

辣椒 RWP-RK 转录因子分析

李 菲, 龚记熠, 何小红, 张习敏, 乙 引*

(贵州师范大学生命科学学院贵州省植物生理与发育调控重点实验室, 贵阳 550001)

摘 要: RWP-RK 基因家族是植物特有的转录因子家族。该家族在植物氮元素信号传导和配子体发育过程中起核心的调控作用。使用公开的中国重要栽培品种遵辣 1 号及其野生亲本墨西哥辣椒种“Chiltepin”的基因组序列, 鉴定出辣椒基因组中含有 RWP-RK 结构域的基因, 并进行系统进化、染色体定位、保守序列和可能功能等分析。遵辣一号基因组中与拟南芥氮代谢重要调控因子 *AtNLP7* 同源的是 CaZunla01g000097、CaZunla01g004485 和 CaZunla00g000405。遵辣 1 号的 2 个基因 Capana03g001990 和 Capana03g000787 与拟南芥卵细胞形成相关转录因子 *AtRKD1*、*AtRKD2* 和 *AtRKD4* 同源。这些基因在栽培品种遵辣 1 号和其野生祖先品种基因组中保持了高度的保守性。此外, 辣椒基因组中存在特有的 RWP-RK 转录因子亚家族。这一亚家族的蛋白质氨基酸序列中含有独特的保守序列。这些序列在拟南芥 RWP-RK 转录因子中并不存在。辣椒栽培品种遵辣 1 号中有在其野生祖先“Chiltepin”中不存在的 RWP-RK 转录因子基因。鉴定出了分别与拟南芥 RWP-RK 转录因子高度相似、存在重大差异以及辣椒野生种和栽培种之间存在差异的 RWP-RK 转录因子成员, 为后期辣椒 RWP-RK 转录因子家族的克隆和功能研究提供了重要的信息。对这些基因进行功能研究, 会极大的促进辣椒对氮元素匮乏环境响应以及辣椒配子体发育的分子机制研究。

关键词: 辣椒; RWP-RK 转录因子; 结构域; 亚家族; 氮元素

中图分类号: Q641.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2018)01-0187-08

Analysis of pepper RWP-RK transcription factors

LI Fei, GONG Jiye, HE Xiaohong, ZHANG Ximin, YI Yin

(Key Laboratory of Plant Physiology and Development Regulation of Guizhou Province, College of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550001)

Abstract: The RWP-RK gene family is a plant-specific transcription factor family. RWP-RK transcription factors play central roles in regulation of plant nitrogen signal transduction and gametophyte development. Using the genomic sequences of "*Capsicum annuum L. Zunla-1*", an important pepper cultivar in China and its ancestor Mexican pepper "Chiltepin", we identified the genes containing the RWP-RK domain in these two pepper genomes. We also carried out phylogenetic, chromosome localization, conserved sequences and possible function analysis. In the genome of *Capsicum annuum L. Zunla-1*, CaZunla01g000097, CaZunla01g004485 and CaZunla00g000405 were homologous to the essential regulatory factor (*AtNLP7*) controlling the nitrogen metabolism in *Arabidopsis thaliana*. Capana03g001990 and Capana03g000787 were homologous to *Arabidopsis thaliana* egg formation related transcription factors *AtRKD1*, *AtRKD2* and *AtRKD4*. These genes maintain a high degree of conservation between the cultivar *Zunla-1* and its wild ancestor "Chiltepin". In addition, there is a unique RWP-RK transcription factor subfamily in the pepper genomes. This subfamily protein contains unique motifs that are not existed in the *Arabidopsis* RWP-RK transcription factors. There is also a RWP-RK transcription factor unique in *Capsicum annuum L. Zunla-1*, but not in the wild ancestor "Chiltepin". In this study, we identified RWP-RK transcription factors that are highly similar or different to *Arabidopsis* RWP-RK transcription factors. These identified factors showed significant differences between the wild and cultivars of pepper. The results provide important information for pepper RWP-RK genes cloning and functional analysis. Functional studies on these genes will greatly promote the study of the molecular mechanism of peppers in response to nitrogen deficiency and pepper gametophyte development.

收稿日期: 2017-06-09

基金项目: 贵州省科学技术基金(2017GZ66249)资助。

作者简介: 李 菲, 博士, 讲师。E-mail: lifei00987@outlook.com

* 通信作者: 乙 引, 教授, 博士生导师。E-mail: yiyin1964@outlook.com

Key words: *Capsicum* spp.; RWP-RK transcription factor; protein domain; subfamily; nitrogen

遇到氮(N)饥饿情况后,绿藻的营养细胞会分化成配子^[1]。豆科植物固氮根瘤的发生也取决于植物对N匮乏的感知和响应^[2]。参与这两个过程调控的基因都含有RWPXRK基序:一段保守的60-氨基酸长的蛋白质序列,可与DNA结合。含有RWPXRK基序的蛋白质是植物特有基因家族,被定义为一类新的转录因子^[3]。

基于系统发育和结构域分析,RWP-RK转录因子家族可以分为2个亚家族:RWP-RK结构域蛋白(RKD),以及C末端携带另外的PB1结构域的NIN类蛋白(NLP)。虽然目前对RWP-RK转录因子家族的功能分析尚处于起步阶段,但已经证明几个RWP-RK蛋白质在植物和绿藻氮素匮乏响应方面具有关键作用^[3-4]。根瘤特异性的NIN蛋白在氮饥饿情况下调控根瘤菌侵染和植物根瘤发生。拟南芥NLP7基因是氮元素反应的重要调控节点^[5]。此外,几个RKD基因作为转录因子参与了衣藻卵细胞分化和配子形成,后者受到氮元素丰度的调控^[6]。

目前对RWP-RK蛋白的了解主要来源于拟南芥、衣藻和豆科植物。鉴于RWP-RK类转录因子对于植物氮素匮乏响应和配子体发育过程的中心调控作用,进一步探索RWP-RK家族在其他植物中的存在和系统进化关系等信息,是非常重要的。

辣椒(*Capsicum* spp.)是茄科的重要经济作物之一。辣椒属(*Capsicum*)野生种起源于美洲,在公元前6000年由美洲原住民驯化^[7]。辣椒具有多种多样的形状、大小和颜色,被用作香料和蔬菜,广受欢迎。根据FAO数据(<http://www.fao.org>),2010年全球辣椒生产达到2940万t。

作为最重要的蔬菜作物之一,对辣椒重要基因家族的研究将为辣椒品种遗传改良提供宝贵的基因资源。下载了公开的中国重要辣椒栽培品种“遵辣1号”(*Capsicum annuum* L. Zunla-1)及其野生亲本墨西哥辣椒品种“Chiltepin”(*C. annuum* var. *glabriusculum*)的完整基因组序列^[8],从中鉴定出RWP-RK转录因子家族的成员,并进行系统进化、结构域和可能的功能分析。本研究鉴定出了与拟南芥RWP-RK转录因子相似的以及辣椒中特有的RWP-RK基因,并分析了辣椒野生种和栽培种之间存在序列、染色体定位和功能方面存在差异的RWP-RK转录因子成员。这些结果为辣椒中RWP-RK基因的功能研究提供了基础信息。对这些基因进行功能研究,会极大地促进辣椒对氮元素匮

乏环境响应以及辣椒配子体发育的分子机制,以及辣椒驯化过程的进化机制研究。这对于充分开发RWP-RK转录因子家族遗传资源,进行辣椒的基因工程育种,具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 数据来源

拟南芥RWP-RK基因数据来源于TAIR(<http://www.arabidopsis.org/>)拟南芥基因组信息数据库。辣椒基因组序列信息来源于辣椒基因组数据库(PepperGenomeDatabase2.0, peppersequence.genomics.cn/page/species/index.jsp)

1.2 基因组数据分析方法

1.2.1 RWP-RK转录因子的筛选和鉴定 从辣椒基因组数据库(PepperGenomeDatabase2.0, <http://peppersequence.genomics.cn/page/species/index.jsp>)下载了遵辣1号和Chiltepin 2个辣椒品种的全基因组蛋白质氨基酸序列。使用LocalBLAST软件,构建2个辣椒品种的全基因组基因氨基酸序列本地数据库。从TAIR拟南芥数据库下载RWP-RK基因家族全部蛋白质氨基酸序列。以此为检索序列,LocalBLAST软件检索两个辣椒品种的本地全基因组数据库。E值阈值为0.001。

所得到的序列,去除明显不是完整基因的序列。其余序列提交SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)^[9]蛋白质结构域数据库,进行结构域分析。检验序列是否含有RWP-RK结构域。含有RWP-RK结构域的完整序列,被认为是辣椒RWP-RK转录因子家族成员,进行下一步的分析。

使用pfam(<http://pfam.xfam.org/>)蛋白质结构域家族数据库检测拟南芥和筛选出的辣椒RWP-RK转录因子家族成员的结构域组成,检索RWP-RK结构域以及其他结构域的位置。

1.2.2 辣椒RWP-RK转录因子家族的染色体定位分析 2个辣椒品种RWP-RK转录因子家族的染色体位置信息可以从辣椒基因组数据库(PepperGenomeDatabase2.0)中下载。根据软件要求,将每个基因的染色体位置信息输入到Mapinspect软件中,即可得到2个辣椒品种RWP-RK转录因子染色体定位图。

1.2.3 辣椒和拟南芥RWP-RK转录因子系统进化分析 使用MEGA7.0软件进行辣椒和拟南芥RWP-RK转录因子的序列比对和系统发育树构建。

序列比对方法为 ClustalW, 使用默认参数。系统发育树构建方法为 Neighborjoining。校验参数 Bootstrap 重复 1 000 次, Substitution Model 选择 “Poisson model”, Data Subset to Use 选择 “Pairwise Deletion”。

1.2.4 辣椒特有 RWP-RK 转录因子亚家族的保守序列鉴定 MEME 在线工具 (<http://meme-suite.org/>) 使用多种算法发现多个序列中的保守基序^[10]。把辣椒特有的亚家族和拟南芥全部 RWP-RK 转录因子提交到 MEME 网站, 进行 MotifDiscovery 分析。

2 结果与分析

2.1 遵辣 1 号和 Chiltepin 基因组中 RWP-RK 转录因子的筛选、鉴定

以拟南芥 RWP-RK 转录因子家族全部成员的氨基酸序列为检索序列, LocalBLAST^[11] 从本地全基因组氨基酸数据库中筛选出遵辣 1 号和

Chiltepin 2 个辣椒品种中相似度高的蛋白质序列 (E 值 < 0.001)。(表 1 是野生种 Chiltepin 的 RWP-RK 转录因子信息列表, 表 2 是遵辣 1 号 RWP-RK 转录因子信息列表)。对所得序列进行 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)^[9] 结构域分析, 验证所有序列都含有 RWP-RK 结构域。含有 RWP-RK 结构域的全长基因序列进入下一步的分析。

虽然辣椒基因组远大于拟南芥 (3 364 Mbp VS. 125 Mbp), 但 RWP-RK 转录因子基因的数目相差不多。拟南芥中共有 RWP-RK 类转录因子 14 个, 遵辣 1 号基因组中筛选到 20 个含 RWP-RK 结构域的基因, 它的野生亲本 Chiltepin 中筛选到 16 个含 RWP-RK 结构域的基因。这进一步证明了辣椒基因组经过了一轮大规模的反转录转座子扩增事件 (*Capsicum annuum* L. Zunla-1)^[8], 导致其基因组中约 81% 的序列是重复序列。

表 1 Chiltepin 辣椒野生种的 RWP-RK 转录因子基因信息列表
Table 1 A list of RWP-RK transcription factors of *C. annuum* var. *glabriusculum*

基因登录号 GeneBank accession number	染色体定位 Chromosome location	RWP-RK 结构域位置 RWP-RK motif location	PB1 结构域位置 PB1 motif location	E 值 E value
Capang12g002359	12	597~644	895~976	1.00E-08
Capang10g002022	10	598~642	756~834	8.00E-06
Capang10g001830	10	231~278		3.00E-08
Capang08g001325	08	553~601	857~935	8.00E-09
Capang05g000816	05	354~400	439~518	1.00E-04
Capang04g000068	04	591~639	807~887	4.00E-07
Capang03g004189	03	22~67		1.00E-05
Capang03g004188	03	229~274		6.00E-05
Capang03g004187	03	22~67		3.00E-05
Capang03g003851	03	256~301		4.00E-06
Capang03g001886	03	71~118		2.00E-33
Capang03g000722	03	145~192		3.00E-42
Capang01g005433	01	620~667	822~904	1.00E-07
Capang01g000091	01	605~653	908~988	9.00E-09
Capang00g001906	00	72~116		3.00E-05
Capang00g001251	00	571~618	864~944	2.00E-07

2.2 遵辣 1 号和 Chiltepin 基因组中 RWP-RK 转录因子的染色体定位

基因的染色体位置信息可以提供基因家族系统进化、基因功能等非常有价值的线索。从辣椒基因组数据库 (Pepper Genome Database 2.0, <http://peppersequence.genomics.cn/page/species/index.jsp>) 中可以得到所有鉴定出的 RWP-RK 转录因子的定位信息。

遵辣 1 号和 Chiltepin 2 个辣椒品种的 RWP-RK

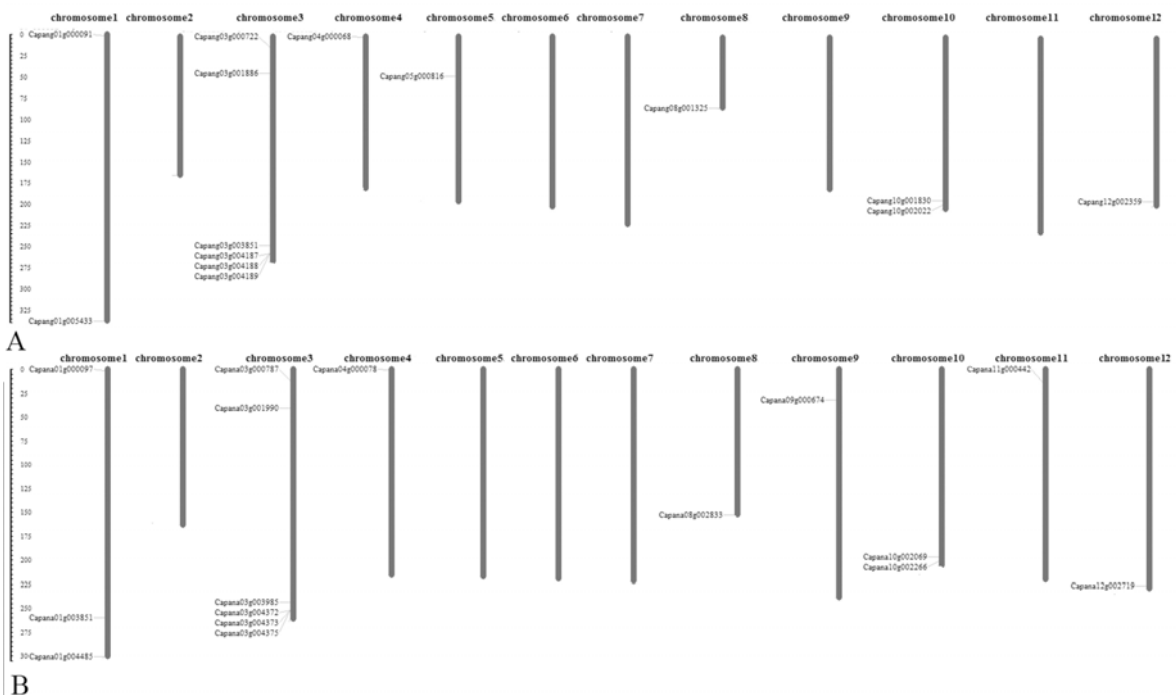
转录因子染色体定位呈现出一致的规律。在 3 号染色体的末端有一个 RWP-RK 转录因子的成簇分布区。其余 RWP-RK 转录因子散布在 1 号、4 号、5 号、8 号、10 号和 12 号染色体上。

不过遵辣 1 号和它的野生亲本的 RWP-RK 转录因子也有关键的区别。遵辣 1 号比它的野生亲本在 9 号和 11 号染色体上多出了两个 RWP-RK 转录因子基因, 分别是 Capana09g000674 (属于 RWP-RK 转录因子 NLP 亚家族) 和 Capana11g000442 (属于

RWP-RK 转录因子 RKD 亚家族)。这两 2 个基因在 遵辣 1 号与它的野生亲本间表型差异所起的作用， 在辣椒驯化育种过程中的起源，是很值得研究的重要问题。

表 2 遵辣 1 号辣椒栽培种的 RWP-RK 转录因子基因信息列表
Table 2 A list of RWP-RK transcription factors of *C. Annuum* var. Zunla-1

基因登录号 GeneBank accession number	染色体定位 Chromosome location	RWP-RK 结构域位置 RWP-RK motif location	PB1 结构域位置 PB1 motif location	E 值 E value
Capana12g002719	12	592~639	891~972	7.00E-09
Capana11g000442	11	354~400	439~518	2.00E-04
Capana10g002266	10	593~637	751~829	2.00E-05
Capana10g002069	10	231~278		3.00E-08
Capana09g000674	09	72~116		3.00E-05
Capana08g002833	08	620~667	822~904	1.00E-07
Capana04g000078	04	591~639	807~887	8.00E-07
Capana03g004375	03	165~210		5.00E-04
Capana03g004373	03	230~275		2.00E-04
Capana03g004372	03	116~161		2.00E-04
Capana03g003985	03	256~301		4.00E-06
Capana03g001990	03	76~123		4.00E-33
Capana03g000787	03	145~192		6.00E-42
Capana01g004485	01	107~155		4.00E-09
Capana01g003851	01	571~618	864~944	2.00E-07
Capana01g000097	01	605~653	908~988	9.00E-09
Capana00g001225	00	299~339		2.00E-04
Capana00g000897	00	15~60		1.00E-04
Capana00g000506	00	299~339		3.00E-04
Capana00g000405	00	569~617		8.00E-09

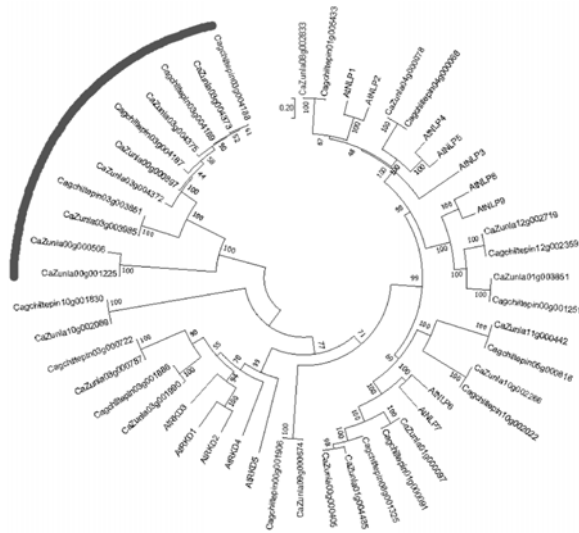


A 表示的是 Chiltepin 辣椒野生种的 RWP-RK 转录因子染色体定位信息；B 表示的是遵辣 1 号辣椒栽培种的 RWP-RK 转录因子基因定位信息

A shows the chromosomal location of *C. annuum* var. *glabriusculum* RWP-RK transcription factors; B shows the chromosomal location of *C. annuum* var. *Zunla-1* RWP-RK transcription factors

图 1 遵辣 1 号和 Chiltepin 基因组中 RWP-RK 转录因子的染色体定位

Figure 1 Chromosomal location of RWP-RK transcription factors in *C. annuum* var. *Zunla-1* and *C. annuum* var. *glabriusculum* genome



图中粗弧线标出的部分, 是辣椒中特有的 RWP-RK 转录因子家族分支

The thick arc in the figure marks the branch of the *C. annuum* specific RWP-RK transcription factors

图 2 遵辣 1 号和 Chiltepin 两个辣椒品种的 RWP-RK 转录因子家族与拟南芥 RWP-RK 转录因子家族全部成员的氨基酸系统发育树。

Figure 2 The amino acid phylogenetic tree of the RWP-RK transcription factors of the two pepper varieties of *C. annuum* and *Arabidopsis*

2.3 遵辣 1 号和 Chiltepin 基因组中 RWP-RK 转录因子家族的系统发育分析

系统发育分析不仅可以揭示基因间的相似性, 而且可以提供基因功能的线索。将筛选鉴定出的遵辣 1 号和 Chiltepin 两个辣椒品种的 RWP-RK 转录因子家族与拟南芥 RWP-RK 转录因子家族全部成员进行蛋白质氨基酸序列系统发育树构建^[12], 获得图 2。

拟南芥 RWP-RK 转录因子家族分为 NLP 和 RKD 2 个亚家族。RWP-RK 结构域是 DNA 结合结构域。此外, NLP 亚家族在 C 末端有一个 PB1 结构域。PB1 结构域是蛋白质相互作用的结构域, 可能通过参与蛋白质二聚体的形成过程调控转录因子活性。

与拟南芥类似, 2 个辣椒品种的 RWP-RK 转录因子家族也包含 NLP 和 RKD 这 2 个亚家族。不过值得注意的是, 除这 2 个亚家族之外, 遵辣 1 号和 Chiltepin 2 个辣椒品种基因组 RWP-RK 转录因子家族还有一个分支, 没有对应拟南芥基因序列(图 2)。

使用“材料与方法”部分 1.2.1 相同的步骤, 同样筛选和鉴定出另一茄科作物番茄, 和禾本科作物水稻的 RWP-RK 转录因子家族。将辣椒、拟南芥、番茄和水稻的全部 RWP-RK 转录因子成员进行系统进化分析(图 3), 可见 RWP-RK 转录因子家族有一个分支, 仍仅由辣椒的 RWP-RK 转录因子成员组成。

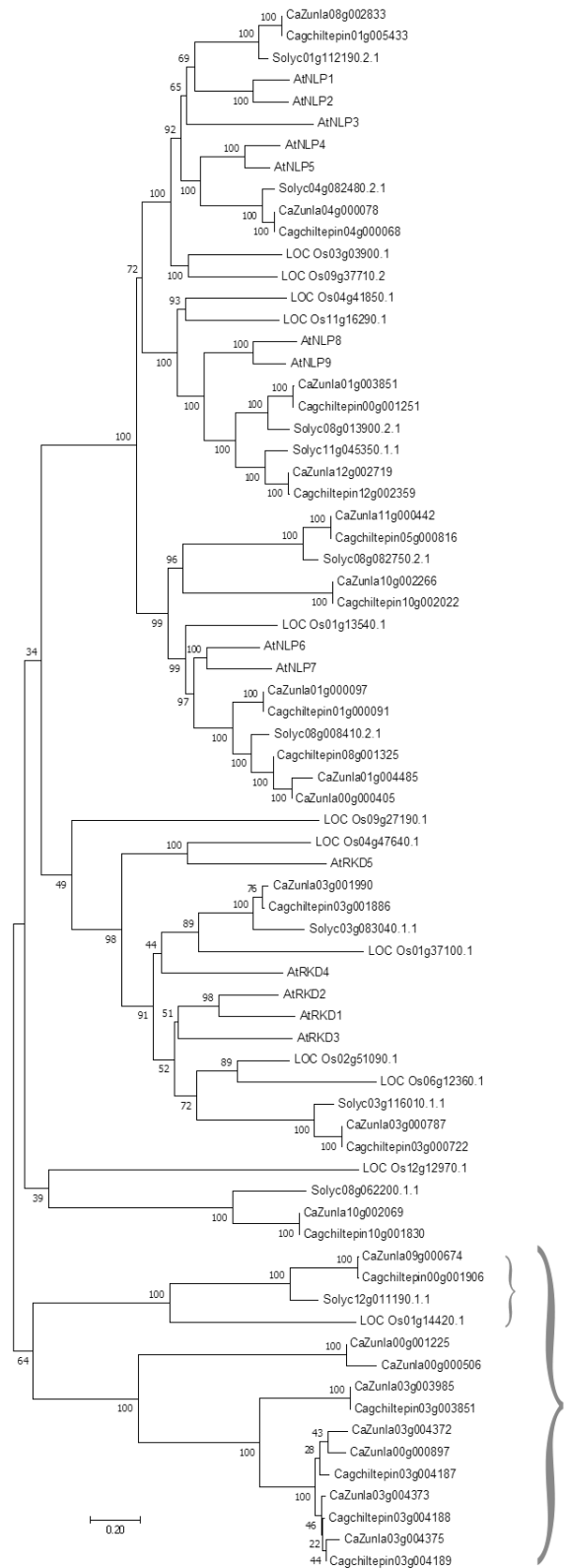
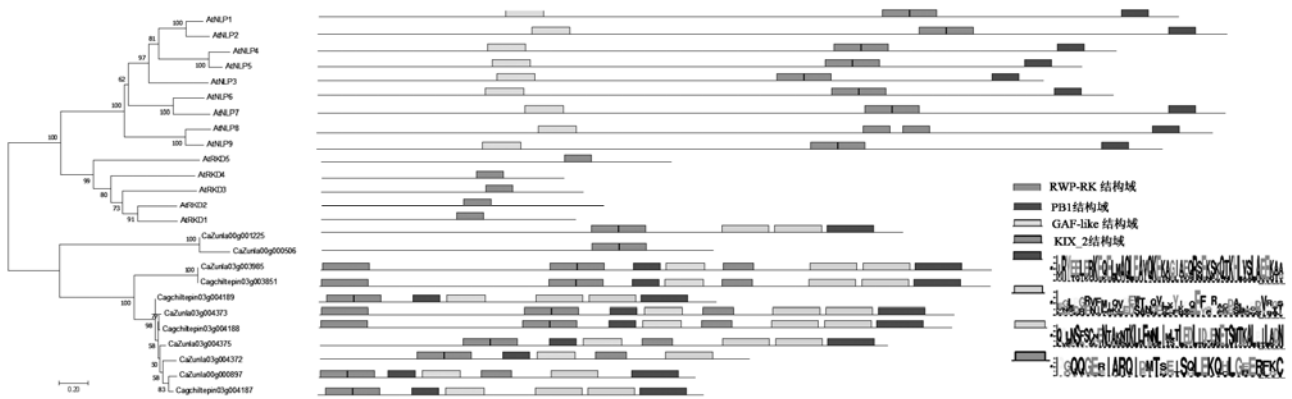


图 3 Zunla-1 和 Chiltepin 和拟南芥、番茄和水稻的全部 RWP-RK 转录因子系统进化分析

Figure 3 Phylogenetic analysis of the RWP-RK transcription factor family for two pepper varieties, Zunla-1 and Chiltepin, and *Arabidopsis*, *Solanum lycopersicum* and *Oryza sativa* L.

在 2 个辣椒品种中，这个分支中的基因在 3 号染色体末端成簇分布。这个分支是否辣椒特有的一

个重复和扩增，这些基因是否是活跃的功能基因，其具体功能，值得进一步的探究。



图中系统进化树是用拟南芥全部 RWP-RK 转录因子与辣椒特有 RWP-RK 转录因子的蛋白质氨基酸序列构建。不同颜色表示 MEME 保守序列分析工具鉴定出的基因中的不同保守序列。有些保守序列是辣椒特有 RWP-RK 转录因子独有的，在拟南芥中不存在

The phylogenetic tree is constructed by using all the RWP-RK transcription factors of *Arabidopsis thaliana* and the pepper-specific RWP-RK transcription factors. Different colors represent the different conserved sequences identified by the MEME conserved sequence analysis tool. Some conserved sequences are unique to pepper-specific RWP-RK transcription factors and are not present in *Arabidopsis thaliana* RWP-RK transcription factors.

图 4 辣椒特有的分支上的 RWP-RK 转录因子，具有独特的保守序列

Figure 4 *Capsicum* spp. specific conserved motifs in the sequences of unique RWP-RK transcription factors

2.4 遵辣 1 号和 Chiltepin 基因组中 RWP-RK 转录因子成员结构域分析

蛋白质结构域是指蛋白质序列中具有特定序列的区域，一般是蛋白质行使其功能的重要序列。RWP-RK 转录因子家族均具有 RWP-RK 结构域。这一保守序列是 RWP-RK 转录因子家族结合 DNA 片段、进行转录因子调控的关键区域。在植物氮元素相应中具有主要功能的 NLP 亚家族，还具有 PB1 结构域。这一结构域是蛋白质间相互作用的结构域，参与 NLP 转录因子间二倍体化的过程，以此调控转录因子的活性。NLP 亚家族，除 RWP-RK 和 PB1 两个结构域外，还有一个在所有 NLP 成员中均存在的 GAF-like 结构域（图 4）。该结构域与各种小分子（2-氧戊二酸，一氧化氮和硝酸盐等）结合，参与植物中的信号转导过程^[13-14]。在 NLP 转录因子中，该结构域的功能，还没有实验证据。

辣椒 RWP-RK 转录因子家族中，与 RKD 和 NLP 两个亚家族对应的序列均具有对应的蛋白质结构域（RWP-RK 和 PB1）（图 1）。可以推测鉴定出的辣椒 RWP-RK 转录因子家族成员均为有功能的转录因子，在辣椒对 N 元素的响应和配子体发育过程中起重要的作用。

值得注意的是，系统进化分析显示出一个辣椒特有的分支。这个分支上的辣椒基因都含有

RWP-RK 结构域，但是在拟南芥中没有对应的成员。使用 MEME 工具^[10]，进一步寻找这一分支上基因的保守结构域（图 4）。

辣椒特有的分支上的基因，除这 3 个结构域外，还存在多个辣椒品种特有的保守序列。其中包括已知功能的结构域 KIX。KIX 结构域是转录因子中常见的结构域，具有激活基因表达的作用^[15]。除此之外，辣椒特有的分支上的 RWP-RK 基因，还有多个保守序列，是在拟南芥 RWP-RK 基因家族中完全不存在的。这些保守序列的起源、功能等，很值得进一步研究。

3 讨论与结论

转录因子 RWP-RK 家族是植物特有基因家族。该基因家族 NLP（NIN-like proteins）亚家族在植物氮元素响应过程中的中心调控作用，已经有很多的研究证实^[3]。Marchise 等^[16]研究显示，N 饥饿环境下，*AtNLP7* 结合到 851 个基因的转录起始位点附近。被 *AtNLP7* 结合的基因主要是参与 N 代谢的基因和转录因子。RKD 亚家族参与植物配子体发育过程，也已有坚实的实验证据。但是对 RWP-RK 家族的研究，主要集中在拟南芥等模式植物。挖掘辣椒已有的基因组序列信息，筛选出辣椒基因组中的 RWP-RK 家族成员，并进行系统的序列多样性、保

守结构域和功能分析, 获得了多个重要的结论和下一步的研究线索。

辣椒中, 与 *AtNLP7* 系统进化关系最接近的是遵辣 1 号中的 *CaZunla01g000097*、*CaZunla01g004485*、*CaZunla00g000405*, 野生辣椒品种 *Chiltepin* 中的 *Cagchiltepin01g000091* 和 *Cagchiltepin08g001325*。这些基因均具有 NLP 蛋白典型的 RWP-RK 和 PB1 结构域。进一步克隆这几个基因的全序列, 转化进入辣椒, 探索这些基因对于辣椒在营养贫瘠环境生长的作用, 应该会极大的促进辣椒产业的发展。

拟南芥的 5 个 RKD 基因参与调控卵细胞的形成, 具体的分子机制还不清楚^[17]。异位表达 *AtRKD1*、*AtRKD2* 和 *AtRKD4* 导致卵细胞特异性的基因异位表达, 植物生长严重扭曲^[18-19]。辣椒中属于 RKD 亚家族的基因均位于 3 号染色体上, 包括遵辣 1 号的 2 个基因: *Capana03g001990* 和 *Capana03g000787*, *Chiltepin* 中的 2 个基因 *Capang03g001886* 和 *Capang03g000722*。遵辣 1 号的 *Capana03g001990* 与 *Chiltepin* 的 *Capang03g001886* 序列一致性达 94%, 遵辣 1 号的 *Capana03g000787* 和 *Chiltepin* 的 *Capang03g000722* 一致性达 99%。栽培品种遵辣 1 号和其野生祖先 *Chiltepin* 的 RKD 转录因子保持了高度的保守性, 这说明这 2 个保守的基因的重要基础性作用。

此外, 发现在辣椒基因组中, 有一个拟南芥基因组中不存在的独特分支。这个分支上的辣椒基因都含有 RWP-RK 结构域, 但是在拟南芥中没有对应的成员。使用 MEME 工具, 发现辣椒特有的分支上的基因, 除 RWP-RK、PB1 和 GAF-like3 个结构域外, 还存在多个辣椒品种特有的保守序列。对遵辣 1 号和其野生祖先 *Chiltepin* 基因组中 BZR 转录因子家族的分析, 也发现同样的情况^[20]。拟南芥是很好的模式植物, 对拟南芥的研究, 极大的促进了人类对于植物生长、发育、繁殖和耐逆的了解。但是拟南芥不能代替所有植物。辣椒中就存在拟南芥不具有的独特的 RWP-RK 家族成员。对这些 RWP-RK 家族成员进行克隆个功能分析, 应该更能促进人们对辣椒性状的改良能力。

墨西哥野生辣椒种 *Chiltepin* 是遵辣 1 号的野生亲本。2 个辣椒品种的 RWP-RK 转录因子成员基本一致, 两者的 RKD 基因一致性达 94%~99%。但 2 个辣椒品种的 RWP-RK 转录因子成员也有关键的区别。遵辣 1 号比它的野生亲本在 9 号和 11 号染色体上多出了 2 个 RWP-RK 转录因子基因。这 2 个基因在遵辣 1 号与它的野生亲本间表型差异所起的作

用, 在辣椒驯化育种过程中的起源, 是很值得研究的重要问题。

通过对辣椒 RWP-RK 转录因子家族进行系统发育和保守结构域等一系列的分析, 鉴定出了分别与拟南芥 RWP-RK 转录因子高度相似、存在重大差异以及辣椒野生种和栽培种之间存在差异的 RWP-RK 转录因子成员。对这些基因进行功能研究, 会极大的促进辣椒对氮元素匮乏环境响应以及辣椒配子体发育的分子机制研究。

参考文献:

- [1] LIN H, GOODENOUGH U W. Gametogenesis in the *Chlamydomonas reinhardtii* minus mating type is controlled by two genes, *MID* and *MTDI*[J]. *Genetics*, 2007, 176(2): 913-925.
- [2] SCHAUSER L, ROUSSIS A, STILLER J, et al. A plant regulator controlling development of symbiotic root nodules[J]. *Nature*, 1999, 402(6758): 191-195.
- [3] CASTAINGS L, CAMARGO A, POCHOLLE D, et al. The nodule inception - like protein 7 modulates nitrate sensing and metabolism in *Arabidopsis*[J]. *Plant J*, 2009, 57(3): 426-435.
- [4] CAMARGO A, LLAMAS Á, SCHNELL R A, et al. Nitrate signaling by the regulatory gene *NIT2* in *Chlamydomonas*[J]. *Plant Cell*, 2007, 19(11): 3491-3503.
- [5] LIU K, NIU Y, KONISHI M, et al. Discovery of nitrate-CPK-NLP signalling in central nutrient-growth networks[J]. *Nature*, 2017, 545(7654): 311-316.
- [6] LEE J H, LIN H, JOO S, et al. Early sexual origins of homeoprotein heterodimerization and evolution of the plant KNOX/BELL family[J]. *Cell*, 2008, 133(5): 829-840.
- [7] PERRY L, DICKAU R, ZARRILLO S, et al. Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas[J]. *Science*, 2007, 315(5814): 986-988.
- [8] QIN C, YU C, SHEN Y, et al. Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(14): 5135-5140.
- [9] LETUNIC I, DOERKS T, BORK P. SMART 7: recent updates to the protein domain annotation resource[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 40(D1): D302-D305.
- [10] BAILEY T L, BODEN M, BUSKE F A, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching[J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(suppl_2): W202-W208.
- [11] ALTSCHUL S F, GISH W, MILLER W, et al. Basic local alignment search tool[J]. *J Mol Biol*, 1990, 215(3): 403-410.
- [12] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Mol Biol Evol*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [13] NIEMANN V, KOCH-SINGENSTREU M, NEU A, et al. The NreA protein functions as a nitrate receptor in the Staphylococcal nitrate regulation system[J]. *J Mol Biol*, 2014, 426(7): 1539-1553.

- [14] SHI R, MCDONALD L, CYGLER M, et al. Coiled-coil helix rotation selects repressing or activating state of transcriptional regulator DhaR[J]. *Structure*, 2014, 22(3): 478-487.
- [15] THAKUR J K, ARTHANARI H, YANG F, et al. A nuclear receptor-like pathway regulating multidrug resistance in fungi[J]. *Nature*, 2008, 452(7187): 604-609.
- [16] MARCHIVE C, ROUDIER F, CASTAINGS L, et al. Nuclear retention of the transcription factor NLP7 orchestrates the early response to nitrate in plants[J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1713.
- [17] SPRUNCK S, GROß-HARDT R. Nuclear behavior, cell polarity, and cell specification in the female gametophyte[J]. *Sex Plant Reprod*, 2011, 24(2): 123-136.
- [18] KŐSZEGI D, JOHNSTON A J, RUTTEN T, et al. Members of the RKD transcription factor family induce an egg cell - like gene expression program[J]. *Plant J*, 2011, 67(2): 280-291.
- [19] WAKI T, HIKI T, WATANABE R, et al. The *Arabidopsis* RWP-RK protein RKD4 triggers gene expression and pattern formation in early embryogenesis[J]. *Current Biology*, 2011, 21(15): 1277-1281.
- [20] 李菲,张习敏,张宇斌. 辣椒遵辣一号与其野生祖先种 Chiltepin BZR 转录因子家族的特征[J]. *贵州师范大学学报(自然科学版)*, 2017, 35(5): 36-41.