

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2020.50644

韩雨欣, 代洪苇, 郑姝婷, 童华荣, 袁连玉. 茶树 *DELLA* 基因家族的鉴定及表达分析[J]. 植物科学学报, 2020, 38(5): 644-653Han YX, Dai HW, Zheng ST, Tong HR, Yuan LY. Identification and expression analysis of the *DELLA* gene family in *Camellia sinensis* (L.) O. Ktze.[J]. *Plant Science Journal*, 2020, 38(5): 644-653

茶树 *DELLA* 基因家族的鉴定及表达分析

韩雨欣^{1,2}, 代洪苇^{1,2}, 郑姝婷^{1,2}, 童华荣¹, 袁连玉^{1*}

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 食品科学与工程国家级实验教学示范中心(西南大学), 重庆 400715)

摘要: 利用生物信息学方法, 从茶树 (*Camellia sinensis* (L.) O. Ktze.) 全基因组数据库中分析获得 *DELLA* 蛋白的家族成员, 并对它们的系统进化关系、蛋白序列特征、基因表达特异性及其与茶树次生代谢物的相关性进行分析。结果显示: 茶树基因组中共有 5 个 *DELLA* 基因, 分别为: *TEA009882* (*CsGAI*)、*TEA022818* (*CsRGA1*)、*TEA010112* (*CsRGL1*)、*TEA008736* (*CsRGL2*) 和 *TEA020933* (*CsRGL3*); 其编码的氨基酸数量在 525 ~ 594 之间, 均定位于细胞核。该蛋白的二级和三级结构分析结果表明, 茶树 *DELLA* 蛋白结构中含有大量的 α 螺旋及少量 β 转角结构。蛋白保守结构域分析结果显示该蛋白与拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) 具有高度的同源性, 均具有 GRAS、*DELLA* 等保守结构域。基因的表达特异性分析结果表明, 在茶树不同组织部位中, *TEA009882*、*TEA022818* 和 *TEA010112* 基因的表达量均较高, 而 *TEA020933* 和 *TEA008736* 的表达量在各组织中均较低; 茶树 *DELLA* 基因的表达受到干旱、NaCl、低温及茉莉酸甲酯等非生物逆境胁迫的调控, 且其表达量与茶树次生代谢物的积累间存在相关性。推测茶树 *DELLA* 基因广泛参与了茶树生长发育及非生物逆境胁迫的响应, 以及对次生代谢物生物合成过程的调控。

关键词: 茶树; *DELLA* 蛋白; 表达分析; 生物信息学

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2020)05-0644-10

Identification and expression analysis of the *DELLA* gene family in *Camellia sinensis* (L.) O. Ktze.

Han Yu-Xin^{1,2}, Dai Hong-Wei^{1,2}, Zheng Shu-Ting^{1,2}, Tong Hua-Rong¹, Yuan Lian-Yu^{1*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. National Demonstration Center for Experimental Food Science and Technology Education, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Using bioinformatics methods, *DELLA* protein family members were analyzed from *Camellia sinensis* (L.) O. Ktze. genome-wide database, and their phylogenetic relationships, protein sequence characteristics, gene expression specificity, and correlation with secondary metabolites of *C. sinensis* were analyzed. Results identified five *DELLA* genes in *C. sinensis*: i. e., *TEA009882* (*CsGAI*), *TEA022818* (*CsRGA1*), *TEA010112* (*CsRGL1*), *TEA008736* (*CsRGL2*), and *TEA020933* (*CsRGL3*). The number of amino acids encoded by *DELLA* genes ranged from 525–594 aa, all of which were located in the nucleus. Results also showed a large number of α helices and several β corners in the secondary and tertiary structures of the *DELLA* proteins in *C. sinensis*. Based on conservative domain analysis, the *DELLA* proteins

收稿日期: 2020-01-04, 退修日期: 2020-02-11。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31400583); 重庆市基础与前沿研究计划一般项目(cstc2019jcyj-msxmX0241); 2020年重庆市大学生创新创业训练计划(S202010635166); 中央高校基本科研业务费专项(XDJK2018C069)。

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (31400583), Natural Science Foundation Project of CQCSTC (cstc2019jcyj-msxmX0241), Chongqing's Training Program of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates (S202010635166), and Fundamental Research Funds for the Central Universities (XDJK2018C069).

作者简介: 韩雨欣(1999-), 女, 本科, 研究方向为茶树遗传育种(E-mail: verahan0709@163.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: yuanlianyu88@163.com)。

showed high conservation in *C. sinensis* and *Arabidopsis thaliana*, with GRAS, DELLA, and other conserved motifs. Gene expression specificity showed that the expression levels of the *TEA009882*, *TEA022818*, and *TEA010112* genes were high in different tissues of *C. sinensis*, whereas the expression levels of the *TEA020933* and *TEA008736* genes were very low. The expression of DELLA protein genes was regulated by abiotic stresses, such as drought, NaCl, low temperature, and methyl jasmonate (MeJA), and gene expression was correlated with the accumulation of secondary metabolites. It is speculated that *DELLA* genes in *C. sinensis* plants are widely involved in morphogenesis, abiotic stress responses, and regulation of secondary metabolite biosynthesis in *C. sinensis*.

Key words: *Camellia sinensis*; DELLA proteins; Expression pattern; Bioinformatics

茶树 (*Camellia sinensis* (L.) O. Ktze.) 是我国重要的经济林木之一, 为我国的农业经济做出了重要贡献。茶树的生物学形态建成是影响茶叶鲜叶产量和质量的重要因素, 其中茶树侧枝分蘖和腋芽萌发状态是影响茶叶产量的重要农艺性状之一。了解茶树侧枝分蘖和腋芽的形成机制非常重要, 但这方面的研究大多从生理水平的调控方面进行研究, 而较少涉及分子水平。

在植物的生长发育过程中, GRAS 家族蛋白是一类植物特有的转录调控因子, 由最初发现的 3 个家族成员 GAI、RGA 和 SCR 的特征字母命名^[1], 在植物腋芽形成及生长发育过程中发挥重要的调控作用。其中, DELLA 蛋白是报道较多的 GARS 蛋白家族成员^[2]。目前, 许多植物中的 DELLA 蛋白已被发现, 其中拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) DELLA 蛋白家族有 5 个成员, 包括 AtRGL1、AtGAI、AtRGL2、AtRGA 和 AtRGL3, 主要参与调节 GA 信号的应答反应^[3]。葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 中含有 VvGAI1、VvRGA 和 VvSLR1 3 个 DELLA 蛋白家族成员, 且均可通过外源 GA 的代谢途径影响葡萄的形态发育^[4]; 目前, 水稻 (*Oryza sativa* L.)、番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.)、大麦 (*Hordeum vulgare* L.)、小麦 (*Triticum aestivum* L.)、草莓 (*Fragaria ananassa* Duch.)、苹果 (*Malus pumila* Mill.) 及玉米 (*Zea mays* L.) 等植物中的 DELLA 家族成员也被鉴定出来, 且功能分别与植株的分枝分蘖、株型、株高、叶片衰老、开花等植物形态发育性状相关, 也有部分成员与逆境响应相关^[5-13]。DELLA 家族成员蛋白序列中均具有典型的保守结构域, 包括: N 端的 DELLA 调节结构域和 C 端的 GRAS 功能结构

域^[14, 15]。DELLA 结构域又包含 DELLA、TVHYNP 和 polyS/T/V 等保守基序; GRAS 结构域包含核定位信号肽 NLS 等序列, 另外还包含 2 个亮氨酸七肽重复基序 (LHR1 和 LHR2)、PFYRE 和 SAW 等保守基序^[1]。其中 DELLA 与 TVHYNP 结构域是调节结构域, 是负责植物感知 GA 信号的主要部位; polyS/T/V 是调节结构域, 富含丝氨酸、苏氨酸和缬氨酸; LZ 是二聚化结构域。另外该类蛋白的 C 端含有 VHID、SH2 和 SAW 等阻遏结构域。这些不同的结构各自在植物 GA 信号转导过程中发挥不同的功能^[6, 11]。

研究发现, DELLA 蛋白主要通过 GA 信号转导途径调控植物生长发育调控途径。目前在茶树 *DELLA* 基因的表达与茶树次生代谢物积累之间的相关性方面的研究还尚未见报道。基于目前已经公布的茶树基因组数据库, 本研究分析获得了 5 个茶树 *DELLA* 基因, 并对其进行了详细的生物信息学分析及基因表达分析, 以期在它们在茶树生长发育及次生代谢过程中的功能研究奠定基础。

1 材料与与方法

1.1 茶树 *DELLA* 基因家族成员的鉴定及分析

以拟南芥 *DELLA* 基因的序列为参考, 在茶树基因组数据库 (<http://tpia.teaplant.org/>) 中通过 Blast 分析获得该蛋白家族的候选成员; 利用 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 中的 CD-search 在线分析工具, 鉴定 DELLA 蛋白中的 DELLA 和 GA-SA 保守结构域, 进一步确定茶树中的 DELLA 蛋白家族成员。利用 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) 在线工具对筛选到的

DELLA 家族成员的氨基酸序列进行分析。分别利用 SOPM (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.sopm.html) 和 SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/interactive/EP-Wf39/models/>) 在线工具进行 DELLA 蛋白的二级和三级结构模型的预测; 蛋白质的亚细胞定位信息采用在线工具 Plant-mPLOC (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) 进行分析; 通过 MEME (<http://memesuite.org/>) 在线工具分析茶树 DELLA 蛋白的保守基序, 分析基序的最大数值设为 10。

1.2 DELLA 蛋白家族的多序列比对及同源性分析

利用 ClustalX1.8 和 DNAMAN 软件进行茶树 DELLA 蛋白氨基酸序列的比对; 基于邻接法 (Neighbor-joining), 利用 MEGA 4.0 软件构建系统发育树, Bootstrap 参数设为 1000。

1.3 茶树 DELLA 基因的表达分析及其与重要代谢物的相关性分析

为进一步分析 DELLA 家族基因的表达情况, 本研究从茶树基因组数据库 TPIA (<http://tpia.teaplant.org/index.html>) 中下载了 DELLA 基因在茶树不同组织部位 (包括根、茎、芽头、嫩叶、成熟叶、老叶、花和果) 及不同逆境胁迫条件下 (高盐、低温、干旱和外源激素茉莉酸甲酯 MeJA) 的转录表达量数据, 利用 TBtools 工具绘制基因表达热图; 同时从茶树基因组数据库 TPIA (<http://tpia.teaplant.org/index.html>) 中下载 DELLA 基因在 16 个茶组代表性物种, 包括: 缙云山茶 (*C. jingyun-*

shanica)、龙井 43 (*C. sinensis* cv. Longjing 43)、马关茶 (*C. makuanic*)、老黑茶 (*C. atrothea*)、汝城毛叶茶 (*C. pubescens*)、细萼茶 (*C. parvisepala*)、广西茶 (*C. kwangsiensis*)、狭叶茶 (*C. angustifolia*)、毛叶茶 (*C. ptilophylla*)、膜叶茶 (*C. leptophylla*)、云抗 10 号 (*C. assamica* cv. Yunkang 10)、秃房茶 (*C. gymnogyna*)、厚轴茶 (*C. crassicolumna*)、大厂茶 (*C. tachangensis*)、四球茶 (*C. tetracocca*)、大理茶 (*C. taliensis*) 中的基因水平表达 (TMP 评估) 的数据, 并采用在线分析软件 Gene2Metabolite (<http://tpia.teaplant.org/Gene2Metabolite.html>) 进行基因表达与茶树重要次生代谢物积累之间相关性的分析, 并绘制热图。

2 结果与分析

2.1 茶树 DELLA 基因家族的鉴定

本研究利用拟南芥 DELLA 基因的核苷酸和氨基酸序列信息, 从茶树基因组数据库中鉴定并获得了 5 个 DELLA 基因: TEA009882、TEA022818、TEA010112、TEA008736 和 TEA020933, 分别命名为: CsGAI、CsRGA1、CsRGL1、CsRGL2 和 CsRGL3。它们在茶树基因组中的位置见表 1。茶树 5 个 DELLA 基因编码序列长度为 1578 ~ 1785 bp, 编码 525 ~ 594 个氨基酸, 蛋白质分子量在 5.76 ~ 6.45 kD 之间, 等电点为 5.22 ~ 5.49。蛋白亚细胞定位预测分析结果显示, 5 个茶树 DELLA 蛋白均定位于细胞核中。

表 1 茶树基因组中 5 个 DELLA 基因的基本信息
Table 1 Details on five DELLA genes in genome of *Camellia sinensis*

拟南芥基因名称 Genes of <i>Arabidopsis thaliana</i>	茶树基因名称 Homologous genes in <i>Camellia sinensis</i>	基因位置 Gene locus	编码区长度 CDS length (bp)	氨基酸数目 Number of amino acids	等电点 IP	分子量 Molecular weight (kD)
<i>AtGAI</i> (AT1G14920)	<i>CsGAI</i> (TEA009882)	Scaffold2102: 778389~780140+	1752	583	5.40	6.45
<i>AtRGA1</i> (AT2G01570)	<i>CsRGA1</i> (TEA022818)	Scaffold468: 258256~260040+	1785	594	5.22	6.51
<i>AtRGL1</i> (AT1G66350)	<i>CsRGL1</i> (TEA010112)	Scaffold52: 1511350~1513144+	1737	578	5.24	6.28
<i>AtRGL2</i> (AT3G03450)	<i>CsRGL2</i> (TEA008736)	Scaffold2968: 310764~312347+	1584	527	5.49	5.78
<i>AtRGL3</i> (AT5G17490)	<i>CsRGL3</i> (TEA020933)	Scaffold2490: 78655~80232-	1578	525	5.24	5.76

2.2 茶树 *DELLA* 蛋白系统发育及序列保守结构域分析

系统进化树分析结果显示(图 1)，茶树 *DELLA* 蛋白的氨基酸序列与拟南芥具有高度的同源性，茶树中 5 个 *DELLA* 蛋白的氨基酸序列均存在高度保守的结构域。其中，Cs*DELLA* 蛋白家族成员的 N 端均含有 *DELLA* 保守结构域，而 C 端含有 *GRAS* 保守结构域。此外，茶树 *DELLA* 蛋白氨基酸序列的多重序列比对和保守基序分析结果显示，茶树 *DELLA* 蛋白与拟南芥该家族蛋白序列相比存在多个保守基序，且含有 NLS 核定位信号序列(图 2、图 3)。这些基序包括典型的 *DELLA*、TVHYNP、VHVID、RVER、SAW 结构域及核定位信号(NLS)，表明 *DELLA* 蛋白在植物中具有高度保守性。因此，本研究所鉴定的 5 个茶树 *DELLA* 蛋白均具备典型的 *DELLA* 蛋白的特征，属于植物 *GRAS* 蛋白家族成员之一。

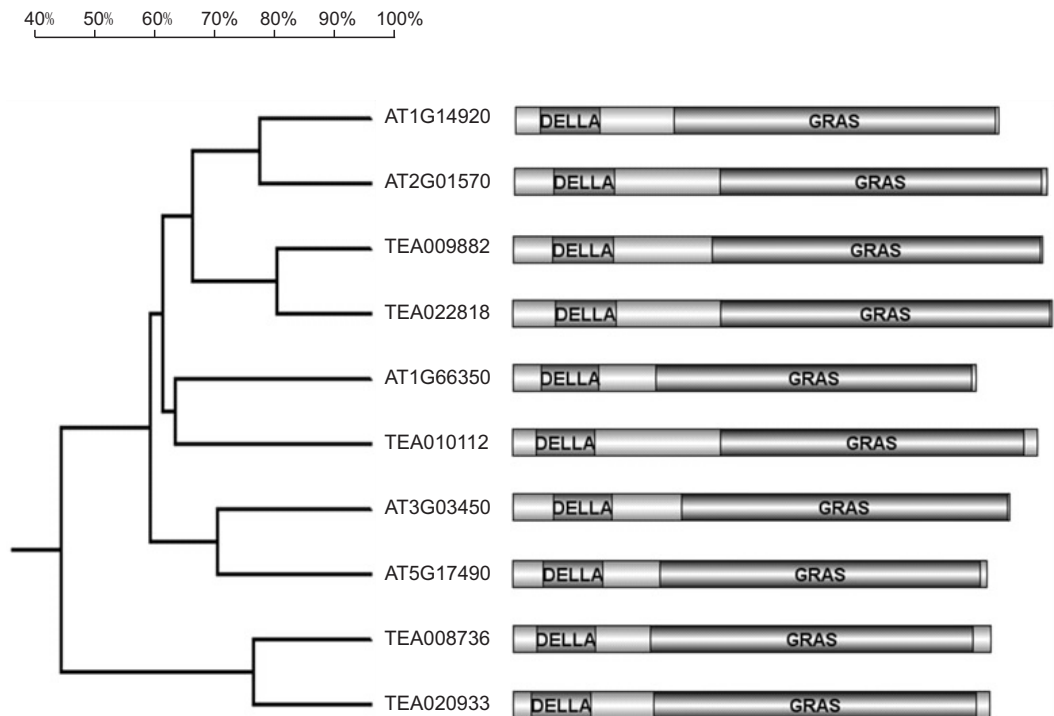
2.3 茶树 *DELLA* 蛋白二级和三级结构预测

茶树 *DELLA* 蛋白二级和三级结构预测结果表明， α -螺旋是构成茶树 *DELLA* 蛋白结构的重要组成部分，所占比例为 44.40% ~ 49.33%；其次是

自由卷曲和 β -转角，所占比例分别为 26.82% ~ 33.62%和 6.35% ~ 8.48% (图 4、表 2)。以数据已经成熟建模的拟南芥相似蛋白 5b3h.1 为模板进行蛋白三维结构建模，结果显示，除 TEA008736 蛋白外，茶树 *DELLA* 蛋白三维空间排列所形成的蛋白质分子构象具有高度的相似性，含有大量的 α -螺旋结构和自由卷曲，与二级结构预测结果一致(图 5)。由此也可以推测该蛋白家族可能具有相似的生理调控功能。

2.4 茶树 *DELLA* 基因的时空表达特异性分析

为探究茶树 *DELLA* 家族成员在其生长发育过程中所起的作用，本研究从茶树基因组数据库中下载了该家族基因在茶树的根、茎、芽、花、果、嫩叶、成熟叶和老叶等 8 个不同组织部位的转录组数据。分析结果表明，TEA009882、TEA022818 和 TEA010112 基因在不同组织中的表达量均较高，而 TEA020933 基因在芽、嫩叶和茎中的表达量较高，其他组织中均较低；TEA008736 基因的表达量在各个组织中的表达量均较低(图 6)。推测不同 *DELLA* 基因可能在不同的组织部位发挥调控作用。



AT: 拟南芥; TEA: 茶树。下同。
AT: *Arabidopsis thaliana*; TEA: *Camellia sinensis*. Same below.

图 1 茶树 *DELLA* 蛋白系统进化及保守结构域分析

Fig. 1 Phylogenetic analysis and conserved motif elements of *DELLA* proteins in *Camellia sinensis*

AT1G14920	MKRDRHHHHH.....HQDKKTMNNEEDDGNM.....ELLAVLGYKVRSSMADVAQKLEQLVMMNSVQEDDLQLSHLANDTVHY	75
AT2G01570	MKRDRHQFQGRLSNHGTSSSS.....SSHSKRMVMVKEEDGGNMDD.....ELLAVLGYKVRSSMADVAQKLEQLVMMNSVQEDDLQLSHLANDTVHY	81
AT5G17490	MKRSHQET.....SVEEAPSMVELENGCGGGDDNDMDELLAVLGYKVRSSMADVAQKLEQLVMMNSVQEDDLQLSHLANDTVHY	90
AT1G66350	MKRGNHR.....ESSAGEGGSSMTTVIKEEAAG.....VDELLVGLVYKVRSSMADVAQKLEQLVMMNSVQEDDLQLSHLANDTVHY	75
AT3G03450	MKRGYGETWDDPPKPLP.....AASRGGEGMADKKKADDDNNNSNDMDELLAVLGYKVRSSMADVAQKLEQLVMMNSVQEDDLQLSHLANDTVHY	89
TEA009882	MKRDLNHPPPPPYKTFCCG.....CGYST.EEASGKSMWMEODDAGMI.....ELLAVLGYKVRSSMADVAQKLEQLVMMNSVQEDDLQLSHLANDTVHY	95
TEA022818	MKRDEHQHYPPPHQDTFCGGDDGVCSSGGCGGKPKTWEE.DAGVI.....ELLAVLGYKVRSSMADVAQKLEQLVMMNSVQEDDLQLSHLANDTVHY	91
TEA010112MGAEGKMWQDHPDGIICGGGGGMDELLVGLVYKVRSSMADVAQKLEQLVMMNSVQEDDLQLSHLANDTVHY	73
TEA008736MGPYDSSISSSSSSSCGKAPFHVGLLGLAGAGTVRSSDREVAQRLRPLNMVNA.PAVISCLANDTVHY	72
TEA020933MSGGSSSSSSGAPFQIIGLGLAGAGTVRSSDREVAQRLRPLNMVNA.PAVISCLANDTVHY	67
Consensus	mkr hh ss eg s k e ggg dd dellavlygykvrssmadvaqkleqlvmmnsgeddlshlandtvhy	

AT1G14920	NEAELYTWDSMLTDLNPP.....SSN.....DELLA.....TVHYNP	108
AT2G01570	NPESELYSWDDNMLSLNPEPLPASSNGLD.....FVLPSP.....EYCGFF.ASDYDKVLPGN	114
AT5G17490	NPSDLSCWACSMLSLDL.....SKRTRT.....ESEL.SSTRVWVDSQBTGRVLVHALVACAEAVOCNNKIADALV	144
AT1G66350	NPSDLSCWVWESMLSLDL.....PTRIQE.KPDS.....YYPQLDP.NR.C.....DIRPIT..	112
AT3G03450	NPSDLNNAWESMLSLNL.....ASSELD.TFSCVDR..SEYDRAIPGL	133
TEA009882	NPSDLSSWESMISLHLPLNFSSSLPPP.....SAFLSR.....RHPLNH.....RIFHSDYDYLKATAGK	151
TEA022818	NPSDLSSWESMISLHLPLNPEFPVDDPF.....LAAIESSTVTSVDTQNYQNSYGRIFQDS.SSDYDKKIPGK	169
TEA010112	NPSDLSCWVWESMLSLNLNAPLAAAFDVGHNHSVVVDDSLLLPGDSTITGTGTGTTTTTTTRPTTTCIPATPQLQQSS.....SEYDRAIPGK	171
TEA008736	NPSDLSSWVDSLLSLNCP.....PESDL.....HAFSDL	98
TEA020933	NPSDLSCWVDSLLSLNCP.....VP.....ASADIPESYL	101
Consensus	npsdlsswvdsmlselnpp ri d seydlkaipg	

AT1G14920	ATLNQFAIDASSSSNOG.....GGGDTYTNKRLKCSNG.....VVEITTTATAESTRHVVIVDSQENGRLVHALVACAEAVOCNNKIADALV	192
AT2G01570	ATYQFPAIDSSSSSNQNKRLKCSSPDMSVMTSTTITQIGVIGITVTTTTTTTTTAAGESSTRVLLVDSQENGRLVHALVACAEAVOCNNKIADALV	244
AT5G17490	...DDECCSSNS..NS.....NKRIPLPQCD.....SVTS.ESTRVWVLE..PTGRLVQALVACAEAVOCNNKIADALV	180
AT1G66350	AVYPRDEHVTRR.....SKRTRT.....ESEL.SSTRVWVDSQBTGRVLVHALVACAEAVOCNNKIADALV	175
AT3G03450	SAPFKEEVEFDEE..AS.....SKRTRTQSCCE.....SSE..ESTRVSVVVDSQBTGRVLVHALVACAEAVOCNNKIADALV	203
TEA009882	AVYPELIQGNKRLKPSA.....SSSSTVSS.IPVGIWTLPL.....PLPDNCSSTASRRLIIVDSQENGRLVHALVACAEAVOCNNKIADALV	237
TEA022818	AVYSCIQPNKRRKFPSSP.....SSSSSVTSSMPLGM.....ASIEIETRPVIVVDSQENGRLVHALVACAEAVOCNNKIADALV	247
TEA010112	ATCKHKNSRREN..GN.....NKRIKTVSRSD.....HOSEIGARVPRVIVVDSQENGRLVHALVACAEAVOCNNKIADALV	246
TEA008736	AFPE...GSSSDQTVN.....TSANTDHAHAEQ.....HCEIQRKPTATTVVE.ESSCGLVHALVITCAESVGRQESLAVSHI	168
TEA020933	SYLDGLVLEALDPTVNH.....TGSWAHRGAEQ.....QQIIPR...QLSVVE.ESSCGLVHALVITCAESVGRQESLAVSHI	172
Consensus	a y e a l p s s k r i r l g w e e s t r v s v v d s q e n g r l v h a l v a c a e a v o c n n k i a d a l v	

AT1G14920	KQTC...ELAVSAGAMRKVAITYFAEALARRIYRLSEPSQP...IDHLSLDTLOVHFYEICPYLKFAHFTANQAILLEAFQCKKRVHVHIDFSMKGQWPA	286
AT2G01570	KQTC...CLAVSAGAMRKVAITYFAEALARRIYRLSEPNQ...IDHLSLDTLOVHFYEICPYLKFAHFTANQAILLEAFQCKKRVHVHIDFSMKGQWPA	338
AT5G17490	KVVC...LLAASGAGMCKVAITYFAEALARRIYRHFESA...AAIFSESEITLOVHFYDSCPYLKFAHFTANQAILLEAVTSRHHVHIDLGNLQWPA	274
AT1G66350	KVVC...LLAASGAGMCKVAITYFAEALARRIYRHFESD...DVALSSESEITLOVHFYDSCPYLKFAHFTANQAILLEAVTAEVHVIDLGNLQWPA	269
AT3G03450	KQTC...TLAASGAGMCKVAITYFAEALARRIYRHFESD...DVALSSESEITLOVHFYDSCPYLKFAHFTANQAILLEAVTAEVHVIDLGNLQWPA	301
TEA009882	KVVC...ELAVSAGAMRKVAITYFAEALARRIYRLSEPSQP...QINAFSDLOVHFYEICPYLKFAHFTANQAILLEAFATKRVHVHIDFSMKGQWPA	330
TEA022818	KQTC...ELAVSAGAMRKVAITYFAEALARRIYRLSEPNQ...QINAFSDLOVHFYEICPYLKFAHFTANQAILLEAFATKRVHVHIDFSMKGQWPA	340
TEA010112	KQTC...ELAVSAGAMRKVAITYFAEALARRIYRHFESD...SLDTSOVLVHFYEICPYLKFAHFTANQAILLEAFATKRVHVHIDFSMKGQWPA	337
TEA008736	DEMNIITRINTDCCICKVAGYFIDALSRRLAPQGVGVSQ...SAYENITLHFHFYEAICPYLKFAHFTANQAILLEAFQCKKRVHVHIDFSMKGQWPA	264
TEA020933	DEMNIITRINTDCCICKVAGYFIDALSRRLAPQGVGVSQ...SAYENITLHFHFYEAICPYLKFAHFTANQAILLEAFQCKKRVHVHIDFSMKGQWPA	268
Consensus	kqjg llavsqagamrkvatyfaealarriryrlp q d sfsd lqmhfyetcpylkfahtanqaileaf rvhvidfslnglqwpa	

AT1G14920	LQALALRPGGPPFRITGIGFPAPEINYLHEVCGKLAIAEAHVEEYRQVANIADLDSMIDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCATD	382
AT2G01570	LQALALRPGGPPFRITGIGFPAPEINSDHLEVCQKLAIAEAHVEEYRQVANSIADLDSMIDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCHE	434
AT5G17490	LQALALRPGGPPFRITGIGVGNL...SNRFGICELGKLAIAEAHVEEYRQVANSIADLDSMIDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCHE	367
AT1G66350	LQALALRPGGPPFRITGIGVSNL...LTDICVCGKLGSLASTIQAEEKSLALNNSDLEKHEMLDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCHE	360
AT3G03450	LQALALRPGGPPFRITGIGFPAPEINYSLQICAKLACPAONNEVEEYRQVANSIADLDSMIDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCHE	396
TEA009882	LQALALRPGGPPFRITGIGFPAPEINSDHLEVCQKLAIAEAHVEEYRQVANSIADLDSMIDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCHE	424
TEA022818	LQALALRPGGPPFRITGIGFPAPEINSDHLEVCQKLAIAEAHVEEYRQVANSIADLDSMIDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCHE	434
TEA010112	LQALALRPGGPPFRITGIGFPAPEINSDHLEVCQKLAIAEAHVEEYRQVANSIADLDSMIDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCHE	424
TEA008736	LQALALRPGGPPFRITGIGFPAPEINSDHLEVCQKLAIAEAHVEEYRQVANSIADLDSMIDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCHE	413
TEA020933	LQALALRPGGPPFRITGIGFPAPEINSDHLEVCQKLAIAEAHVEEYRQVANSIADLDSMIDIRESEMTAVAVNSVFEHLHLLG...RGCHE	366
Consensus	lmaqalalrpggpp frltgigpps dn d lqevgwklalaetigvefeyrgvansladldasmldir e eavavnsvfehlhllg rpgsid	

AT1G14920	KVLGVNQLLPEFIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQVP.....SQDKVMSEVYLGQICNVACCGSERVERHETLQWPA	471
AT2G01570	KVLGVNQLLPEFIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQVP.....NEQDKVMSEVYLGQICNVACCGSERVERHETLQWPA	523
AT5G17490	KULATVKAIVRGLIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQVP.....VVIPEQDRVMSVYLGQICNVACCGSERVERHETLQWPA	458
AT1G66350	KHLSTIKSRIFRIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQVP.....PPEQDRVMSVYLGQICNVACCGSERVERHETLQWPA	448
AT3G03450	KILNITKALRIFRIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQVP.....YSLPEQDRVMSVYLGQICNVACCGSERVERHETLQWPA	487
TEA009882	KVLSAVKMKRIFRIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQVGGGGGSELS.SVSNQDKVMSEVYLGQICNVACCGSERVERHETLQWPA	523
TEA022818	KVLSAVKMKRIFRIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQVGGGGGSESPAVNNQDKVMSEVYLGQICNVACCGSERVERHETLQWPA	534
TEA010112	KVLSAEMKRIFRIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQVGGGGGSELS.SVSNQDKVMSEVYLGQICNVACCGSERVERHETLQWPA	507
TEA008736	INLQWIRSRINRIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQV.....AQPERAFAMVETESINVACCGSERVERHETLQWPA	451
TEA020933	INLQWIRSRINRIVTVCEANHNHGFVLDRETFESLHYYSITFDSLEQV.....AQPERAFAMVETESINVACCGSERVERHETLQWPA	455
Consensus	kvlg vk ikp i tvvceanhnngpvlfdrtfealhyystlfdslqvg sqdkvmsevylgqicnvaccgsrverhetlaqwra	

AT1G14920	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLSTN.....	533
AT2G01570	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLSTN.....	587
AT5G17490	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLAEALRR.....	523
AT1G66350	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLSTN.....	511
AT3G03450	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLSTN.....	547
TEA009882	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLSTN.....	583
TEA022818	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLSTN.....	594
TEA010112	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLSTN.....	578
TEA008736	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLSTN.....	526
TEA020933	RFGSAGFAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGGYRVEEISGCLMLGWTRPLIATSAWKLSTN.....	526
Consensus	rfgsagf pvhlgnsafkqasmllalfnggdyrveendgclmlgwhtrpliatkawls	

SAW

NLS: 氨基酸区域内核定位信号; DELLA, TVHYNP, VHVID, RVER, SAW 为保守结构域。 NLS: Putative nuclear localization signal sequence; DELLA, TVHYNP, VHVID, RVER, and SAW are conserved domains.

图 2 茶树和拟南芥中 DELLA 蛋白氨基酸序列的多重比对

Fig. 2 Multiple sequence alignment of DELLA proteins in *Camellia sinensis* and *Arabidopsis thaliana*

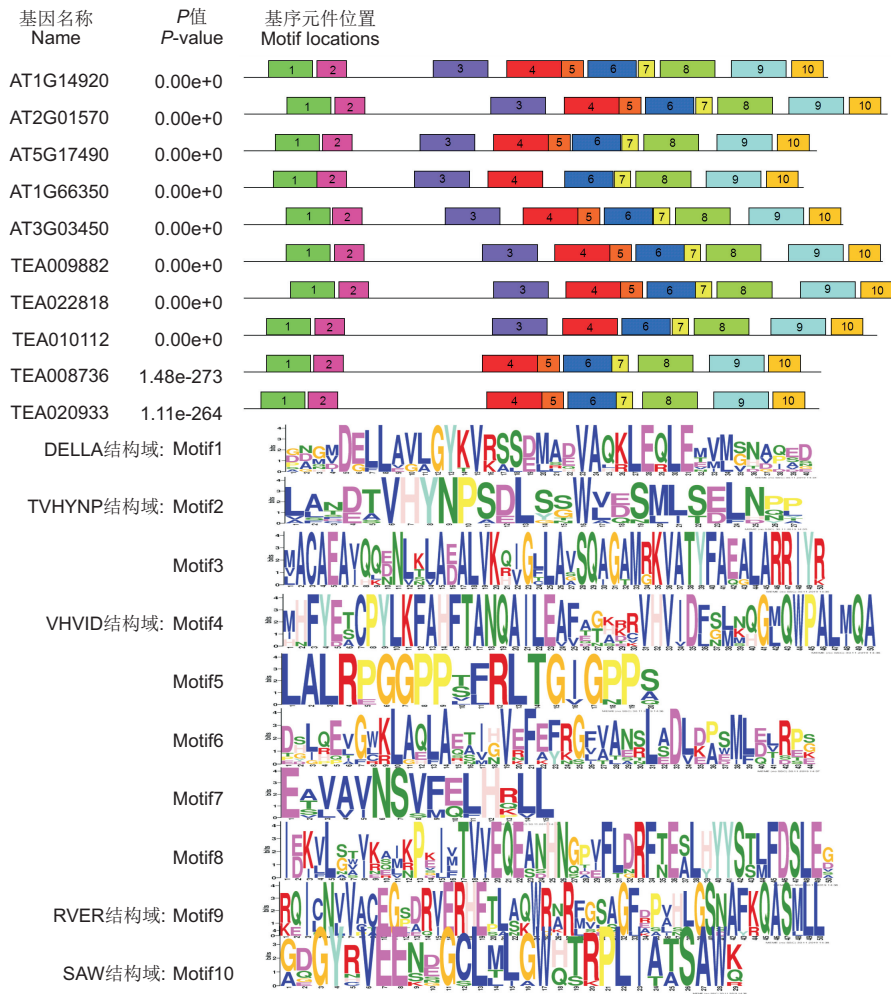


图 3 茶树 *DELLA* 蛋白家族的保守基序分析

Fig. 3 Analysis of conserved motifs of *DELLA* protein family in *Camellia sinensis*

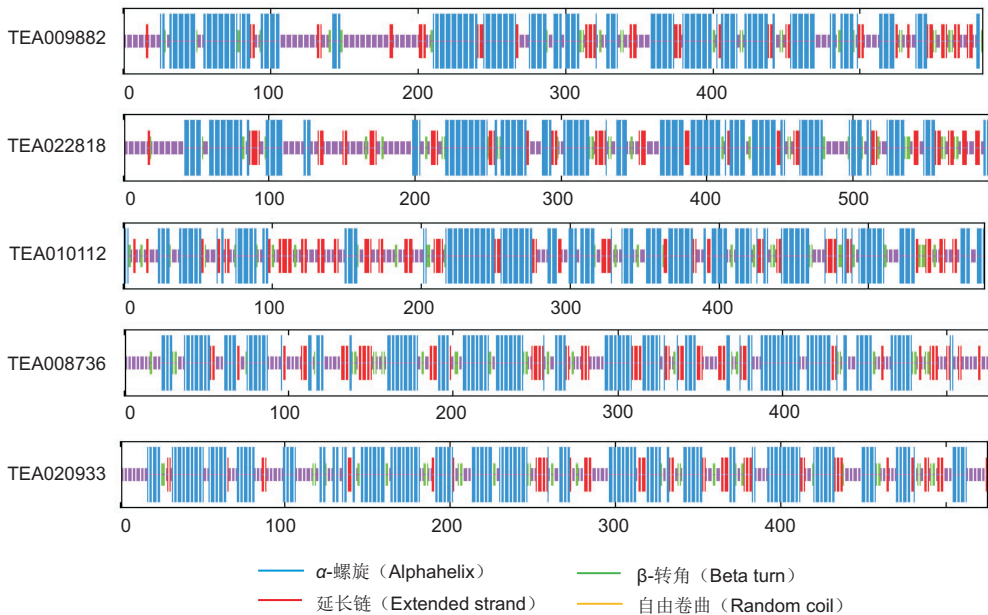


图 4 茶树 *DELLA* 蛋白二级结构分析

Fig. 4 Secondary structure prediction of *DELLA* proteins in *Camellia sinensis*

表 2 茶树 DELLA 蛋白的二级结构分析
Table 2 Secondary structure prediction of DELLA proteins in *Camellia sinensis*

氨基酸序列 Query	α -螺旋 Alpha helix (%)	延长链 Extended strand (%)	自由卷曲 Random coil (%)	β -转角 Beta turn (%)
TEA008736	44.40	16.89	30.55	8.16
TEA009882	47.68	12.35	33.62	6.35
TEA010112	45.67	19.03	26.82	8.48
TEA020933	49.33	12.38	30.29	8.00
TEA022818	44.44	14.48	33.33	7.74

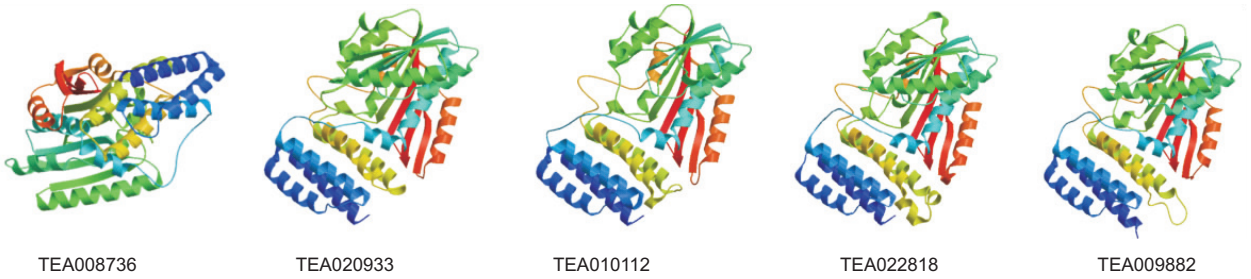
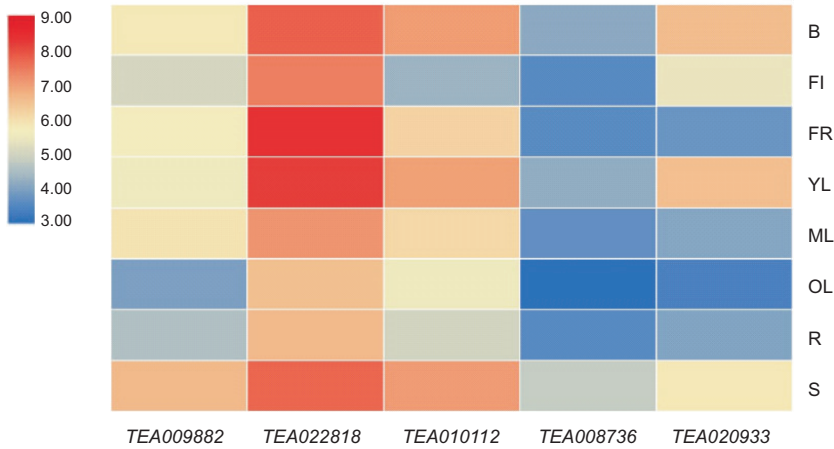


图 5 茶树 DELLA 蛋白的三级结构分析

Fig. 5 Tertiary structure of DELLA proteins in *Camellia sinensis*



基因表达量采用 TPM 来度量，数据来源于茶树基因组数据库网站。植物材料为安徽栽培品种‘舒茶早’。B：茶芽；FI：茶花；FR：茶果；YL：嫩叶；ML：成熟叶；OL：老叶；R：根；S：茎。颜色代表 \log_2 值，蓝色代表低表达，红色代表高表达。下同。

Expression level was evaluated by TPM (Transcripts Per Kilobase Million). Data were downloaded from the genome database of *Camellia* (<http://tpia.teaplant.org/browser.html>), and materials were Anhui cultivar leaves (‘Shuchazao’). B: Apical Bud; FI: Flower; FR: Fruit; YL: Young Leaf; ML: Mature Leaf; OL: Old Leaf; R: Root; S: Stem. Color scale bar represents \log_2 value; blue and red represent low and high expression levels, respectively. Same below.

图 6 茶树 DELLA 蛋白基因在不同组织部位中的表达分析

Fig. 6 Expression analysis of DELLA genes in various tissues of *Camellia sinensis*

2.5 茶树 DELLA 基因在非生物逆境胁迫下的表达特异性

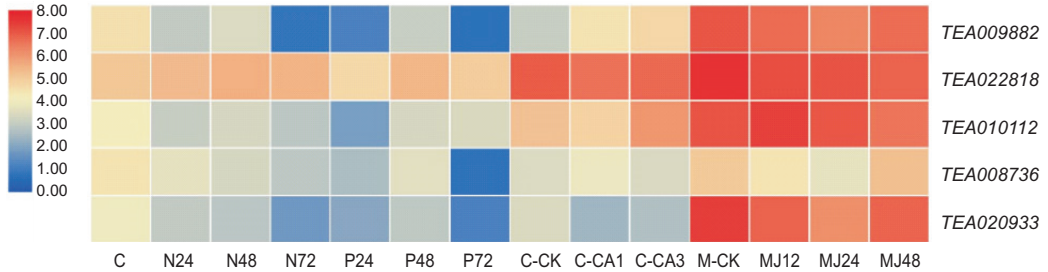
本研究对茶树 DELLA 基因在干旱、冷、NaCl 和 MeJA 等非生物逆境胁迫下基因表达的转录组数据进行了分析，并绘制了基因表达热图(图 7)。结果显示，除 TEA022818 基因外，其他茶树 DELLA 蛋白基因在 NaCl 和干旱胁迫条

件下表达都会受到抑制，表达量下降；在冷胁迫处理下，除 TEA009882 和 TEA008736 的表达上调外，TEA010112、TEA020933 和 TEA022818 的表达量均下调；在外施 MeJA 的作用下，所有基因的表达量先下降后恢复。推测茶树中 DELLA 蛋白可能广泛参与茶树的非生物逆境胁迫响应过程。

2.6 茶树 *DELLA* 蛋白基因的表达与其重要次生代谢物的关联度分析

本研究进一步分析了茶树 *DELLA* 基因的表达对其次生代谢途径的影响(图 8)。结果表明, 在 16 个茶组近源植物中, 所有 *DELLA* 基因的表达与代谢物

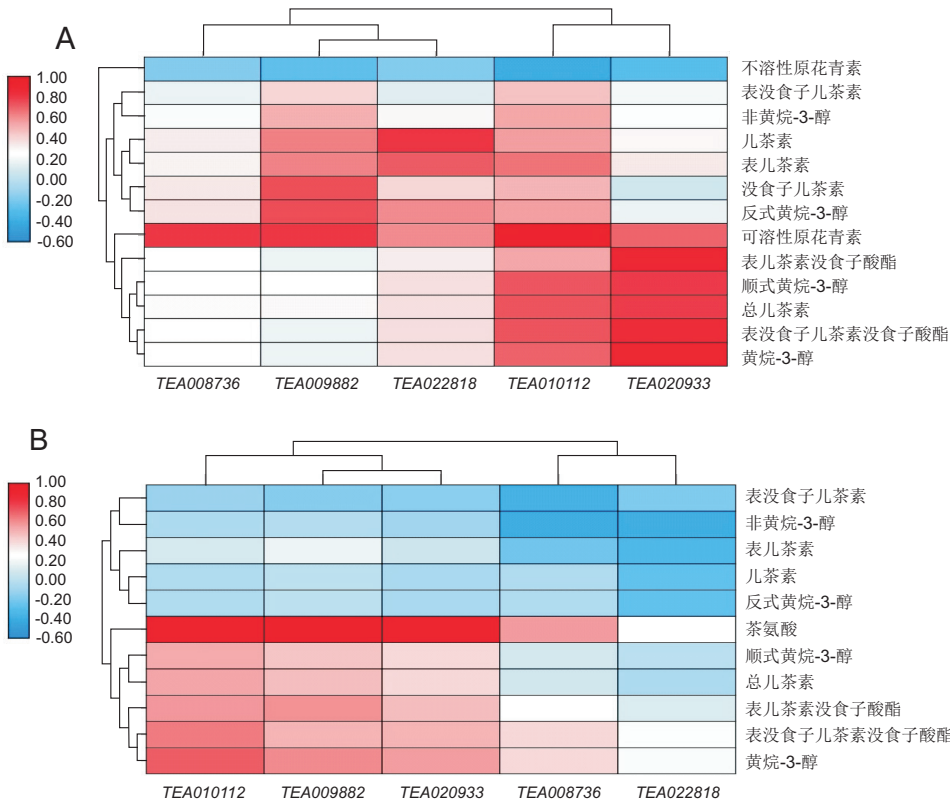
表没食子儿茶素、非黄烷-3-醇、表儿茶素、儿茶素、反式黄烷-3-醇间为负相关; 除 *TEA022818* 外, *TEA009882*、*TEA010112*、*TEA020933* 和 *TEA008736* 基因的表达与茶氨酸、顺式黄烷-3-醇、总儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、黄烷-3-醇和表没食子



CK: 对照; N24、N48、N72 分别表示 NaCl 处理 0、24、48、72 h^[16]; P24、P48、P72 分别表示 PEG 处理 24、48、72 h^[16]。C-CK 为对照; CA1 表示冷驯化; CA3 表示去驯化^[17]; M-CK、MJ12、MJ24、MJ48 分别表示 MeJA 处理 0、12、24、48 h^[18]。
 CK: Control; N24, N48, and N72 indicate NaCl treatment for 24, 48, and 72 h, respectively^[16]; P24, P48, and P72 indicate PEG treatment for 24, 48, and 72 h, respectively^[16]. C-CK: Control; CA1: Complete domestication; CA3: De-tamed^[17]; M-CK, MJ12, MJ24, and MJ48 indicate MeJA treatment for 0, 24, 48, and 72 h, respectively^[18].

图 7 茶树 *DELLA* 基因在不同逆境胁迫下的表达分析

Fig. 7 Expression analysis of *DELLA* genes in *Camellia sinensis* under different stress



A: 茶树不同组织部位 *DELLA* 基因的表达量与代谢物间的关联度分析; B: 16 个茶组近缘种 *DELLA* 基因的表达与代谢物积累的关联度分析。

A: Correlation analysis between expression of *DELLA* genes and metabolites in different tissues of *Camellia sinensis*; B: Correlation analysis between expression of *DELLA* genes and metabolites among 16 relatives *Camellia sinensis*.

图 8 茶树 *DELLA* 基因表达量与次生代谢物的关联度分析

Fig. 8 Correlation between *DELLA* gene expression and metabolite accumulation in *Camellia sinensis*

儿茶素没食子酸酯代谢物间呈正相关关系。另外,除不溶性原花青素外,茶树 5 个 *DELLA* 基因在 8 个不同组织部位中的表达量与其他茶树重要代谢物积累间存在正相关关系。以上结果说明茶树 *DELLA* 基因的表达可能会影响其重要功能化合物的积累。

3 讨论

茶树基因组数据的发布为其基因功能研究提供了便利。近两年来,茶树中大量基因家族得到克隆并进行了功能验证,尤其是与茶树生长发育及次生代谢相关的基因家族。本研究利用已经公布的‘舒茶早’基因组序列数据,与模式植物拟南芥的 *DELLA* 蛋白序列进行了全基因组水平的同源性搜索,获得了 5 个茶树 *DELLA* 蛋白。结果表明,这 5 个蛋白无论从蛋白二级结构、三级结构还是保守结构域方面,均与其他植物存在高度的相似性,氨基酸序列中含有多个保守基序。由此,我们推测茶树中的 *DELLA* 蛋白均具有类似的功能,参与茶树 GA 信号转导途径,并进一步调控茶树与 GA 信号转导相关的生长发育及次生代谢过程。

植物 *DELLA* 蛋白广泛参与调控各种植物生长发育调控途径。例如, *DELLA* 蛋白可参与调控茎的伸长、植物高度及顶端花序的形成,进而提高植物的抗性^[6, 11, 19-21]; 草莓中的 *DELLA* 蛋白可以影响其无性繁殖过程^[5]; 植物 *DELLA* 蛋白还可参与调控木质部的形成^[22]; 此外, *DELLA* 蛋白还可以跟多种蛋白相互结合成蛋白复合体,共同发挥作用。例如拟南芥 *DELLA* 蛋白 *RGL1* 分别可以与 *WRKY45* 和 *WRKY47* 蛋白相互作用,调控叶片的衰老和开花^[6, 8]; *DELLA-TOC159* 蛋白复合体相互作用可以在植物早期发育中控制叶绿体的形成^[23], 进而影响光合作用。在番茄中也存在 *DELLA* 蛋白与 *PIF* 蛋白间的互作,调控体内植物激素的平衡^[24]。茶树 5 个 *DELLA* 基因也存在组织表达的特异性,在芽、嫩叶及茎中的表达量较高,根中的表达量较低,且 5 个 *DELLA* 蛋白基因的表达量也存在差异; 在不同非生物逆境胁迫条件下, 5 个基因的表达也均有响应; 因此我们推测 *DELLA* 基因在茶树不同组织中发挥不同的生物学功能,参与不同组织器官的形态建成、体内 GA 信号转导及逆境响应过程,既可能在芽及嫩叶中表达参与其形态

建成过程的调控,又会影响茶树的发育; 既可能参与茶树营养生长的调控,也会参与营养生长到生殖生长的转变过程, *DELLA* 蛋白参与茶树生长发育过程的精准调控途径还需要继续进行深入研究。

目前,关于植物 *DELLA* 蛋白的研究结果主要集中在以 GA 信号转导为基础的各种植物形态建成及抗逆的过程^[25], 关于该蛋白与植物次生代谢物积累间相关性的研究较少。本研究发现茶树中 5 个 *DELLA* 基因的表达量与茶氨酸、顺式黄烷-3-醇、总儿茶素、表儿茶素没食子酸酯和表没食子儿茶素没食子酸酯等代谢物的积累间呈正相关,推测 *DELLA* 蛋白可作为正调控因子,参与茶树次生代谢物的积累调控,以负调控因子的方式参与茶树中花青素的积累。关于 *DELLA* 蛋白与茶树其他代谢物间的关联度,还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Bolle C. The role of GRAS proteins in plant signal transduction and development [J]. *Planta*, 2004, 218: 683-692.
- [2] 周连洁, 张富春, 王艳. GRAS 家族基因在植物生长、代谢及逆境胁迫中的功能研究进展 [J]. *植物生理学报*, 2013, 49(9): 855-860.
Zhou LJ, Zhang FC, Wang Y. Research progress on the functional mechanism of GRAS family genes in plant growth, metabolism and stress [J]. *Plant Physiology Communications*, 2013, 49(9): 855-860.
- [3] Chen JH, Cheng TL, Wang PK, Tian L, Wang GP, et al. Genome-wide bioinformatics analysis of *DELLA*-family proteins from plants [J]. *Plant Omics*, 2013, 6(3): 201-207.
- [4] 张文颖, 王晨, 朱旭东, 马超, 王文然, 等. 葡萄全基因组 *DELLA* 蛋白基因家族鉴定及其应答外源赤霉素调控葡萄果实发育的特征 [J]. *中国农业科学*, 2018, 51(16): 3130-3146.
Zhang WY, Wang C, Zhu XD, Ma C, Wang WR, et al. Genome-wide identification and expression of *DELLA* protein gene family during the development of grape berry induced by exogenous GA [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(16): 3130-3146.
- [5] Caruana JC, Sittmann JW, Wang WP, Liu ZC. Suppressor of runnerless encodes a *DELLA* protein that controls runner formation for asexual reproduction in strawberry [J]. *Mol Plant*, 2018, 11(1): 230-233.
- [6] 蒋梦婷, 渠慎春. *DELLA* 蛋白在植物生长发育中的作用 [J]. *西北植物学报*, 2018, 38(10): 1952-1960.
Jiang MT, Qu SC. *DELLA* and its functions in plant growth and development [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia*

- Sinica*, 2018, 38(10): 1952–1960.
- [7] 王玮, 冯起, 张莉环, 杨宁. *DELLA* 缺失对拟南芥干旱胁迫耐受性的影响[J]. 西北植物学报, 2018, 38(5): 867–872. Wang W, Feng Q, Zhang LH, Yang N. Drought tolerance of *DELLA* proteins deficiency in *Arabidopsis*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, 38(5): 867–872.
- [8] Zhang L, Chen L, Yu D. Transcription factor WRKY75 interacts with *DELLA* proteins to affect flowering[J]. *Plant Physiol*, 2018, 176(1): 790–803.
- [9] Dong HX, Yan SL, Liu J, Liu P, Sun JQ. TaCOL1 defines a new regulator of plant height in bread wheat[J]. *Plant Biotechnol J*, 2019, 17(3): 687–699.
- [10] Chen H, Li HH, Lu XQ, Chen LZ, Liu J, *et al.* Identification and expression analysis of GRAS transcription factors to elucidate candidate genes related to stolons, fruit ripening and abiotic stresses in woodland strawberry (*Fragaria vesca*) [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4593.
- [11] Serrano-Mislata A, Bencivenga S, Bush M, Schiessl K, Boden S, *et al.* *DELLA* genes restrict inflorescence meristem function independently of plant height [J]. *Nat Plants*, 2017, 3(9): 749–754.
- [12] Ikeda A, Ueguchi-Tanaka M, Sonoda Y, Kitano H, Koshioka M, *et al.* Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the *SLR1* gene, an ortholog of the height-regulating gene *GAI/RGA/RHT/D8*[J]. *Plant Cell*, 2001, 13(5): 999–1010.
- [13] Arro J, Yang YZ, Song GQ, Zhong GY. RNA-Seq reveals new *DELLA* targets and regulation in transgenic GA-insensitive grapevines[J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19: 80.
- [14] Ueguchi-Tanaka M, Nakajima M, Motoyuki A, Matsuoka M. Gibberellin receptor and its role in gibberellin signaling in plants[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2007, 58: 183–198.
- [15] Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sato Y, Ashikari M, Matsuoka M. The gibberellin signaling pathway is regulated by the appearance and disappearance of SLENDER RICE1 in nuclei[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(1): 57–70.
- [16] Zhang Q, Cai MC, Yu XM, Wang LS, *et al.* Transcriptome dynamics of *Camellia sinensis* in response to continuous salinity and drought stress[J]. *Tree Genet Genomes*, 2017, 13(4): 78.
- [17] Wang XC, Zhao QY, Ma CL, Zhang ZH, Cao HL, *et al.* Global transcriptome profiles of *Camellia sinensis* during cold acclimation[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 415.
- [18] Shi J, Ma CY, Qi DD, Lv HP, Yang T, *et al.* Transcriptional responses and flavor volatiles biosynthesis in methyl jasmonate-treated tea leaves[J]. *BMC Plant Biol*, 2015, 17: 136.
- [19] Zhou YC, Underhill SJR. Breadfruit (*Artocarpus altilis*) *DELLA* genes: gibberellin-regulated stem elongation and response to high salinity and drought[J]. *Plant Growth Regul*, 2017, 83: 375–383.
- [20] 史册, 罗盼, 邹颖, 孙蒙祥. *DELLA* 蛋白在被子植物有性生殖中的作用[J]. 植物学报, 2018, 53(6): 745–753. Shi C, Luo P, Zou J, Sun MX. The role of *DELLA* proteins in sexual reproduction of angiosperms[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2018, 53(6): 745–753.
- [21] 王倩, 杨凤萍, 张秀海, 肖伟, 董然. 高等植物中 *DELLA* 蛋白的研究进展[J]. 分子植物育种, 2019, 17(10): 3231–3240. Wang Q, Yang FP, Zhang XH, Xiao W, Dong R. Research progress on *DELLA* protein in higher plants[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(10): 3231–3240.
- [22] Felipo-Benavent A, Urbez C, Blanco-Tourinan N, Serrano-Mislata A, Baumberger N, *et al.* Regulation of xylem fiber differentiation by gibberellins through *DELLA-KNAT1* interaction[J]. *Development*, 2018, 145(23): dev164962.
- [23] Shanmugabalaji V, Chahtane H, Accossato S, Rahire M, Gouzerh G, *et al.* Chloroplast biogenesis controlled by *DELLA-TOC159* interaction in early plant development[J]. *Current Biol*, 2018, 28(16): 2616–2623.
- [24] Wang F, Chen X, Dong S, Jiang XC, Wang LY, *et al.* Crosstalk of PIF4 and *DELLA* modulates CBF transcript and hormone homeostasis in cold response in tomato[J]. *Plant Biotechnol J*, 2019, 18(4): 1041–1055.
- [25] 白云赫, 朱旭东, 樊秀彩, 王晨, 张文颖, 等. 植物 *DELLA* 蛋白及其应答赤霉素信号调控植物生长发育的研究进展[J]. 分子植物育种, 2019, 17(8): 2509–2516. Bai YH, Zhu XD, Fan XC, Wang C, Zhang WY, *et al.* Research progress of plant *DELLA* proteins and its response to gibberellin signal regulating plant growth and development[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(8): 2509–2516.

(责任编辑: 周媛)