC₃ 为横坐标,以 GC₁₂ 为纵坐标绘制散点图并进行线性回归,计算 GC₃ 和 GC₁₂ 之间的相关系数。相关性绘图在集思慧远云平台(www.genepioneer.com)进行。

1.2.3 相对同义密码子使用度分析 相对同义密码子使用度采用 Codon W 1.4.2 软件进行。RSCU 值=密码子实际使用频率/无偏好性时理论使用频率表示。密码子无偏好性时,R_{SCU}=1,密码子使用偏好性高于同义密码子时,R_{SCU}>1。

1.2.4 ENC-plot 绘图分析 有效密码子 E_{NC} 计算公式

$$E_{NC} = 2 + G_{C3} + 29 / [G_{C3}^2 + (1 - G_{C3})^2] \quad (1)$$

然后以横坐标 G_{C3},纵坐标 E_{NC} 绘制散点图。

1.2.5 PR2-plot 绘图分析 分别计算密码子第 3 位的 4 个碱基含量,以 G₃/(G₃+C₃)为横坐标和 A₃/(A₃+T₃)为纵坐标绘制散点图,并进行 PR2 偏倚分析。

1.2.6 最优密码子分析 以密码子 E_{NC} 最低和最高 10% 的基因建立高低偏性库,计算 2 个库的 R_{SCU} 和 ΔR_{SCU},筛选标准为:高频率密码子,R_{SCU}>1;高表达密码子,ΔR_{SCU}>0.08;最优密码子,R_{SCU}>1 且 ΔR_{SCU}>0.08。

2 结果与分析

2.1 密码子偏好性分析

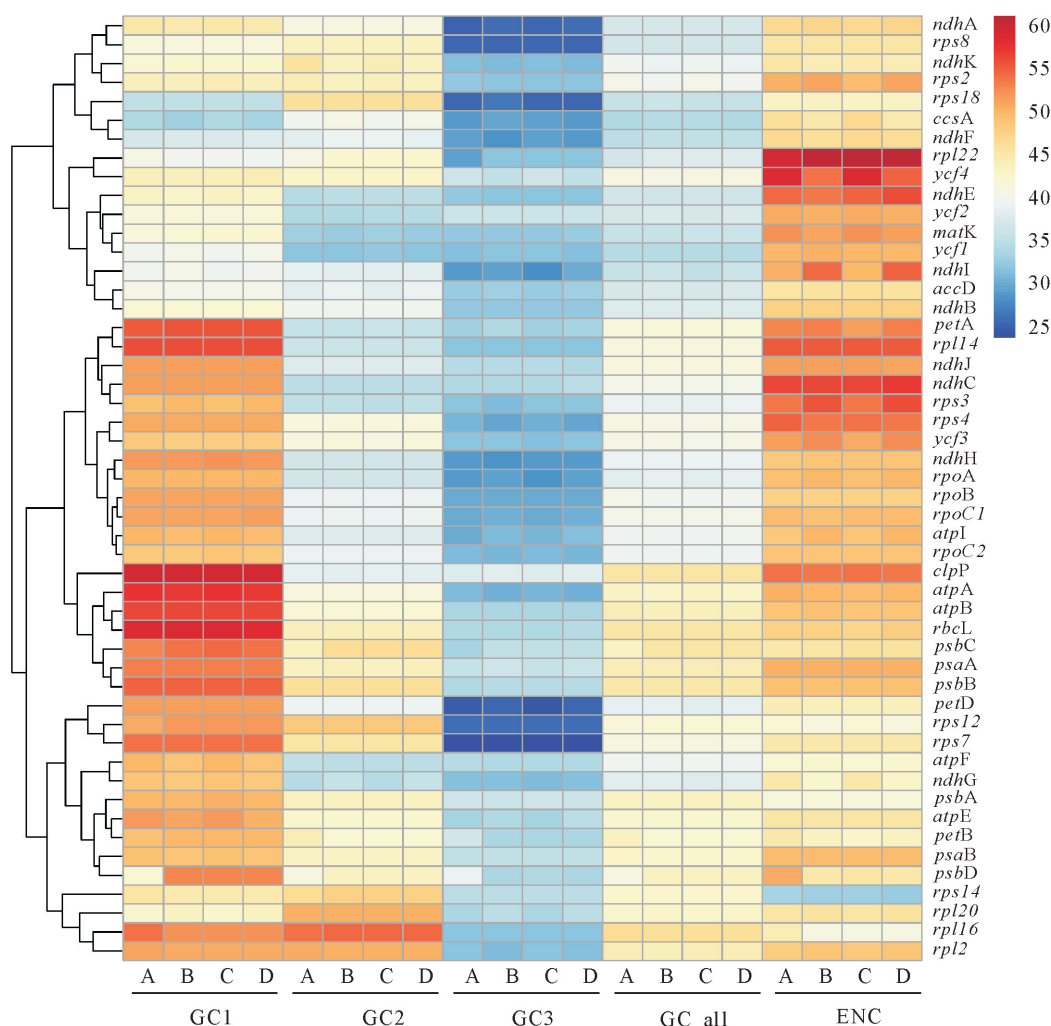
4 个物种叶绿体蛋白质编码基因的 GC 含量

(GC_{all}) 平均为 40.20 ± 0.04 , 均 $< 50\%$, 4 个物种间的 GC 含量分布变异范围很小, 密码子 3 个位置的 GC 含量分布为: $G_{C1} > G_{C2} > G_{C3}$, 多以 A/U 结尾。 E_{NC} 分布范围分别为: 绯红南五味子, $33.29(rps14) \sim 61.00(rpl22)$, 平均值 48.52; 凤庆南五味子, $33.03(rps14) \sim 60.49(rpl22)$, 平均值 48.29; 中泰南五味子, $33.03(rps14) \sim 61.00(rpl22)$, 平均值 48.27; 异形南五味子, $32.65(rps14) \sim 60.47(rpl22)$, 平均值 48.40。4 个物种 $rps14$ 的 E_{NC} (33.00 ± 0.26) < 40 , 表现出较强的偏性(图 1)。表明南五味子属 4 个物种叶绿体基因组密码子总体偏性较弱, 物种间密码子偏好性较保守。

相关分析显示, 4 个物种的 GC_{all} 与 GC_1 、 GC_2

和 GC_3 都呈极显著正相关($P < 0.01$), 而 ENC 与 GC_2 和密码子数(Codon No)均呈显著负相关($P < 0.01$)(图 2), 提示有效密码子数受第 2 位密码子 GC 含量和密码子数影响较大, 而受第 1 位和第 3 位密码子 GC 含量影响较小。进一步说明南五味子属 4 个物种的叶绿体基因组密码子参数高度保守。

相对使用度(RSCU)分析结果发现, RSCU 值在 4 个物种之间高度保守, 有 31 个密码子的 RSCU 值 ≥ 1 , 以 A 和 U 结尾的密码子有 28 个, 占比为 90.3%, 这些密码子在南五味子属物种中使用偏性较高, 而 RSCU 值 < 1 的密码子有 30 个, 以 A 和 U 结尾的密码子有 3 个, 占比 9.7%, 这些密码子是南五味子属叶绿体基因的非偏好密码子(图 3)。



A、B、C、D 分别代表绯红南五味子、凤庆南五味子、中泰南五味子和异形南五味子。

图 1 南五味子属叶绿体基因组密码子不同位置的 GC 含量和 ENC 值

Fig. 1 GC content and ENC value of three codons in the chloroplast genome of *Kadsura*

2.2 中性绘图分析

中性绘图分析发现, 4 个物种横坐标 GC_3 的分布范围分别为 $0.24(rps7) \sim 0.39(psbN)$ 、 $0.22(rps11) \sim 0.38(clpP)$ 、 $0.22(rps11) \sim 0.38(clpP)$

及 $0.22(rps11) \sim 0.38(clpP)$, 只有绯红南五味子叶绿体基因组密码子 GC_3 极值的基因与其他 3 个物种有所差别。而纵坐标 GC_{12} 的分布范围分别为 $0.36(ycf1) \sim 0.54(rpl16)$ 、 $0.36(ycf1) \sim 0.56$

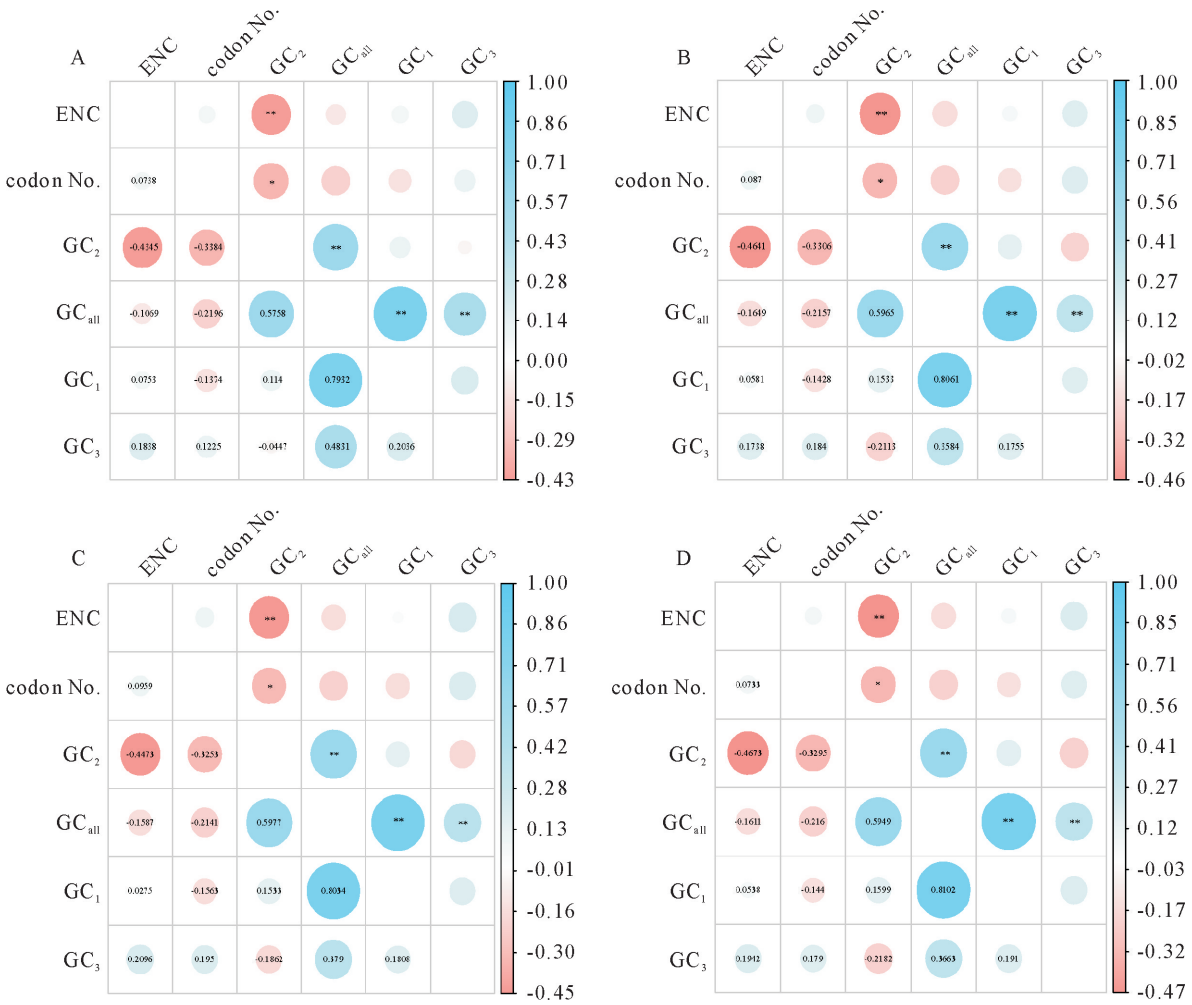


图 2 南五味子属叶绿体基因组 GC₁、GC₂、GC₃、GC_{all}、ENC 和密码子数量的相关性分析

Fig. 2 Correlation analysis of GC₁, GC₂, GC₃, GC_{all}, ENC, and codon numbers (cn) in the chloroplast genome of *Kadsura*

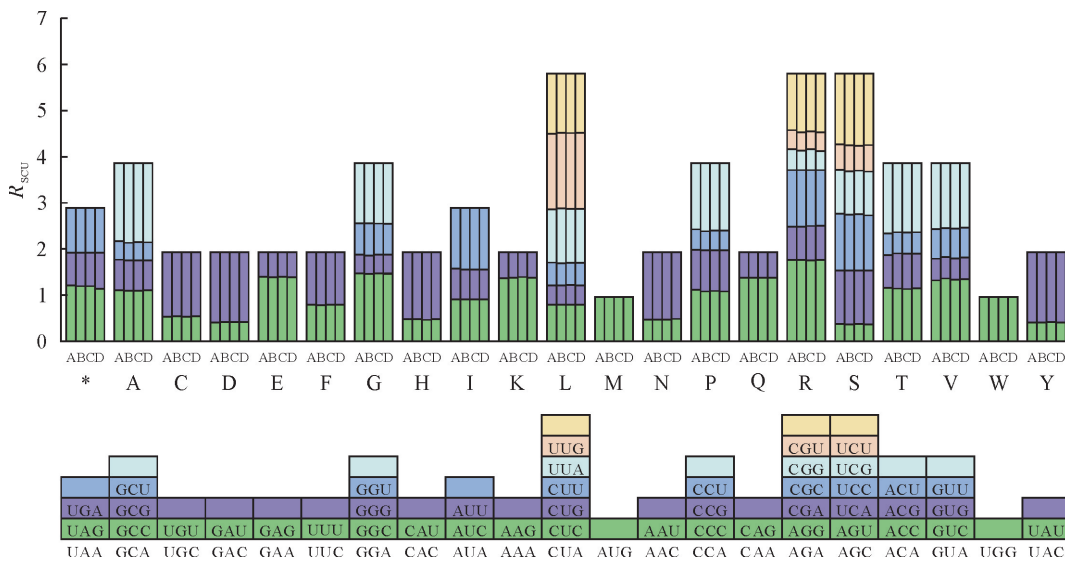


图 3 南五味子属叶绿体基因组相对同义密码子使用度(RSCU)

Fig. 3 Relative synonymous codon usage (RSCU) analysis of genes in the chloroplast genome of *Kadsura*

(*rps11*)、0.36 (*ycf1*) ~ 0.56 (*rps11*) 和 0.36 (*ycf1*) ~ 0.56 (*rps11*), 其中绯红南五味子 GC₃ 最

大值的基因与其他 3 个有所差别(图 4)。4 个物种的 GC₁₂ 与 GC₃ 的相关系数都基本接近为 0, 显示

GC_{12} 与 GC_3 之间的相关性不显著。而绯红南五味子、凤庆南五味子、中泰南五味子和异形南五味子 4 个物种的回归系数(曲线斜率)(即突变对偏好性的效应占 14.91%)分别为 0.149、0.008 62、0.016 5 和 0.001 67,进一步说明南五味子属叶绿体基因组密码子第 1、2 位和第 3 位碱基组成不同,基因组 GC 含量高度保守,除了绯红南五味子叶绿体基因组密码子的使用受突变影响较大(14.9%)外,其他 3 个物种受突变影响不超过 2%,进而表明,南五味子属物种的密码子偏好性受自然选择影响为主,受突变的影响较弱。

2.3 ENC-plot 分析

ENC-plot 分析结果显示,4 个物种只有 *rps14* 的 E_{NC} 低于 40,离标准曲线最远,其偏好性更多地受到自然选择的影响,而突变对这些基因的影响较小(图 5)。4 个物种中, E_{NC} 值在 $-0.05 \sim 0.05$ 的基因分别有 12、15、12 和 13,分别占比 24%、29%、24%和 25%(表 1),表明这些基因的 E_{NC} 实际值和预期值与标准曲线接近,而其余基因的 ENC 实际值和预期值与标准曲线较远,表明自然选择是影响南五味子属叶绿体基因密码子的主要因素,与 ENC-plot 分析绘图分析结果一致。

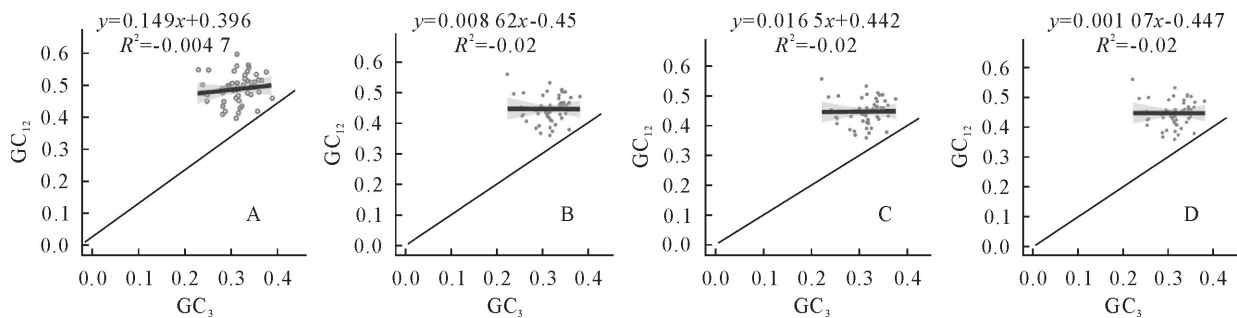


图 4 南五味子属叶绿体基因组中性绘图分析

Fig. 4 Neutrality plot analysis of chloroplast genome in *Kadsura*

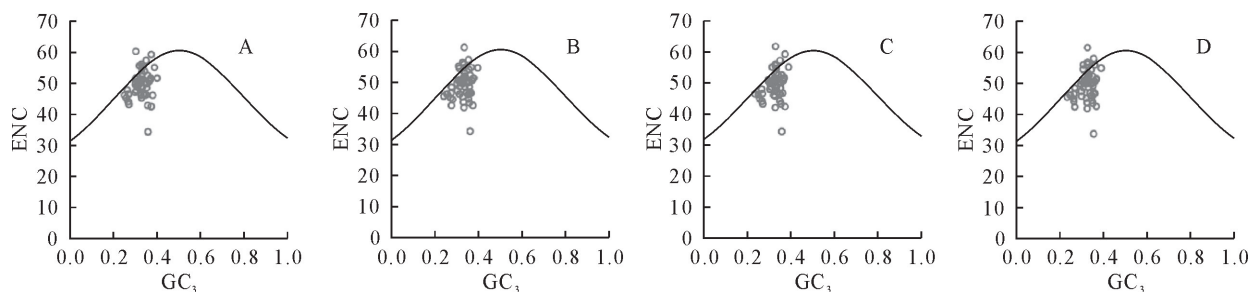


图 5 南五味子属叶绿体基因组 ENC-plot 分析

Fig. 5 ENC-plot analysis of chloroplast genome of in *Kadsura*

表 1 南五味子属 4 个物种 ENC 比值分布

Table 1 Distribution of ENC ratios in four species of *Kadsura*

分组范围	组距中值				频数				频率			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
$-0.15 \sim -0.05$	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1	1	1	1	2	0.02	0.02	0.02	0.04
$-0.05 \sim 0.05$	0	0	0	0	12	15	12	13	0.24	0.29	0.24	0.25
$0.05 \sim 0.15$	0.1	0.1	0.1	0.1	26	22	27	23	0.52	0.43	0.53	0.45
$0.15 \sim 0.25$	0.2	0.2	0.2	0.2	9	11	9	11	0.18	0.22	0.18	0.22
$0.25 \sim 0.35$	0.3	0.3	0.3	0.3	1	1	1	1	0.02	0.02	0.02	0.02
$0.35 \sim 0.45$	0.4	0.4	0.4	0.4	1	1	1	1	0.02	0.02	0.02	0.02
总计	—	—	—	—	50	51	51	51	1	1	1	1

2.4 PR2-plot 分析

PR2-plot 分析结果显示,坐标 4 个象限内均有基因分布,但 4 个区域中的基因位点分布不均匀,大多数基因分布在右下方(图 6),表明 4 种植物中

T/G 密码子使用频率较高。综合分析显示 GC_3 存在 T/G 偏性,进一步表明自然选择是造成南五味子属植物叶绿体基因组密码子使用偏好性的主要因素,而突变对密码子偏好性影响较弱。

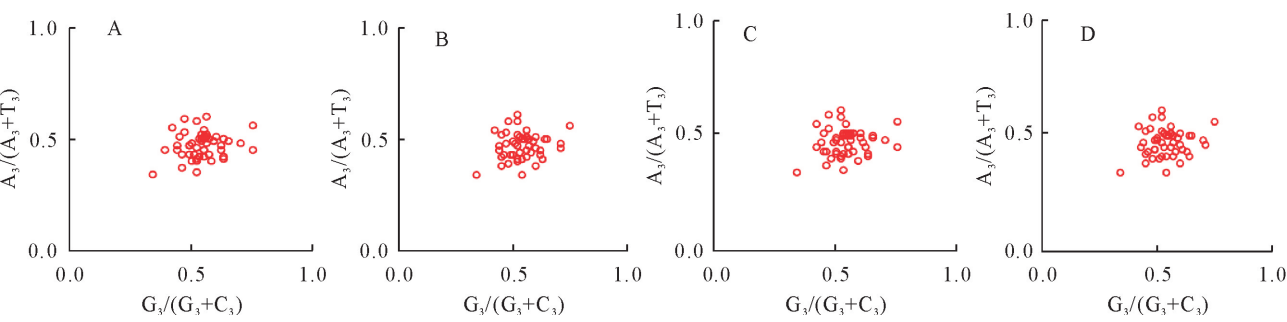


图 6 南五味子属叶绿体基因组 PR2-plot 分析

Fig. 6 PR2-plot analysis of chloroplast genome in *Kadsura*

2.5 最优密码子分析

最优密码子筛选发现,在緋红南五味子、凤庆南五味子、中泰南五味子和异形南五味子 4 个物种中分别确定了 18、17、16 和 18 个最优密码子,其中以 A/U 结尾的密码子有 15、12、11 和 13 个,分别占比 83.3%、70.6%、68.8% 和 72.2%,有 14 个密码子 (ACC、ACU、CAU、CGU、CUA、GAU、GCU、GUA、UCU、UGU、UUC 及 UUG) 为 4 个物种共同的最优密码子。 $\Delta R_{SCU} > 0.5$ 的高表达密码子分别有 4、4、4 和 6 个,其中共有最优密码子只有编码半胱氨酸(Cys)的 UGU(表 2)。表明 4 个物种中,使用频率最高的密码子和其编码的对应氨基酸各不相同。

3 结论与讨论

3.1 结论

通过中性绘图、ENC-plot 和 PR2-plot 3 种方法对密码子使用偏好性的影响因素进行分析,结果显示南五味子属 4 个物种叶绿体基因组密码子总体偏性较弱,物种间密码子偏好性较保守,自然选择是影响密码子偏好性的主要因素。緋红南五味子、凤庆南五味子、中泰南五味子和异形南五味子 4 个物种分别确定了 18、17、16 和 18 个最优密码子,共有的最优密码子为 14 个, $\Delta R_{SCU} > 0.5$ 的高表达密码子分别为 4、4、4 和 6 个,其中共有最优密码子只有编码半胱氨酸(Cys)的 UGU。研究结果为南五味子属植物系统发育和进化研究提供了新的见解,也为遗传育种研究提供了基础。

3.2 讨论

不同物种的氨基酸同义密码子的使用频率相差较大,同属植物、同一物种不同个体,甚至同一物种的不同基因对密码子的使用偏好性都存在差异^[24-25]。叶绿体基因组 GC 含量一般<40%,本研究中,南五味子属 4 个物种叶绿体基因组密码子 GC 含量为 40.20 ± 0.04 ,与大多数绿色植物类似,

表 2 南五味子属叶绿体基因最优密码子

Table 2 Optimal codons of chloroplast genome in <i>Kadsura</i>					
氨基酸	密码子	緋红南五味子	凤庆南五味子	中泰南五味子	异形南五味子
Ala	GCC	*	*	*	*
	GCU	<u>**</u>	<u>**</u>	<u>**</u>	<u>**</u>
	AGG	*	*	*	—
	CGA	<u>*</u>	—	—	—
	CGC	—	*	—	—
	CGG	—	*	—	—
Arg	CGU	<u>*</u>	<u>** *</u>	<u>**</u>	<u>** *</u>
	AAC	*	*	*	*
	GAU	<u>*</u>	<u>*</u>	<u>*</u>	<u>*</u>
	UGU	<u>** *</u>	<u>** *</u>	<u>** *</u>	<u>** *</u>
	CAA	<u>*</u>	—	—	—
	GAG	*	*	—	*
Asn	GGC	*	**	**	**
	GGU	—	—	—	*
	CAU	<u>**</u>	<u>**</u>	<u>**</u>	<u>*</u>
	AUU	<u>*</u>	—	*	*
	CUA	<u>**</u>	<u>*</u>	<u>** *</u>	<u>**</u>
	UUA	<u>*</u>	—	—	—
Asp	UUG	<u>**</u>	<u>** *</u>	<u>**</u>	<u>** *</u>
	AAA	—	*	*	*
	UUC	<u>*</u>	<u>**</u>	<u>**</u>	<u>**</u>
	CCA	—	*	—	—
	CCC	—	*	<u>**</u>	<u>*</u>
	CCU	<u>*</u>	—	—	—
Cys	AGC	—	**	*	*
	AGU	<u>*</u>	<u>*</u>	—	<u>*</u>
	UCC	—	<u>*</u>	<u>**</u>	<u>*</u>
	UCU	<u>** *</u>	<u>** *</u>	<u>**</u>	<u>** *</u>
	ACC	<u>** *</u>	<u>**</u>	<u>** *</u>	<u>** *</u>
	ACG	—	*	—	**
Gln	ACU	<u>*</u>	<u>**</u>	<u>*</u>	<u>*</u>
	UAC	<u>** *</u>	<u>**</u>	<u>** *</u>	<u>** *</u>
	GUA	<u>*</u>	<u>**</u>	<u>**</u>	<u>**</u>
	GUG	—	—	—	*
	UAA	—	—	—	—
	UAG	—	—	—	—

注: * 表示 $\Delta R_{SCU} > 0.08$; ** 表示 $\Delta R_{SCU} > 0.3$; *** 表示 $\Delta R_{SCU} > 0.5$, 密码子有下划线的为最优密码子。

4 个南五味子属物种的叶绿体基因组密码子 GC₁、GC₂、GC₃ 和 GC_{all} 平均含量均<50%,密码子均偏好使用 A/U 结尾,结果与茄属(*Solanum*)^[26]、木兰科(Magnoliaceae)^[27]、毛茛科(Ranunculaceae)和芍药科(Paeoniaceae)^[28]、豆蔻属(*Amomum*)^[29]、睡莲

属(*Nymphaea*)^[30]、榕属(*Ficus*)^[31]等大多数植物一致。有效密码子数(E_{NC})是判断密码子偏好性强弱的主要指标,本研究南五味子属4个物种只有*rps14*的 E_{NC} (33.00 ± 0.26) <40 ,其他49条序列 E_{NC} 均 >40 ,显示4个物种的叶绿体基因组密码子总体偏性较弱,结果与木兰科^[27]、毛茛科和芍药科^[28]、普通油茶(*Camellia oleifera*)^[32]、菠萝(*Ananas comosus*)^[33]、樟叶槭(*Acer cinnamomifolium*)^[34]、小粒咖啡铁皮卡(*Coffea arabica* ‘Typica’)^[35]等研究结果一致。在其他物种中,如菠萝(38.48)^[33]、二乔玉兰(*Yulania soulangeana*) (35.94)和日本辛夷(*Yulania kobus*) (35.94)^[36]中也发现*rps14*基因的 $E_{NC}<40$,提示*rps14*基因的强密码子偏差在自然界中可能存在一定的普遍性。通常认为高表达基因的密码子偏好程度大,而其 E_{NC} 较小,*rps14*基因为管家基因,表达量较高。拟南芥中研究表明,叶绿体*rps14*基因在热胁迫下起初表达量显著下调,随后恢复至正常水平,显示*rps14*基因可能在植物适应环境温度方法发挥重要作用^[37]。本研究中,南五味子属4个物种均为常绿植物,主要分布于长江以南省份,为应对不同季节的冷、热等环境胁迫,*rps14*基因可能需要维持核糖体翻译机器的高效运转,因而受环境胁迫,受到自然选择影响出现了强密码子偏差。

叶绿体基因组密码子各参数之间的相关分析显示,4个物种 GC_{all} 与 GC_1 、 GC_2 和 GC_3 都呈极显著正相关($P<0.01$), ENC 与 GC_2 和密码子数均呈显著负相关($P<0.01$),4个物种的叶绿体基因组密码子参数高度保守。结果与木兰科^[27]、毛茛科和芍药科^[28]、豆蔻属^[29]、睡莲属^[30]、樟叶槭^[34]、小粒咖啡铁皮卡^[35]等植物类似。南五味子属为五味子科植物,与木兰科为亲缘关系较近,但其密码子GC含量及参数之间的相关性差异较明显,表明不同物种密码子各位置的GC含量受环境影响较大。

本研究显示,自然选择是影响密码子偏好性的主要因素,与毛茛科和芍药科^[28]、樟叶槭^[34]等植物类似。而木兰科^[27]、豆蔻属^[29]、睡莲属^[30]、榕属^[31]、小粒咖啡铁皮卡^[35]等植物叶绿体基因组密码子的使用不仅受自然选择影响,还受突变的影响。因此,不同植物,甚至同一科的植物,由于受到自然选择压力和突变压力不同,都会造成密码子偏好性差异。

通过RSCU分析和高频密码子筛选,绯红南五味子、凤庆南五味子、中泰南五味子和异形南五味子4个物种分别确定了18、17、16和18个最优密码子,共有的最优密码子有14个。其中 $\Delta R_{SCU}>0.5$

的高表达密码子分别有4、4、4和6个,其中共有最优密码子只有编码半胱氨酸(Cys)的UGU,尽管南五味子属4个物种叶绿体基因组GC含量及偏好性较保守,但在高频密码子及最优密码子的使用上差异较大。研究结果阐明了南五味子属4个物种的叶绿体基因组密码子的使用偏好性及其影响因素,同时也有助于南五味子属种质资源保护、系统发育研究、资源鉴定及叶绿体工程研究。

参考文献:

- [1] KHAN M S, KANWAL B, NAZIR S. Metabolic engineering of the chloroplast genome reveals that the yeast *ArDH* gene confers enhanced tolerance to salinity and drought in plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 725.
- [2] NIELSEN A Z, MELLOR S B, VAVITSAS K, *et al.* Extending the biosynthetic repertoires of cyanobacteria and chloroplasts[J]. *Plant Journal*, 2016, 87(1): 87-102.
- [3] LARREA-ÁLVAREZ M, PURTON S. The chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii* as a testbed for engineering nitrogen fixation into plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(16): 8806.
- [4] DANIELL H, CHAN H T, PASORECK E K. Vaccination via chloroplast genetics: affordable protein drugs for the prevention and treatment of inherited or infectious human diseases[J]. *Annual Review of Genetics*, 2016, 50: 595-618.
- [5] MAO X M, XIE W, LI X N, *et al.* Establishing community-wide DNA barcode references for conserving mangrove forests in China[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1): 571.
- [6] CAMIOLO S, MELITO S, PORCEDDU A. New insights into the interplay between codon bias determinants in plants[J]. *DNA Research*, 2015, 22: 461-470.
- [7] QUAX T E, CLAASSENS N J, SÖLL D, *et al.* Codon bias as a means to fine-tune gene expression[J]. *Molecular Cell*, 2015, 59(2): 149-161.
- [8] ANGELLOTTI M C, BHUIYAN S B, CHEN G, *et al.* Codon O: codon usage bias analysis within and across genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35: 132-136.
- [9] KWON K C, CHAN H T, LEÓN I R, *et al.* Codon optimization to enhance expression yields insights into chloroplast translation[J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(1): 62-77.
- [10] LIU Y B, YANG Y P, YUAN H W, *et al.* A review of triterpenoids and their pharmacological activities from genus *Kadsura*[J]. *Digital Chinese Medicine*, 2018, 1: 247-258.
- [11] LIU Y B, YANG Y P, TASNEEM S, *et al.* Lignans from tujia ethnomedicine Heilaohu: chemical characterization and evaluation of their cytotoxicity and antioxidant activities[J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2147.
- [12] YU H H, LIN Y, ZENG R, *et al.* Analgesic and anti-inflammatory effects and molecular mechanisms of *Kadsura heteroclita* stems, an anti-arthritis Chinese tujia ethnomedicinal herb[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019, 238: 111902.
- [13] 高石曼, 郭豪杰, 齐耀东, 等. 滇鸡血藤药材基原植物的探讨[J]. *中药材*, 2015, 38(12): 2644-2650.

- [14] YANG J H, PU J X, WEN J, *et al.* Cytotoxic triterpene dilactones from the stems of *Kadsura ananosma* [J]. Journal of Natural Products, 2010, 73(1): 12-16.
- [15] 刘海涛, 齐耀东, 许利嘉, 等. 中国五味子科植物传统药物学调查[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(10): 1353-1359.
- [16] LIU J S, QI Y D, LAI H W, *et al.* Genus *Kadsura*, a good source with considerable characteristic chemical constituents and potential bioactivities[J]. Phytomedicine, 2014, 21(8/9): 1092-1097.
- [17] LIANG C Q, SHI Y M, WANG W G, *et al.* Kadcocinic acids A-J, triterpene acids from *Kadsura coccinea* [J]. Journal of Natural Products, 2015, 78(8): 2067-2073.
- [18] KUO Y H, WU M D, HUANG R L, *et al.* Antihepatitis activity (anti-HBsAg and anti-HBeAg) of C19 homolignans and six novel C18 dibenzocyclooctadiene lignans from *Kadsura japonica* [J]. Planta Medica, 2005, 71(7): 646-653.
- [19] SRITALAHAREUTHAI V, TEMVIRIYANUKUL P, ONNOM N, *et al.* Phenolic profiles, antioxidant, and inhibitory activities of *Kadsura heteroclita* (Roxb.) Craib and *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith [J]. Foods, 2020, 9(9): 1222.
- [20] YANG Y P, JIAN Y Q, LIU Y B, *et al.* Triterpenoids from *Kadsura coccinea* with their anti-inflammatory and inhibited proliferation of rheumatoid arthritis-fibroblastoid synovial cells activities[J]. Frontiers in Chemistry, 2021, 9: 808870.
- [21] ZHAO T M, MA C, ZHU G F. Chemical composition and biological activities of essential oils from the leaves, stems, and roots of *Kadsura coccinea* [J]. Molecules, 2021, 26(20): 6259.
- [22] 王丽军, 廖苏奇, 梁洁, 等. 黑老虎种子的营养成分分析及评价[J]. 中国油脂, 2021, 46(12): 112-117.
- [23] 高渐飞, 周玮, 刘妮. 黑老虎不同部位酚酸类成分差异分析[J]. 中药材, 2022(2): 351-358.
- [24] SUNDARARAJAN A, DUKOWIC-SCHULZE S, KWICKLIS M, *et al.* Gene evolutionary trajectories and GC patterns driven by recombination in *Zea mays* [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1433.
- [25] MEYER M M. Revisiting the relationships between genomic G + C content, RNA secondary structures, and optimal growth temperature [J]. Journal of Molecular Evolution, 2021, 89(3): 165-171.
- [26] ZHANG R Z, ZHANG L, WANG W, *et al.* Differences in codon usage bias between photosynthesis-related genes and genetic system-related genes of chloroplast genomes in cultivated and wild *Solanum* species [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(10): 1-24.
- [27] 季凯凯, 宋希强, 陈春国, 等. 木兰科叶绿体基因组的密码子使用特征分析[J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(11): 52-62.
- JI K K, SONG X Q, CHEN C G, *et al.* Codon usage profiling of chloroplast genome in Magnoliaceae [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2020, 22(11): 52-62. (in Chinese)
- [28] 穆赢通, 樊东昌, 吕丽娟, 等. 毛茛科和芍药科叶绿体基因组密码子特征和系统发育比较[J]. 植物研究, 2022, 42(6): 964-975.
- [29] 马孟莉, 张薇, 孟衡玲, 等. 豆蔻属药用植物叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 中草药, 2021, 52(12): 3661-3670.
- MA M L, ZHANG W, MENG H L, *et al.* Codon bias analysis of chloroplast genome in medicinal plants of *Amomum* Roxb [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(12): 3661-3670. (in Chinese)
- [30] 毛立彦, 黄秋伟, 龙凌云, 等. 7种睡莲属植物叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 西北林学院学报, 2022, 37(2): 98-107.
- MAO L Y, HUANG Q W, LONG L Y, *et al.* Comparative analysis of codon usage bias in chloroplast genomes of seven *Nymphaea* species [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2022, 37(2): 98-107. (in Chinese)
- [31] 夏晞, 彭劲谕, 王大玮, 等. 3种榕属叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 西北林学院学报, 2022, 37(5): 88-94.
- XIA X, PENG J Y, WANG D W, *et al.* Codon usage bias in chloroplast genomes of three *Ficus* species [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2022, 37(5): 88-94. (in Chinese)
- [32] 王鹏良, 杨利平, 吴红英, 等. 普通油茶叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 广西植物, 2018, 38(2): 135-144.
- [33] 杨祥燕, 蔡元保, 谭秦亮, 等. 菠萝叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 热带作物学报, 2022, 43(3): 439-446.
- YANG X Y, CAI Y B, TAN Q L, *et al.* Analysis of codon usage bias in the chloroplast genome of *Ananas comosus* [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(3): 439-446. (in Chinese)
- [34] 段祥光, 于涛, 曹萌, 等. 樟叶槭叶绿体基因组序列密码子偏好性分析[J]. 西北林学院学报, 2023, 38(1): 102-107.
- DUAN X G, YU T, CAO M, *et al.* Codon usage bias of *Acer cinnamomifolium* chloroplast genome [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2023, 38(1): 102-107. (in Chinese)
- [35] 李亚麒, 黄家雄, 娄予强, 等. 小粒咖啡铁皮卡叶叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 西北林学院学报, 2023, 38(2): 92-99.
- LI Y Q, HUNG J X, LOU Y Q, *et al.* Codon usage bias of the chloroplast genome in *Coffea arabica* 'Typica' [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2023, 38(2): 92-99. (in Chinese)
- [36] 沈莲文, 田金红, 王玉昌, 等. 2种玉兰属植物叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 西南林业大学学报: 自然科学, 2023, 43(2): 44-53.
- SHEN L W, TIAN J H, WANG Y C, *et al.* Analysis of codon usage bias (CUB) in the chloroplast genomes of 2 *Yulania* species [J]. Journal of Southwest Forestry University, 2023, 43(2): 44-53. (in Chinese)
- [37] DANILOVA M N, KUDRYAKOVA N V, ANDREEVA A A, *et al.* Differential impact of heat stress on the expression of chloroplast-encoded genes [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 129: 90-100.