

研究报告

Research Report

生物信息学鉴定分析茄子脂肪酸去饱和酶(FAD)基因家族

朱宗文 张爱冬 吴雪霞 查丁石*

上海市农业科学院园艺研究所/上海市设施园艺技术重点实验室, 上海, 201106

* 通信作者, dingshizha@aliyun.com

摘要 脂肪酸去饱和酶(FAD)广泛分布于生物体内,其主要功能是在脂肪酸的生物合成过程中,从碳链中去除氢,从而产生碳碳双键。利用拟南芥 FAD 家族基因和茄子基因组数据,对茄子基因中可能含有的 FAD 基因进行鉴定和生物信息学分析。共鉴定出茄子 FAD 基因家族成员 38 个,其中 FAB 亚家族成员 5 个。对家族成员进行蛋白理化性质分析、系统进化分析和保守结构域分析,发现各亚家族成员间具有较为相似的保守基因序列和蛋白特性;基因结构分析表明,FAD 家族成员间存在着不同的基因结构,但聚为一类的亚家族基因具有进化的保守性;染色体定位显示茄子 FAD 家族成员主要分布在 5 号染色体、6 号染色体和 4 号染色体上。亚细胞定位预测茄子 FAD 家族成员主要分布在内质网、叶绿体和质膜上,FAB 亚家族则全部定位在叶绿体上。

关键词 脂肪酸去饱和酶(FAD); 茄子(*Solanum melongena* L.); 基因家族

Identification and Bioinformatics Analysis of Fatty Acid Desaturase (FAD) Gene Family in Eggplant (*Solanum melongena* L.)

Zhu Zongwen Zhang Aidong Wu Xuexia ZhaDingshi*

Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences/Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai, 201106

* Corresponding author, dingshizha@aliyun.com

DOI: 10.5376/mpb.cn.2021.19.0021

Abstract Fatty acid desaturase (FAD) is widely distributed in living organisms. Its main function is to remove hydrogen from the carbon chain during the biosynthesis of fatty acids, thus producing carbon-carbon double bonds. Using the data of the FAD family in *Arabidopsis thaliana* and the eggplant genome, the FAD genes in eggplant were identified and the bioinformatics of FAD genes were analyzed. Thirty-eight members of FAD gene family were identified, including five members of FAB subfamily. The analysis of protein physical and chemical properties, phylogenetic analysis and conserved domain analysis showed that there were relatively similar conserved gene sequences and protein characteristics among the members of each subfamily. There are different genetic structures among members of the FAD family, but the subfamily genes clustered together are evolutionarily conserved. Chromosome mapping shows that members of the FAD family are mainly distributed in Chromosome 5, Chromosome 6 and Chromosome 4. The subcellular localization predicted that the members of the FAD family were mainly distributed in the endoplasmic reticulum, chloroplast and plasma membrane, while the FAB subfamilies were all located in the chloroplast.

Keywords Fatty acid desaturase (FAD); *Solanum melongena* L.; Gene family

本文首次发表在《分子植物育种》上,现依据版权所有人授权的许可协议,采用 Creative Commons Attribution License,协议对其进行授权,再次发表与传播

收稿日期:2021 年 5 月 12 日;接受日期:2021 年 5 月 12 日;发表日期:2021 年 5 月 19 日

引用格式:朱宗文,张爱冬,吴雪霞,查丁石,2021,生物信息学鉴定分析茄子脂肪酸去饱和酶(FAD)基因家族,分子植物育种(网络版) 19 (21): 1-11 (doi: 10.5376/mpb.cn.2021.19.0021) (Zhu Z.W., Zhang A.D., Wu X.X., and Zha D.S., 2021, Identification and Bioinformatics Analysis of Fatty Acid Desaturase (FAD) Gene Family in Eggplant (*Solanum melongena* L.), *Fenzi Zhiwu Yuzhong* (Molecular Plant Breeding (online)), 19(21): 1-11 (doi: 10.5376/mpb.cn.2021.19.0021))

植物体具有特殊的生物膜系统,能和外界生长环境起到很好的沟通,从而维持细胞内部的稳定性(Mansour, 2014)。脂肪酸是构成生物膜系统中细胞膜脂的主要成分。一般情况下,脂肪酸以饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸按一定比例存在于植物体内(Li et al., 2015)。脂肪酸去饱和酶(fatty acid desaturase, FAD)则是植物体内甘油酯生物合成途径中脂肪酸链中引入双键的关键酶。在 FAD 的作用下,植物体内脂肪酸的不饱和度和各组分比例产生变化,影响膜的流动性和稳定性,提高植株的逆境抗性(Leekumjorn et al., 2009; Singh et al., 2009)。

外界温度变化可以诱导植物体内 FAD 的表达,对脂肪酸种类和数量产生影响从而改变脂肪酸的不饱和度(Tovuu et al., 2016; Menard et al., 2017)。植物体在受到外界温度胁迫时通过脂肪酸去饱和酶 FAD 的作用可以改变不饱和脂肪酸含量和比例来提高抗性(Murata and Los, 1997)。膜脂中不饱和脂肪酸含量越高,相变温度就越低,抗低温性越强。膜脂中不饱和脂肪酸含量越低,相变温度就越高,抗高温性越强(Somerville, 1995)。研究发现,低温处理花生(*Arachis hypogaea* L.)植株体可诱导 7 个 FAD2 基因的上调表达(薛晓梦等, 2019)。玉米(*Zea mays* L.)质体中脂肪酸去饱和酶基因 ZmFAD8 的表达受低温诱导,从而改变不饱和脂肪酸的比例来应对外界低温胁迫(Berberich et al., 1998)。过表达 FAD8 基因的转基因水稻(*Oryza sativa* L.)品系在 2℃ 低温处理一周后,其抗低温性显著高于对照,植株受损伤程度大大降低(Wang et al., 2006)。缺失 FAD6 基因的拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)突变体在低温胁迫下,叶绿体膜脂中多不饱和脂肪酸含量大幅度下降,植株体耐冷性显著下降(Maeda et al., 2008)。将拟南芥的叶绿体脂肪酸去饱和酶基因 *AtFAD7* 导入烟草中,转基因烟草体内十六碳三烯脂肪酸和亚麻酸含量增加并在 1℃ 低温条件下表现出很强的抗性(Kodama et al., 1994)。而转 FAD7 基因的番茄植株在低温条件下,其植株抗寒性增加(Domínguez et al., 2010)。上述研究表明,FAD 受到温度的诱导,改变低温胁迫下植株体内生物膜系统的脂肪酸组成,增加不饱和脂肪酸的含量和比例,提高植物体的低温抗性,对农作物耐冷种质材料的创制和抗低温育种具有重要意义。

茄子(*Solanum melongena* L.)作为一种深受人们喜爱的茄果类蔬菜,在全国各地种植广泛(连勇等, 2017)。由于其适合运输,近年来作为设施内越冬生

产的主要蔬菜产品,为农业生产发挥了积极作用。而低温条件会对茄子营养生长和生殖生长产生伤害,最终导致产量和品质的下降(Nio-Medina et al., 2017)。为了提高茄子抗低温性,增加农业生产效益,多种抗低温生产栽培技术得到研究及应用(张晓艳等, 2009; 吴雪霞等, 2017; 张永吉等, 2020)。但不能从实际生产上解决根本问题。随着茄子基因组信息的公布(Hirakawa et al., 2014),其相关基因家族陆续得到鉴定,如 *CBL* 和 *CIPK* 基因(Li et al., 2016)作为钙传感器及其相互作用的蛋白激酶控制着许多离子转运蛋白的亲合力和活性;R2R3MYB 转录因子家族(Wang et al., 2016)在植株体的发育过程和防御反应中发挥着重要调控作用;CBF 基因(Zhou et al., 2018)作为特异性转录因子参与植株体的冷胁迫应答;WRKY 基因(Yang et al., 2020)在植株体生长发育及应对外界环境胁迫时发挥着重要作用。本研究运用分子生物学技术和相关软件,通过在线数据库对茄子 FAD 基因家族进行了鉴定,对其理化性质和相关结构进行分析,为茄子 FAD 基因的研究及其在遗传育种中的应用提供理论依据。

1 结果与分析

1.1 茄子 FAD 基因家族成员鉴定及蛋白理化性质分析

使用 HMMER 软件对获取的已知 16 条拟南芥 FAD 家族蛋白序列(FAD 9 条, FAB 7 条)构建隐马尔可夫模型,找出茄子蛋白序列中的所有潜在 FAD 家族序列。并与 Blastp 比对获取的家族参考序列进行合并共获得 33 个 SmFAD 和 5 个 SmFAB 候选基因,依据其在染色体上的位置顺序分别命名为 SmFAD1~SmFAD33, SmFAB1~SmFAB5。对其蛋白进行理化性质分析发现,所含氨基酸数量从 46 个到 907 个不等,除 SmFAD4 仅包含 46 个氨基酸外,其余 37 个成员氨基酸数量均超过 100;成员间不稳定性系数存在着一定的差异性,小于 40 的成员有 23 个,大于 40 的有 15 个,其中 SmFAD4 可能最为稳定,SmFAB3 则最不稳定;等电点从 4.65 (SmFAD5)到 9.53 (SmFAB4)不等,大部分成员等电点超过 7,富含碱性氨基酸;分子量与成员所含氨基酸数量成正比,最小的为 SmFAD4,最大的为 SmFAD9;38 个家族成员中有 31 个为亲水性蛋白,仅有 7 个不是亲水性蛋白(表 1)。

表 1 茄子 FAD 基因家族成员鉴定及蛋白理化性质

Table 1 Basic information of the FAD gene family and physicochemical properties of protein in eggplant

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	内含子数 Intron number	氨基酸数量 Amino acid number	不稳定系数 Instability Index	脂肪指数 Aliphatic index	等电点 Isoelectric points	分子量 Molecular weight(kD)	亲水性平均系数 Grand average of hydropathicity (GRAVY)
<i>SmFAD1</i>	SMEL_000g004270.1	0	326	38.96	96.56	9.14	37.90	0.025
<i>SmFAD2</i>	SMEL_000g091240.1	2	133	39.72	82.11	5.45	14.79	-0.193
<i>SmFAD3</i>	SMEL_001g152540.1	0	383	41.17	87.23	8.50	43.91	-0.035
<i>SmFAD4</i>	SMEL_003g170610.1	1	46	23.97	86.96	6.54	5.54	-0.333
<i>SmFAD5</i>	SMEL_003g185960.1	4	231	36.69	88.27	4.65	25.77	-0.156
<i>SmFAD6</i>	SMEL_004g200060.1	1	732	30.51	93.59	7.85	84.26	0.145
<i>SmFAD7</i>	SMEL_004g200070.1	1	835	31.74	92.81	8.28	96.10	0.100
<i>SmFAD8</i>	SMEL_004g204530.1	1	331	40.90	83.32	8.46	38.70	-0.111
<i>SmFAD9</i>	SMEL_004g210000.1	3	907	39.92	79.50	6.25	101.97	-0.351
<i>SmFAD10</i>	SMEL_004g218850.1	1	146	33.27	82.19	5.20	16.85	-0.328
<i>SmFAD11</i>	SMEL_005g224240.1	1	403	34.24	88.01	8.60	46.67	0.053
<i>SmFAD12</i>	SMEL_005g233210.1	2	285	35.73	85.19	9.30	33.34	-0.198
<i>SmFAD13</i>	SMEL_005g233830.1	1	664	40.04	93.95	9.33	77.51	-0.050
<i>SmFAD14</i>	SMEL_005g233840.1	1	664	39.38	93.95	9.33	77.50	-0.050
<i>SmFAD15</i>	SMEL_005g233850.1	0	384	38.62	88.39	8.51	44.35	-0.098
<i>SmFAD16</i>	SMEL_005g241230.1	2	141	38.82	90.64	5.75	15.67	-0.269
<i>SmFAD17</i>	SMEL_005g241790.1	0	383	33.63	94.18	8.76	44.27	-0.087
<i>SmFAD18</i>	SMEL_005g241800.1	1	413	39.55	91.86	8.03	47.59	-0.111
<i>SmFAD19</i>	SMEL_005g241810.1	1	667	34.15	97.35	8.88	77.13	-0.009
<i>SmFAD20</i>	SMEL_005g241820.1	0	380	46.48	92.11	7.32	44.07	-0.062
<i>SmFAD21</i>	SMEL_006g243580.1	2	136	37.68	86.76	4.77	15.06	-0.292
<i>SmFAD22</i>	SMEL_006g245010.1	7	377	32.42	93.02	8.80	43.75	-0.072
<i>SmFAD23</i>	SMEL_006g245040.1	6	346	28.20	94.57	8.22	40.17	-0.078
<i>SmFAD24</i>	SMEL_006g245880.1	6	426	37.11	82.35	7.78	48.76	-0.262
<i>SmFAD25</i>	SMEL_006g253160.1	2	134	42.33	85.07	4.98	15.04	-0.343
<i>SmFAD26</i>	SMEL_006g269840.1	2	132	32.40	88.56	4.64	14.72	-0.248
<i>SmFAD27</i>	SMEL_007g271180.1	9	441	44.78	88.91	9.16	50.78	-0.107
<i>SmFAD28</i>	SMEL_007g295120.1	0	104	51.16	75.96	5.42	11.99	-0.267
<i>SmFAD29</i>	SMEL_007g295130.1	1	565	51.86	97.01	9.03	62.37	0.036
<i>SmFAD30</i>	SMEL_008g307920.1	0	456	46.93	85.70	7.62	52.47	0.032
<i>SmFAD31</i>	SMEL_010g345700.1	1	225	40.17	94.89	6.91	26.19	-0.001
<i>SmFAD32</i>	SMEL_010g351300.1	3	178	36.34	80.45	4.78	19.92	-0.293
<i>SmFAD33</i>	SMEL_011g370900.1	0	375	42.44	89.17	8.60	43.81	0.034
<i>SmFAB1</i>	SMEL_001g148440.1	1	338	40.51	88.82	8.70	38.75	-0.248
<i>SmFAB2</i>	SMEL_006g253440.1	2	396	35.22	79.34	6.24	45.02	-0.426
<i>SmFAB3</i>	SMEL_006g255140.1	1	366	53.50	81.53	7.64	41.91	-0.307
<i>SmFAB4</i>	SMEL_006g255210.1	2	319	47.17	86.52	9.53	36.84	-0.328
<i>SmFAB5</i>	SMEL_011g365200.1	2	393	40.37	82.90	5.94	44.71	-0.392

1.2 茄子 FAD 家族成员系统进化分析

将获取的 38 条完整的 SmFAD 氨基酸序列与拟南芥的 16 条 AtFAD 家族成员进行多序列比对并构建系统进化树(图 1)。从图中可以看出,唯一的

可溶性脂肪酸去饱和酶亚家族 FAB2 被聚为一类,在拟南芥中有 7 个成员,在茄子种存在 5 个成员;茄子中 4 个成员 (SmFAD6, SmFAD 7, SmFAD 11 和 SmFAD 30)与拟南芥的 AtSLD1 和 AtSLD2 聚为

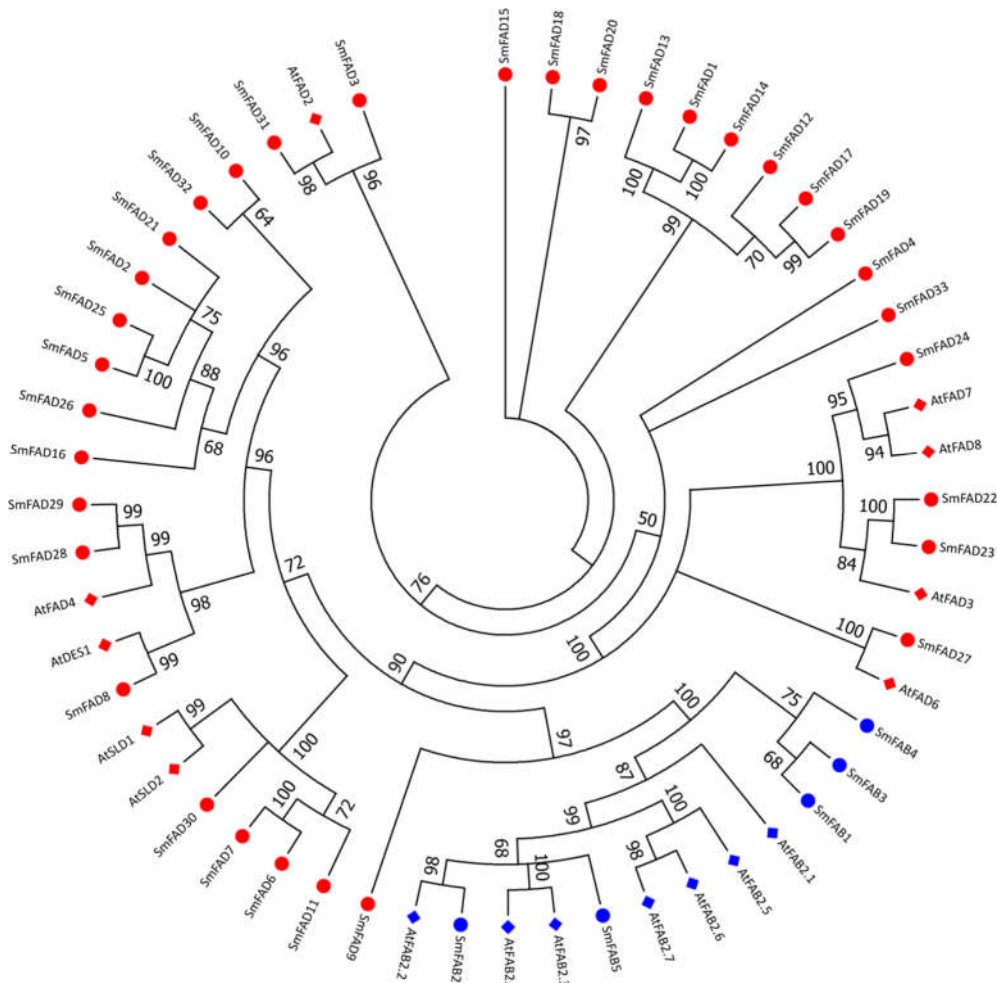


图 1 茄子 SmFADs 和拟南芥 AtFADs 系统发育树

Figure1 Phylogenetic analysis of SmFADs and AtFADs with a total of 54 protein sequences

一类,它们属于 $\Delta 8$ 脂肪酸去饱和酶类;鞘脂 $\Delta 4$ 去饱和酶 AtDES1 与 SmFAD8 聚为一类;SmFAD3、SmFAD31 与 AtFAD2 聚为一类;SmFAD22、SmFAD23 与 AtFAD3 聚为一类;SmFAD28、SmFAD29 与 AtFAD4 聚为一类;SmFAD27 与 AtFAD6 聚为一类;SmFAD24 则与 AtFAD7、AtFAD8 聚为一类。

1.3 茄子 FAD 家族保守结构域和基因结构分析

用MEME 软件对茄子 FAD 家族蛋白的保守结构域进行分析,找到 15 个保守基序(Motif)(表 2,图 2)。亚家族 SmFAB 中均只存在 Motif9、Motif11 和 Motif15;SmFAD13、SmFAD14 和 SmFAD19 均在相同位置包含相同的 Motif,且 Motif 数量在所有成员中最多;SmFAD3、SmFAD15、SmFAD17、SmFAD18、SmFAD20 和 SmFAD33 包含相同的 9 个 Motif;SmFAD4、SmFAD8 和 SmFAD28 中并未搜寻到 Motif 的存在,这可能是进化过程中发生了保守基序的丢失现象。38 个 SmFAD 中不存在共同的保守基因序列。

为了了解茄子 FAD 家族基因的结构特征,对其内含子/外显子分布进行分析(图 3,表 1)。38 个家族基因蛋白内含子数量差异较大。SmFAD1、SmFAD3、SmFAD15、SmFAD17、SmFAD20、SmFAD28、SmFAD30 和 SmFAD33 不包含内含子仅包含 1 个外显子;SmFAD22 包含 7 个内含子和 8 个外显子,SmFAD23、SmFAD24 包含 6 个内含子和 7 个外显子,SmFAD27 包含了最多的 9 个内含子和 10 个外显子;剩余的 26 个成员分别含有 1~5 个内含子及外显子。

1.4 茄子 FAD 基因染色体定位

对茄子 FAD 基因进行染色体定位,各家族成员在染色体上的位置如图所示(图 4)。SmFAD1 和 SmFAD2 定位不到具体的染色体;其余 36 个成员分别定位在茄子的 9 条染色体上,其中 5 号染色体上定位到最多的 10 个成员,6 号染色体上定位到 9 个成员,4 号染色体上定位到 5 个成员,7 号染色体上定位到 3 个成员,1 号、3 号、10 号、11 号染色体上均定

表 2 保守基序 motif 序列分布情况

Table 2 Distribution of conservative motif sequences

保守基序名称	具体序列分布情况
Conservative base sequence name	Specific sequence distribution
Motif1	ECGHHGFSQWVBDTVGLILHSALLTPYFSWKYSHRRHHSNTGSLLENDE
Motif2	LPHYDSSEWDYLRGALATVDRDYGVLNKVFHNI
Motif3	KPPFTJGDIKKAIPPHCFQRSLIRSFYSYLFQDLILVSIFY
Motif4	DTHVLHHJFSYIPHYHAVEATKAIKPLLGEYYQ
Motif5	FNVSGRKYDRFASHYDPYSPIYTDRERLQIYISDAGVIAAA
Motif6	EVAKHNKPKDCWJHISGKVYDVTFLDDHPGGDEVLLSAAGKDATDEFED
Motif7	YVLYRVALTKGLAWVVCYIGVPLLVNGFIVLITLLHHTHA
Motif8	YFHLLPSPLSYLAWPTYWIAQGCVCCTGIW
Motif9	TKIVEKLLZIDPNNTLLAIANMMKKKIHMPHMLMYDGLDYB
Motif10	QPKGNDWFEKQTAGTIDIDCSPWMDWFFGGLQFQLEHHLFPRLPRLCQLRK
Motif11	RDETGASPCPWAIWTRAWTAENRHGDLRLTYLYLSGRVDMLEKTIQY
Motif12	YLNNPVGRVLILAFITLTFGWPLYLA
Motif13	SSSARAMLDEYYIGDIDSSTIPLKRKYTPPKQPHYNQDKTSEFVIKILQF
Motif14	ILKALWRDTKECIYVEKDEDS
Motif15	VTHSMPPEKIEIFKSLEPWVSNILPLLKPVEKCVQPIEFL

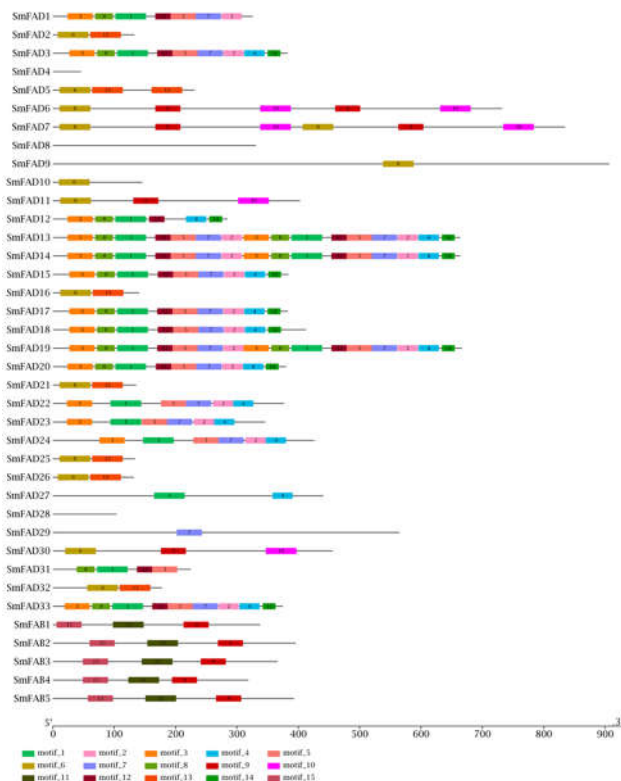


图 2 茄子 FAD 家族保守基序 Motif 分布情况

Figure 2 Protein conserved domains of FAD gene family members in eggplant

位到 2 个成员,8 号染色体上仅定位到 1 个成员;2 号、9 号和 12 号染色体上没有定位到茄子 FAD 家族成员。说明 SmFAD 基因在茄子进化过程中可能发生了一系列的基因复制和片段丢失现象。

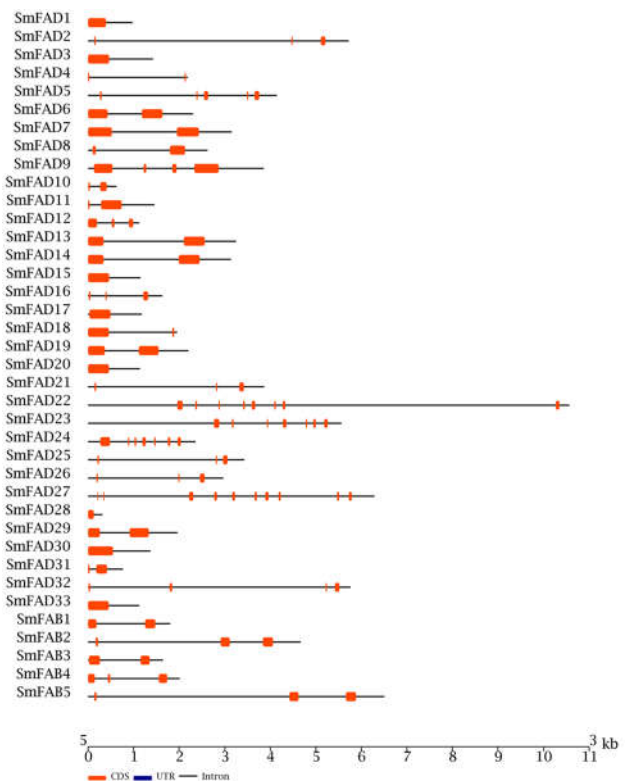


图 3 茄子 FAD 家族基因内含子分布图

Figure 3The intron-exon structure of FAD genes in eggplant

1.5 茄子 FAD 基因家族亚细胞定位预测

为了了解 SmFAD 在植株细胞内的分布,利用在线软件 ProtComp 对其进行亚细胞定位分析 (表 3)。SmFSAD 主要分布在内质网、叶绿体和质膜上,

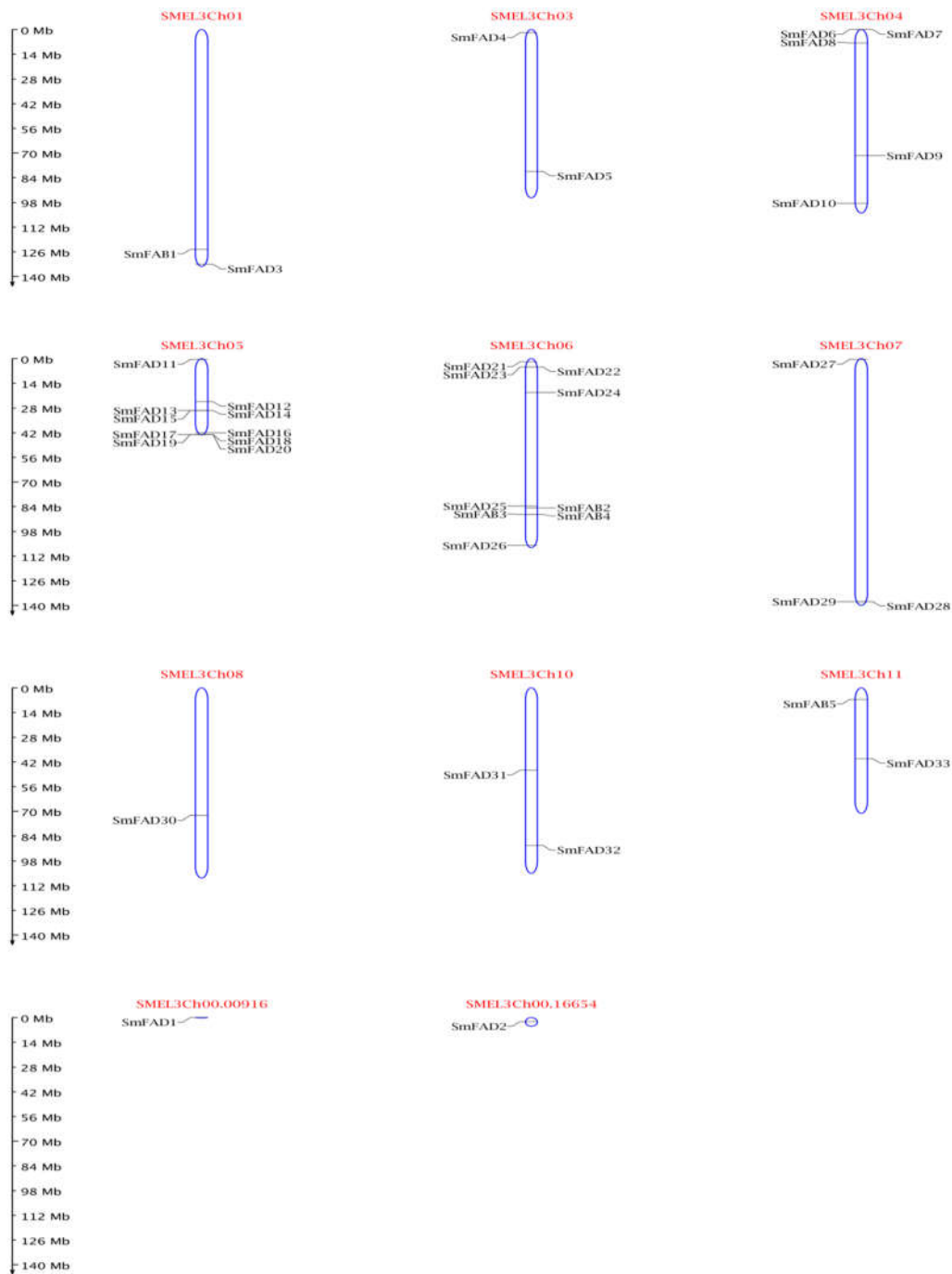


图4 茄子 FAD 家族基因染色体定位分布图

Figure 4 The localization of FAD gene in eggplant on chromosome

FAB 亚家族全部定位在叶绿体上。其中 23 个成员定位在内质网上;6 个成员定位在膜结合叶绿体上,4 个成员定位在叶绿体上;4 个成员定位在质膜上;1 个成员定位在细胞外。

2 讨论

植物体内的 FAD 成员主要分为两大类。一类是在脂肪酸形成甘油酯之前引入第一个双键时起

作用的 18:0-ACP 去饱和酶硬脂酰 -ACP 去饱和酶 (stearoyl-ACP desaturase, SAD/FAB), 是唯一的可溶性去饱和酶;另一类是与膜结合型的脂酰 - 脂去饱和酶, 主要分布于内质网和叶绿体上 (Wallis and Browse, 2002; Lee et al., 2016)。不同作物中, FAD 基因家族在进化中会分化为几大亚类存在于植株体内的不同位置, 发挥着各自功能 (Jin et al., 2001; Chi et al., 2011)。本研究中通过对茄子基因组蛋白

表 3 SmFADs 的亚细胞定位

Table 3 Sub-cellular localization of SmFADs

基因名称 Gene name	基因 ID GeneID	位置 Location	长度/氨基酸个数 Length/Number of amino acids	分值 Score
<i>SmFAD1</i>	SMEL_000g004270.1	内质网 Endoplasm.retic	326	7.4
<i>SmFAD2</i>	SMEL_000g091240.1	内质网 Endoplasm.retic	133	5.1
<i>SmFAD3</i>	SMEL_001g152540.1	内质网 Endoplasm.retic	383	4.9
<i>SmFAD4</i>	SMEL_003g170610.1	内质网 Endoplasm.retic	46	9.1
<i>SmFAD5</i>	SMEL_003g185960.1	内质网 Endoplasm.retic	231	9.2
<i>SmFAD6</i>	SMEL_004g200060.1	质膜 Plasma Membrane	732	9.2
<i>SmFAD7</i>	SMEL_004g200070.1	质膜 Plasma Membrane	835	9.2
<i>SmFAD8</i>	SMEL_004g204530.1	内质网 Endoplasm.retic	331	3.9
<i>SmFAD9</i>	SMEL_004g210000.1	细胞外 Extracellular	907	2.4
<i>SmFAD10</i>	SMEL_004g218850.1	内质网 Endoplasm.retic	146	4.4
<i>SmFAD11</i>	SMEL_005g224240.1	质膜 Plasma Membrane	403	9.2
<i>SmFAD12</i>	SMEL_005g233210.1	内质网 Endoplasm.retic	285	7.4
<i>SmFAD13</i>	SMEL_005g233830.1	内质网 Endoplasm.retic	664	7.5
<i>SmFAD14</i>	SMEL_005g233840.1	内质网 Endoplasm.retic	664	7.5
<i>SmFAD15</i>	SMEL_005g233850.1	内质网 Endoplasm.retic	384	7.4
<i>SmFAD16</i>	SMEL_005g241230.1	内质网 Endoplasm.retic	141	4.7
<i>SmFAD17</i>	SMEL_005g241790.1	内质网 Endoplasm.retic	383	7.4
<i>SmFAD18</i>	SMEL_005g241800.1	内质网 Endoplasm.retic	413	4.6
<i>SmFAD19</i>	SMEL_005g241810.1	内质网 Endoplasm.retic	667	7.5
<i>SmFAD20</i>	SMEL_005g241820.1	内质网 Endoplasm.retic	380	7.5
<i>SmFAD21</i>	SMEL_006g243580.1	内质网 Endoplasm.retic	136	5.1
<i>SmFAD22</i>	SMEL_006g245010.1	内质网 Endoplasm.retic	377	4

基因名称 Gene name	基因 ID GeneID	位置 Location	长度/氨基酸个数 Length/Number of amino acids	分值 Score
<i>SmFAD23</i>	SMEL_006g245040.1	膜结合叶绿体 Membrane-bound Chloroplast	346	3.3
<i>SmFAD24</i>	SMEL_006g245880.1	膜结合叶绿体 Membrane-bound Chloroplast	426	3.8
<i>SmFAD25</i>	SMEL_006g253160.1	内质网 Endoplasm.retic	134	5
<i>SmFAD26</i>	SMEL_006g269840.1	内质网 Endoplasm.retic	132	5
<i>SmFAD27</i>	SMEL_007g271180.1	膜结合叶绿体 Membrane-bound Chloroplast	441	9.2
<i>SmFAD28</i>	SMEL_007g295120.1	膜结合叶绿体 Membrane-bound Chloroplast	104	9.4
<i>SmFAD29</i>	SMEL_007g295130.1	膜结合叶绿体 Membrane-bound Chloroplast	565	9.2
<i>SmFAD30</i>	SMEL_008g307920.1	质膜 Plasma Membrane	456	9.4
<i>SmFAD31</i>	SMEL_010g345700.1	内质网 Endoplasm.retic	225	7.5
<i>SmFAD32</i>	SMEL_010g351300.1	内质网 Endoplasm.retic	178	7.8
<i>SmFAD33</i>	SMEL_011g370900.1	内质网 Endoplasm.retic	375	7.5
<i>SmFAB1</i>	SMEL_001g148440.1	膜结合叶绿体 Membrane-bound Chloroplast	338	9.5
<i>SmFAB2</i>	SMEL_006g253440.1	叶绿体 Chloroplast	396	9.3
<i>SmFAB3</i>	SMEL_006g255140.1	叶绿体 Chloroplast	366	9.4
<i>SmFAB4</i>	SMEL_006g255210.1	叶绿体 Chloroplast	319	9.2
<i>SmFAB5</i>	SMEL_011g365200.1	叶绿体 Chloroplast	393	9.3

序列进行比对共获得了 38 个 FAD 家族候选基因。通过系统进化树构建和蛋白理化性质分析可以看出,家族成员可以分为 33 个 FAD 成员和 5 个 FAB 成员。5 个 FAB 成员遗传结构相似,进化过程中具有较高的保守性。均只含有 1~2 个内含子和 2~3 个外显子,氨基酸数量都为 300~400 之间,均为亲水性蛋白,亚细胞定位预测结果表明其可能都存在于叶绿体中。这与前人在花生和核桃(*Juglans regia* L.)中的研究结果一致(刘浩等, 2019; Liu et al., 2020)。其他 33 个 FAD 成员间蛋白的理化性质、氨基酸数量、等电点、分子量及亲水性差异较大,这可能预示

着不同遗传分支上的成员在进化过程中存在着较大的分歧,但同一分支上具有较高保守性。对茄子 FAD 家族蛋白的保守结构域进行分析发现 5 个 FAB 亚家族均只含有 3 个相同的 Motif, 进化树上聚为一类的 *SmFAD13*、*SmFAD14* 和 *SmFAD19* 均在相同位置包含相同的 Motif, 且 Motif 数量最多。*SmFAD4*、*SmFAD8* 和 *SmFAD28* 中不存在 Motif。这些结果可能表明茄子 FAD 家族进化过程中同一亚家族成员间具有一致性,不同亚家族成员存在较大差异性,部分成员则发生了保守基序的丢失现象。38 个 *SmFAD* 中不存在共同的保守序列, 说明茄子 FAD

家族基因对其进化影响的复杂性较大。同一亚家族成员间保守基序较好的一致性,不同亚家族间保守基序较大的差异性,暗示着特异的保守基序在植物生长发育中行使着不同的作用(Chi et al., 2011)。

FAD 基因家族由于其受低温诱导,在植物耐低温种质筛选和遗传育种中得到不断应用(宋淑香等, 2016; Liu et al., 2020)。FAD 能够充分调节生物膜的流动性,从而更好的适应外来的环境胁迫(Upchurch, 2008)。研究发现低温能够显著诱导茶树(*Camellia sinensis* L.)、棉花(*Gossypium hirsutum* L.)和花生 FAD 家族相关基因的加倍表达,从而抵御外界低温逆境(Kargiotidou et al., 2008; 薛晓梦等, 2019; 王鹏杰等, 2020)。过表达 FAD 基因的烟草(*Nicotiana tabacum* L.) (Kodama et al., 1994)和杨树(*Populus* L.) (Zhou et al., 2010)能够更好的抵御寒冷。冷胁迫应答基因的转录水平影响植株体对外界低温的抗性。对茄子基因组中的 FAD 基因家族进行鉴定和分析,有助于了解它们在茄子应对低温胁迫中的作用,为茄子抗逆遗传育种提供一定的参考。

3 材料与方法

3.1 茄子 FAD 基因家族成员的鉴定和蛋白理化性质分析

在线(<https://www.arabidopsis.org>)搜寻下载拟南芥 FAD 家族基因,从茄子网站(https://www.sgn.cornell.edu/organism/Solanum_melongena/genome/)下载茄子参考基因组及蛋白序列。使用 HMMER 3.0 软件对获取的 16 条拟南芥 FAD 和 FAB 蛋白序列构建隐马尔可夫模型,以此模型搜寻茄子基因组所有蛋白序列,得到潜在的 FAD 家族序列。使用 Blastp 软件,对所有茄子蛋白序列进行比对获取 FAD 及 FAB 家族参考序列, e-value 设为 $1e-10$, 比对上的序列作为候选的 FAD 家族序列。合并以上序列作为茄子 FAD 家族蛋白序列,使用在线工具 ExPasy(<https://web.expasy.org/protparam/>)分析茄子 FAD 基因家族的分子量、等电点、稳定性、脂肪指数和亲水性等理化性质。

3.2 SmFAD 基因序列、结构分析和系统进化树构建

用 MEME 软件(<http://meme.nbcr.net/meme>)对茄子 FAD 家族蛋白的保守结构域进行分析,设置参数 motif 寻找数量为 15。使用在线网站 GSDS(<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)对基因结构特征进行分析。将鉴定出来的茄子 FAD 和拟南芥 FAD 蛋白家族序列用

MEGA 软件的 ClustalW 进行多序列比对,系统发育树的构建用 MEGA 软件 (<https://www.megasoftware.net/>)中的邻接法(NJ), Bootstrap 值设为 1 000。

3.3 SmFAD 基因染色体定位及亚细胞分布

根据 SmFAD 家族成员在染色体上的位置信息,用 MG2C 在线软件(http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.0/)绘制茄子 FAD 家族成员的染色体分布图谱。利用在线网站(<http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=protcomppl&group=programs&subgroup=proloc>)对茄子 FAD 家族成员进行亚细胞定位分析。

作者贡献

朱宗文是本研究的实验设计者和实验研究的执行人并完成数据整理及论文初稿的写作;吴雪霞、张爱冬参与部分实验;查丁石是项目的负责人,指导实验设计、数据统计、论文写作与修改。全体作者都同意最终的文本。

致谢

本研究由上海市市级农口系统青年人才成长计划(沪农青字(2018)第 1-14 号)和国家现代农业产业技术体系建设资金项目(CARS-23-G-40)共同资助。

参考文献

- Berberich T., Harada M., Sugawara K., Kodama H., Iba K., and Kusano T., 1998, Two maize genes encoding omega-3 fatty acid desaturase and their differential expression to temperature, *Plant Molecular Biology*, 36: 297-306.
- Chi X., Yang Q., Lu Y., Wang J., Zhang Q., Pan L., Chen M., He Y., and Yu S., 2011, Genome-wide analysis of fatty acid desaturases in soybean (*Glycine max*), *Plant Molecular Biology Reporter*, 29: 769-783.
- Domínguez T., Hernandez M.L., Pennycooke J.C., Jiménez P., Martínez-Rivas J.M., Sanz C., Stockinger E.J., Sonchez-Serrano J.J., and Sanmartín M., 2010, Increasing ω -3 desaturase expression in tomato results in altered aroma profile and enhanced resistance to cold stress, *Plant Physiology*, 153: 655-665.
- Hirakawa H., Shirasawa K., Miyatake K., Nunome T., Negor S., Ohyama A., Yamaguchi H., Sato S., Isobe S., Tabata S., and Fukuoka H., 2014, Draft genome sequence of eggplant (*Solanum melongena* L.): the representative *Solanum* species indigenous to the oldworld, *DNA Research*, 21: 649-660.
- Jin U.H., Lee J.W., Chung Y.S., Lee J.H., Yi Y.B., Kim Y.K., Hyung N.I., Pyee J.H., and Chung C.H., 2001, Characteriza-

- tion and temporal expression of a ω -6 fatty acid desaturase cDNA from sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds, *Plant Science*, 161: 935-941.
- Kargiotidou A., Deli D., Galanopoulou D., Tsaftaris A., and Farmaki T., 2008, Low temperature and light regulate delta 12 fatty acid desaturases (FAD2) at a transcriptional level in cotton (*Gossypium hirsutum*), *Journal of Experimental Botany*, 59(8): 2043-2056.
- Kodama H., Hamada T., Horiguchi G., Nishimura M., and Iba K., 1994, Genetic enhancement of cold tolerance by expression of a gene for chloroplast ω -3 fatty acid desaturase in transgenic tobacco, *Plant Physiology*, 105: 601-605.
- Lee J.M., Lee H., Kang S.B., and Park W.J., 2016, Fatty acid desaturases, polyunsaturated fatty acid regulation, and biotechnological advances, *Nutrients*, 8(1): 23.
- Leekumjorn S., Cho H.J., Wu Y., Wright N.T., Sum A.K., and Chan C., 2009, The role of fatty acid unsaturation in minimizing biophysical changes on the structure and local effects of bilayer membranes, *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1788: 1508-1516.
- Li J., Jiang M., Ren L., Liu Y., and Chen H., 2016, Identification and characterization of CBL and CIPK gene families in eggplant (*Solanum melongena* L.), *Molecular Genetics and Genomics*, 291:1769-1781.
- Li N., Xu C., Li-Beisson Y., and Philippar K., 2015, Fatty acid and lipid transport in plant cells, *Trends in Plant Science*, 21(2): 145-158.
- Lian Y., Liu F.Z., Tian S.B., Chen Y.H., and Zhang Y., 2017, Research progress on genetics and breeding of eggplant (*Solanum melongena*) in China during the 12th five-year plan, *Zhongguo Shucai* (Chinese Vegetables), (2): 14-22. (连勇, 刘富中, 田时炳, 陈钰辉, 张映, 2017, “十二五”我国茄子遗传育种研究进展, *中国蔬菜*, (2): 14-22.)
- Liu H., Lu Q., Li H.F., Li S.X., Chen X.P., Liang X.Q., and Hong Y.B., 2019, Molecular mechanism of stearyl-ACP desaturase gene FAB2 expression in peanut, *Zuowu Xuebao* (*Acta Agronomica Sinica*), 45(11): 1638-1648. (刘浩, 鲁清, 李海芬, 李少雄, 陈小平, 梁炫强, 洪彦彬, 2019, 花生硬脂酰-ACP 脱饱和基因 FAB2 表达的分子机制, *作物学报*, 45(11): 1638-1648.)
- Liu K., Zhao S., Wang S., Wang H., and Zhang Z., 2020, Identification and analysis of the FAD gene family in walnuts (*Juglans regia* L.) based on transcriptome data, *BMC Genomics*, 21:299.
- Maeda H., Sage T.L., Isaac G., Welti R., and Dellapenna D., 2008, Tocopherols modulate extraplastidic polyunsaturated fatty acid metabolism in *Arabidopsis* at low temperature, *Plant Cell*, 20: 452-470.
- Mansour M.M.F., 2014, The plasma membrane transport systems and adaptation to salinity, *Journal of Plant Physiology*, 171: 1787-1800.
- Menard G.N., Moreno J.M., Bryant F.M., Munoz-Azcarate O., Kelly A.A., Hassani-Pak K., Kurup S., and Eastmond P.J., 2017, Genome wide analysis of fatty acid desaturation and its response to temperature. *Plant Physiol.*, 173: 1594-1605.
- Murata N., and Los D.A., 1997, Membrane fluidity and temperature perception, *Plant Physiol.*, 115: 875-879.
- Niño-Medina G., Urías-Orona V., Muy-Rangel M.D., and Heredia J.B., 2017, Structure and content of phenolics in eggplant (*Solanum melongena*) - a review, *South African Journal of Botany*, 111: 161-169.
- Singh R., Kaushik S., Wang Y., Xiang Y., Novak I., Komatsu M., Tanaka K., Cuervo A.M., and Czaja M.J., 2009, Autophagy regulates lipid metabolism, *Nature*, 458(30): 1131-1135.
- Somerville C., 1995, Direct tests of the role of membrane lipid composition in low-temperature-induced photo inhibition and chilling sensitivity in plants and cyanobacteria, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 92: 6215-6218.
- Song S.X., Guo X.F., Ma Y., Li J.J., and Han L.L., 2016, Isolation and expression analysis of PoFAD2 gene in *Paoniaostii*, *Yuanyi Xuebao* (*Acta Horticulturae Sinica*), 43(2): 347-355. (宋淑香, 郭先锋, 马燕, 李俊杰, 韩璐璐, 2016, 凤丹(*Paoniaostii*)脂肪酸去饱和酶基因 PoFAD2 的克隆及表达分析, *园艺学报*, 43(2): 347-355.)
- Tovuu A., Zulfugarov I.S., Wu G., Kang I.S., Kim C., Moon B.Y., An G., and Lee C.H., 2016, Rice mutants deficient in ω -3 fatty acid desaturase (FAD8) fail to acclimate to cold temperatures, *Plant Physiology and Biochemistry*, 109: 525-535.
- Upchurch R.G., 2008, Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress, *Biotechnology Letters*, 30: 967-977.
- Wallis J.G., and Browse J., 2002, Mutants of *Arabidopsis* reveal many roles for membrane lipids, *Progress in Lipid Research*, 41: 254-278.
- Wang J.W., Ming F., Pittman J., Han Y.Y., Hu J., Guo B., and Shen D.L., 2006, Characterization of a rice (*Oryza sativa* L.) gene encoding a temperature-dependent chloroplast ω -3 fatty acid desaturase, *Biochemical Biophysical Research Communications*, 340: 1209-1216.
- Wang P.J., Cao H.L., Chen D., Chen D., Chen G.X., Yang J.F., Ye N.X., 2020, Cloning and expression analysis of fatty acid desaturase family genes in *Camellia sinensis*, *Yuanyi Xuebao* (*Acta Horticulturae Sinica*), 47(6): 1141-1152. (王鹏杰, 曹红利, 陈丹, 陈笛, 陈桂信, 杨江帆, 叶乃兴, 2020, 茶树脂肪酸去饱和酶家族基因的克隆与表达分析, *园艺学报*, 47(6): 1141-1152.)
- Wang S.J., Chen Z., Ji T., Di Q.H., Li L.J., Wang X.F., Wei M., Shi Q.H., Li Y., Gong B., and Yang F.J., 2016,

- Genome-wide identification and characterization of the R2R3MYB transcription factor superfamily in eggplant (*Solanum melongena* L.), *Agri Gene*, 2: 38-52.
- Wu X.X., Zhu Z.W., Zhang A.D., Xu S., Yao J., and Zha D.S., 2017, Effects of exogenous melatonin on growth, photosynthesis and antioxidant system of eggplant (*Solanum melongena*) seedlings under low temperature stress, *Xibei Zhiwu Xuebao (Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica)*, 37 (12): 2427-2434. (吴雪霞, 朱宗文, 张爱冬, 许爽, 姚静, 查丁石, 2017, 外源褪黑素对低温胁迫下茄子幼苗生长及其光合作用和抗氧化系统的影响, *西北植物学报*, 37(12): 2427-2434.)
- Xue X.M., Li J.G., Bai D.M., Yan L.Y., Wan L.Y., Kang Y.P., Huai D.X., Lei Y., Liao B.S., 2019, Expression profiles of FAD2 genes and their responses to cold stress in peanut, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 45 (10): 1586-1594. (薛晓梦, 李建国, 白冬梅, 晏立英, 万丽云, 康彦平, 淮东欣, 雷永, 廖伯寿, 2019, 花生 FAD2 基因家族表达分析及其对低温胁迫的响应, *作物学报*, 45(10): 1586-1594.)
- Yang Y., Liu J., Zhou X.H., Liu S.Y., and Zhuang Y., 2020, Identification of WRKY gene family and characterization of cold stress-responsive WRKY genes in eggplant, *PeerJ*, 8: e8777.
- Zhang X.Y., and Xu K., 2009, Effect of interaction between rootstock and scion on cold resistance of grafted eggplant (*Solanum melongena*) seedlings under low temperature and low light, *Zhongguo Nongye Kexue (Agricultural Science of China)*, 42(10): 3734-3740. (张晓艳, 徐坤, 2009, 低温弱光条件下砧穗互作对茄子嫁接苗抗冷性的影响, *中国农业科学*, 42(10): 3734-3740.)
- Zhang Y.J., Su P., Qi J.B., Zhang Y., Zhang Y.T., Chen Y.B., Li Z.H., and Zhang Y.H., 2020, Effect of exogenous Nitric Oxide on resistance of eggplant (*Solanum melongena*) seedlings under low temperature stress, *Zhiwu Shengli Xuebao (Plant Physiology Journal)*, 56 (1): 66-72. (张永吉, 苏芑, 祁建波, 张瑛, 张永泰, 陈以博, 李子恒, 张云虹, 2020, 外源一氧化氮对低温胁迫下茄子幼苗抗性的影响, *植物生理学报*, 56 (1): 66-72.)
- Zhou L., Li J., He Y.J., Liu Y., and Chen H.Y., 2018, Functional characterization of SmCBF genes involved in abiotic stress response in eggplant (*Solanum melongena*), *Scientia Horticulturae*, 233: 14-21.
- Zhou Z., Wang M.J., Zhao S.T., Hu J.J., and Lu M.Z., 2010, Changes in freezing tolerance in hybrid poplar caused by up- and down-regulation of PtFAD2 gene expression, *Transgenic Research*, 19(4): 647-654.