

## 杨树 14-3-3 基因家族的分子进化及表达模式研究

刘妍婧 王彩玲 陆 海 杨海灵

(北京林业大学生物科学与技术学院)

摘要:14-3-3 蛋白在植物细胞信号传导中发挥重要的作用,探索木本植物 14-3-3 蛋白家族的进化模式对深入理解该基因家族的功能有重要的指导意义。本文采用生物信息学的方法,在基因组水平上搜索和鉴定了 12 个杨树 14-3-3 蛋白基因,其中  $\varepsilon$  类有 7 个,非  $\varepsilon$  类有 5 个。通过对杨树 14-3-3 基因家族的系统进化、序列相似性、基因结构和染色体位置分析,发现杨树 14-3-3 基因的扩张主要是通过最近的一次全基因组加倍事件产生的。在全基因组加倍事件中共产生 5 对重复基因对, $K_a/K_s$  分析显示这 5 对重复基因对处于较强的净化选择压力。RT-PCR 分析显示在杨树 12 个 14-3-3 基因中有 8 个在不同组织中均表达,另外 4 个基因的表达部位发生了变异。因此,杨树 14-3-3 基因家族的分子进化及表达模式的研究结果预示着基因重复后其功能发生了分化。

关键词:14-3-3 蛋白;基因家族;基因重复;功能分化

中图分类号:S718.46;S792.11;Q75 文献标志码:A 文章编号:1000-1522(2010)03-0001-07

LIU Yan-jing; WANG Cai-ling; LU Hai; YANG Hai-ling. **Molecular evolution and expression pattern of the *Populus* 14-3-3 gene family.** *Journal of Beijing Forestry University*. (2010) 32 (3) 1-7 [Ch, 14 ref. ] College of Life Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China.

The 14-3-3 protein plays an important role in the cellular signal transduction and primary metabolism of plants. To explore the evolutionary pattern of the 14-3-3 gene family will facilitate the understanding of its function in woody plants. In this study, twelve 14-3-3 genes were identified from the *Populus trichocarpa* genome based on bioinformatics. A phylogenetic study showed that *Populus* 14-3-3 proteins contain both  $\varepsilon$  and non- $\varepsilon$  forms. A recent whole genome duplication event contributed to the expansion of *Populus* 14-3-3 gene family, among which a total of five paralogous gene pairs were formed. The analysis of  $K_a/K_s$  showed that the purifying selection is the predominant evolutionary force acting on the five paralogous gene pairs. RT-PCR revealed expression divergence in twelve *Populus* 14-3-3 genes. In conclusion, the results indicate that there are functional divergences in the *Populus* 14-3-3 gene family after gene duplication.

**Key words** 14-3-3 protein; gene family; gene duplication; functional divergence

Moore 等<sup>[1]</sup>最早从牛脑组织中分离出一些酸性的可溶性蛋白,根据其电泳迁移率命名为 14-3-3。14-3-3 蛋白是广泛存在于真核生物细胞中的一类多基因家族蛋白,结构高度保守,主要以同源/异源二聚体形式存在,大小在 25 ~ 32 kD 之间,分布于细胞内不同区域,参与调控细胞内各种生命代谢过

程<sup>[2]</sup>。在植物中,根据序列的同源性将 14-3-3 蛋白分为两大类: $\varepsilon$  类和非  $\varepsilon$  类,两类 14-3-3 蛋白在调节植物生长发育、细胞信号传导、响应逆境胁迫等方面发挥重要作用<sup>[3-6]</sup>。

随着拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)与水稻(*Oryza sativa*)基因组测序的完成,14-3-3 蛋白家族在拟南

收稿日期:2009-04-22

基金项目:“973”国家重点基础研究发展计划项目(2009CB119104)、国家自然科学基金项目(30800873)。

第一作者:刘妍婧。主要研究方向:基因家族进化。电话:010-62836911 Email: yan.jing.liu@163.com 地址:100083 北京市清华东路 35 号北京林业大学生物科学与技术学院。

责任作者:杨海灵,副教授。主要研究方向:植物基因家族的功能进化、植物生物化学。电话:010-62336114 Email: yhailing@yahoo.com.cn 地址:同上。

本刊网址: <http://www.bjfujournal.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

芥与水稻中分别有 13 个和 8 个成员,分为  $\varepsilon$  类和非  $\varepsilon$  类<sup>[7-8]</sup>。对拟南芥 14-3-3 蛋白家族成员的一级结构分析表明,除了 C 端区域外,其余部分均相对保守,其中 N 端同源性较低(14%),中间区域同源性则较高(51%)<sup>[9]</sup>。此外,对拟南芥和水稻 14-3-3 蛋白的组织表达分析显示,不同成员之间的表达模式存在较大的差异,说明这些基因在拟南芥和水稻中具有功能的分化<sup>[10]</sup>。

杨树(*Populus spp.*)是我国重要的造林树种,也是工业用材林和生态防护林的主要树种,具有速生丰产、生态效能好等优点。因此,研究与生长发育、抗逆相关的 14-3-3 蛋白家族对于杨树的遗传改良有重要意义。目前,毛果杨(*P. trichocarpa*)全基因组测序已经完成<sup>[11]</sup>,作为第一个完成基因组测序的木本植物,为在全基因组水平上探索草本与木本植物之间基因家族的进化提供了可能。本文基于杨树基因组序列和 14-3-3 蛋白氨基酸序列保守的特性,搜索杨树全基因组寻找 14-3-3 相似的候选基因,通过分析杨树 14-3-3 家族的进化关系、序列同源性、基因结构、染色体定位,以及在杨树中的功能表达,探索木本植物 14-3-3 蛋白家族的进化模式,以期深入揭示植物 14-3-3 蛋白家族的进化生物学意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及主要试剂

毛果杨由瑞典 Umea 大学植物科学中心郑波博士惠赠。TaqDNA 聚合酶、反转录试剂盒 TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0 购自 TaKaRa 公司,Trizol reagent 购自 Invitrogen 公司,实验所用的 PCR 引物由上海英骏公司合成。

### 1.2 数据库搜索

用水稻和拟南芥的 14-3-3 蛋白的氨基酸序列查询 NCBI 中的杨树基因组数据库,采用 TBLASTN 搜索方法,期望值(E-value)设为小于 0.01,其余参数为默认值。候选蛋白序列经 Pfam 分析,若存在 14-3-3 结构域,则认为该候选蛋白属于 14-3-3 蛋白家族。

### 1.3 基因结构分析和蛋白质序列分析

使用从杨树基因组数据库中搜索到的 14-3-3 基因去查询 NCBI 中的杨树 EST 数据库,采用 MEGABLAST 搜索方法,其余参数为默认值。结果显示 11 个基因有全长的 EST 序列,*PtGRF10* 没有 EST 序列,通过 RT-PCR 扩增获得全长的 cDNA 序列,将这些 cDNA 序列与基因组序列进行比较,从而

确定基因的内含子和外显子结构。

利用 Clustal X 1.83 软件对杨树 14-3-3 蛋白家族的氨基酸序列进行多序列比对,参数为默认,然后利用 Bioedit 对比对结果进行手动编辑,并将杨树 14-3-3 蛋白提交 SWISS MODEL 进行结构预测和模拟。

### 1.4 进化树的构建

根据比对中序列的保守部分,使用 MEGA4.0 软件中 Neighbor-joining method (NJ) 的方法构建进化树;采用 JTT 模型,并进行 1 000 次 Bootstrap 抽样。

### 1.5 RT-PCR

根据杨树 12 个 14-3-3 蛋白的核酸序列设计 12 对特异性表达的引物(表 1)。采用 Trizol reagent 提取杨树芽、叶、茎、根和韧皮部的总 RNA,将总 RNA 反转录成 cDNA。以 cDNA 为模板进行 PCR 反应,反应条件是:94℃ 预变性 5 min;然后 94℃ 变性 1 min;60℃ 退火 40 s;72℃ 延伸 1 min,30 个循环后 72℃ 再延伸 5 min。PCR 产物经电泳和 DNA 测序检测。

表 1 检测杨树 14-3-3 基因表达的 RT-PCR 引物  
Tab. 1 RT-PCR primers used in the detection of the expression of *Populus* 14-3-3 genes

目的基因	引物序列(5'-3')
<i>PtGRF1</i>	PtGRF1-F1: AAGCAGTACAGGCAGAGGGTTG PtGRF1-F2: CTATTTCTCTGCCCTGGGTTCA
<i>PtGRF2</i>	PtGRF2-F1: ATCCGTGACTACAGGGCTAAG PtGRF2-F2: AGAGTAAGATTGTCACGAAGGAG
<i>PtGRF3</i>	PtGRF3-F1: ACTCGAATCTGATACCGTCCGC PtGRF3-F2: TTCCTCAAACGCCCTGTTTTC
<i>PtGRF4</i>	PtGRF4-F1: TTGAGCAAAAGGAGGAAGGC PtGRF4-F2: GGAGTTGCATAATTAGAGTGCTGTC
<i>PtGRF5</i>	PtGRF5-F1: CTTGAAGTTGCTCGACACCA PtGRF5-F2: AGATTATCTCGAAGAAGTTGCAT
<i>PtGRF6</i>	PtGRF6-F1: AGGATAAAGAGTACATGCAGAGTG PtGRF6-F2: CTGCAGATTGCTCACCTCCT
<i>PtGRF7</i>	PtGRF7-F1: CATCTGATCCCTCTTCCGC PtGRF7-F2: CGGCAGGTTTTTCCTTTGATTG
<i>PtGRF8</i>	PtGRF8-F1: AGGAAGGAGGAGCCGAAGT PtGRF8-F2: GGCAGGCTTTTCCTTGATC
<i>PtGRF9</i>	PtGRF9-F1: CTCTGTGTTCTACCATAAGATGAAAGG PtGRF9-F2: TTCACCCCCACCAGCTCTTG
<i>PtGRF10</i>	PtGRF10-F1: ATGGATGTACGTCAAAATTCAGT PtGRF10-F2: TCAATTCTCTAAGATGTCATAACTCC
<i>PtGRF11</i>	PtGRF11-F1: CACTGTGTTTTACTACAAGATGAAAGGT PtGRF11-F2: CCCTCACCAGTTCTGGCGGA
<i>PtGRF12</i>	PtGRF12-F1: ATCATGTGACAATCATCAAGGAG PtGRF12-F2: CAGCCTCATCCGTGATATCA

## 2 结果与分析

### 2.1 杨树 14-3-3 家族的鉴定

以 13 个拟南芥 14-3-3 蛋白的氨基酸序列查询杨树基因组数据库,共识别出 12 个 14-3-3 基因,同样利用 8 个水稻 14-3-3 蛋白序列查询杨树基因组数据库获得相同的 12 个 14-3-3 基因(表 2)。这些基因分别位于杨树第 2、5、8、10、11 号染色体,以及 3 个没有定位的染色体片段上,其中在第 2 和第 5 号染色体上分别有 3 个 14-3-3 基因。将这 12 个 14-3-3 的蛋白序列构建系统树,发现杨树 14-3-3 蛋白主要分为两类(图 1),一类是  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白,包含 *PtGRF1*、*PtGRF6*、*PtGRF7*、*PtGRF8*、*PtGRF9*、*PtGRF10* 和 *PtGRF11* 共 7 个基因;另一类是非  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白,包含 *PtGRF2*、*PtGRF3*、*PtGRF4*、*PtGRF5* 和 *PtGRF12* 共 5 个基因。

表 2 杨树 14-3-3 基因家族  
Tab. 2 *Populus* 14-3-3 gene family

基因名字	染色体	染色体位置	内含子数 目/个	蛋白质序 列长度/个
<i>PtGRF1</i>	LGII	6987569-6981320	6	253
<i>PtGRF2</i>	LGII	7159000-7167000	3	260
<i>PtGRF3</i>	LGII	7473000-7466000	3	254
<i>PtGRF4</i>	LGV	8126000-8133000	3	254
<i>PtGRF5</i>	LGV	8988000-8982000	3	260
<i>PtGRF6</i>	LGV	9522000-9527000	6	253
<i>PtGRF7</i>	LGVIII	5910285-5920285	6	261
<i>PtGRF8</i>	LGX	14700000-14693000	6	261
<i>PtGRF9</i>	LGXI	10670000-10679000	4	260
<i>PtGRF10</i>	scaffold_29	3431758-3430613	0	237
<i>PtGRF11</i>	scaffold_146	135000-142000	5	260
<i>PtGRF12</i>	scaffold_123	597000-589000	2	262

### 2.2 基因外显子/内含子结构分析

通过对杨树 12 个 14-3-3 蛋白基因的结构(外显子/内含子)进行分析,发现 *PtGRF2*、*PtGRF3*、*PtGRF4*、*PtGRF5* 和 *PtGRF12* 都具有 4 个外显子/3 个内含子的基因结构,这几个基因均属于非  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白(图 1),而且 *PtGRF2* 与 *PtGRF5*、*PtGRF3* 与 *PtGRF4* 的内含子长度也非常相似。

*PtGRF1*、*PtGRF6*、*PtGRF7*、*PtGRF8*、*PtGRF9* 和 *PtGRF11* 都具有 7 个外显子/6 个内含子的基因结构,这几个基因均属于  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白(图 1)。虽然 *PtGRF10* 属于  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白基因,但是 *PtGRF10* 没有内含子,预示着 *PtGRF10* 可能是通过反转座方式产生。在这 7 个  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白基因中,*PtGRF7* 与 *PtGRF8*、*PtGRF9* 与 *PtGRF11* 的内含子长度也非常相似。

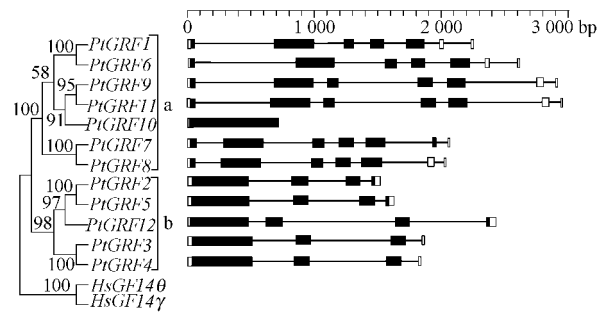


图 1 杨树 14-3-3 基因家族的系统进化树和基因结构

Fig. 1 Phylogenetic tree and gene structure of *Populus* 14-3-3 gene family

注:人 14-3-3 gamma 与 theta 蛋白作为外类群,  
a 表示  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白, b 表示非  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白。

### 2.3 杨树 14-3-3 蛋白的序列及结构分析

在杨树 12 个 14-3-3 蛋白中,蛋白序列长度在 237 ~ 262 个残基之间(表 2),*PtGRF10* 蛋白序列最短,分子量也最小,为 27.6 kD;*PtGRF12* 蛋白序列最长,分子量也最大,为 29.6 kD;其余蛋白的分子量均在 27.6 ~ 29.6 kD。杨树 12 个 14-3-3 蛋白的序列相似性在 46.00% 与 96.50% 之间(表 3),其中 *PtGRF10* 的序列变异最大,与其他 11 个 14-3-3 蛋白的序列相似性为 46.00% ~ 56.50%,预示着这个基因可能经历了快速的进化;然而有 5 个基因对展示了很高的序列相似性,相似性均在 92.00% 以上(表 3),即:*PtGRF1* 和 *PtGRF6* 的序列相似性是 92.00%,*PtGRF2* 和 *PtGRF5* 的序列相似性是 96.50%,*PtGRF3* 和 *PtGRF4* 的序列相似性是 96.00%,*PtGRF7* 和 *PtGRF8* 的序列相似性是 93.80%,*PtGRF9* 和 *PtGRF11* 的序列相似性是 95.00%,预示着这 5 个基因对可能是最近通过重复事件产生的。

本文模拟了杨树  $\epsilon$  类与非  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白的三维结构,结果发现: $\epsilon$  类与非  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白的三维结构高度保守(图 2A、B),主要是由 9 个  $\alpha$  螺旋组成的球状蛋白,其中第 3 个  $\alpha$  螺旋最长,含有 37 个氨基酸残基,第 1 和第 2 个  $\alpha$  螺旋最短,分别含有 14 个氨基酸残基。将 *PtGRF1* 与 *PtGRF2* 蛋白的结构进行比较,发现结构的差异主要是在一些 LOOP 区域(图 2C),可能这些 LOOP 区域对维持每个基因特有的功能起重要作用。

对杨树 12 个 14-3-3 蛋白进行多重序列对比,结果表明:有一些区域绝对保守(图 3),这些绝对保守的区域可能与维持蛋白质的结构与功能相关。结合模拟的蛋白质三维结构,发现第 1、3、5、7 个  $\alpha$  螺旋的序列高度保守,而第 4 和第 6 个  $\alpha$  螺旋的序列变异较大,预示着这两个  $\alpha$  螺旋可能和蛋白的特有功能相关。

表 3 杨树 14-3-3 家族蛋白质序列相似性比较  
Tab. 3 Comparison of protein sequence similarity of *Populus* 14-3-3 gene family

	PtGRF1	PtGRF2	PtGRF3	PtGRF4	PtGRF5	PtGRF6	PtGRF7	PtGRF8	PtGRF9	PtGRF10	PtGRF11	PtGRF12
PtGRF1		64.70	59.40	59.40	63.90	92.00	76.20	75.40	76.10	53.70	76.90	66.00
PtGRF2			68.00	68.70	96.50	65.10	65.10	66.20	66.10	47.30	66.90	81.60
PtGRF3				96.00	66.50	59.40	58.50	58.50	57.60	46.00	59.10	66.70
PtGRF4					67.20	59.40	57.40	58.10	58.70	46.40	59.40	67.90
PtGRF5						64.30	64.70	65.90	65.70	46.90	66.10	82.40
PtGRF6							75.40	75.00	76.90	54.50	77.60	65.60
PtGRF7								93.80	75.40	50.90	76.60	65.90
PtGRF8									75.00	50.10	76.60	67.40
PtGRF9										56.50	95.00	67.30
PtGRF10											56.90	48.80
PtGRF11												68.40
PtGRF12												

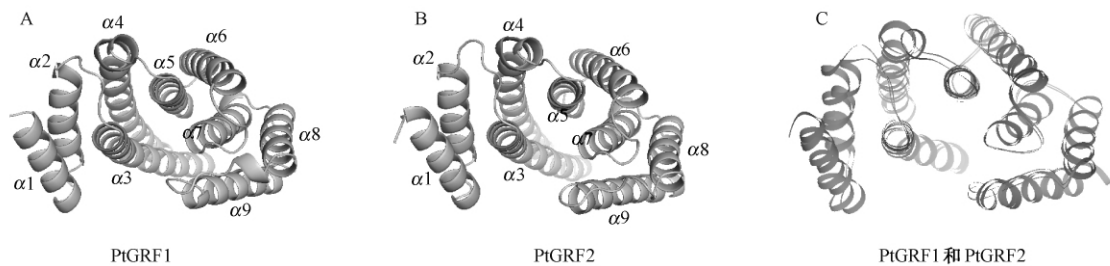


图 2 杨树 14-3-3 蛋白的三维结构模拟

Fig. 2 Simulation of three-dimensional structures of PtGRF1 and PtGRF2

注:图中 A 和 B 分别表示 PtGRF1 与 PtGRF2 蛋白的结构, C 表示 PtGRF1 与 PtGRF2 蛋白三维结构的重叠比较。

## 2.4 杨树 14-3-3 家族的分子进化

对杨树、拟南芥和水稻的 14-3-3 蛋白进行了系统进化树分析(图 4)。结果表明,所有  $\epsilon$  类 14-3-3 蛋白聚成一支,而非  $\epsilon$  类蛋白则聚成另一支。在系统进化树中,发现杨树具有 5 对重复基因对,即: *PtGRF1* 与 *PtGRF6*, *PtGRF2* 与 *PtGRF5*, *PtGRF3* 与 *PtGRF4*, *PtGRF7* 与 *PtGRF8*, *PtGRF9* 与 *PtGRF11*。这 5 对重复基因对是在杨树和拟南芥分化之后形成的。为了确定这 5 对重复基因对是通过什么遗传机制产生的,本文把这 10 个基因定位在染色体上,发现 *PtGRF1*、*PtGRF2* 和 *PtGRF3* 位于第 2 号染色体上,而 *PtGRF4*、*PtGRF5* 和 *PtGRF6* 位于第 5 号染色体上,而且这几个基因刚好位于杨树最近的一次全基因组加倍(60~65 百万年)的染色体片断上<sup>[11]</sup>(图 5A)。预示这 3 个重复基因对是通过全基因组加倍产生的,而且,每对重复基因对的序列相似性非常高、基因结构高度一致也支持这一推断。同理, *PtGRF7* 与 *PtGRF8* 也是杨树全基因组加倍时

产生的(图 5A)。*PtGRF9* 位于第 11 号染色体,而 *PtGRF11* 位于一个没有定位的染色体片断上,通过分析这两个基因在染色体位点前后 60 000 bp 的基因组序列的相似性,发现这两段 DNA 的序列有很高的相似性(图 5B),预示这对重复基因对也是通过全基因组加倍产生的。

为了探讨这些重复基因对受到何种选择,使用 KaKs\_Calculator 软件,采用 Nei-Gojobori 进化途径法,计算了这 5 个重复基因对的  $K_a$ 、 $K_s$  值(表 4),其中  $K_a$  是指编码序列每个碱基的非同义突变率(nonsynonymous substitution rate), $K_s$  是指同义突变率(synonymous substitution rate)。 $K_a/K_s$  值显著小于 1 表示该基因受到净化选择约束。这 5 对重复基因对的  $K_a/K_s$  值在 0.058~0.137 之间,说明这 5 对重复基因对受到较强的净化选择约束,预示着每对基因中的两个成员可能都是功能基因,而且功能可能保守。

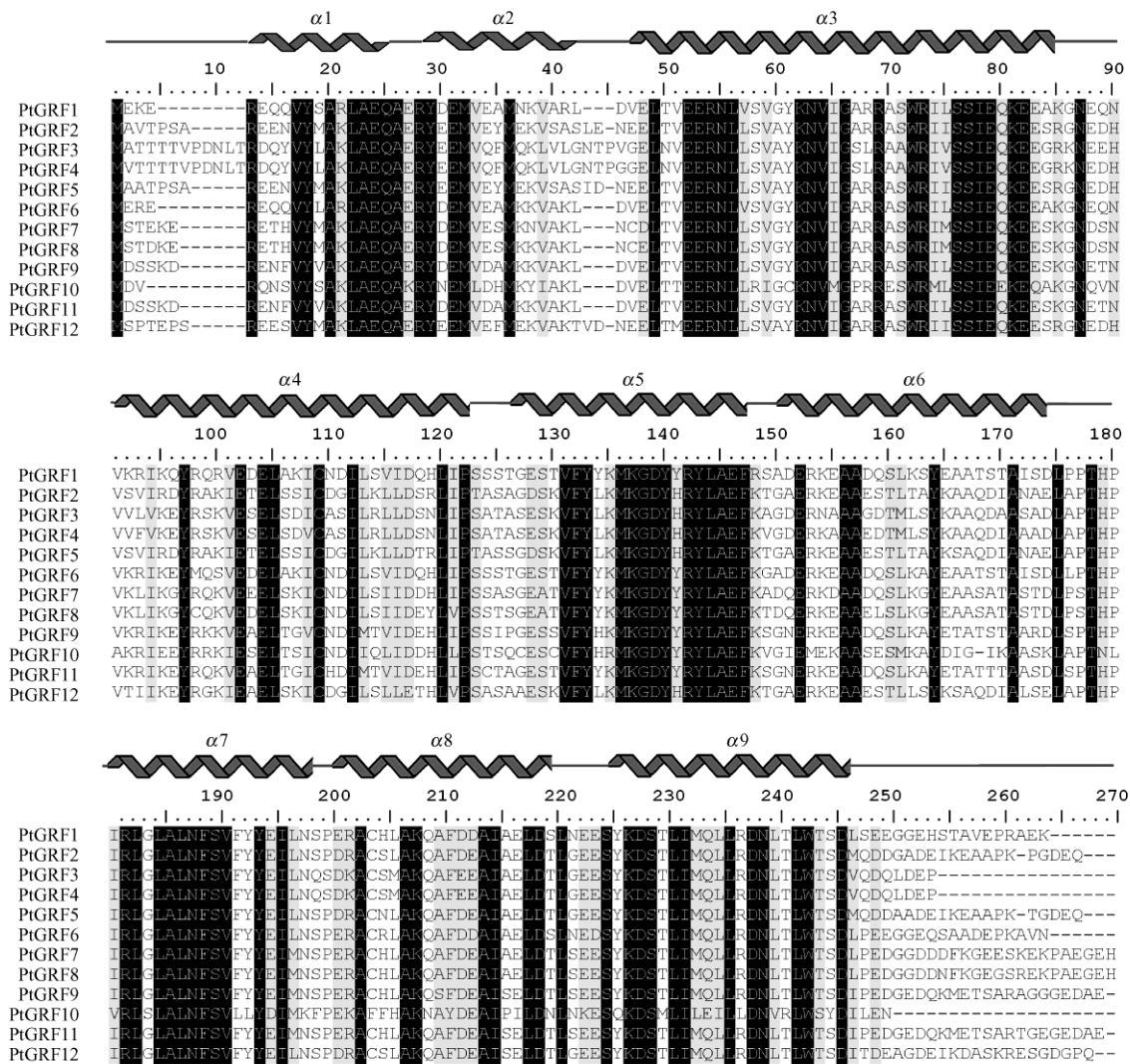


图 3 杨树 14-3-3 蛋白氨基酸序列比对

Fig. 3 Sequence alignment of *Populus* 14-3-3 proteins

注: 图中序列黑色部分表示完全匹配, 灰色为部分匹配。序列上部的螺旋表示蛋白的 9 个  $\alpha$  螺旋区域。

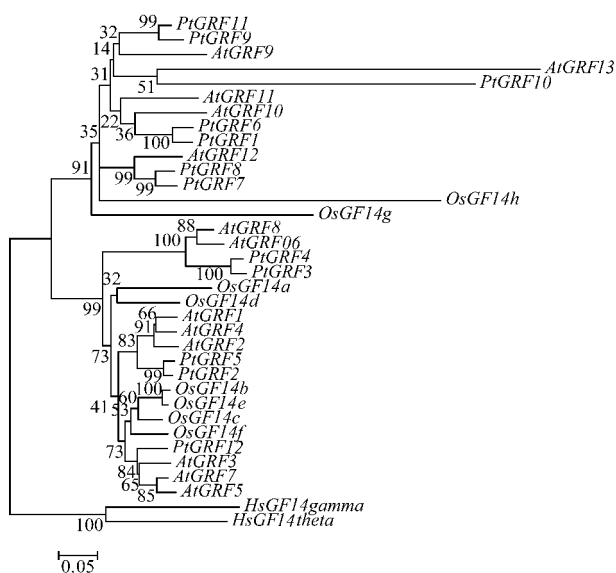


图 4 杨树、拟南芥、水稻 14-3-3 家族的系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of *Populus*, rice and *Arabidopsis* 14-3-3 gene family

注: 14-3-3 gamma 与 theta 蛋白作为外类群。

## 2.5 杨树 14-3-3 家族的表达分析

RT-PCR 检测了杨树在正常生长条件下 12 个 14-3-3 蛋白基因在不同组织中的表达模式 (图 6)。结果显示: *PiGRF1*、*PiGRF2*、*PiGRF3*、*PiGRF4*、*PiGRF5*、*PiGRF7*、*PiGRF9*、*PiGRF12* 这 8 个基因在 5 个组织中均表达, 预示着这 8 个基因可能是组成性表达基因; *PiGRF10* 仅在芽和叶中有微量表达; *PiGRF6*、*PiGRF8*、*PiGRF11* 这 3 个基因在芽、叶、茎和根中检测到了表达, 而在韧皮部中没有检测到表

表 4 重复基因对的  $K_a$ 、 $K_s$  值Tab. 4  $K_a$  and  $K_s$  of duplicated gene pairs

重复基因对	$K_a$	$K_s$	$K_a/K_s$	$P$
<i>PiGRF1</i> 与 <i>PiGRF6</i>	0.035	0.256	0.137	$7.93 \times 10^{-13}$
<i>PiGRF2</i> 与 <i>PiGRF5</i>	0.015	0.259	0.058	$7.47 \times 10^{-19}$
<i>PiGRF3</i> 与 <i>PiGRF4</i>	0.019	0.203	0.094	$5.88 \times 10^{-13}$
<i>PiGRF7</i> 与 <i>PiGRF8</i>	0.027	0.245	0.110	$4.17 \times 10^{-14}$
<i>PiGRF9</i> 与 <i>PiGRF11</i>	0.022	0.281	0.078	$3.76 \times 10^{-18}$

达,一种可能性是由于在韧皮部中表达量太低,RT-PCR 没有检测到这 3 个基因,还有一种可能是这 3 个基因在韧皮部中根本就没有表达。

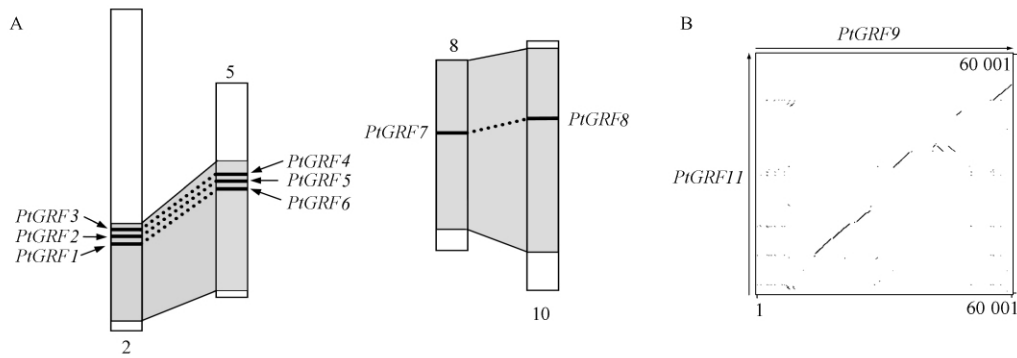


图 5 杨树 14-3-3 基因家族的扩张机制

Fig. 5 Mechanism of gene expansion of *Populus* 14-3-3 family

注:图 A 中灰色部分表示全基因组加倍时重复的染色体片段,图 B 表示 *PiGRF9* 与 *PiGRF11* 在染色体位点前后 60 000 bp 的基因组序列的相似性。

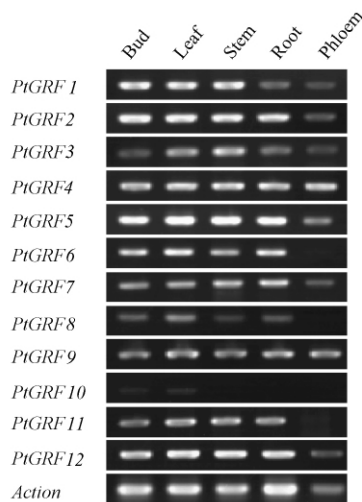


图 6 杨树 14-3-3 基因家族的表达模式

Fig. 6 Expression of *Populus* 14-3-3 gene family

### 3 讨论与结论

我们发现,杨树 14-3-3 基因家族包含 12 个成员,其中  $\varepsilon$  类有 7 个基因,非  $\varepsilon$  类有 5 个基因;在拟南芥中, $\varepsilon$  类与非  $\varepsilon$  类分别有 5 个与 8 个基因;而水稻的  $\varepsilon$  类与非  $\varepsilon$  类分别有 2 个与 6 个基因,所以杨树  $\varepsilon$  类 14-3-3 基因的扩张速度最快。是什么遗传机制导致杨树  $\varepsilon$  类 14-3-3 基因的扩张呢? 基因家族的扩张机制主要有基因重复(包括串联重复、大片断重复或全基因组加倍)、转座、逆转座等<sup>[12]</sup>。通过分析杨树 14-3-3 基因家族的基因结构、染色体位置并结合进化树,发现杨树  $\varepsilon$  类 14-3-3 基因的扩张主要是通过全基因组加倍事件而引起的。在最近的一次杨树全基因组加倍事件(60 ~ 65 百万年)<sup>[11]</sup>中共产生了 5 个新的 14-3-3 蛋白基因,其

中有 3 个是  $\varepsilon$  类 14-3-3 蛋白,2 个是非  $\varepsilon$  类 14-3-3 蛋白。

基因重复和分化一直被认为是新基因起源或基因功能分化的主要途径。根据经典的理论,当一个基因发生重复后,最初的重复基因的功能是完全冗余,由于选择压力的松弛,两个重复基因各自能积累不同的遗传变异,进而改变基因的结构和功能<sup>[13]</sup>。目前认为重复基因可能有 3 种不同的命运:第一,其中 1 个拷贝保留了祖先基因的功能,而另外 1 个拷贝成为假基因;第二,1 个拷贝保留了祖先基因的功能,而另外 1 个拷贝获得了不同于祖先基因的新的功能;第三,2 个拷贝发生了亚功能化,分担了祖先基因的功能,而他们合起来的功能则涵盖了祖先基因功能<sup>[14]</sup>。对于杨树 14-3-3 蛋白,3 个重复基因对(*PiGRF1* 与 *PiGRF6*、*PiGRF7* 与 *PiGRF8*、*PiGRF9* 与 *PiGRF11*)的表达模式发生了变异,预示着这几个重复基因对的功能可能已经发生了分化。然而,重复基因对 *PiGRF2* 与 *PiGRF5*、*PiGRF3* 与 *PiGRF4* 的表达模式完全相同,而且这两个重复基因对的序列相似性在 5 个杨树 14-3-3 重复基因对中也最高,分别是 96.50% 和 96.00%;说明这两个重复基因对的序列变异很小,这两个重复基因对的  $K_a/K_s$  分别是 0.058 和 0.094,说明这两个重复基因对受到很强的净化选择压力。这一系列证据表示这两个重复基因对的功能可能没有发生分化,同时也说明这几个基因的功能可能对杨树非常重要,因此进化的力量使得这两个重复基因对保持功能不分化。*PiGRF10* 仅在芽和叶中有微量表达,*PiGRF10* 没有内含子,可能是通过反转座方式产生;而且 *PiGRF10* 与其他 11 个 14-3-3 蛋白相比,其序列变异最大,

在系统树中枝长最长,预示着这个基因经历了快速的进化。因此,这个基因可能已经成为假基因,或者这个基因获得了与其他 14-3-3 蛋白不同的功能。

#### 参 考 文 献

- [1] MOORE B W, PEREZ V J. *Specific acidic proteins of the nervous system* [C]. The Marine Biological Laboratory, Woods Hole, MA: Prentice-Hall Inc, 1967: 343-359.
- [2] FERL R J. 14-3-3 proteins and signal transduction [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996, 47(1): 49-73.
- [3] MAYFIELD J D, FOLTA K M, PAUL A L, et al. The 14-3-3 proteins mu and upsilon influence transition to flowering and early phytochrome response [J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(4): 1692-1702.
- [4] SCHOONHEIM P J, SINNIGE M P, CASARETTO J A, et al. 14-3-3 adaptor proteins are intermediates in ABA signal transduction during barley seed germination [J]. *Plant Journal*, 2007, 49(2): 289-301.
- [5] SCHOONHEIM P J, COSTA PEREIRA D D, DE BOER A H. Dual role for 14-3-3 proteins and ABF transcription factors in GA and ABA signalling in barley (*Hordeum vulgare*) aleurone cells [J]. *Plant, Cell and Environment*, 2009, 32(5): 439-47.
- [6] CHEN F, LI Q, SUN L, et al. The rice 14-3-3 gene family and its involvement in responses to biotic and abiotic stress [J]. *DNA Research*, 2006, 13(2): 53-63.
- [7] DELILLE J M, SEHNKE P C, FERL R J. The *Arabidopsis* 14-3-3 family of signaling regulators [J]. *Plant Physiology*, 2001, 126(1): 35-8.
- [8] 金谷雷, 汪旭升, 朱军. 水稻 14-3-3 蛋白家族的生物信息学分析 [J]. *遗传学报*, 2005, 32(7): 726-732.
- [9] CHUNG H J, SEHNKE P C, FERL R J. The 14-3-3 proteins: Cellular regulators of plant metabolism [J]. *Trends in Plant Science*, 1999, 4(9): 367-371.
- [10] YAO Y, DU Y, JIANG L, et al. Molecular analysis and expression patterns of the 14-3-3 gene family from *Oryza sativa* [J]. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2007, 40(3): 349-357.
- [11] TUSKAN G A, DIFAZIO S, JANSSEN S, et al. The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray) [J]. *Science*, 2006, 313(5793): 1596-1604.
- [12] KONG H, LANDHERR L L, FROHLICH M W, et al. Patterns of gene duplication in the plant SKP1 gene family in angiosperms: Evidence for multiple mechanisms of rapid gene birth [J]. *Plant Journal*, 2007, 50(5): 873-885.
- [13] ZHANG J Z. Evolution by gene duplication: An update [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2003, 18(6): 292-298.
- [14] MOORE R C, PURUGGANAN M D. The evolutionary dynamics of plant duplicate genes [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(2): 122-128.

(责任编辑 赵 勃)

## 《Chinese Birds》(《中国鸟类》) 征稿启事

为加强中国与世界的鸟类学学术交流,提高中国鸟类学的学术水平和国际影响,北京林业大学申办了中国首份鸟类学学术期刊《Chinese Birds》(《中国鸟类》)(CN11-5870/Q)。该刊将由北京林业大学和中国动物学会鸟类学分会共同主办,高等教育出版社出版。《Chinese Birds》为面向全球的英文学术期刊,主要发表经同行评议的研究论文、综述和研究简报等,收稿范围涵盖鸟类学所有研究方向。

中国科学院院士郑光美教授担任本刊主编,编委会成员来自国内外各高校、学会及科研院所的知名学者。

该刊为季刊,16开,创刊号已于2010年3月出版。欢迎国内外从事鸟类学研究的专家学者积极投稿,创刊年将免收稿件评审费及版面费。

联系人:程朋军、颜帅

地 址:北京市海淀区清华东路35号北京林业大学148信箱《Chinese Birds》编辑部

邮 编:100083

电 话:86-10-62337915 86-10-62337605

Email: pjcheng@bjfu.edu.cn (程朋军)

yanshuai@bjfu.edu.cn (颜帅)