

水稻全基因组磷脂酶家族蛋白筛选及其生物信息学分析

曹梦雨¹, 桑世飞¹, 王亚男¹, 周静¹, 王君怡¹, 张文玲², 姬生栋¹

(1.河南师范大学 生命科学学院,河南 新乡 453007;2.河南省种子管理站,郑州 450046)

摘要:利用已鉴定磷脂酶基因同源筛选的方法对水稻全基因组范围的磷脂酶基因进行鉴定与筛选,有助于研究其家族基因的各种功能.通过对水稻全基因组进行分析,筛选鉴定磷脂酶家族成员,并对编码蛋白的跨膜区、等电点、分子量等理化性质以及进化、基因组定位、表达特征进行生物信息分析.结果表明:水稻磷脂酶家族基因分为 3 个亚组,亚组内基因表现出明显相似的结构及进化特征,且磷脂酶家族基因编码蛋白具有相同的 3 个保守基序,染色体上的磷脂酶家族基因表现出了明显的不均衡性,磷脂酶家族大部分基因表达量偏低,部分表现出了组织表达偏好性,少部分基因在水稻各个组织或生育阶段表达量比较高,可能同水稻发育相关.

关键词:磷脂酶;水稻;生物信息;家族基因

中图分类号:Q37

文献标志码:A

磷脂酶是植物磷脂信号网络的重要成分,目前植物中已经鉴定出 4 种形式的磷脂酶^[1],参与调控植物体内的多种生理过程,并对各种生物与非生物胁迫作出相应的响应.磷脂酶家族基因(*OsPLX*)可从多个途径参与非生物胁迫信号和发育事件^[2],如大豆磷脂酶 C 基因 *GmPLC10* 具有耐干旱的作用,能帮助植物有效抵御干旱胁迫^[3],拟南芥磷脂酶 C2 参与拟南芥的细胞凋亡及丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)病原体的攻击^[4],拟南芥磷脂酶 D1 和磷脂酶 D2 则与植物响应盐碱胁迫相关^[5].在拟南芥磷脂酶基因家族的研究中,诸多研究都提出了磷脂酶参与许多信号网络和调控细胞的过程,如应激信号和耐受性^[6],显然作为磷脂酶家族相关基因,在水稻中很可能也参与这些代谢调控.

水稻磷脂酶 A 家族的 *OsPLAIIβ* 基因编码花粉特异性磷脂酶,其突变体具备诱导水稻形成单倍体的功能^[7].过表达 *OsPLAIIIα* 基因会导致水稻表现出半矮化,同时引起茎、根、叶、种子以及穗的长度降低,机械强度下降,还会导致组织中的纤维素含量降低,影响到了植株发育,而 *OsPLAIIIα* 基因敲除系却具有更长的穗和籽粒^[8].*OsPLAIIIδ* 是直立型密穗基因,与野生型相比,*OsPLAIIIδ* 基因突变系的穗从生长到成熟一直能够保持直立,穗粒形状大小及穗长都发生了变化^[9].磷脂酶 C 家族中的 *OsNPC1* 基因具有组成型表达的特征,与野生型相比,水稻中过表达 *OsNPC1* 基因会使植株表现出茎节较脆,茎节中硅含量降低,但颖壳中硅含量增加,穗茎尖较脆,落粒性增加的特征^[10].磷脂酶 D 亚家族的 *OsPLDα4* 和 *OsPLDα5* 基因均受二化螟、机械损伤和 JA 处理的诱导表达^[11].抑制 *OsPLDβ1* 表达的植株在发育后期表现出类似超敏反应的细胞死亡以及植物抗毒素的积累,在没有病原菌侵染的情况下可自发激活防御反应,并且 *OsPLDβ1* 通过负调节防御反应来参与水稻的抗病性^[12].*OsPLDα* 基因在植物响应盐胁迫过程中通过调节 H^+ -ATPase 的活性和表达来影响水稻对盐的耐受性^[13].目前磷脂酶 A 亚家族更倾向参与到植物的生长发育,而磷脂酶 D

收稿日期:2021-01-25; **修回日期:**2021-03-15.

基金项目:国家重点研发计划专项(2018YFD0200200);河南水稻产业体系项目(Z2012-04-G02);河南省重大科技专项(171100110300-4).

作者简介:曹梦雨(1998-),女,河南上蔡人,河南师范大学硕士研究生,研究方向为水稻分子育种,E-mail:cmy9211@163.com.

通信作者:姬生栋(1963-),男,河南沁阳人,河南师范大学教授级高级实验师,主要从事水稻分子育种研究,E-mail:jsd99@126.com;张文玲,女,河南南阳人,河南省种子管理站副研究员,主要从事作物遗传育种研究,E-mail:18638193503@163.com.

亚家族在逆境胁迫方面扮演了重要角色,然而拟南芥磷脂酶 A IIA 则参与到生物与非生物胁迫^[14],表明磷脂酶基因家族基因的功能在进化中可能出现了一定分化.以往关于磷脂酶家族基因的研究工作多集中在模式植物拟南芥和其他一些双子叶植物中,对单子叶植物中磷脂酶基因的报道较少,借助同源比对方法对水稻磷脂酶家族基因进行生物信息学分析,为深入研究水稻磷脂酶家族基因功能提供参考.

1 材料和方法

1.1 水稻磷脂酶家族基因鉴定及理化性质分析

从 RiceData 数据库搜索并下载磷脂酶家族基因的编码区序列.在 RGAP 水稻数据库将已下载的磷脂酶家族核苷酸序列采用同源搜索的方法,BLAST 水稻蛋白质模型数据库,筛选标准为相似度大于 40%,覆盖度大于 40%,搜索的 E 值设为 10^{-5} ,获得水稻磷脂酶家族基因及同源基因.利用 ExPASy-ProtParam tool 获得磷脂酶家族基因的分子量、等电点和氨基酸数目.通过 TMHMM 在线分析蛋白质序列的跨膜区^[15].利用 ProtComp v.9.0 软件对磷脂酶家族蛋白进行亚细胞定位分析^[16].

1.2 水稻磷脂酶家族基因生物信息学分析

基因进化及基序分析采用 MEGA-X 软件中的 Clustal W 对磷脂酶家族的蛋白质序列进行比对,采用极大似然法将比对后的序列构建系统发育树,bootstrap 参数设置为 1 000^[17].通过 MEME 在线分析磷脂酶家族蛋白质序列的基序种类与特征^[18].通过 Ensembl Plants 网站获得水稻 12 条染色体的长度数据,在 RiceData 网站搜索获得磷脂酶家族基因的起始位点,最后使用 MapChart 2.32 绘制磷脂酶家族基因在染色体上的定位图^[19].利用 Rice eFP Browser 网站(<http://bar.utoronto.ca/efprice/cgi-bin/efpWeb.cgi>)公布的水稻(亚种.indica var IR64)材料的转录组数据,调取穗和种子发育过程中不同阶段的磷脂酶家族基因的表达量数据,进行标准化的处理,采用 Heml 软件得到磷脂酶家族基因的组织表达谱热图^[20].

2 结果和分析

2.1 *OsPLX* 家族基因全基因组筛选与理化性质分析

从 RiceData 网站搜索并下载磷脂酶家族的基因登录号、基因名称以及 CDS 序列,并根据水稻已知的 *OsPLX* 蛋白序列,在 RGAP 水稻数据库检索所有水稻中的直系同源基因,共计获得了 64 个 *OsPLX* 基因家族成员(表 1).理化性质分析发现 *OsPLX* 家族基因长度为 402~3 801 bp,编码氨基酸序列为 133~1 266 个,蛋白质分子质量大约在 14.09~134.36 kDa 之间,蛋白质等电点在 4.977~12.12 之间(表 1).

将上述初步筛选出的 64 个蛋白序列进一步用 ProtComp v9.0 软件进行分析,共预测到 37 个信号肽分泌至胞外,3 个转运至液泡膜,2 个转运到了叶绿体膜,1 个转运至高尔基体膜,12 个转运至细胞质,9 个转运至细胞质膜.通过 TMHMM 在线网站对磷脂酶家族蛋白的跨膜序列区分析发现,水稻中已经鉴定出的 64 个磷脂酶基因中只有 8 个基因所编码的蛋白质含有跨膜区. LOC_Os08g01310、LOC_Os06g49860、LOC_Os04g36710、LOC_Os03g50030、LOC_Os04g35100 和 LOC_Os04g59310 等 6 个基因编码的蛋白中各含有 1 个跨膜区;基因 LOC_Os03g50030 所编码蛋白中的跨膜区较大;基因 LOC_Os06g18930 编码的蛋白中含有 18 个较小的跨膜区;基因 LOC_Os01g67310 所编码蛋白含有 3 个跨膜区.

利用 MEME 在线网站分析磷脂酶家族蛋白序列的基序种类与特征,发现所有的蛋白质都含有相同的 3 个保守基序:基序 1 为氨基酸序列 IYIENQYF;基序 2 为氨基酸序列 IYIENQYF;基序 3 为氨基酸序列 AAWDVLYNFEQRWRKQ.且亲缘关系越近的磷脂酶家族基因,其编码的蛋白基序结构相似度越高.

2.2 水稻磷脂酶家族基因染色体定位分析

利用 MapChart 2.32 对已鉴定的 *OsPLX* 家族基因进行染色体定位,分析发现家族基因在染色体的分析呈现出明显的不均匀分布,不同染色体上的该家族基因的数目差别很大,如 10 号染色体含有一个磷脂酶基因;2 号染色体上有 3 个磷脂酶基因;4 号、5 号、7 号和 12 号染色体上有 4 个磷脂酶基因;9 号和 11 号染色体上有 5 个磷脂酶基因;1 号染色体上有 6 个磷脂酶基因;3 号染色体上有 15 个磷脂酶基因,各染色体上的磷脂酶家族基因表现出了明显的不均衡性.

表 1 64 个磷脂酶家族基因的理化信息

Tab. 1 Physical and chemical information of 64 phospholipase family genes

基因名称	登录号	氨基酸 数目	分子量/u	等电点	染色体	基因名称	登录号	氨基酸 数目	分子量/u	等电点	染色体
<i>OsPLAIIIζ</i>	LOC_Os12g41720	479	48 234.68	9.43	XII		LOC_Os04g36710	469	50 215.7	9.00	IV
	LOC_Os03g30290	414	46 309.28	12.12	III	<i>OsPLAIIε</i>	LOC_Os08g37210	431	46 752.44	6.67	VIII
<i>OsPLDβ1</i>	LOC_Os10g38060	1 046	116 544.77	7.29	X		LOC_Os06g49860	933	102 381.36	5.00	VI
<i>OsPLDα</i>	LOC_Os01g07760	812	92 219.32	5.6	I	<i>OsPLAIIζ</i>	LOC_Os08g37250	285	31 833.1	5.62	VIII
<i>OsPLAIIIδ</i>	LOC_Os06g46350	404	41 563.17	8.94	VI	<i>PLC</i>	LOC_Os12g37560	590	65 513.55	6.42	XII
<i>OsPLDα4</i>	LOC_Os06g40170	832	92 513.68	5.92	VI	<i>PLA2</i>	LOC_Os11g34440	164	17 305.66	4.91	XI
<i>OsPLDα5</i>	LOC_Os06g40180	842	93 236.21	5.89	VI	<i>PL</i>	LOC_Os11g04940	405	43 138.4	6.99	XI
<i>OsPLAIVα</i>	LOC_Os01g55650	1 044	114 905.82	5.82	I	<i>PLD</i>	LOC_Os09g37100	854	96 460.55	6.75	IX
<i>OsNPC1</i>	LOC_Os03g61130	545	60 957.77	6.88	III	<i>PLA2β</i>	LOC_Os09g31050	359	39 713.37	4.97	IX
	LOC_Os01g72520	520	57 596.87	5.98	I	<i>PLD</i>	LOC_Os09g25390	817	89 964.53	6.02	IX
	LOC_Os03g63580	527	57 962.37	5.42	III	<i>PLC</i>	LOC_Os09g02729	412	44 734.77	5.21	IX
	LOC_Os01g01190	547	60 390.52	7.30	I	<i>PLDα1</i>	LOC_Os08g31060	886	97 987.55	6.33	VIII
	LOC_Os04g16670	133	14 092.01	5.55	IV		LOC_Os02g02790	910	99 144.34	11.23	II
	LOC_Os02g55920	405	42 712.79	5.98	II	<i>PLC</i>	LOC_Os08g01310	411	43 528.36	5.89	VIII
<i>OsPLAIIβ</i>	LOC_Os03g27610	432	46 400.23	8.78	III	<i>PLC</i>	LOC_Os07g49330	598	67 783.01	6.15	VII
<i>OsPLAIIIα</i>	LOC_Os03g14950	469	49 701.33	6.21	III		LOC_Os03g18000	117	13 346.1	5.33	III
<i>OsPLAIIη</i>	LOC_Os09g28770	405	44 801.64	8.49	IX	<i>PLD</i>	LOC_Os07g15680	838	94 957.94	6.84	VII
<i>OsPLAIIθ</i>	LOC_Os11g39990	417	45 256.63	5.78	XI	<i>PLD</i>	LOC_Os06g44060	512	57 195.11	8.96	VI
<i>OsPLAIIι</i>	LOC_Os11g40009	245	26 307.93	5.07	XI	<i>PLD</i>	LOC_Os06g40190	817	91 318.9	6.56	VI
<i>OsPLAIIα</i>	LOC_Os01g67310	411	45 577	8.29	I	<i>PLDp1</i>	LOC_Os05g29050	1 164	132 520.7	6.37	V
<i>OsPLAV</i>	LOC_Os11g34370	385	41 655.65	8.82	XI	<i>PLD</i>	LOC_Os05g07880	824	91 600.7	5.90	V
<i>OsPLAIIλ</i>	LOC_Os12g36610	349	37 941.22	7.76	XII	<i>PLC</i>	LOC_Os05g03610	598	67 052.3	5.69	V
	LOC_Os05g32100	206	21 913.75	5.10	V	<i>PLC</i>	LOC_Os04g59310	468	48 671.31	6.32	IV
<i>OsPLAIVβ</i>	LOC_Os03g59620	820	90 395.52	6.53	III	<i>PLC</i>	LOC_Os04g35100	413	45 005.3	8.17	IV
<i>OsPLAIIκ</i>	LOC_Os12g36530	477	52 339.96	6.77	XII	<i>PLD</i>	LOC_Os03g62410	847	94 803.08	7.81	III
	LOC_Os06g18930	953	102 946.35	9.09	VI	<i>PLA2</i>	LOC_Os03g50030	163	17 113.75	5.76	III
<i>OsPLAIIIγ</i>	LOC_Os03g57080	462	47 466.63	6.19	III	<i>PLC</i>	LOC_Os03g30130	377	40 840.18	5.07	III
<i>OsPLAI</i>	LOC_Os07g33670	1 266	134 367.25	6.49	VII	<i>PLD</i>	LOC_Os03g27370	851	93 550.93	8.31	III
<i>OsPLAIIIβ</i>	LOC_Os03g43880	441	45 147.95	9.23	III	<i>PLC</i>	LOC_Os03g18010	484	54 845.7	6.00	III
<i>OsPLAIIIε</i>	LOC_Os07g05110	426	44 588.75	9.76	VII	<i>PLD</i>	LOC_Os03g02740	904	100 864.16	7.04	III
<i>OsPLAIIγ</i>	LOC_Os08g28880	442	46 774.36	6.98	VIII	<i>PLA2</i>	LOC_Os02g58500	138	14 884.5	8.45	II
<i>OsPLAIIδ</i>	LOC_Os08g37180	430	46 813.66	7.63	VIII	<i>PLD</i>	LOC_Os01g20860	991	112 842.18	6.06	I

注:PL 表示 phospholipase.

2.3 水稻磷脂酶家族基因 *OsPLX* 进化分析

根据磷脂酶家族基因 *OsPLX* 编码的蛋白质序列,采用 Mega X 进行多序列比对并构建系统发育树(图 1)。从图 1 的系统发育树可知,家族基因编码蛋白质被分为 3 个亚组(group),即亚组 I(group1)、亚组 II(group2)和亚组 III(group3),其中亚组 I 包含 9 个磷脂酶基因,包含了 2 个已经鉴定功能的磷脂酶 *OsPLA2* 类基因;亚组 II 包含 25 个磷脂酶基因,主要是 *OsPLA* 家族;亚组 III 包含 29 个磷脂酶基因,主要是 *OsPLC* 和 *OsPLD* 亚家族基因。

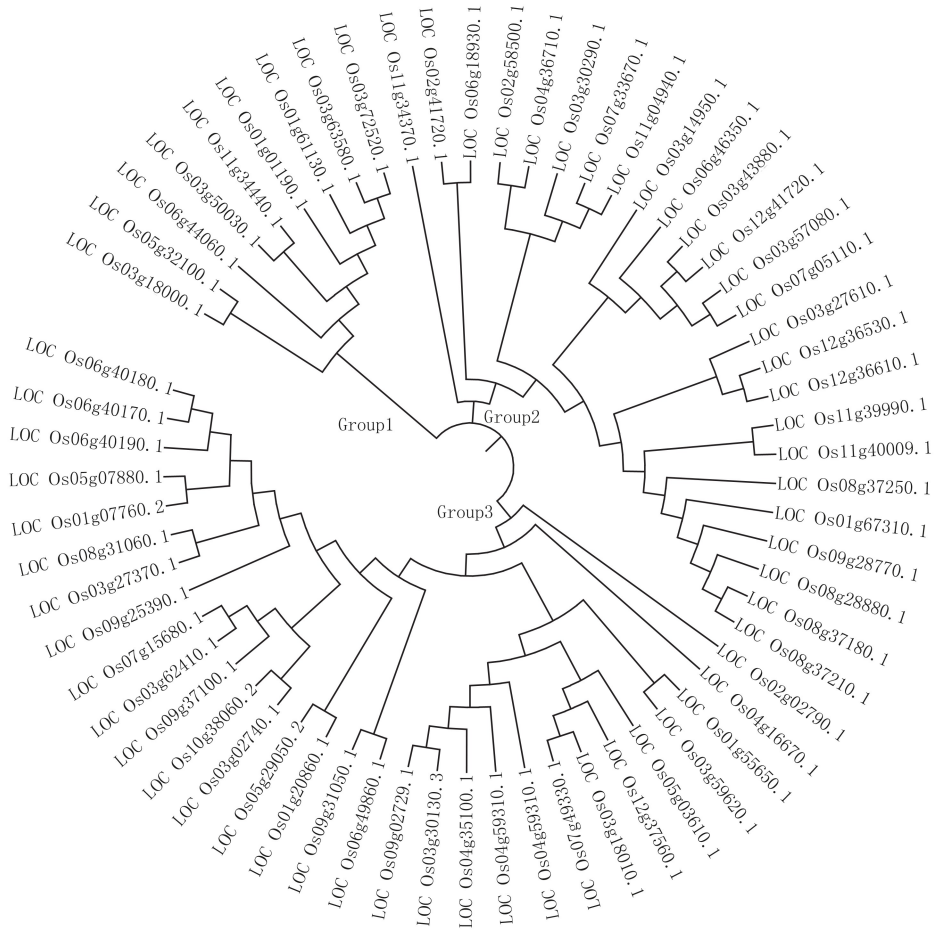


图1 磷脂酶家族系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of phospholipase family

2.4 水稻磷脂酶家族组织特异性表达分析

对水稻中磷脂酶家族基因 *OsPLX* 在穗和种子发育过程中的全基因组分析、分类、时空基因表达及光和非生物胁迫的调控等相关数据进行处理,利用 Heml 软件绘制磷脂酶家族的组织表达谱热图,结果表明(图 2),磷脂酶家族基因并没有表现出明显的组织特异性,然而从整体来看,大多数的磷脂酶家族基因在各个组织的表达量都比较低,其中 LOC_Os01g07760 (*OsPLDα*), LOC_Os03g59620 (*OsPLAIVβ*), LOC_Os03g61130(*OsNPC1*), LOC_Os07g49330, LOC_Os12g37560 在水稻的生长发育过程中都维持相对较高的表达量;还有部分基因表现出了比较强的组织偏好性,比如 LOC_Os06g40180(*OsPLDα5*)在根以及叶子花序中表达量较高;LOC_Os09g28770 (*OsPLAIIη*)则在种子中的表达量非常的高;LOC_Os12g36610 (*OsPLAIIγ*)和 LOC_Os03g43880(*OsPLAIIIβ*)都只在幼根中高表达;LOC_Os12g36530(*OsPLAIIk*)则在花序中集中高表达.这些结果表明,磷脂酶家族基因在水稻生长发育中扮演了重要角色.

3 讨论

相对于 *NAC*, *WRKY*, *ARF*, *GH3* 等家族基因^[21-23],磷脂酶基因家族研究相对较少,越来越多的证据表明,植物细胞含有多种基于磷脂的信号通路,参与植物的生长发育与胁迫响应^[24-25].在水稻磷脂酶 A 亚家族的研究中, SINGH 等^[2]通过对水稻全基因组鉴定,分析了磷脂酶 A 家族基因,发现水稻 *PLA* 家族基因在非生物胁迫信号传递和发育中可能具有重要作用.磷脂酶 C 亚家族的多个基因在干旱或者盐胁迫条件下会得到诱导性表达^[26],研究表明在干旱条件下,植物会通过表达 *PLC* 基因来控制气孔的开闭^[27].在拟南芥研究中磷脂酶 D 被认为是抗性响应基因,在水稻中通过对 2 个定位于叶绿体的基因 *OsPLDα4* 和 *OsPLDα5* 研

究发现,在受到二化螟的摄食、机械伤害以及茉莉酸(JA)处理时会诱导基因上调表达^[28].YAO等^[7]发现在水稻中 *Os_pPLAII β* (*OsMTL*)基因编码的花粉特异性磷脂酶能诱导水稻形成单倍体,关于该家族基因生物学功能的研究相对较少,综合当前研究认为磷脂酶家族基因在参与逆境胁迫、抗病方面扮演了重要角色,这一点基本达成共识.但是家族基因是否会像 *Os_pPLAII β* 具有新的功能,是今后值得研究的问题.

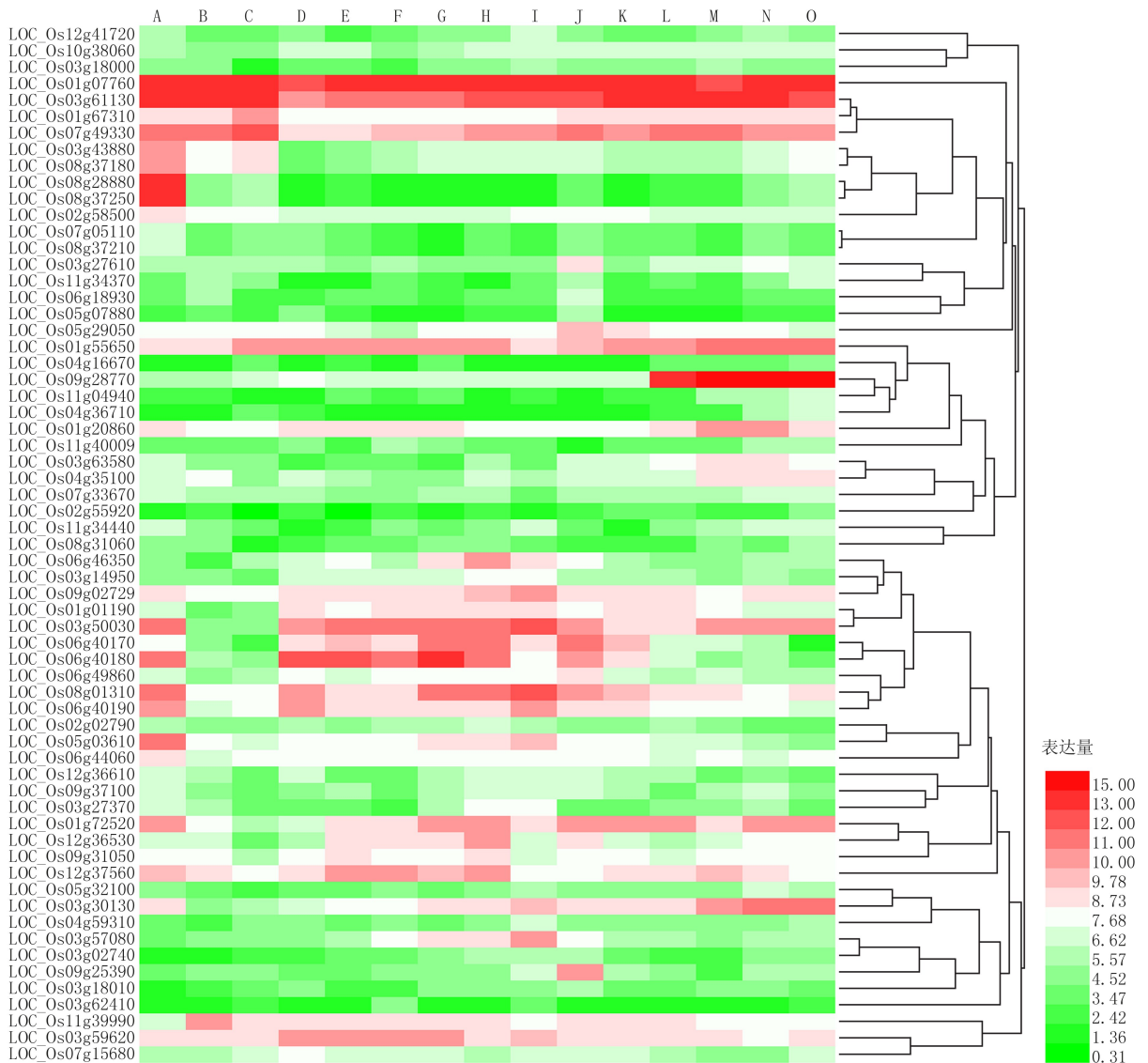


图2 磷脂酶家族基因表达模式(在线彩图)

Fig.2 Expression pattern of phospholipase family(colour online)

本研究中的不同磷脂酶亚细胞定位预测表明,不同磷脂酶基因定位有所区别,说明磷脂酶基因在进化中出现了功能性分化.比如 *Os_pPLAII β* 基因能够编码花粉特异性磷脂酶,与玉米的 *ZmMATL* 基因同源,能诱导水稻形成单倍体^[7].*OsPLD β 1* 基因在植物响应生物和非生物胁迫的过程中发挥重要作用,抑制 *OsPLD β 1* 表达提高植株对水稻主要病原菌的抗性^[12],*OsPLD α* 基因在植物响应胁迫中发挥正调控作用^[11].磷脂酶家族基因间呈现出比较明显的功能分化,*OsPLD* 和 *OsPLC* 家族基因表现出了抗逆功能,而 *OsPLA* 基因的克隆数量偏少,A 亚家族基因是否如 *Os_pPLAII β* 一般具有单倍体诱导功能还有待进一步的研究.本研究也发现,大多数磷脂酶家族基因组织特异性非常弱,基因在根、叶、花序、种子中属于低表达,仅少部分基因在特定

组织或者发育时期表现出较高的基因表达量,这些磷脂酶家族基因或许具备组织特异性功能.其中少数几个在生长发育各个阶段高表达的基因,如 LOC_Os01g07760 (*OsPLD α*), LOC_Os03g59620 (*OsPLAIV β*), LOC_Os03g61130 (*OsNPC1*), LOC_Os07g49330, LOC_Os12g37560 在维持水稻生长过程中可能具有重要作用.

综合本研究结果,可对部分已经克隆基因的同源基因功能以及组织特异性高表达基因的功能做出初步的推测,为进一步分析研究水稻磷脂酶家族基因在水稻发育过程中的生物学功能提供参考.

参 考 文 献

- [1] CHEN G Q, SNYDER C L, GREER M S, et al. Biology and biochemistry of plant phospholipases[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2011, 30(3): 239-258.
- [2] SINGH A, BARANWAL V, SHANKAR A, et al. Rice Phospholipase A Superfamily: Organization, Phylogenetic and Expression Analysis during Abiotic Stresses and Development[J]. *Plos One*, 2012, 7(2): e30947.
- [3] 孙大千. 大豆磷脂酶 C 基因 *GmPLC10* 对植物耐旱机制作用的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.
- [4] SUN D Q. Mechanism of soybean phospholipase C gene *GmPLC10* on plant drought tolerance[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2018.
- [5] KRČKOVÁ Z, KOCOURKOVÁ D, DANĚK M, et al. The *Arabidopsis thaliana* non-specific phospholipase C2 is involved in the response to *Pseudomonas syringae* attack[J]. *Annals of Botany*, 2017, 121(2): 297-310.
- [6] BEN OTHMAN A, ELLOUZI H, PLANCHAIS S, et al. Phospholipases D ζ 1 and D ζ 2 have distinct roles in growth and antioxidant systems in *Arabidopsis thaliana* responding to salt stress[J]. *Planta*, 2017, 246(4): 721-735.
- [7] MUNNIK T, MEIJER H J G. Osmotic stress activates distinct lipid and MAPK signalling pathways in plants[J]. *FEBS Letters*, 2001, 498(2/3): 172-178.
- [8] YAO L, ZHANG Y, LIU C, et al. OsMATL mutation induces haploid seed formation in indica rice[J]. *Nature Plants*, 2018, 4(8): 530-533.
- [9] LIU G M, ZHANG K, AI J, et al. Patatin-related phospholipase A, pPLAIII α , modulates the longitudinal growth of vegetative tissues and seeds in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(21): 6945-6955.
- [10] QIAO Y L, PIAO R H, SHI J X, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of dense and erect panicle 3, DEP3, which confers high grain yield in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *TAG Theoretical and Applied Genetics Theoretische Und Angewandte Genetik*, 2011, 122(7): 1439-1449.
- [11] CAO H S, ZHUO L, SU Y, et al. Non-specific phospholipase C1 affects silicon distribution and mechanical strength in stem nodes of rice[J]. *The Plant Journal*, 2016, 86(4): 308-321.
- [12] QI J F, ZHOU G X, YANG L J, et al. The chloroplast-localized phospholipases D α 4 and α 5 regulate herbivore-induced direct and indirect defenses in rice[J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(4): 1987-1999.
- [13] YAMAGUCHI T, KURODA M, YAMAKAWA H, et al. Suppression of a phospholipase D gene, OsPLD β 1, activates defense responses and increases disease resistance in rice[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(1): 308-319.
- [14] SHEN P, WANG R, JING W, et al. Rice phospholipase α is involved in salt tolerance by the mediation of H⁺-ATPase activity and transcription[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2011, 53(4): 289-299.
- [15] NARUSAKA Y, NARUSAKA M, SEKI M, et al. Expression profiles of *Arabidopsis* phospholipase A IIA gene in response to biotic and abiotic stresses[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2003, 44(11): 1246-1252.
- [16] SONNHAMMER E L, VON HEIJNE G, KROGH A. A hidden Markov model for predicting transmembrane helices in protein sequences[J]. *Proceedings International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology*, 1998, 6: 175-182.
- [17] ZHANG M Q. Computational prediction of eukaryotic protein-coding genes[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2002, 3(9): 698-709.
- [18] KUMAR S, STECHER G, LI M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [19] BAILEY T L, ELKAN C. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers[J]. *Proceedings International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology*, 1994, 2: 28-36.
- [20] VOORRIPS R E. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs[J]. *Journal of Heredity*, 2002, 93(1): 77-78.
- [21] DENG W K, WANG Y B, LIU Z X, et al. HemI: a toolkit for illustrating heatmaps[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e111988.
- [22] 卜华虎, 王晓清, 任志强, 等. 植物 WRKY 转录因子家族基因研究进展[J]. *山西农业科学*, 2020, 48(7): 1158-1163.
- [23] BU H H, WANG X Q, REN Z Q, et al. Research progress on plant WRKY transcription factors family genes[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2020, 48(7): 1158-1163.
- [24] SINGH V K, JAIN M, GARG R. Genome-wide analysis and expression profiling suggest diverse roles of GH3 genes during development

- and abiotic stress responses in legumes[J].Frontiers in Plant Science,2015,5:789.
- [23] 赵才美,黄兴奇,殷富有,等.水稻 NAC 转录因子家族的研究进展[J].植物科学学报,2020,38(2):278-287.
ZHAO C M,HUANG X Q,YIN F Y,et al.Research progress on NAC transcription factor family in *Oryza sativa* L[J].Plant Science Journal,2020,38(2):278-287.
- [24] 常彦鹏,耿梓宸,王坤,等.植物激素调控 OsBLR1 基因促进水稻萌发的机制分析[J].河南农业大学学报,2021,55(6):1058-1064.
CHANG Y P,GENG Z C,WANG K,et al.Mechanism study of OsBLR1 in promoting rice germination under hormones induction[J].Journal of Henan Agricultural University,2021,55(6):1058-1064.
- [25] MUNNIK T.Phosphatidic acid;an emerging plant lipid second messenger[J].Trends in Plant Science,2001,6(5):227-233.
- [26] MUNNIK T,MEIJER H J G.Osmotic stress activates distinct lipid and MAPK signalling pathways in plants[J].FEBS Letters,2001,498(2/3):172-178.
- [27] STAXEN I,PICAL C,MONTGOMERY L T,et al.Abscisic acid induces oscillations in guard-cell cytosolic free calcium that involve phosphoinositide-specific phospholipase C[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,1999,96(4):1779-1784.
- [28] QI J F,ZHOU G X,YANG L J,et al.The chloroplast-localized phospholipases D $\alpha 4$ and $\alpha 5$ regulate herbivore-induced direct and indirect defenses in rice[J].Plant Physiology,2011,157(4):1987-1999.

Genome wide screening and bioinformatics analysis of rice phospholipase family proteins

Cao Mengyu¹, Sang Shifei¹, Wang Yanan¹, Zhou Jing¹, Wang Junyi¹, Zhang Wenling², Ji Shengdong¹

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. Henan Seed Management Station, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: The method of homologous screening of identified phospholipase genes can be used to identify and screen the whole genome-wide phospholipase genes in rice, in favor of further studying the functions of family genes. Through the analysis of rice genome, we screened and identified the members of phospholipase family, and analyzed the physical and chemical properties, such as transmembrane, isoelectric point, molecular weight, evolution, sub-localization and expression characteristics of phospholipase gene encoded protein. The results showed that rice phospholipase family genes were divided into three subgroups, the genes in the subgroup showed obviously similar structure and evolution characteristics, and the proteins encoded by the phospholipase family genes had the same three conserved motifs, and the phospholipase family genes on chromosome showed obvious imbalance, most of *OsPLX* genes were low expressed, some of them showed tissue expression preference, and a few of them were high expressed in various tissues or growth stages of rice, which may be related to rice development.

Keywords: phospholipases; rice; bioinformatics; family genes

[责任编辑 刘洋 杨浦]