

· 农业生物技术 ·

茄子 TCP 基因家族全基因组的鉴定与分析

杨婷^{1,2}, 黎成³, 申佳瑜³, 庄彬贤³, 温永仙^{3,4}

1 福建农林大学 农学院, 福建 福州 350028

2 福建省作物设计育种重点实验室, 福建 福州 350003

3 福建农林大学 计算机与信息学院, 福建 福州 350002

4 福建农林大学 统计与应用研究所, 福建 福州 350002

杨婷, 黎成, 申佳瑜, 庄彬贤, 温永仙. 茄子 TCP 基因家族全基因组的鉴定与分析. 生物工程学报, 2022, 38(8): 2974-2988.
YANG T, LI C, SHEN JY, ZHUANG BX, WEN YX. Genome-wide identification and analysis of the TCP gene family in eggplant (*Solanum melongena* L.). Chin J Biotech, 2022, 38(8): 2974-2988.

摘要: TCP (teosinte branched1/cinnabara/proliferating cell factor) 转录因子是植物特有转录因子家族, 在植物整个生长发育过程中都有着很重要作用。目前, 在茄子 (*Solanum melongena* L.) 中还没有关于 TCP 转录因子的相关报道。本研究利用生物信息学方法在茄子基因组数据库中鉴定出分布于 11 条染色体上的 29 个茄子 TCP 家族基因 (eggplant TCP, *SmTCP*)。研究结果显示, 该家族所有成员均含有编码 TCP 保守结构域的序列。这些成员氨基酸长度范围为 201–538 aa, 外显子数为 1 或 2。亚细胞定位显示, 有 3 个 *SmTCP* (*SmTCP02/03/21*) 蛋白位于细胞质中, 其他 *SmTCP* 蛋白都位于细胞核中。系统发育树和序列特征分析均将 29 个 *SmTCP* 基因分成 Class I (PCF) 和 Class II (CIN 和 CYC/TB1) 两大类。共线性分析发现, 17 对 (21 个) *SmTCP* 基因存在共线性关系, 且这些存在共线性关系的基因都属于片段复制。基因表达模式分析显示, 29 个 *SmTCP* 基因家族成员在 15 个组织或器官中都有表达, 但是不同成员的表达模式存在差异, 其中 CIN 亚家族的 4 个基因 (*SmTCP18/19/20/25*) 在 3 个不同生长期的叶片中均较高表达。*SmTCP* 启动子区域的顺式作用元件分析共发现 4 类顺式作用元件。本研究从多个角度分析了 *SmTCP* 基因分子基础, 研究了 TCP 转录因子对茄子生长发育的影响, 为茄子分子育种提供理论参考。

关键词: 茄子; TCP 基因家族; 基因结构; 进化分析; 组织表达

Received: February 17, 2022; **Accepted:** April 22, 2022; **Published online:** April 29, 2022

Supported by: National Natural Science Foundation of China (32071892); Science and Technology Innovation Special Foundation of Fujian Agriculture and Forestry University of China (CXZX2020109A)

Corresponding author: WEN Yongxian. E-mail: Wen9681@sina.com

基金项目: 国家自然科学基金 (32071892); 福建省农林大学科技创新专项基金 (CXZX2020109A)

Genome-wide identification and analysis of the *TCP* gene family in eggplant (*Solanum melongena* L.)

YANG Ting^{1,2}, LI Cheng³, SHEN Jiayu³, ZHUANG Binxian³, WEN Yongxian^{3,4}

1 College of Agronomy, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350028, Fujian, China

2 Fujian Key Laboratory of Crop Breeding by Design, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350003, Fujian, China

3 College of Computer and information Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

4 Institute of Statistics and Applications, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

Abstract: TCP (teosinte branched1/cinninata/proliferating cell factor) is a group of plant-specific transcription factors that play important roles in plant growth and development. To date, there are no report about TCP transcription factors in eggplant (*Solanum melongena* L.). In this study, twenty-nine eggplant *TCP* (*SmTCP*) family genes distributed on 11 chromosomes were identified from the genome database of eggplant using bioinformatics methods. The results showed that all members of the family contained sequences encoding TCP conserved domains with length of amino acids ranging from 201 to 538 and exon numbers of 1 or 2. Subcellular localization revealed that three *SmTCP* proteins (*SmTCP02/03/21*) were located in the cytoplasm and the other *SmTCP* proteins were located in the nucleus. The 29 TCP transcription factors were divided into Class I (PCF) and Class II (CIN and CYC/TB1) by phylogenetic tree and sequence analysis. Collinearity analysis showed that 17 pairs (21) of *SmTCP* genes had collinearity, and these collinearity genes belonged to segmental duplication. Analysis of gene expression patterns showed that all 29 members of *SmTCP* gene family were expressed in 15 tissues or organs, but the expression patterns were different. Among them, four gene (*SmTCP18/19/20/25*) of CIN subfamily were highly expressed in leaves at different growth stages. Analysis of *cis*-acting elements in the promoter region of *SmTCP* showed that there were four types of *cis*-acting elements, which were light response related *cis*-acting elements, growth and development related *cis*-acting elements, hormone response related *cis*-acting elements and stress related *cis*-acting elements. In summary, the molecular basis of *SmTCP* genes in eggplant and the influence of *TCP* gene on the growth and development of eggplant provided a theoretical basis for molecular breeding of eggplant.

Keywords: eggplant; *TCP* gene family; gene structure; evolutionary analysis; tissue expression

TCP (teosinte branched1/cinninata/proliferating cell factor)是植物特有转录因子家族,广泛参与植物生长发育^[1],其命名来自4个最先被鉴定的基因, *TB1* (teosinte branched 1)、*CYC* (cycloidea)、*PCF1* (proliferating cell factors 1)和 *PCF2* (proliferating cell factors 2)^[2-3]。此类基因均有1个60个左右氨基酸组成的TCP结

构域^[4],并形成一个非典型螺旋-环-螺旋结构(bHLH)^[4-5]。根据保守结构域的差异,*TCP*基因家族成员可划分为Class I (PCF或TCP-P家族)和Class II (TCP-C家族)^[6]两个亚族,与Class II相比,Class I在basic保守结构域缺少4个氨基酸^[7-8]。Class II中各成员差异较大,可进一步划分为CIN和CYC/TB1^[7]两个分支。

TCP 基因家族广泛参与植物种子萌发^[9]、侧枝形成^[10-11]、叶片、花和果实发育^[12]。目前,在拟南芥^[13]、水稻^[14]、番茄^[15]、棉花^[16]、苹果^[17]、草莓^[17]和葡萄^[17]等植物中关于 *TCP* 转录因子研究已有广泛报道。例如,拟南芥中协同调控侧枝形成的 *AtTCP3*、*AtTCP4*、*AtTCP5*、*AtTCP10* 和 *AtTCP13*^[18], 协同调控植株生长和增殖的 *AtTCP8*、*AtTCP15*、*AtTCP21*、*AtTCP22* 和 *AtTCP23*^[19], 影响拟南芥节间长度^[12]并介导赤霉素促进种子萌发^[20]的 *AtTCP14* 和 *AtTCP15*; 水稻中参与细胞周期调控的 *PCF1* 和 *PCF2*^[21-22]; 番茄中在果实发育中发挥重要作用的 *SITCP12*、*SITCP15* 和 *SITCP18*; 西瓜中参与株高调控的 *CITCP14a* 和 *CITCP15*^[23]。除此之外,在防御反应中 *TCP* 基因也发挥着重要作用。例如水稻中防御稻瘟病的正调控因子 *OsTCP21*^[24]; 可以增加柳枝稷转基因植株中乙烯积累和耐盐性的 *PvPCF5*^[25]。

茄子 (*Solanum melongena* L.) 是我国四大设施蔬菜作物之一,对提高农业收入和产业效率具有重要作用,其 *TCP* 转录因子家族并未鉴定。本研究利用生物信息学方法,对茄子 *TCP* 基因家族转录因子进行筛选和鉴定,对这些家族成员染色体定位、理化性质、系统发育、基因结构、序列特征、共线性关系和基因表达模式进行了综合分析,研究结果为全面了解茄子 *TCP* 基因家族在整个生长发育过程中的生物学功能提供新的信息。

1 材料与方法

1.1 茄子 *TCP* 基因家族成员染色体定位及理化性质分析

以 Yao 等^[26]报道的拟南芥 23 条 *TCP* 蛋白序列作为母序列,首先利用 BLAST 程序从茄子基因组数据库 (<http://eggplant-hq.cn>) 将相似度 $\geq 30\%$ 且 E 值 ≤ -10 的序列确定为茄子最初的候选 *TCP* 蛋白。然后利用 NCBI ([\[ncbi.nlm.nih.gov/\]\(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/\)\) 的 CDD 程序分析茄子 *TCP* 候选蛋白结构域。最后,包含 *TCP* 转录家族保守结构域的序列被确定为最终蛋白。](https://www.</p></div><div data-bbox=)

茄子 *TCP* 基因在基因组中的分布图,是利用软件 TBtools^[27]的“Show Genes on Chromosome”模块生成。茄子 *TCP* 候选蛋白氨基酸长度、理论等电点、相对分子质量、亲水性总平均值、不稳定系数和脂溶指数等指标的预测分析,是利用在线软件 ExPASy 的 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) 完成。亚细胞定位分析则是利用在线软件 WOLF PSORT 的 Plant 模块 (<https://wolfpsort.hgc.jp/>) 进行。

1.2 茄子 *TCP* 基因家族成员的系统进化与基因结构分析

运用软件 MEGA-X^[28]构建拟南芥和茄子的 *TCP* 蛋白家族进化树,选择邻接法(neighbor-joining model, NJ), Bootstrap 值设定为 1 000。在线软件 Gene Structure Display Server (GSDS) (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)^[29]被用来分析茄子 *TCP* 基因外显子/内含子 (intron/exon) 的分布情况并绘制基因结构图。

1.3 茄子 *TCP* 基因家族成员的序列特征及保守结构域分析

运用 Clustal X 软件^[30]对最终确认的茄子 *TCP* 蛋白序列进行多序列比对,利用软件 Jalview^[31]对茄子 *TCP* 家族成员的序列特征进行可视化分析。在线工具 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>)^[32]被用作分析茄子 *TCP* 蛋白的保守基序 (motif),设置参数为:10 个 motif,其他为默认值。

1.4 茄子 *TCP* 基因家族成员的共线性分析

运用软件 McScanX^[33]对茄子 *TCP* 基因家族进行共线性分析,运用 Circos 软件绘制茄子 *TCP* 家族成员共线性关系图^[34]。处于共线性关系的基因有两种,分别为串联重复和片段复制。当两个基因比对率和相似性都大于 70%,且其在染色体上的位置间距小于 100 kb 时,则认为

这两个基因属于串联重复^[35]。

1.5 茄子 TCP 基因家族成员的基因表达模式分析

根据已经公布的茄子转录组数据 (PRJNA328564), 利用 FPKM 值 (\log_2 转换) 分析茄子 TCP 家族基因在茄子不同组织器官的表达情况。利用 TBtools 的 Heatmap 程序^[27]绘制 TCP 基因家族成员在茄子不同组织器官的表达模式热图。

1.6 茄子 TCP 基因家族启动子顺式作用元件分析

利用软件 TBtools 的“fasta extract”程序对茄子 TCP 家族基因起始密码子上游 2 000 bp 的启动子区序列进行提取, 然后借助 PlantCare 数据库 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 的“search for care”窗口, 对茄子 TCP 家族基因启动子区序列进行顺式作用元件分析, 最后用软件 TBtools 的“Simple Biosequence Viewer”程序将结果可视化。

2 结果与分析

2.1 茄子 TCP 基因家族成员染色体定位及理化性质分析

通过相似性搜索和结构域判定, 在茄子中共

鉴定出 29 个 TCP 基因家族成员, 并根据其在染色体上的位置, 从 *SmTCP* 01–*SmTCP* 29 进行命名。染色体定位结果显示 (图 1), 29 个 *SmTCP* 基因家族成员不均匀分布在除第 5 号染色体以外的 11 条染色体上。其中, 2 号染色体上分布的 *SmTCP* 基因最多, 共有 6 个, 4 号、9 号和 12 号染色体最少, 各为 1 个, 且 *SmTCP* 基因在染色体上分布位置不均, 大多数位于染色体两端。

对茄子 TCP 家族成员进行理化性质分析, 结果显示 *SmTCP* 理论等电点 (pI) 范围为 5.25 (*SmTCP* 05)–9.71 (*SmTCP* 03 和 *SmTCP* 28), 相对分子质量范围为 21 267.29 Da (*SmTCP* 23)–57641.26 Da (*SmTCP* 01), 氨基酸长度读范围为 201 aa (*SmTCP* 23)–538 aa (*SmTCP* 01)。亚细胞定位分析发现, 除蛋白 *SmTCP*02、*SmTCP*03 和 *SmTCP*21 位于细胞质以外, 其他 *SmTCP* 蛋白则都位于细胞核中。不稳定系数分析结果表明, 29 个 *SmTCP* 蛋白系数都大于 40, 为不稳定蛋白。脂肪族氨基酸指数为 46.70–89.02, 亲水性总平均值在–1.048 至–0.250。所有 *SmTCP* 蛋白亲水性总平均值均小于 0, 为亲水性蛋白 (表 1)。

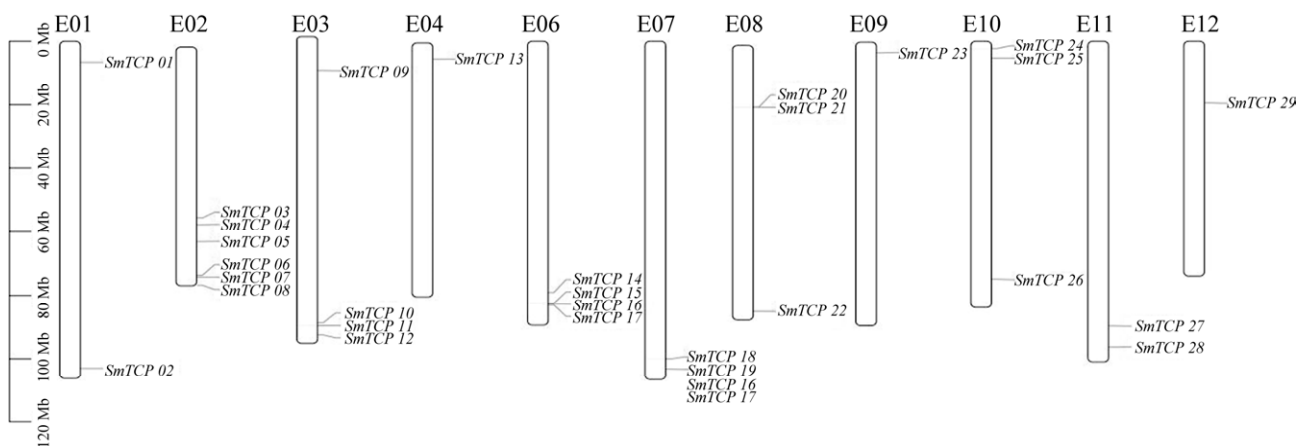


图 1 *SmTCP* 基因家族的染色体定位

Figure 1 Chromosomal location of the *SmTCP* gene family.

表 1 *SmTCP* 基因家族成员信息Table 1 The characteristics of *SmTCP* gene family members

Gene name	Gene ID	Chromosome position	Theoretical isoelectric point	Molecular weight (Da)	Amino acids (aa)	Sub-cellular localization	Instability index	Aliphatic index	Grand average of hydropathicity
<i>SmTCP 01</i>	Smechr0100729.1	Chr1 (6 599 635..6 602 290)	6.75	57 641.26	538	nucl	69.06	53.79	-0.853
<i>SmTCP 02</i>	Smechr0103973.1	Chr1 (102 984 495..102 985 277)	8.79	27 088.42	260	cyto	54.08	78.81	-0.250
<i>SmTCP 03</i>	Smechr0201023.1	Chr2 (53 746 123..53 747 774)	9.71	27 401.41	244	cyto	43.99	89.02	-0.502
<i>SmTCP 04</i>	Smechr0201168.1	Chr2 (55 904 636..55 906 944)	8.91	30 779.31	285	nucl	59.01	69.93	-0.620
<i>SmTCP 05</i>	Smechr0201631.1	Chr2 (61 329 795..61 331 204)	5.25	38 242.76	337	nucl	55.17	55.85	-0.903
<i>SmTCP 06</i>	Smechr0202786.1	Chr2 (71 857 581..71 858 573)	9.15	27 870.39	244	nucl	56.70	68.77	-0.857
<i>SmTCP 07</i>	Smechr0202855.1	Chr2 (72 457 550..72 459 832)	6.63	31 950.41	285	nucl	49.24	68.00	-0.790
<i>SmTCP 08</i>	Smechr0203181.1	Chr2 (74 966 486..74 967 223)	6.52	25 954.84	245	nucl	55.34	67.39	-0.568
<i>SmTCP 09</i>	Smechr0300562.1	Chr3 (10 424 281..10 426 047)	9.67	32 290.79	281	nucl	53.26	65.30	-0.796
<i>SmTCP 10</i>	Smechr0302978.1	Chr3 (89 988 990..89 990 937)	6.67	40 118.19	355	nucl	64.13	62.34	-0.846
<i>SmTCP 11</i>	Smechr0303082.1	Chr3 (90 882 536..90 884 482)	7.95	43 898.27	412	nucl	53.67	60.00	-0.641
<i>SmTCP 12</i>	Smechr0303405.1	Chr3 (93 799 130..93 800 340)	8.81	40 599.22	358	nucl	48.34	62.65	-0.928
<i>SmTCP 13</i>	Smechr0400435.1	Chr4 (5 076 501..5 077 673)	6.99	44 070.66	390	nucl	57.47	57.36	-0.855
<i>SmTCP 14</i>	Smechr0602003.1	Chr6 (79 029 964..79 031 590)	7.93	34 585.13	324	nucl	48.06	53.95	-0.748
<i>SmTCP 15</i>	Smechr0602362.1	Chr6 (82 484 588..82 486 426)	8.78	39 664.04	355	nucl	58.41	60.76	-0.956
<i>SmTCP 16</i>	Smechr0602388.1	Chr6 (82 745 059..82 746 619)	9.54	31 357.84	286	nucl	59.29	60.66	-0.658
<i>SmTCP 17</i>	Smechr0602431.1	Chr6 (83 122 187..83 124 390)	6.93	44 780	411	nucl	61.51	57.69	-0.816
<i>SmTCP 18</i>	Smechr0702127.1	Chr7 (103 181 314..103 183 919)	6.33	33 720.11	296	nucl	50.45	57.74	-0.929
<i>SmTCP 19</i>	Smechr0702382.1	Chr7 (99 954 133..99 956 862)	6.37	42 918.16	396	nucl	47.94	60.71	-0.645
<i>SmTCP 20</i>	Smechr0800707.1	Chr8 (19 442 358..19 450 443)	6.33	47 904.47	435	nucl	55.65	56.02	-0.878
<i>SmTCP 21</i>	Smechr0800708.1	Chr8 (19 512 341..19 520 337)	5.87	45 437.77	411	cyto	59.55	57.88	-0.888
<i>SmTCP 22</i>	Smechr0802294.1	Chr8 (83 815 514..83 816 839)	7.14	37 980.52	354	nucl	57.72	68.95	-0.476
<i>SmTCP 23</i>	Smechr0900228.1	Chr9 (3 343 422..3 344 561)	7.76	21 267.04	201	nucl	47.04	70.90	-0.364
<i>SmTCP 24</i>	Smechr1000174.1	Chr10 (2 277 741..2 284 035)	9.28	41 959.29	365	nucl	43.33	66.52	-0.904
<i>SmTCP 25</i>	Smechr1000441.1	Chr10 (5 308 155..5 310 278)	6.31	53 231.74	481	nucl	61.22	61.68	-0.769
<i>SmTCP 26</i>	Smechr1002163.1	Chr10 (74 894 878..74 896 232)	7.16	39 003.48	349	nucl	53.37	49.51	-1.048
<i>SmTCP 27</i>	Smechr1102037.1	Chr11 (89 693 340..89 694 515)	7.03	44 917.01	391	nucl	57.68	46.70	-1.210
<i>SmTCP 28</i>	Smechr1102385.1	Chr11 (96 297 988..96 299 297)	9.71	28 283.63	272	nucl	53.97	70.85	-0.353
<i>SmTCP 29</i>	Smechr1200724.1	Chr12 (19 437 206..19 439 153)	7.05	40 482.62	380	nucl	59.45	53.42	-0.727

2.2 茄子 TCP 家族成员的系统进化与基因结构分析

为了解析茄子 TCP 转录因子的进化历程, 将茄子的 TCP 蛋白序列 (29 条) 和拟南芥的 TCP 蛋白序列 (23 条) 进行整合并构建系统发育树 (图 2)。参考 Cubas^[36]在拟南芥中的分组规则, 将茄子 TCP 蛋白分成 Class I (PCF) 和

Class II (CIN 和 CYC/TBI), 共 2 个亚组、3 个分支。这 3 个分支中, PCF 含有成员最多, 共 25 个, 其中茄子 12 个, 拟南芥 13 个, 而 CYC/TBI 包括的成员最少, 其中茄子 6 个, 拟南芥 2 个。每个分支中都含有茄子和拟南芥的 TCP 蛋白成员, 说明物种的差异并未使 TCP 转录因子家族成员单独聚类。

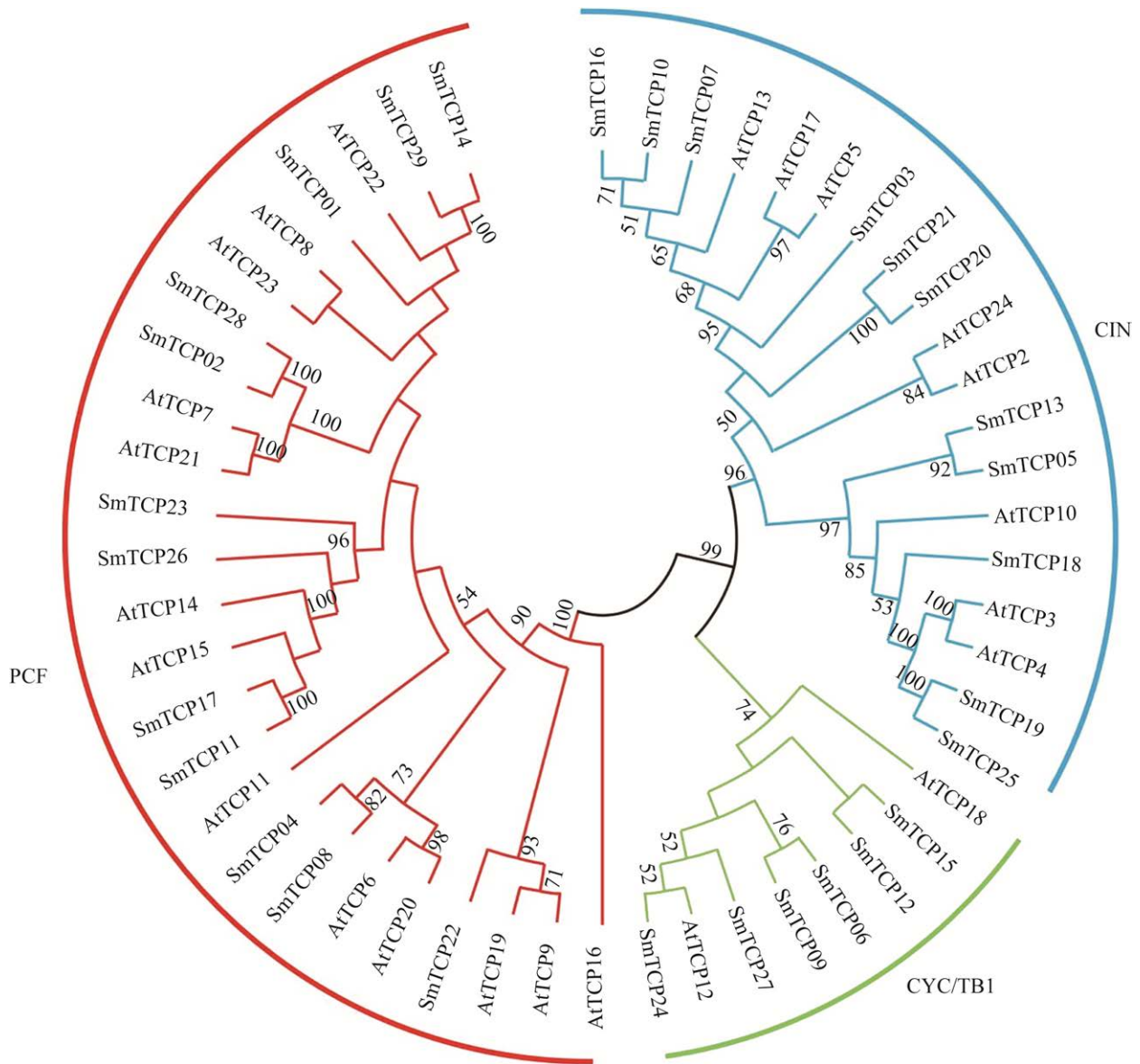


图 2 茄子与拟南芥 TCP 家族系统进化分析

Figure 2 Phylogenetic analysis of *Solanum melongena* (Sm) and *Arabidopsis thaliana* (At).

将 29 个茄子 TCP 蛋白序列单独聚类 (图 3A), 参考系统发育分析结果 (图 2) 将茄子的 TCP 蛋白分为 2 个亚族、3 个分支 (bootstrap \geq 90%), 分别为 CIN、CYC/TB1 和 PCF 亚族。该分组结果和系统发育树分组结果完全相同, 即 3 个分支中, PCF 亚族包含的成员最多, 为 12 个; 其次是 CIN 亚族, 为 11 个; CYC/TB1 亚族包含的成员最少, 为 6 个。

基因结构分析表明 (图 3B), *SmTCP* 家族基因结构简单, 包含外显子数为 1 或 2 个。具有相似结构的家族成员往往聚在同一分支中, 例如, 在 CIN 亚家族中, 除了 *SmTCP 03* 和 *SmTCP20* 外, 其余成员均只含有一个外

显子。

2.3 茄子 TCP 蛋白序列特征和保守结构域分析

为分析茄子 TCP 家族成员蛋白结构域组成, 对鉴定的 29 个茄子 TCP 家族成员蛋白进行序列特征比对分析 (图 4)。结果显示, 所有茄子 TCP 成员均含有 1 个由约 60 个氨基酸组成的 TCP 保守结构域 (basic-helix-loop-helix, bHLH)。参考 Zhao 等^[8]的分类方法, 根据其氨基酸数目的不同, 可将茄子 TCP 家族成员分成 Class I 和 Class II 两大类, 其中 Class II 类蛋白基本结构域比 Class I 类蛋白多 4 个氨基酸。该分组结果和系统发育树分组结果一致。

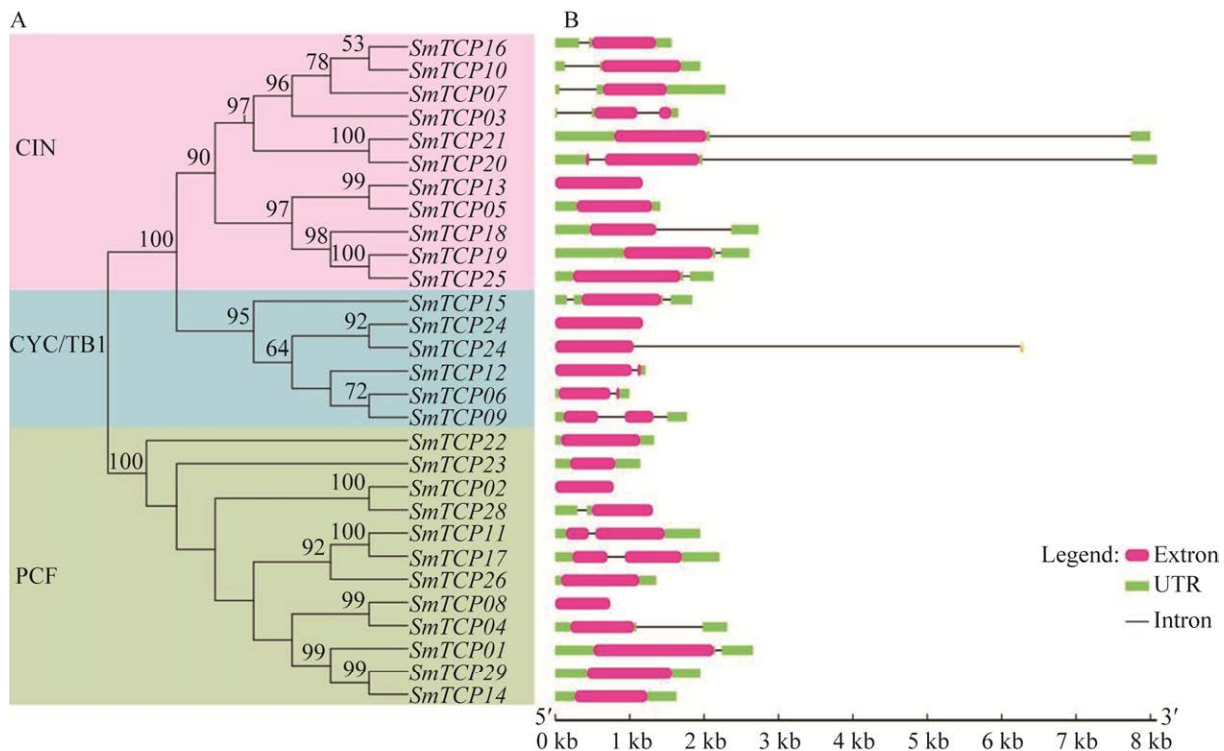


图 3 *SmTCP* 家族基因结构与进化 A: *SmTCP* 基因的进化关系; B: *SmTCP* 基因的内含子/外显子结构

Figure 3 Gene structure and evolution of *SmTCP* family in *Solanum melongena*. (A) Phylogenetic relationships of *SmTCP* genes. (B) Intron-extron structure of *SmTCP* genes

保守基序 (motif) 分析显示,在 29 条茄子 TCP 蛋白序列中共鉴定出 10 个 motif (表 2),同一亚族成员大多含有相同的 motif 组成和顺序排列 (图 5)。例如,所有 Class I 成员都含有

相邻的 motif 1 和 motif 2 基序; Class II 中除了 SmTCP 09 不含有 motif 3 以外,其余都有相邻的 motif 3 和 motif 1 基序,其中 CYC/TB1 分支在此基础上还多了一个 motif 4 基序。

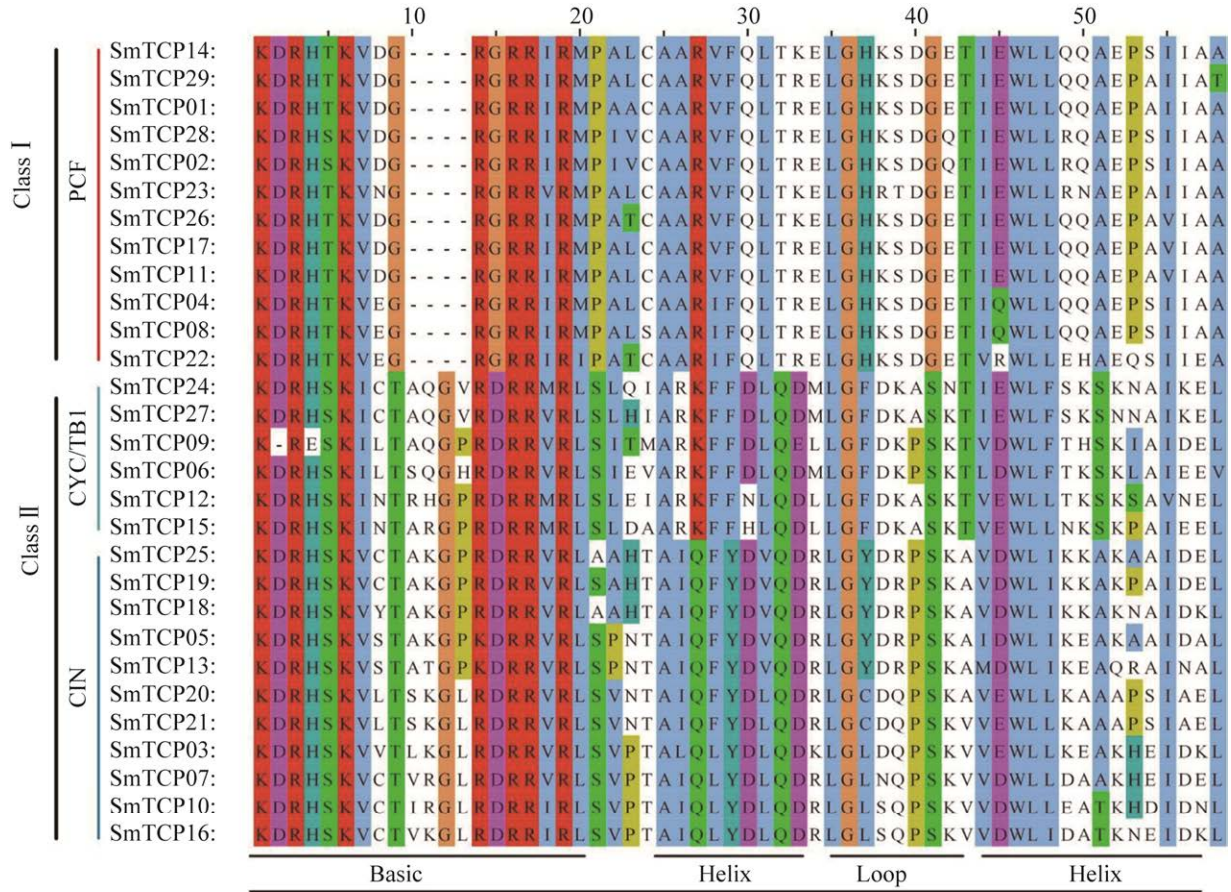


图 4 茄子 TCP 家族蛋白保守结构域序列比对

Figure 4 Alignment of conserved domain of the TCP family proteins in *Solanum melongena*.

表 2 茄子 TCP 蛋白的 10 个预测保守基序

Table 2 Sequence of 10 predicted motifs of SmTCP proteins

Motif	Length	Motif sequences
1	50	KRHTKVGGRDRRVRLSALTAARFFDLQDELGHDSPTSKTIEWLLKQAKPAI
2	21	IAATGTGTIPANFSTLNVSLR
3	15	IVRVS RATGRKDRHS
4	20	KESRAKARERARERTKEKLLK
5	48	HHQAVLPMYPASIPGIGFASEVGGFSGFRIPARIQEEEEHGDGSDKP
6	10	PGA AFWMLPA
7	9	LHHHHQH HH
8	24	MEMEEIQSEECKFPRMNNKEDEQY
9	50	IYLG NPLQLRPVSSPMFSGEHRPELQHFPFGGDNLPVVTSSSEGSNC
10	45	ELPPLEAFPDTLQLSDEKRSSVGTEPGFDS PDVEMDDDPNCNQQQ

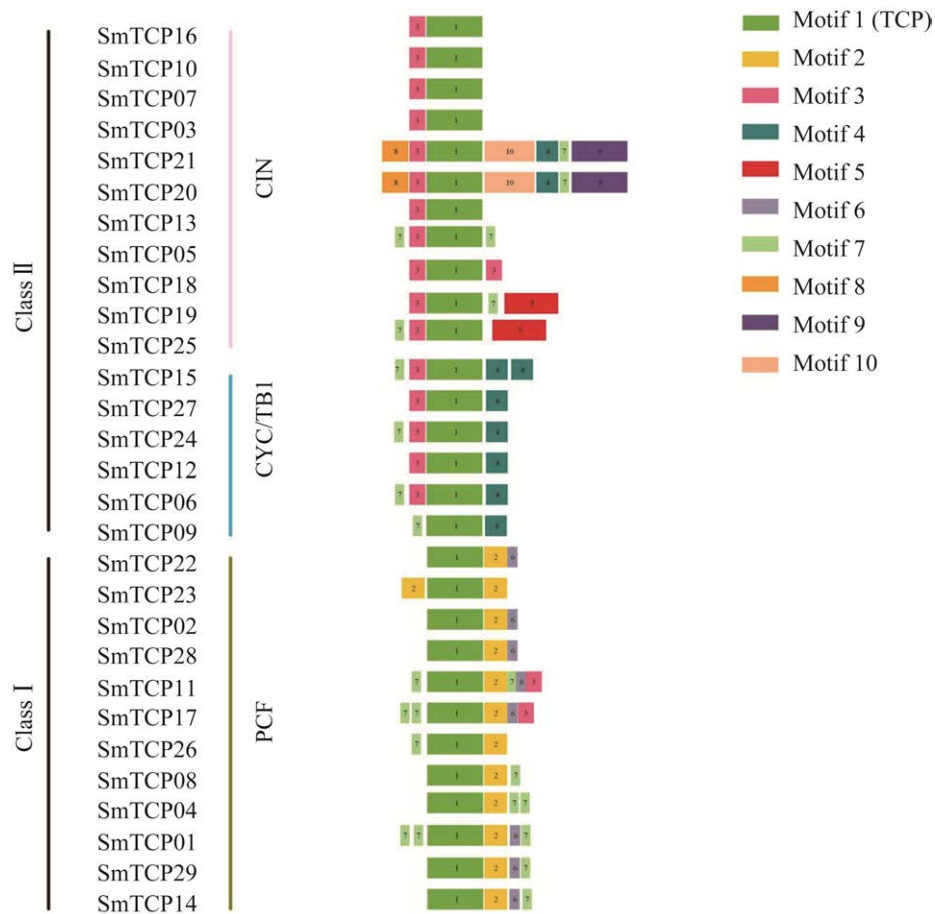


图 5 *SmTCP* 蛋白保守基序组成与分布

Figure 5 Conserved motif for TCP proteins in *Solanum melongena*.

进一步利用 CDD 对 10 个基序进行鉴定, 其中 motif 1 注释为 TCP 结构域组成部分, 而 29 条茄子 TCP 蛋白序列恰好均含有 motif 1。

2.4 茄子 TCP 基因家族的共线性分析

共线性分析显示 (图 6), 在茄子的 TCP 基因家族成员中, 共有 17 对 (21 个) 基因存在共线性关系, 它们全部属于片段复制。这些存在共线性关系的基因非均匀地分布在除染色体 2、3、6、7、10、11 和 12 上。其中第 2 号染色体上的个数最多, 为 6 个; 其次为第 3 号和第 6 号染色体, 都为 4 个; 染色体 4、11 和 12 上最

少, 都为 1 个。存在一个 *SmTCP* 基因同时和多个 *SmTCP* 基因存在共线性关系的情况, 例如 *SmTCP24* 同时与 *SmTCP12*、*SmTCP15* 和 *SmTCP27* 存在共线性关系。

2.5 茄子 TCP 基因家族成员的基因表达模式分析

为分析 *SmTCP* 基因在不同组织或器官中的表达变化, 本研究从公共数据库下载得到 29 个 *SmTCP* 基因的转录组数据, 该数据包含了胚根、根、子叶、茎、叶、花、果梗以及果的不同发育期等共 15 个器官或组织中的 *SmTCP*

基因表达情况 (表 3)。

利用从转录组数据中获取的基因 FPKM 值, 绘制得到 29 个 *SmTCP* 基因的表达量热图 (图 7)。热图显示, 不同 *SmTCP* 基因的表达差异较大, 其中 Class I 亚组的基因在 15 个组织或器官中, 普遍表现出了较高的表达量。Class II 中的成员表达量则普遍较低。例如: 属于 Class I 亚族的 PCF

分支中有 75% (9/12) 的基因(*SmTCP22/23/02/28/11/04/01/29/14*) 几乎在 15 个组织或器官中都有较高表达 (PFKM \geq 3), 说明该分支成员可能在茄子的整个生长周期都发挥重要作用; CIN 分支中, 有 4 个基因 (*SmTCP18/19/20/25*) 在茄子的叶、子叶和衰老叶片中均较高地表达, 表明该小组成员可能和叶片的发育相关。

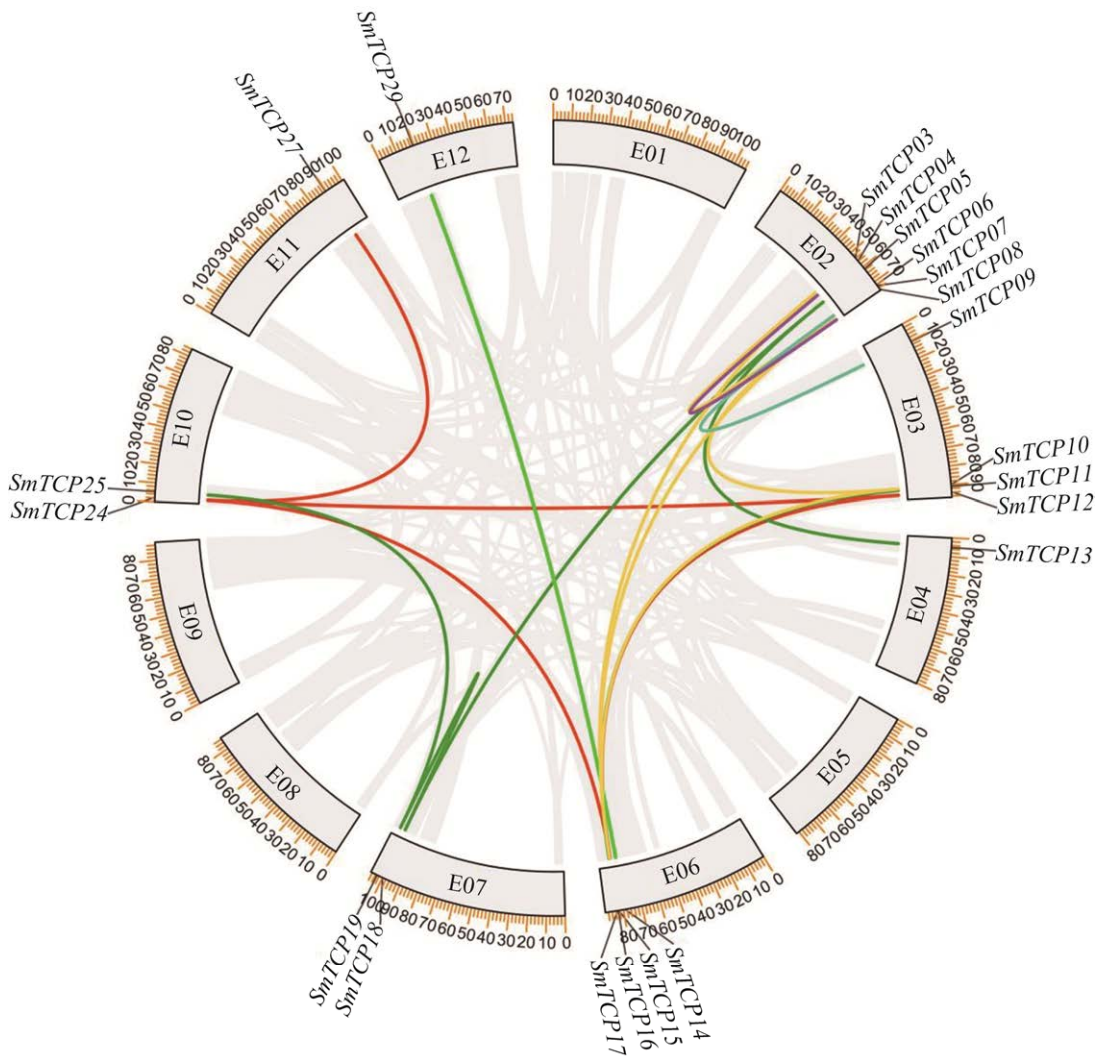


图 6 茄子 TCP 基因家族成员的共线性关系

Figure 6 Collinearity analysis of TCP gene family members in *Solanum melongena*. Scale bar on chromosome shows the length of the chromosome (Mb), the same color name indicates that the gene has a segmental duplication.

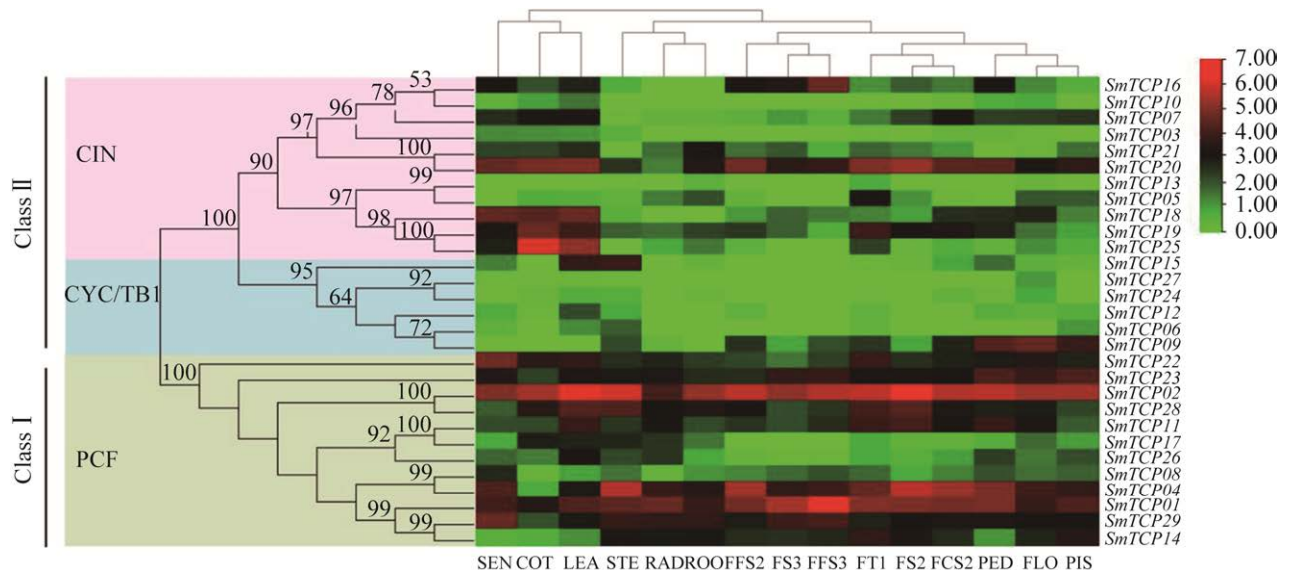
表 3 取样组织与周期

Table 3 Sampling organization and period

Sampling organization and period	Abbreviation
Radicles	RAD
Roots	ROO
Cotyledons	COT
Stems	STE
Leaves	LEA
Flowers	FLO
Fruits peduncle	PED
Pistils	PIS
Fruits stage 1	FT1
Fruits skin stage 2	FS2
Fruits flesh stage 2	FFS2
Fruits calyx stage 2	FCS2
Fruits skin stage 3	FS3
Fruits flesh stage 3	FFS3
Senescent leaves	SEN

2.6 茄子 *TCP* 家族基因启动子区的顺式作用元件分析

为了进一步了解茄子 *TCP* 家族基因的功能,对茄子 *TCP* 家族基因上游 2 000 bp 启动子区的顺式作用元件进行了分析 (图 8)。在茄子 *TCP* 家族基因的启动子区,共找到 4 类顺式作用元件。光响应相关顺式作用元件最多,每个 *SmTCP* 基因都包含 5–18 个。10 个茄子 *TCP* 基因 (*SmTCP01/04/05/07/08/12/15/19/21/27*) 含有生长发育相关的顺式作用元件,主要包括细胞周期调控和分生组织表达。28 个茄子 *TCP* 基因 (*SmTCP14* 除外) 包含激素响应相关顺式作用元件,主要包括脱落酸、生长素、赤霉素、茉莉酸甲酯和水杨酸响应元件。10 个茄子 *TCP* 基因 (*SmTCP01/03/05/08/10/13/20/22/25/27*) 含有逆境胁迫相关顺式作用元件,主要包括低温响应和防御应激响应相关顺式作用元件。

图 7 *SmTCP* 基因的组织表达情况Figure 7 Tissue expression of *SmTCP* genes.

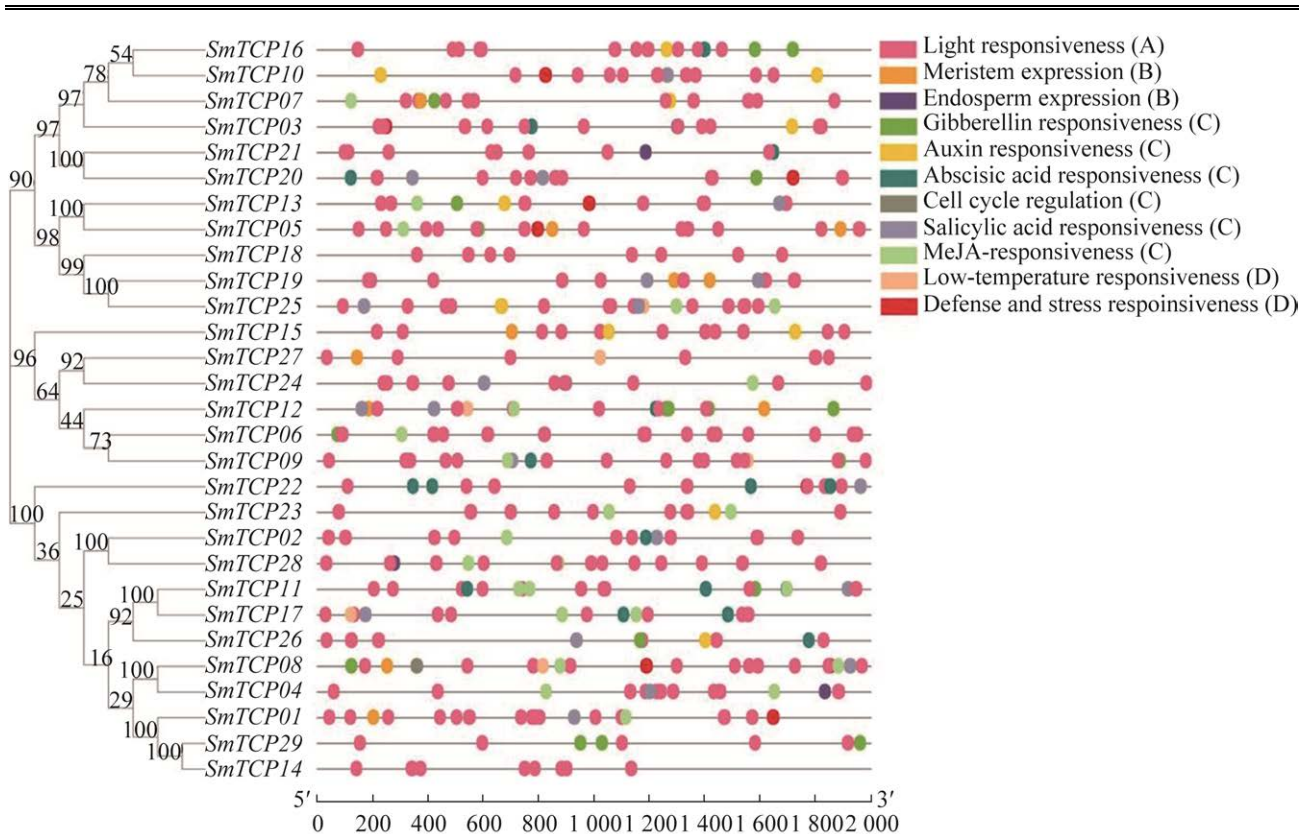


图 8 茄子 TCP 基因家族启动子顺式作用元件分布图

Figure 8 *Cis*-acting element distribution in the promoters of the TCPs in *Solanum melongena*. A: photoresponsive *cis*-acting element; B: growth and development related *cis*-acting element; C: hormone response-related *cis*-acting elements; D: *cis*-acting elements associated with stress.

3 讨论

全基因组测序的完成,为很多物种在全基因组范围内 TCP 基因鉴定提供了便捷途径。本研究对茄子 TCP 基因家族成员进行了全基因组水平上的鉴定和分析,共鉴定出 29 个 *SmTCP* 基因。高于拟南芥 (23 个)^[26]、水稻 (22 个)^[26] 和西瓜 (27 个)^[23],低于花生 (51 个)^[37]、大豆 (54 个)^[38] 和番茄 (30 个)^[15]。这可能与不同物种间的基因扩张程度相关。基因组内共线性分析显示,29 个茄子 TCP 基因家族成员中有 17 对 (21 个) 基因存在共线性关系,且这些存在共线性关系的基因都属于片段复制,表明在茄子 TCP 蛋白进化过程中,发生片段复制的概率更

高,这与葡萄^[39]、玉米^[40]、棉花^[41]的研究结果一致,表明 TCP 基因家族扩张的方式相似。有 8 个 *SmTCP* 基因不存在共线性关系,推测,这些基因可能在茄子物种分化前就出现了。

蛋白序列特征分析 (图 4) 将茄子 TCP 转录因子家族成员分为 Class I (PCF) 和 Class II (CIN 和 CYC/TB1) 两个大类,与 Lin 等^[6]的报道一致。茄子 TCP 转录因子蛋白序列特征分类 (图 4) 和系统进化分析分类 (图 2) 结果一致,表明我们分组结果的可靠性。对比茄子 TCP 基因家族的共线性关系 (图 6) 和进化关系 (图 2),可以发现,每个亚家族中均有片段复制事件发生。例如属于 CIN 亚家族的 *SmTCP 03*、*SmTCP 07*、*SmTCP 10* 和 *SmTCP 16*,属于

CYC/TB1 亚家族的 *SmTCP 06* 和 *SmTCP 09*, 以及属于 PCF 亚家族的 *SmTCP 04* 和 *SmTCP 08*。此外, *SmTCP* 基因家族的共线性分析结果与进化分析结果一致, 即存在共线性关系的基因在进化关系分析中往往处在同一亚族。

保守基序分析 (图 4) 显示, 茄子 TCP 转录因子家族不同亚群中的保守基序存在差异。有报道显示, 亚群 Class I 的蛋白成员可能与果实的成熟、发育有关^[15], 而亚群 Class II 中的 CIN 分支主要参与调控植物叶片发育^[42-43]。由此可推测出, 茄子 TCP 转录因子保守基序的差异可能影响其功能分区。

基因的表达模式是基因功能的重要体现, *TCP* 基因对植物的生长和发育有着重要作用^[44]。本研究中 15 个不同组织或器官中, 29 个 *SmTCP* 基因均有表达, 但不同成员的表达模式存在差异。其中属于 Class I 亚组的 PCF 分支中有 9 个基因 (*SmTCP22/23/02/28/11/04/01/29/14*) 几乎在 15 个组织或器官中较高表达, 表明该分支的基因可能与茄子的整个生长周期都密切相关, 该结果同前人关于水稻中属于 PCF 分支中的 *PCF1* 和 *PCF2* 参与细胞周期调控^[21,22]的报道相符合。另外, 属于 Class II 分支的 CIN 亚组中有 4 个基因 (*SmTCP18/19/20/25*) 在茄子 4 个不同时期的叶片中均有较高表达量。以上结果表明, *SmTCP18*、*SmTCP19*、*SmTCP20* 和 *SmTCP25* 基因可能与茄子的叶片发育相关, 这同前人关于 CIN 亚族成员调控植物叶片发育的报道一致^[42-43]。

顺式作用元件分析表明, 茄子 *TCP* 基因家族的启动子区, 包括光响应相关顺式作用元件、生长发育相关顺式作用元件和激素响应类相关共 4 类顺式作用元件, 这与 *TCP* 基因参与调控植物的生长和发育功能是相呼应的。此外, *TCP* 基因还参与逆境胁迫响应过程。例如, 水稻中

的 *TCP* 基因 *PCF5*, 可提高水稻对干旱和盐胁迫的耐受性^[45]; 高粱中的 *TCP7* 受到干旱胁迫表达量上调, 也参与逆境胁迫响应过程^[46]。顺式作用元件分析结果显示, 茄子中有 10 个 *TCP* 基因的上游启动子区包含逆境胁迫响应相关顺式作用元件, 推测茄子 *TCP* 基因也参与逆境胁迫响应过程。

通过对茄子 *TCP* 家族基因的表达模式进行分析发现, *TCP* 基因在茄子的不同生长发育过程中均发挥重要的调控作用, 尤其是叶片的发育过程。

REFERENCES

- [1] Wang JY, Wang Z, Jia CH, et al. Genome-wide identification and transcript analysis of *TCP* gene family in banana (*Musa acuminata* L.). *Biochem Genet*, 2022, 60(1): 204-222.
- [2] Doebley J, Stec A, Hubbard L. The evolution of apical dominance in maize. *Nature*, 1997, 386(6624): 485-488.
- [3] Luo D, Carpenter R, Copsey L, et al. Control of organ asymmetry in flowers of *Antirrhinum*. *Cell*, 1999, 99(4): 367-376.
- [4] Cubas P, Lauter N, Doebley J, et al. The TCP domain: a motif found in proteins regulating plant growth and development. *Plant J*, 1999, 18(2): 215-222.
- [5] Murre C, McCaw PS, Baltimore D. A new DNA binding and dimerization motif in immunoglobulin enhancer binding, daughterless, MyoD, and myc proteins. *Cell*, 1989, 56(5): 777-783.
- [6] Lin YF, Chen YY, Hsiao YY, et al. Genome-wide identification and characterization of TCP genes involved in ovule development of *Phalaenopsis equestris*. *J Exp Bot*, 2016, 67(17): 5051-5066.
- [7] Martín-Trillo M, Cubas P. TCP genes: a family snapshot ten years later. *Trends Plant Sci*, 2010, 15(1): 31-39.
- [8] Zhao JM, Zhai ZW, Li YN, et al. Genome-wide identification and expression profiling of the TCP family genes in spike and grain development of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Front Plant Sci*, 2018, 9: 1282.
- [9] Tatematsu K, Nakabayashi K, Kamiya Y, et al. Transcription factor AtTCP14 regulates embryonic

- growth potential during seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2008, 53(1): 42-52.
- [10] Takeda T, Suwa Y, Suzuki M, et al. The *OsTBI* gene negatively regulates lateral branching in rice. *Plant J*, 2003, 33(3): 513-520.
- [11] Aguilar-Martínez JA, Poza-Carrión C, Cubas P. *Arabidopsis* BRANCHED1 acts as an integrator of branching signals within axillary buds. *Plant Cell*, 2007, 19(2): 458-472.
- [12] Kieffer M, Master V, Waites R, et al. TCP14 and TCP15 affect internode length and leaf shape in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2011, 68(1): 147-158.
- [13] Riechmann JL, Heard J, Martin G, et al. *Arabidopsis* transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 2000, 290(5499): 2105-2110.
- [14] Yao X, Ma H, Wang J, et al. Genome-wide comparative analysis and expression pattern of TCP gene families in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. *J Integr Plant Biol*, 2007, 49(6): 885-897.
- [15] Parapunova V, Busscher M, Busscher-Lange J, et al. Identification, cloning and characterization of the tomato TCP transcription factor family. *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 157.
- [16] Ma J, Wang QL, Sun RR, et al. Genome-wide identification and expression analysis of TCP transcription factors in *Gossypium raimondii*. *Sci Rep*, 2014, 4: 6645.
- [17] Xu RR, Sun P, Jia FJ, et al. Genomewide analysis of TCP transcription factor gene family in *Malus domestica*. *J Genet*, 2014, 93(3): 733-746.
- [18] Koyama T, Mitsuda N, Seki M, et al. TCP transcription factors regulate the activities of ASYMMETRIC LEAVES1 and miR164, as well as the auxin response, during differentiation of leaves in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2010, 22(11): 3574-3588.
- [19] Aguilar-Martínez JA, Sinha N. Analysis of the role of *Arabidopsis* class I TCP genes *AtTCP7*, *AtTCP8*, *AtTCP22*, and *AtTCP23* in leaf development. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 406.
- [20] Resentini F, Felipo-Benavent A, Colombo L, et al. TCP14 and TCP15 mediate the promotion of seed germination by gibberellins in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant*, 2015, 8(3): 482-485.
- [21] Cubas P, Vincent C, Coen E. An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry. *Nature*, 1999, 401(6749): 157-161.
- [22] Kosugi S, Ohashi Y. PCF₁ and PCF₂ specifically bind to *cis* elements in the rice proliferating cell nuclear antigen gene. *Plant Cell*, 1997, 9(9): 1607-1619.
- [23] Shi PB, Guy KM, Wu WF, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the CITCP transcription factors in *Citrullus lanatus*. *BMC Plant Biol*, 2016, 16: 85.
- [24] Zhang X, Bao YL, Shan DQ, et al. *Magnaporthe oryzae* induces the expression of a microRNA to suppress the immune response in rice. *Plant Physiol*, 2018, 177(1): 352-368.
- [25] Liu YR, Li DY, Yan JP, et al. MiR319 mediated salt tolerance by ethylene. *Plant Biotechnol J*, 2019, 17(12): 2370-2383.
- [26] Yao X, Ma H, Wang J, et al. Genome-wide comparative analysis and expression pattern of TCP gene families in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. *J Integr Plant Biol*, 2007, 49(6): 885-897.
- [27] Chen CJ, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. *Mol Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [28] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [29] Hu B, Jin JP, Guo AY, et al. GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 2015, 31(8): 1296-1297.
- [30] Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, et al. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(24): 4876-4882.
- [31] Waterhouse A, Procter J, Martin DA, et al. Jalview: visualization and analysis of molecular sequences, alignments, and structures. *BMC Bioinform*, 2005, 6(3): 1.
- [32] Bailey TL, Boden M, Buske FA, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(Web Server issue): W202-W208.
- [33] Wang YP, Tang HB, Debarry JD, et al. MCS-X: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(7): e49.
- [34] Krzywinski M, Schein J, Birol I, et al. Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res*, 2009, 19(9): 1639-1645.
- [35] Wang LQ, Guo K, Li Y, et al. Expression profiling and integrative analysis of the CESA/CSL superfamily in rice. *BMC Plant Biol*, 2010, 10: 282.
- [36] Cubas P. Role of TCP genes in the evolution of

- morphological characters in angiosperms. Systematics Association Special Volumes. Boca Raton: CRC Press, 2002: 247-266.
- [37] [37] 王通, 赵孝东, 甄萍萍, 等. 花生 TCP 转录因子的全基因组鉴定及组织表达特性分析. 作物杂志, 2021(2): 35-44.
- Wang T, Zhao XD, Zhen PP, et al. Genome-wide identification and characteristic analyzation of the TCP transcription factors family in peanut. *Crops*, 2021(2): 35-44 (in Chinese).
- [38] 刘洋, 张慧, 辛大伟, 等. 大豆 TCP 转录因子家族结构域分析及功能预测. 大豆科学, 2012, 31(5): 707-713, 717.
- Liu Y, Zhang H, Xin DW, et al. Domain analysis and function prediction of TCP transcription factors family in soybean. *Soybean Sci*, 2012, 31(5): 707-713, 717 (in Chinese).
- [39] Leng XP, Wei HR, Xu XZ, et al. Genome-wide identification and transcript analysis of TCP transcription factors in grapevine. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 786.
- [40] Chai WB, Jiang PF, Huang GY, et al. Identification and expression profiling analysis of TCP family genes involved in growth and development in maize. *Physiol Mol Biol Plants*, 2017, 23(4): 779-791.
- [41] Ma J, Wang QL, Sun RR, et al. Genome-wide identification and expression analysis of TCP transcription factors in *Gossypium raimondii*. *Sci Rep*, 2014, 4: 6645.
- [42] Crawford BCW, Nath U, Carpenter R, et al. CINCINNATA controls both cell differentiation and growth in petal lobes and leaves of *Antirrhinum*. *Plant Physiol*, 2004, 135(1): 244-253.
- [43] Palatnik JF, Allen E, Wu XL, et al. Control of leaf morphogenesis by microRNAs. *Nature*, 2003, 425(6955): 257-263.
- [44] Dhaka N, Bhardwaj V, Sharma MK, et al. Evolving tale of TCPs: new paradigms and old lacunae. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 479.
- [45] Zhou M, Li DY, Li ZG, et al. Constitutive expression of a miR319 gene alters plant development and enhances salt and drought tolerance in transgenic creeping bentgrass. *Plant Physiol*, 2013, 161(3): 1375-1391.
- [46] Francis A, Dhaka N, Bakshi M, et al. Comparative phylogenomic analysis provides insights into *TCP* gene functions in *Sorghum*. *Sci Rep*, 2016, 6: 38488.

(本文责编 郝丽芳)