

引用:孙会方,全晓艳. 大麦蔗糖转化酶基因(*HvINV*s)家族鉴定及表达分析[J]. 聊城大学学报(自然科学版),2026,39(1):127-138.

Citation:SUN Huifang, QUAN Xiaoyan. Identification and expression analysis of barley sucrose Invertase genes (*HvINV*s) family[J]. Journal of Liaocheng University (Natural Science Edition), 2026, 39(1):127-138.

文章编号 1672-6634(2026)01-0127-12

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2025030011

大麦蔗糖转化酶基因(*HvINV*s)家族鉴定及表达分析

孙会方,全晓艳

(济南大学 生物科学与技术学院,山东 济南 250022)

摘要 蔗糖转化酶基因(*INV*s)在植物生长发育和逆境胁迫响应过程中起着重要作用。大麦是主要粮食作物之一,然而关于大麦蔗糖转化酶基因(*HvINV*s)家族成员的研究尚不多见。本研究采用生物信息学方法对 *HvINV*s 基因家族成员进行了鉴定,并综合分析其分子特征以及其在盐胁迫中的响应情况。大麦全基因组中共鉴定出 30 个 *HvINV*s 基因,这些基因不均匀地分布在大麦的 7 条染色体上。*HvINV*s 蛋白由 131 至 736 个氨基酸组成,对应的分子量为 14.15 kDa 至 79.46 kDa,理论等电点在 4.41 至 9.22 之间。30 个 *HvINV*s 基因可分为 3 个亚类,各亚类内成员具有相似的基因结构和保守基序。此外,在 *HvINV*s 启动子区域内鉴定到大量逆境响应顺式作用元件,且依据拟南芥中已知同源基因的功能以及转录组分析,预测亚家族 C 中大量 *HvINV*s 基因可能在响应盐胁迫过程中发挥作用。

关键词 蔗糖转化酶;大麦;基因家族;生物信息学

中图分类号 S512.3

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Identification and expression analysis of barley sucrose Invertase genes (*HvINV*s) family

SUN Huifang, QUAN Xiaoyan

(School of Biological Science and Technology, University of Jinan, Jinan 250022, Shandong, China)

Abstract In plants, sucrose invertases catalyze the irreversible hydrolysis of sucrose, and is a key enzyme in the regulation of sucrose metabolism. The sucrose invertase genes (*INV*s) played essential roles in growth and development, and the responses to stresses in plants. Barley is one of the main food crops, but there are few studies on the members of the barley sucrose convertase genes (*HvINV*s) family. In this study, bioinformatics methods were used to identify members of *HvINV*s gene family, and to analyze their molecular characters and their response to salt stress. At last, a total of 30 *HvINV* genes were identified in the whole genome, and these genes were unevenly distributed on seven chromosomes in barley. *HvINV* protein is composed of 131 to 736 amino acids, corresponding molecular weight of 14.15 kDa to 79.46 kDa, theoretical isoelectric point between 4.41 and 9.22. The thirty *HvINV* genes were divided into 3 subfamilies, and members in each subfamily share the similar gene structures and conserved motifs, but members among subfamilies exhibited differences, indicating that there might be functional differences

收稿日期:2025-03-19

基金项目:国家自然科学基金项目(31901437);山东省自然科学基金项目(ZR2023MC114)资助

通信作者:全晓艳,女,汉族,博士,讲师,研究方向:逆境分子生理与调控,E-mail:bio_quanxy@ujn.edu.cn。

among the members of the subfamilies. In addition, large *cis*-acting elements related with stress responses were identified in the *HvINV*s promoter regions. Based on the known function of homologous genes in *Arabidopsis* and transcriptomic analysis in response to salt stress in barley, it is predicted that a large number of *HvINV* genes in subfamily C may play a role in the salt stress response. This study will provide an important theoretical basis for further analysis of biological functions of *HvINV* genes in barley in response to salt stress.

Keywords sucrose invertase; barley; gene family; bioinformatics

0 前言

蔗糖是大多数植物光合作用的主要最终产物,蔗糖及其水解产物葡萄糖和果糖通过碳分配和糖信号在植物生长发育中起重要作用^[1]。蔗糖合酶与蔗糖转化酶均具备催化分解蔗糖的能力,其中蔗糖转化酶将蔗糖水解为葡萄糖和果糖的催化过程是不可逆的。植物蔗糖转化酶基因(*INV*)作为一个古老且保守的基因家族,不仅参与蔗糖的转运、卸载和裂解等糖代谢过程的调控,还在植物初级氮代谢、信号转导等过程中发挥着重要作用^[2-3]。研究表明,蔗糖转化酶家族基因成员在靠近 N 端的位置均含有一个 β -呋喃果聚糖苷酶基序,而在靠近 C 端的区域则存在一段相对保守的基序^[4]。依据蔗糖转化酶的亚细胞定位,可以将其分为液泡蔗糖转化酶、细胞壁蔗糖转化酶以及细胞质蔗糖转化酶。液泡蔗糖转化酶能够通过调节渗透势增加细胞内膨压,从而促进细胞扩张^[5];细胞壁转化酶主要活跃在源组织和库组织中,对于蔗糖的卸载过程起着至关重要的调节作用^[6];细胞质中的蔗糖转化酶,其活性相对较低且极为不稳定,主要负责调节蔗糖的代谢过程,因此常被视作一种“维持”酶^[7]。依据最适 pH 值的不同,蔗糖转化酶可以分为酸性蔗糖转化酶以及中性/碱性蔗糖转化酶。

大量研究表明,蔗糖转化酶在植物的生长发育过程中发挥重要调节作用。作为蔗糖代谢过程中的关键酶,蔗糖转化酶可以调节许多植物的果实成熟和糖分平衡。例如,下调番茄、胡萝卜和甜瓜中蔗糖转化酶基因的表达可以显著提高叶片中的蔗糖含量^[8-10];而提高胡萝卜和甘薯中蔗糖转化酶的活性则可以增加果实中的己糖含量^[9,11]。此外,蔗糖转化酶对于植物的授粉以及纤维素的生物合成等生长发育过程具有不可或缺的调节作用^[12]。例如,分别抑制蔗糖转化酶基因(*LeLin5*)在番茄中和蔗糖转化酶基因(*Nin88*)在烟草中的表达,均会导致它们各自花粉发育受阻^[13-14];棉花蔗糖转化酶基因(*GhVIN2*)在促进棉纤维的伸长中起重要调控作用^[15];过表达甘蔗蔗糖转化酶基因(*SoCINV1*)可以显著增强蔗糖转化酶活性,进而促进植株的生长^[16]。不仅如此,蔗糖转化酶在逆境胁迫响应等过程中也扮演着重要角色^[2]。目前,植物蔗糖转化酶基因在响应干旱胁迫的研究中已有显著进展。例如,在干旱胁迫条件下,玉米子房中的蔗糖转化酶基因表达显著下降^[17],而玉米植株的液泡蔗糖转化酶活性在早期出现增强的现象^[18];几乎所有甘蔗蔗糖转化酶基因的表达都会受到 PEG 处理的影响^[19]。近年来,已有关于植物蔗糖转化酶基因响应低温胁迫的研究被陆续报道。例如,在低温胁迫条件下,辣椒蔗糖转化酶基因(*CaCWIN01*、*CaVIN01* 和 *CaVIN02*)的表达量明显上升^[20];甘蔗细胞壁蔗糖转化酶基因(*ShCwINV3*、*ShCwINV7*、*ShCwINV9* 和 *ShN/AINV4*)的表达均上调^[19];马铃薯和柑橘中的蔗糖转化酶均积极参与低温耐受性的调节^[10,21]。此外,植物蔗糖转化酶基因对于盐胁迫的响应的相关研究也已逐步开展。例如,Qian 等发现茶树蔗糖转化酶基因参与茶树对盐胁迫的响应^[22];Balibrea 等报道盐胁迫能够诱导番茄幼叶和根部的蔗糖转化酶活性上升^[23]。

目前,水稻、玉米、棉花等多种作物中蔗糖转化酶基因家族的研究陆续被报道,然而大麦中相关报道较少,而大麦是全球第四大谷类作物,不仅可供人类食用,还可用于饲料和酿造。土壤盐渍化是一个降低农业生产力的全球性问题。土壤盐分过高会破坏土壤结构,导致植物细胞失水、结构损伤及代谢紊乱,阻碍植物根系对于水分和矿质的吸收,降低光合作用效率,最终使植株萎蔫、生长停滞甚至死亡,限制作物产量^[24]。近年来,已有 *INV* 家族基因被证实在响应盐胁迫过程中发挥重要作用^[22,23,25],但目前尚未有关于大麦蔗糖转化酶(*HvINV*s)基因家族成员相关研究的报道。本研究采用生物信息学方法,对大麦中的蔗糖转化酶进行系统检索,分析其蛋白质理化性质、保守基序、基因结构及其在染色体上的定位等信息,并对大麦 *HvIN*-

*V*s 基因的组织表达模式及其在盐胁迫中的表达进行分析,以期为更好地理解 and 利用这些基因提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 大麦 *HvINV*s 基因家族成员鉴定及蛋白序列分析

从 Ensembl Plants 网站(<https://plants.ensembl.org/index.html>)下载大麦的基因组文件和基因注释文件,利用 TBtools(v2.210)^[26]的 HMM 搜索程序和 Glyco_32 结构域(PF00251)的隐马尔可夫模型(HMM)图谱对大麦基因组进行搜索。同时,利用从拟南芥基因组数据库 TAIR(<https://www.arabidopsis.org>)中下载获得的拟南芥蔗糖转化酶家族基因的氨基酸序列,通过 BlastP 程序进行同源比对获得 *HvINV*s 蛋白序列。整合两种方法获取的 *HvINV*s 蛋白序列,去除冗余和不完整的序列,通过 NCBI CDD(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>)和 SMART(https://smart.embl.de/smart/set_mode.cgi?GENOMIC=1)进一步确认 Glyco_32 结构域。

借助 ExPASy 数据库(<https://www.expasy.org>)对 *HvINV*s 的代表性蛋白质序列的氨基酸大小、理论等电点、分子量等信息进行分析。用 TBtools(v2.210)^[26]软件对大麦 *HvINV*s 基因进行染色体定位。用在线网站 WoLF PSORT(<https://wolfsort.hgc.jp>)预测大麦 *HvINV*s 家族成员的亚细胞定位。

1.2 大麦 *HvINV*s 基因家族保守基序、基因结构、保守结构域分析

使用在线网站 Multiple Em for Motif Elicitation(<https://meme-suite.org/meme/>)鉴定大麦 *HvINV*s 蛋白中的保守基序。利用大麦的基因组文件和基因注释文件,通过 TBtools(v2.210)^[26]软件对大麦 *HvINV*s 基因进行基因结构分析。通过 NCBI 的 CDD 工具下载大麦 *HvINV*s 基因的结构域信息。保守基序、基因结构和结构域组成的可视化均借助 TBtools(v2.210)^[26]软件完成。

1.3 大麦 *HvINV*s 基因家族系统进化树的构建和顺式作用元件分析

利用 MEGA11 软件对水稻、拟南芥和大麦 *HvINV*s 蛋白的氨基酸序列进行多重比对,使用最大似然法构建系统发育树并进行自检。使用 TBtools(v2.210)^[26]软件提取大麦 *HvINV*s 基因家族成员 CDS 区上游 2000 bp 的序列,提交至在线网站 PlantCARE(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)进行顺式作用元件预测,并用 TBtools(v2.210)^[26]软件对预测结果进行可视化。

1.4 大麦 *HvINV*s 基因家族成员共线性分析、蛋白质三级结构预测和蛋白互作预测

从 Ensembl Plants 网站(<https://plants.ensembl.org/index.html>)下载拟南芥和水稻的基因组文件和基因注释文件,使用 TBtools(v2.210)^[26]软件中的多物种共线性分析工具 MCScanX 和 Dual Systemy Plot 程序分别对大麦与水稻和拟南芥的 *INV*s 进行物种间的共线性分析。利用 SWISS-MODEL(<https://swissmodel.expasy.org/interactive>)在线分析软件对大麦 *HvINV* 蛋白进行三级结构的预测。在 STRING 网站(<https://cn.string-db.org/>)上传大麦 *HvINV*s 基因的蛋白质序列,对大麦 *HvINV*s 基因进行互作蛋白预测,整理预测的互作蛋白信息,对结果进行可视化。

1.5 大麦 *HvINV*s 基因的组织表达分析及在盐胁迫中的表达分析

从数据库(<https://www.gramene.org/>)中下载大麦品种 Morex 在不同组织表达的 RNA-seq 数据,搜索、整理大麦 *HvINV*s 基因的组织表达数据,借助 TBtools(v2.210)^[26]软件对数据进行结果可视化,绘制大麦 *HvINV*s 基因的组织表达模式热图。大麦品种 Morex 在盐胁迫响应中的转录组数据从 EMBL-EBI 数据库(<https://www.gramene.org/>)中下载获取。RNA-seq 数据包括大麦基因组在根尖、根伸长区、根分生区三个根部不同组织的表达量^[27]。在该转录组数据中搜索、整理大麦中所有 *HvINV*s 基因在盐胁迫条件下的表达量,并通过热图进行展示。

2 结果与分析

2.1 大麦中 *HvINV*s 基因家族成员的鉴定及理化性质分析

在大麦中,通过同源比对和 HMM 搜索共鉴定到 30 个 *HvINV*s 基因,根据其在染色体上的位置,分别命名为 *HvINV*1-*HvINV*30。通过 ExPASy 对 *HvINV*s 的代表性蛋白质序列进行理化性质分析,结果如表

1 所示, HvINVs 蛋白由 131 个(HvINV8)至 736 个(HvINV25)氨基酸组成,这种长度的差异直接影响了它们的分子量(MW),各蛋白对应的 MW 范围为 14.15 kDa(HvINV8)至 79.46 kDa(HvINV25),理论等电点(pI)则在 4.41(HvINV1)到 9.22(HvINV4)之间。大麦 *HvINVs* 基因家族成员间的氨基酸数量存在差异,且等电点的变化范围较为广泛,这说明该基因家族成员的蛋白组成具有多样性。亚细胞定位预测的结果显示,大麦 HvINVs 蛋白在细胞内的分布具有倾向性,主要定位于细胞质、液泡、细胞壁和叶绿体等。

表 1 *HvINVs* 基因家族成员基本信息

Tab. 1 Basic information of *HvINV* gene family members

基因名称	基因序号	染色体	氨基酸数目	分子量/Da	等电点	亚细胞定位
<i>HvINV1</i>	HORVU1Hr1G048510	<i>chr1H</i>	193	21 569.06	4.41	细胞质,高尔基体
<i>HvINV2</i>	HORVU1Hr1G086890	<i>chr1H</i>	585	65 104.08	8.35	叶绿体,细胞壁
<i>HvINV3</i>	HPRVU2Hr1G071180	<i>chr2H</i>	193	21 389.86	4.45	细胞质,高尔基体
<i>HvINV4</i>	HORVU2Hr1G073210	<i>chr2H</i>	597	66 619.21	9.22	叶绿体,细胞壁,内质网
<i>HvINV5</i>	HORVU2Hr1G091990	<i>chr2H</i>	249	27 210.41	5.45	细胞质,叶绿体
<i>HvINV6</i>	HORVU2Hr1G109080	<i>chr2H</i>	553	59 548.65	5.32	细胞质
<i>HvINV7</i>	HORVU2Hr1G109120	<i>chr2H</i>	602	64 754.69	5.08	液泡,叶绿体,高尔基体
<i>HvINV8</i>	HORVU2Hr1G109200	<i>chr2H</i>	131	14 151.90	4.70	细胞质,叶绿体
<i>HvINV9</i>	HORVU2Hr1G118790	<i>chr2H</i>	601	65 413.36	8.29	叶绿体,液泡
<i>HvINV10</i>	HORVU2Hr1G118820	<i>chr2H</i>	539	58 671.34	6.65	细胞质,叶绿体
<i>HvINV11</i>	HORVU2Hr1G118910	<i>chr2H</i>	601	65 376.24	8.03	叶绿体,液泡
<i>HvINV12</i>	HORVU3Hr1G005350	<i>chr3H</i>	594	66 307.30	8.45	内质网,叶绿体,细胞壁
<i>HvINV13</i>	HORVU3Hr1G097050	<i>chr3H</i>	156	17 357.93	6.82	叶绿体,细胞质
<i>HvINV14</i>	HORVU3Hr1G113100	<i>chr3H</i>	587	64 651.16	5.89	叶绿体,液泡,内质网
<i>HvINV15</i>	HORVU4Hr1G011000	<i>chr4H</i>	592	65 166.27	5.61	液泡,细胞壁
<i>HvINV16</i>	HORVU4Hr1G086300	<i>chr4H</i>	485	52 910.12	7.65	细胞壁,叶绿体
<i>HvINV17</i>	HORVU5Hr1G123930	<i>chr5H</i>	591	65 930.17	9.12	内质网,叶绿体,细胞壁
<i>HvINV18</i>	HORVU5Hr1G123970	<i>chr5H</i>	596	65 597.99	5.59	叶绿体,液泡,内质网
<i>HvINV19</i>	HORVU5Hr1G124030	<i>chr5H</i>	584	64 856.39	5.62	细胞质,高尔基体
<i>HvINV20</i>	HORVU6Hr1G011260	<i>chr6H</i>	615	67 964.05	5.76	液泡,叶绿体,内质网
<i>HvINV21</i>	HORVU6Hr1G012550	<i>chr6H</i>	644	71 211.33	6.00	叶绿体,液泡,内质网
<i>HvINV22</i>	HORVU6Hr1G004000	<i>chr6H</i>	670	72 047.62	5.23	内质网,细胞质,液泡
<i>HvINV23</i>	HORVU6Hr1G004010	<i>chr6H</i>	689	73 887.85	5.53	叶绿体,液泡,内质网,
<i>HvINV24</i>	HORVU7Hr1G000250	<i>chr7H</i>	667	71 681.09	4.94	细胞质,内质网,高尔基体
<i>HvINV25</i>	HORVU7Hr1G000260	<i>chr7H</i>	736	79 464.27	5.82	叶绿体,高尔基体
<i>HvINV26</i>	HORVU7Hr1G000270	<i>chr7H</i>	649	70 306.57	5.67	叶绿体,液泡,高尔基体
<i>HvINV27</i>	HORVU7Hr1G001040	<i>chr7H</i>	678	73 567.86	5.30	内质网,液泡,高尔基体
<i>HvINV28</i>	HORVU7Hr1G001070	<i>chr7H</i>	669	71 911.52	4.81	内质网,细胞质,液泡
<i>HvINV29</i>	HORVU0Hr1G018840	<i>chrUn</i>	263	28 609.40	5.30	叶绿体,细胞质,内质网
<i>HvINV30</i>	HORVU0Hr1G018850	<i>chrUn</i>	619	67 720.39	6.65	叶绿体,液泡,内质网

2.2 大麦 *HvINVs* 基因的染色体定位分析

染色体定位分析结果如图 1 所示,30 个 *HvINVs* 基因在大麦基因组中呈现出一种不均匀的分布状态,遍布于 7 条染色体之上,且大多数集中在染色体的末端区域。其中,接近三分之一的 *HvINVs* 基因分布在 Chr2H(9)、Chr5H(5)和 Chr7H(5)上,4 个位于 Chr6H,3 个位于 Chr3H,Chr1H 和 Chr4H 各分布有 2 个。此外,还有两个 *HvINV* 基因(*HvINV30*)和(*HvINV29*)定位于 scaffolds(Chro)。

2.3 大麦 *HvINVs* 基因家族的系统进化分析及家族成员的基因结构、保守基序和结构域分析

对 30 个 *HvINVs* 的蛋白序列进行多重比对,构建系统发育树,如图 2(a)所示,依据置信度>50%将其划分为 3 个亚类(亚类 I、II 和 III)。*HvINVs* 的基因结构分析结果如图 2(b)所示,不同成员之间的基因结构存在差异,例如 *HvINV17* 的基因结构最为复杂,包含 8 个外显子,而 *HvINV8* 的基因结构则相对简单,仅有 1 个外显子;但是总体而言,同一亚类中的大多数成员展现出相似的基因结构,该结果进一步支持系统发育关系的划分。*HvINVs* 的外显子数量介于 1 至 6 之间,这表明在基因结构上存在一定程度的多样性。

除了 *HvINV8* 之外,其余的基因家族成员均含有内含子,内含子数量在 1 至 7 个之间,这一发现进一步揭示了 *HvINV*s 基因结构的复杂性。

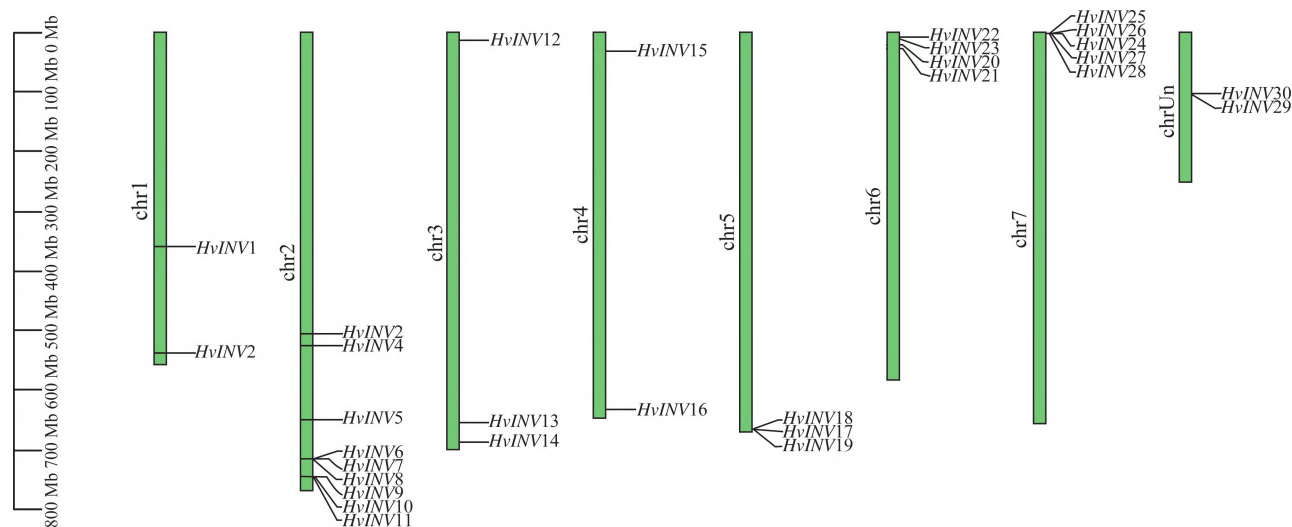


图 1 大麦 *HvINV*s 家族成员染色体定位

Fig. 1 Chromosome distribution of *HvINV* genes in barley

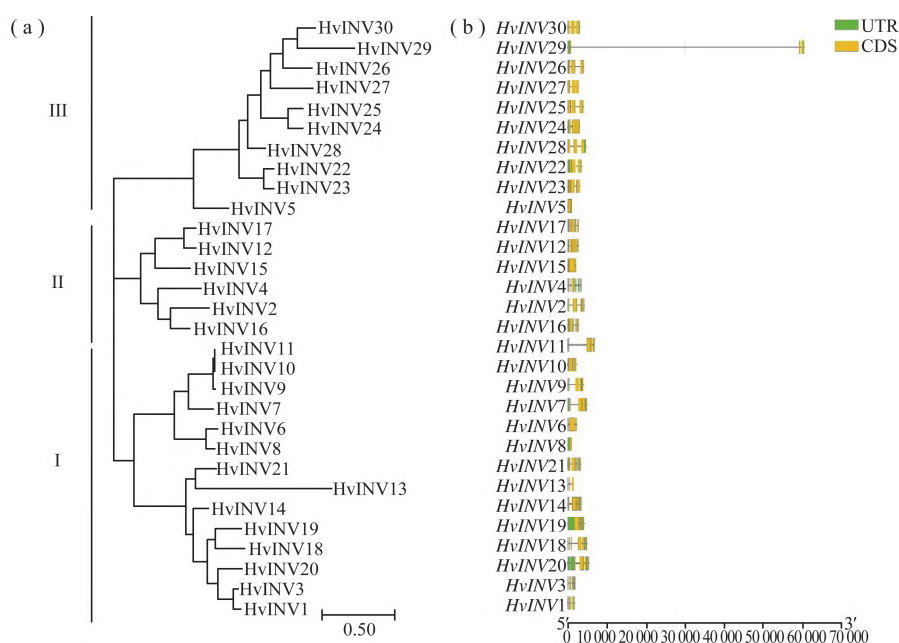


图 2 大麦 *HvINV*s 家族成员的系统进化树和基因结构

Fig. 2 The phylogenetic tree and gene structure of *HvINV* gene family members in barley

保守基序在进化上具有高度保守性,表明它们在不同物种中具有相似的功能或结构特征。在 *HvINV*s 蛋白中预测了 8 个保守基序(附图 1),各蛋白基序组成如图 3(a)所示,在同一亚类中,成员的基序组成大致相似,例如,亚类 II 的成员均包含基序 2、4、5,这种基序分布的相似性可能反映了它们在功能和进化上的密切关系。*HvINV*s 蛋白由 1 至 7 个基序组成,且几乎所有的 *HvINV*s 家族成员都包含基序 1,这表明基序 1 在 *HvINV*s 蛋白中非常保守,可能与该家族基因某些保守功能有关。而某些基序只存在于特定的亚类成员中,例如,基序 7 几乎只存在于亚类 III 的成员中。如图 3(b)所示,大麦 *HvINV*s 蛋白包含 7 个高度保守的结构域,每个亚类成员都至少含有 1 个这样的结构域。这 7 个保守结构域可能与大麦 *HvINV*s 蛋白的酶催化活性及底物特异性有关^[28]。

2.4 大麦 *HvINV*s 基因家族成员共线性分析

为了研究 *HvINV*s 基因家族与其他物种中 *INV*s 基因的进化关系,将大麦 *HvINV*s 与模式植物拟南芥和水稻的 *INV*s 基因进行物种间共线性分析。从图 4 中可以看出,30 个大麦 *HvINV*s 基因与拟南芥 *At-INV*s 基因之间不存在同源基因对,跟水稻 *OsINV*s 基因之间存在 2 个同源基因对,表明大麦 *HvINV*s 和水稻 *OsINV*s 家族成员间亲缘关系较近,*INV*s 基因在水稻和大麦的进化历程中可能经历了相似的选择压力,从而保留了更为相似的基因功能。

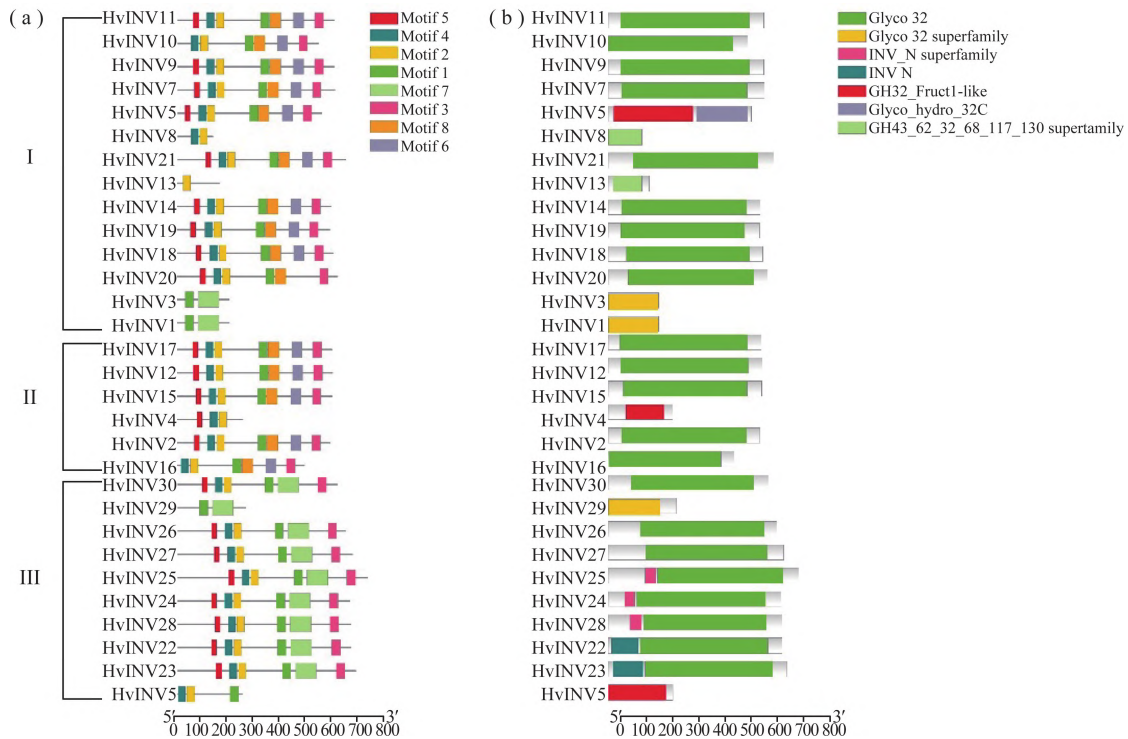


图 3 大麦 *HvINV*s 家族成员的保守基序和结构域

Fig. 3 Conserved motifs and domains of *HvINV* gene family members in barley

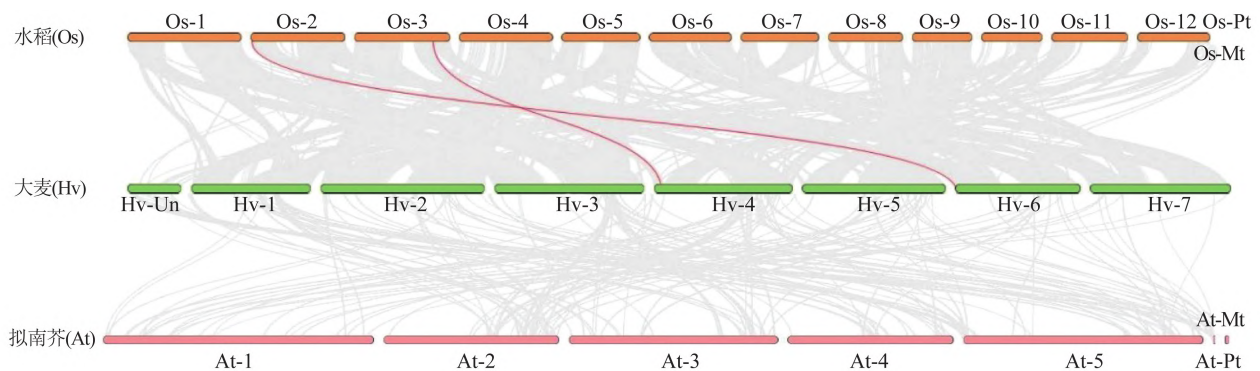


图 4 大麦 *HvINV*s 与拟南芥 *AtINV*s 和水稻 *OsINV*s 的物种间共线性分析

Fig. 4 The collinearity analysis of *HvINV*s in barley with *AtINV*s in Arabidopsis and *OsINV*s in rice

2.5 大麦 *HvINV*s 蛋白三级结构及互作蛋白预测

为了解大麦 *HvINV*s 蛋白的高级结构,每个亚家族选取一个蛋白作为代表进行蛋白三级结构分析。利用 SWISS-MODEL 在线分析软件对大麦 *HvINV*6、*HvINV*15 和 *HvINV*5 蛋白进行了三级结构的预测(图 5),预测结果表明这些蛋白主要由 β 折叠组成。 β 折叠作为蛋白质结构中一种常见的二级结构元件,通常由多个多肽链或同一多肽链的不同部分平行或反平行排列,通过氢键维系,形成一种稳定且规则的层状结构。这种结构特点可能对于 *HvINV*s 蛋白的功能实现具有重要作用,比如在酶的催化活性、蛋白质的稳定性或

是与其他分子的相互作用中发挥重要功能^[29]。

为了进一步分析大麦 *HvINV*s 蛋白在大麦生长和代谢过程中的作用机制,使用 STRING 数据库对 *HvINV*s 的互作蛋白进行预测,以构建 *HvINV*s 蛋白的相互作用网络。图 6 和表 2 中的互作蛋白信息表明, *HvINV*s 蛋白与糖基转移酶 1 家族蛋白、PfkB 家族蛋白以及磷酸转移酶等多种蛋白之间存在相互作用。这些互作蛋白在细胞内的功能各异,糖基转移酶 1 家族蛋白主要参与糖基化反应,对细胞壁的构建和维持起着至关重要的作用;PfkB 家族蛋白则在糖酵解过程中扮演关键角色,影响着细胞能量的供应;而磷酸转移酶参与了磷酸基团的转移,对细胞信号传导和代谢调控具有重要意义。*HvINV*s 蛋白与这些蛋白的相互作用,可能在其调节糖代谢、能量供应以及细胞信号传导等生理过程中发挥关键作用。

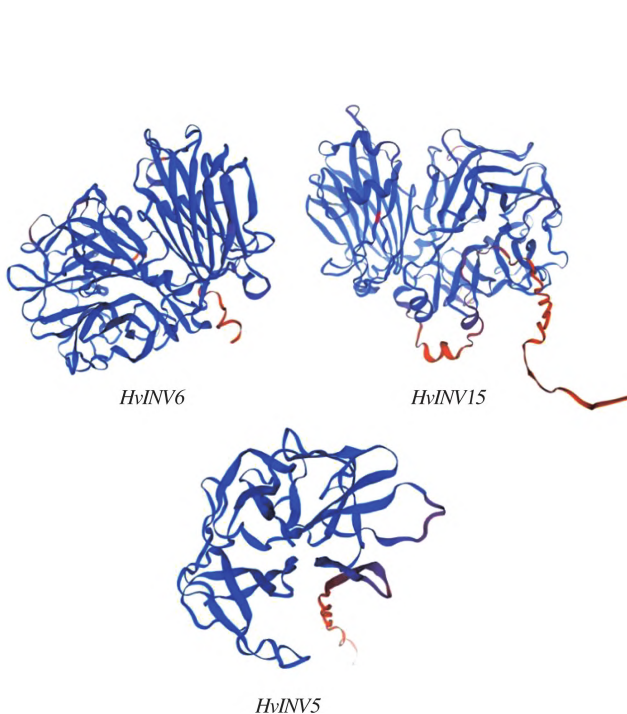


图 5 大麦 *HvINV*6、*HvINV*15 和 *HvINV*5 蛋白三级结构预测

Fig. 5 Prediction of the tertiary structure of *HvINV*6, *HvINV*15 and *HvINV*5 proteins in barley

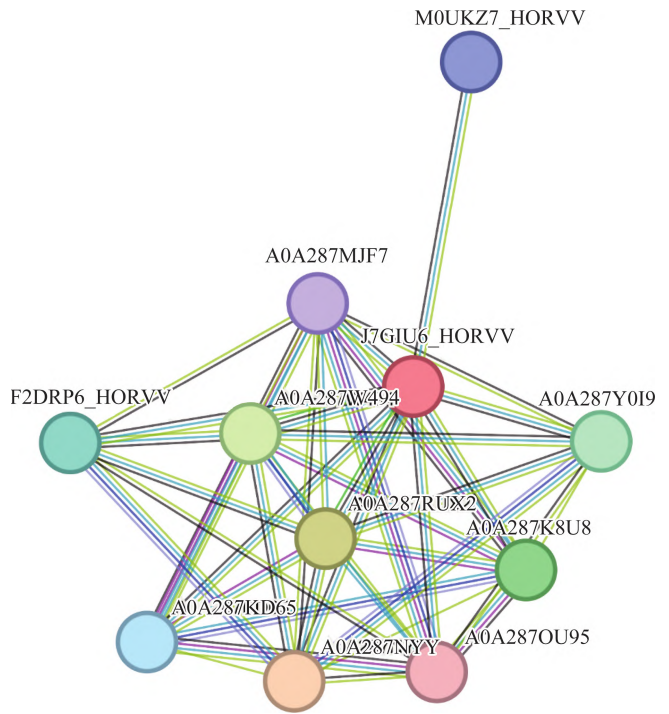


图 6 大麦 *HvINV*s 互作蛋白预测

Fig. 6 Prediction of interaction proteins for *HvINV*s in barley

表 2 大麦 *HvINV* 互作蛋白预测信息

Tab. 2 Information of the predicted interaction proteins for *HvINV*s in barley

互作节点	互作蛋白序号	基因描述	氨基酸数目	互作系数
AOA287NYY7	HORVU4Hr1G049500	糖基转移酶 1 家族蛋白	810	0.806
AOA287RUX2	HORVU5Hr1G076230	PtkB 家族蛋白	358	0.761
A0A287W494	HORVU7Hr1G038710	PtkB 家族蛋白	444	0.755
AOA287K8U8	HORVU3Hr1G016430	未知	804	0.746
AOA287Y0I9	HORVU7Hr1G120520	糖基转移酶 1 家族蛋白	863	0.728
A0A287KD65	HORVU3Hr1G020780	未知	789	0.716
M0UKZ7_HORVV	HORVU7Hr1G101800	糖基转移酶 1 家族蛋白	592	0.701
A0A287MJF7	HORVU3Hr1G105380	磷酸转移酶	468	0.682
A0A287OU95	HORVU5Hr1G034070	磷酸转移酶	255	0.682

2.6 大麦 *HvINV*s 基因家族成员功能预测

拟南芥中 *AtINV*s 功能研究较为深入,而共线性分析结果显示大麦 *HvINV*s 和水稻 *OsINV*s 家族成员间亲缘关系较近,为了初步了解大麦 *HvINV*s 的功能,我们对水稻、拟南芥和大麦的 *INV*s 进行了进化关系分析。对 30 个 *HvINV*s、10 个水稻 *OsINV*s 和 9 个拟南芥 *AtINV*s 基因的蛋白序列进行多重比对,并构建系统发育树。如图 7 所示,依据置信度 $>50\%$ 的标准,将 49 个 *INV*s 基因划分为 3 个亚家族(亚家族 A、B

和 C),该结果与 30 个大麦 *HvINV*s 基因进化分组基本一致(图 2)。其中,7 个 *HvINV*s、3 个 *OsINV*s 和 5 个 *AtINV*s 划分为亚家族 B,该亚家族中的成员主要定位于细胞壁,为细胞壁蔗糖转化酶;10 个 *HvINV*s、2 个 *OsINV*s 和 3 个 *AtINV*s 划分为亚家族 C,它们主要定位于液泡,为液泡蔗糖转化酶;剩余的 *HvINV*s 则被归类到亚家族 A,这些酶主要定位在细胞质中,为细胞质蔗糖转化酶。这三个亚家族的划分不仅能表明它们在系统发育树上的亲缘关系远近,还反映了它们在细胞内的不同定位,这可能与它们具有不同的功能特性有关。许多进化关系较近的同源基因具有相似功能,因而可以依据拟南芥中已知同源基因的功能初步预测大麦 *HvINV*s 基因的功能。例如,*AtCWIN* (AT2G36190) 基因与植物发育阶段转变的调控相关^[30],亚家族 B 中的大麦 *HvINV*s 基因可能也在调控大麦发育阶段转变中发挥作用。拟南芥 *AtVIN2* (AT1G12240) 参与调节植株的侧根发育过程^[31],亚家族 C 中的大麦 *HvINV*s 基因可能也在调节植物的侧根发育中发挥功能。

2.7 大麦 *HvINV*s 启动子区顺式作用元件分析

基因编码区上游区域含有多个顺式作用元件,这些元件具有调控相关基因表达的重要功能。为了分析 *HvINV*s 基因的潜在调控机制,利用 *HvINV*s 起始密码子上游 2 000 bp 的启动子序列,借助 PlantCARE 在线网站预测启动子区域的顺式作用元件。如图 8 所示,在 *HvINV*s 启动子区域内鉴定出了大量顺式作用元件,主要包括发育相关元件、激素反应元件和胁迫响应元件等。植物发育相关元件包括花药特异表达元件 GCC-box、细胞发育元件 TATA-box、根特异性表达元件及种子表达调控相关的 RY 基序等。对于激素反应的顺式作用元件,有赤霉素反应相关的 P-box 和 GARE 基序;MeJA 反应相关的 CGTCA 和 TGACG 基序;水杨酸反应相关的 TCA 元件;生长素反应相关的 TGA 元件和 AACGAC 基序;脱落酸反应相关的 ABRE。非生物和生物胁迫响应顺式作用元件包括光响应 G-box、防御和胁迫响应 TC 富集重复序列;低温响应 LTR。几乎在所有 *HvINV*s 启动子区域中都存在激素和非生物胁迫响应的顺式作用元件,这暗示着 *HvINV*s 基因可能在应对非生物胁迫中发挥重要作用,并且参与了多种植物激素的信号传导途径。这一发现为进一步揭示 *HvINV*s 基因在植物逆境响应中的功能提供了一定的理论基础。

2.8 大麦 *HvINV*s 基因的组织表达分析及在盐胁迫中的表达分析

根据大麦 Morex 中在不同组织表达的 RNA-seq 数据,分析了大麦 *HvINV*s 基因家族成员的组织表达情况,结果如图 9(a) 所示,*HvINV*9、*HvINV*13、*HvINV*4、*HvINV*2、*HvINV*30、*HvINV*29 和 *HvINV*26 均在颖果中有较高表达,说明这些基因可能在颖果发育过程中发挥作用;*HvINV*7、*HvINV*6、*HvINV*8、

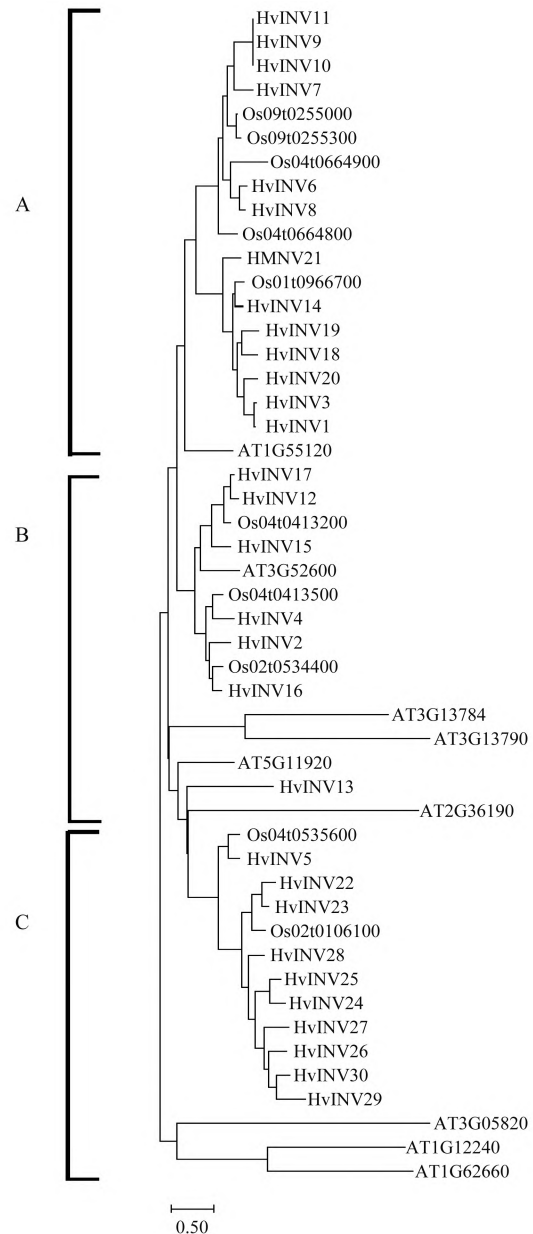


图 7 大麦 *HvINV*s 家族成员与拟南芥 *AtINV*s 和水稻 *OsINV*s 的系统进化关系

Fig. 7 Phylogenetic relationships of *HvINV*s in barley with *AtINV*s in Arabidopsis and *OsINV*s in rice

*HvINV*20、*HvINV*17 主要在节间和根中表达,且具有较高表达量,这表明它们可能在植物的地下部分和节间生长区域中发挥作用;*HvINV*23 和 *HvINV*12 在花序中表达量较高,这表明它们可能在花序的发育中发挥作用。*HvINV*18 只在嫩芽中有较高表达量,这暗示它可能在芽的早期发育和生长过程中具有特定的功能。总体来看,这些基因的表达模式反映了它们在大麦不同组织和发育阶段中的特定功能和作用。



图8 大麦 *HvINV*s 家族成员顺式作用元件预测

Fig. 8 Predicted *cis*-acting elements in *HvINV* promoters in barley

大麦 *HvINV*s 基因的启动子区域均含有许多逆境响应相关顺式作用元件,且根据同源基因功能预测亚家族 B 中的大麦 *HvINV*s 基因可能响应盐胁迫,因而我们对大麦 Morex 盐胁迫下的转录组数据进行了分析^[27]。数据分析发现,如图 9(b)所示,经过盐处理之后,一半以上的 *HvINV*s 基因响应盐胁迫。在根分生区, *HvINV*2、*HvINV*4、*HvINV* 7、*HvINV* 9、*HvINV*12、*HvINV*13、*HvINV*17 和 *HvINV*19 上调表达,其中 *HvINV*2、*HvINV*4、*HvINV* 7 和 *HvINV*9 的上调倍数较高,这表明它们在盐胁迫条件下可能发挥着重要的调节作用,有可能通过提高表达水平来增强大麦的耐受性;而 *HvINV*1、*HvINV*3、*HvINV*14、*HvINV*21、*HvINV*22、*HvINV*23、*HvINV*25 和 *HvINV*26 的下调幅度尤为明显。在根伸长区, *HvINV*5、*HvINV*6、*HvINV*16、*HvINV*18 和 *HvINV*24 上调表达; *HvINV*12 和 *HvINV*19 下调表达。而在根尖区域, *HvINV*8、*HvINV*20、*HvINV*27 和 *HvINV*28 上调表达; *HvINV*2、*HvINV*17 和 *HvINV*18 下调表达。这些基因表达模式的改变可能反映了植物在应对环境胁迫时的复杂调控机制,通过调节不同基因的表达来适应外部环境的变化。

3 讨论

植物蔗糖转化酶是糖代谢的关键酶, *INV*s 基因在蔗糖的转运、植物生长发育、信号转导及非生物胁迫响应等过程中发挥着重要作用^[2,12,32-34]。目前已有大量的关于 *INV*s 基因响应非生物逆境的研究被报道,例如盐胁迫^[25],干旱胁迫^[17],冷害胁迫^[20]等。鉴于该基因家族的功能重要性,在一些植物中已经进行了全基因组水平上的成员鉴定、特征分析及其在逆境响应中的表达模式分析,例如,拟南芥^[35]、玉米^[36]、水稻^[37]、棉花^[38]等。迄今为止,尚未有大麦 *INV*s 基因家族及其家族成员分子特征以及其在盐胁迫下的表达模式的综合性报道。

本研究共鉴定到 30 个 *HvINV*s 基因,它们在大麦基因组中不均匀分布,且多数集中在染色体的末端区域,集中在染色体末端的基因可能更容易受到重组事件的影响,从而加速基因多样性的产生^[39]。而在特定染色体上集中分布的基因,如 Chr2H 上的 9 个 *HvINV*s 基因,可能与该染色体上的特定功能区域有关联。大麦 *HvINV*s 基因家族的多数成员都包含三个关键的保守基序,这体现了物种在进化过程中的保守性。共线性分析结果显示,大麦与水稻之间包含 2 个共线性基因,而大麦与拟南芥之间无共线性基因,这种差异可能反映了不同植物物种在进化过程中的选择压力的差异,进一步表明 *INV* 基因在大麦和水稻中的保守性。大麦和水稻之间存在的 *INV* 基因对可能具有相似的功能,甚至可能源自共同的祖先基因。进一步推测,这种共线性关系可能是物种在长期进化过程中,为适应相似环境压力而保留下来的基因功能保守性^[40]。

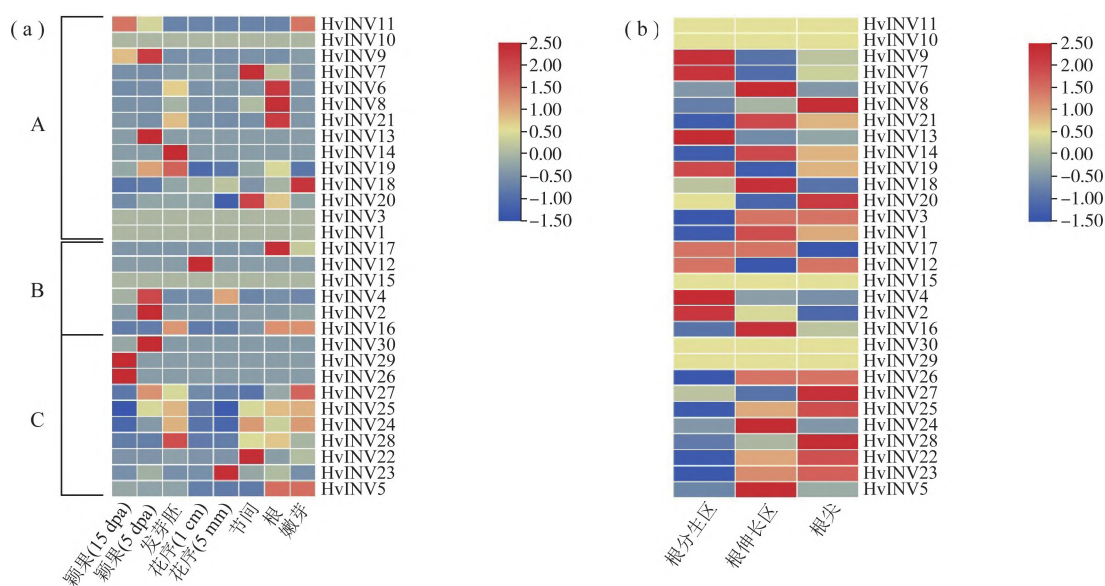


图 9 大麦 *HvINV*s 家族成员组织表达及在盐胁迫下的表达分析

Fig. 9 Tissue expression and expression analysis under salt stress of *HvINV*s in barley

同一亚群中的同源基因通常具有相似的功能。本研究将许多 *HvINV*s 蛋白划分在功能已知的 *AtINV*s 的一些功能亚群中,为研究 *HvINV*s 的功能提供了有价值的参考。据报道,属于同一亚家族 B 中的 *AtCW-INV*(AT3G52600)和 *AtCWIN*(AT2G36190)基因均与植物从营养生长转变为生殖生长的调控相关^[28,41];亚家族 C 中的拟南芥液泡蔗糖转化酶基因(AT1G12240 和 AT1G62660)与植物耐旱性密切相关^[42-43];再次证明了来自同一亚群的蛋白质可能具有相似的功能。因而,我们推测亚家族 B 的大麦 *HvINV*s 基因可能也在调控大麦发育阶段转变的过程中发挥重要作用,而亚家族 C 中的大麦 *HvINV*s 基因可能参与干旱胁迫的响应。此外,亚家族 C 中部分基因的表达受到抑制会降低转基因植物对盐胁迫的耐受性^[25];而盐胁迫条件下,多数亚家族 C 中大麦 *HvINV*s 基因在根伸长区和根尖中均上调表达,说明该亚家族中这部分基因可能与盐胁迫响应有关。以上结果也说明同一亚家族中基因功能存在多样性。

4 结论

*INV*s 基因在作物生长发育以及逆境响应过程中具有重要作用。本研究从大麦基因组中成功鉴定到 30 个 *HvINV*s 基因,综合各分子特征分析发现这些基因可能在大麦生长发育以及逆境响应过程中发挥潜在的重要作用。此外,转录组结果表明大量的 *HvINV*s 基因家族成员响应盐胁迫,这些基因很可能在大麦盐胁迫响应中发挥重要作用。本研究可为后续大麦 *HvINV*s 基因家族成员在逆境响应中的功能研究提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] ROITSCH T, GONZÁLEZ M C. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations[J]. Trends in Plant Science, 2004, 9

- (12): 606-613.
- [2] JAIN R, SINGH S P, SINGH A, et al. Soluble acid invertase (SAI) activity and gene expression controlling sugar composition in sugar-cane[J]. Sugar Tech, 2017, 19(6): 669-674.
- [3] CHAPMAN K, TALESKI M, OGILVIE H A, et al. *CEP-CEPR1* signalling inhibits the sucrose-dependent enhancement of lateral root growth[J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 70(15): 3955-3967.
- [4] STURM A. Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning[J]. Plant Physiology, 1999, 121(1): 1-8.
- [5] RUAN Y L, JIN Y, YANG Y J, et al. Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat[J]. Molecular Plant, 2010, 3(6): 942-955.
- [6] 郭文平, 王帅军, 祝建波, 等. 棉花转化酶基因保守片段的克隆及其序列分析[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2007, 25(5): 537-540.
- [7] 潘秋红, 张大鹏. 植物转化酶的种类、特性与功能[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(3): 275-280.
- [8] TANG G Q, LÜSCHER M, STURM A. Antisense repression of vacuolar and cell wall invertase in transgenic carrot alters early plant development and sucrose partitioning[J]. The Plant Cell, 1999, 11(2): 177-189.
- [9] JIN Y, NI D, RUAN Y L. Posttranslational elevation of cell wall invertase activity by silencing its inhibitor in tomato delays leaf senescence and increases seed weight and fruit hexose level[J]. The Plant Cell, 2009, 21(7): 2072-2089.
- [10] DERYABIN A N, BURAKHANOVA E A, TRUNOVA T I. Apoplastic sugars and cell-wall invertase are involved in formation of the tolerance of cold-resistant potato plants to hypothermia[J]. Doklady Biochemistry and Biophysics, 2015, 465(1): 366-369.
- [11] YAO Y, GENG M T, WU X H, et al. Genome-wide identification, 3D modeling, expression and enzymatic activity analysis of cell wall invertase gene family from cassava (*Manihot esculenta* Crantz)[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(5): 7313-7331.
- [12] YU X Y, WANG X F, ZHANG W Q, et al. Antisense suppression of an acid invertase gene (*MAI1*) in muskmelon alters plant growth and fruit development[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(11): 2969-2977.
- [13] ZANOR M I, OSORIO S, NUNES-NESE A, et al. RNA interference of *LIN5* in tomato confirms its role in controlling Brix content, uncovers the influence of sugars on the levels of fruit hormones, and demonstrates the importance of sucrose cleavage for normal fruit development and fertility[J]. Plant Physiology, 2009, 150(3): 1204-1218.
- [14] GOETZ M, GODT D E, GUIVARC H A, et al. Induction of male sterility in plants by metabolic engineering of the carbohydrate supply[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(11): 6522-6527.
- [15] 徐文亭. 两个棉纤维发育相关基因 GhFBP 和 GhVIN2 的克隆与功能分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [16] 牛俊奇, 苗小荣, 王露蓉, 等. 甘蔗细胞壁转化酶基因(*SoCIN1*)克隆及其在转基因烟草中的表达特性分析[J]. 南方农业学报, 2017, 48(10): 1727-1733.
- [17] MCLAUGHLIN J E, BOYER J S. Sugar-responsive gene expression, invertase activity, and senescence in aborting maize ovaries at low water potentials[J]. Annals of Botany, 2004, 94(5): 675-689.
- [18] TROUVERIE J, CHATEAU-JOUBERT S, THÉVENOT C, et al. Regulation of vacuolar invertase by abscisic acid or glucose in leaves and roots from maize plantlets[J]. Planta, 2004, 219(5): 894-905.
- [19] WANG L M, ZHENG Y X, DING S H, et al. Molecular cloning, structure, phylogeny and expression analysis of the invertase gene family in sugarcane[J]. BMC Plant Biology, 2017, 17(1): 109.
- [20] 魏华伟, 柴松琳, 胡克玲, 等. 辣椒酸性蔗糖转化酶基因家族鉴定及表达[J]. 分子植物育种, 2019, 17(15): 4900-4907.
- [21] DAHRO B, WANG Y, ALHAG A, et al. Genome-wide identification and expression profiling of invertase gene family for abiotic stresses tolerance in *Poncirus trifoliata*[J]. BMC Plant Biology, 2021, 21(1): 559.
- [22] QIAN W J, YUE C, WANG Y C, et al. Identification of the invertase gene family (INVs) in tea plant and their expression analysis under abiotic stress[J]. Plant Cell Reports, 2016, 35(11): 2269-2283.
- [23] BALIBREA M E, CUARTERO J, BOLARÍN M C, et al. Sucrolytic activities during fruit development of *Lycopersicon* genotypes differing in tolerance to salinity[J]. Physiologia Plantarum, 2003, 118(1): 38-46.
- [24] ZHAO C Z, ZHANG H, SONG C P, et al. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity[J]. The Innovation, 2020, 1(1): 100017.
- [25] YANG W T, CHEN S Y, CHENG Y X, et al. Cell wall/vacuolar inhibitor of fructosidase 1 regulates ABA response and salt tolerance in *Arabidopsis*[J]. Plant Signaling & Behavior, 2020, 15(4): 1744293.
- [26] CHEN C J, WU Y, LI J W, et al. TBtools-II: a "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining[J]. Molecular plant, 2023, 16(11): 1733-1742.

- [27] HILL C B, CASSIN A, KEEBLE-GAGNÈRE G, et al. *De novo* transcriptome assembly and analysis of differentially expressed genes of two barley genotypes reveal root-zone-specific responses to salt exposure[J]. Scientific Reports, 2016(6): 31558.
- [28] HERVÉ C, ROGOWSKI A, BLAKE A W, et al. Carbohydrate-binding modules promote the enzymatic deconstruction of intact plant cell walls by targeting and proximity effects[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(34): 15293-15298.
- [29] KIM D N, JACOBS T M, KUHLMAN B. Boosting protein stability with the computational design of β -sheet surfaces[J]. Protein Science, 2016, 25(3): 702-710.
- [30] MENG L S, BAO Q X, MU X R, et al. Glucose-and sucrose-signaling modules regulate the *Arabidopsis* juvenile-to-adult phase transition[J]. Cell Reports, 2021, 36(2): 109348.
- [31] WANG J, SUN W J, KONG X Z, et al. The peptidyl-prolyl isomerases FKBP15-1 and FKBP15-2 negatively affect lateral root development by repressing the vacuolar invertase VIN2 in *Arabidopsis*[J]. Planta, 2020, 252(4): 52.
- [32] VERHAEST M, LAMMENS W, LE ROY K, et al. X-ray diffraction structure of a cell-wall invertase from *Arabidopsis thaliana*[J]. Acta crystallographica Section D Biological crystallography, 2006, 62(12): 1555-1563.
- [33] JUÁREZ-COLUNGA S, LÓPEZ-GONZÁLEZ C, MORALES-ELÍAS N C, et al. Genome-wide analysis of the invertase gene family from maize[J]. Plant Molecular Biology, 2018, 97(4): 385-406.
- [34] TANG X F, SU T, HAN M, et al. Suppression of extracellular invertase inhibitor gene expression improves seed weight in soybean (*Glycine max*)[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(3): 469-482.
- [35] SCHWEBEL-DUGUÉ N, EL MTILI N, KRIVITZKY M, et al. *Arabidopsis* gene and cDNA encoding cell-wall invertase[J]. Plant Physiology, 1994, 104(2): 809-810.
- [36] JUÁREZ-COLUNGA S, LÓPEZ-GONZÁLEZ C, MORALES-ELÍAS N C, et al. Genome-wide analysis of the invertase gene family from maize[J]. Plant Molecular Biology, 2018, 97(4): 385-406.
- [37] JI X M, VAN DEN ENDE W, VAN LAERE A, et al. Structure, evolution, and expression of the two invertase gene families of rice[J]. Journal of Molecular Evolution, 2005, 60(5): 615-634.
- [38] 韩玉慧, 陈琴, 张会, 等. 棉花蔗糖转化酶基因家族的生物信息学分析[J]. 中国农业大学学报, 2018, 23(11): 15-30.
- [39] ZOU M L, SHABALA S, ZHAO C C, et al. Molecular mechanisms and regulation of recombination frequency and distribution in plants [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2024, 137(4): 86.
- [40] FENG X, CHEN Q P, WU W H, et al. Genomic evidence for rediploidization and adaptive evolution following the whole-genome triplication[J]. Nature Communications, 2024(15): 1635.
- [41] CABELLO S, LORENZ C, CRESPO S, et al. Altered sucrose synthase and invertase expression affects the local and systemic sugar metabolism of nematode-infected *Arabidopsis thaliana* plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 65(1): 201-212.
- [42] WANG L, LI X R, LIAN H, et al. Evidence that high activity of vacuolar invertase is required for cotton fiber and *Arabidopsis* root elongation through osmotic dependent and independent pathways, respectively[J]. Plant Physiology, 2010, 154(2): 744-756.
- [43] 陈素芬. 液泡蔗糖转化酶调控拟南芥气孔运动及其抗旱作用[D]. 上海: 上海应用技术学院, 2015.

(责任编辑: 刘庆松)