

## 大豆 *GmST1* 基因的生物信息学分析

井妍 孙晶 高赛男 赵雪 滕卫丽 韩英鹏 李文滨

(东北农业大学 农学院/大豆生物学教育部重点实验室/东北农业大学农业部东北大豆生物学与遗传育种重点实验室 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:** 磺基转移酶 (sulfotransferase, *SULT*) 基因是一个基因超家族。对大豆磺基转移酶基因 *GmST1* (Glyma.13G191400) 进行基于生物信息学的基因结构分析与功能预测,结果表明: *GmST1* (Williams82) 基因序列全长 1 439 bp, CDS 区长 1 035 bp, 编码 344 个氨基酸。通过序列比对,分析出在感病 Williams 82 和抗病品种东农 93-046 中, *GmST1* 序列存在着非同义 SNP, 导致氨基酸改变。利用 PlantCARE 分析启动子元件,发现在基因启动子序列中含有多个与光诱导、生长素、水杨酸、干旱等相关的元件。在 BAR 数据库中分析了 *GmST1* 的拟南芥同源基因在不同逆境胁迫条件下基因表达情况,表明该基因表达具有组织表达特异性,参与盐胁迫、干旱胁迫和抗病等相关反应。

**关键词:** 大豆; *GmST1*; 磺基转移酶; 蛋白质结构分析; 功能预测

中图分类号: S565.1 文献标识码: A DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.03.0394

## Bioinformatics Analysis of *ST1* Gene in Soybean

JING Yan, SUN Jing, GAO Sai-nan, ZHAO Xue, TENG Wei-li, HAN Ying-peng, LI Wen-bin

(Key Laboratory of Soybean Biology in Chinese Ministry of Education/Key Laboratory of Soybean Biology and Breeding (Genetics) of Chinese Agriculture Ministry, Agronomy College of Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** Sulfotransferase (*SULT*) is a gene superfamily. In this study, we mainly analyzed the structure and function of *ST1* gene in soybean based on bioinformatics. The results showed that the full sequence length of *GmST1* (Williams 82) was 1 439 bp. The CDS was 1 035 bp in length, encoding 344 amino acids. By sequence alignment, one non-synonymous SNP was found between Williams 82 and Dongnong 93-046, leading to the changes of amino acid. There were multiple cis-elements about light responses, SA, drought and auxin in promoter sequence region detected by PlantCARE. The Bio-Analytic Resource for Plant Biology database was used to analyze the different expression of the homologous gene of *GmST1* in *Arabidopsis*. The results indicated that the gene had tissue-special expression and was involved in salt, drought and diseases responses.

**Keywords:** Soybean; *GmST1*; *SULT*; Protein structure analysis; Functional prediction

*SULT* 是一个基因超家族,家族成员包括酚磺基转移酶、雌激素磺基转移酶、羟基类固醇磺基转移酶以及脱水表雄甾酮磺基转移酶等<sup>[1-2]</sup>。它参与机体内的Ⅱ相代谢,催化多种内源性和外源性复合物进行硫酸化代谢,有解毒作用<sup>[3]</sup>。磺基转移酶在人类、动植物及微生物中均有发现<sup>[4]</sup>。其中,在动物和人类中研究比较深入,植物中,在拟南芥<sup>[5-7]</sup>、水稻<sup>[8]</sup>和甘蓝型油菜<sup>[9]</sup>中均有报道。对模式作物水稻的研究中发现,磺基转移酶 *RaxST* 可以使 *PXO-03968* 或其 N 端多肽硫酸化,是 *axYs22* 多肽诱导水稻抗白叶枯病的必要因素<sup>[8]</sup>。李猛<sup>[10]</sup>发现水稻叶片中 *SULT* 的积累量在接种稻瘟病前后存在差异,

推测它很可能在水稻品种黑壳子梗的抗稻瘟病过程中有一定作用。Wang 等<sup>[11]</sup>通过编码磺基转移酶水稻抗性位点基因 *STV11-R* 催化 SA 为磺化 SA,使感水稻纹枯病基因 *STV11-S* 失去活性,再将抗性基因转入烟草品种中,也对纹枯病产生了一定的抗性。在对模式植物拟南芥的研究中,Marsolais 等<sup>[6]</sup>证实了拟南芥中 *ST4a* 和 *ST1* 油菜甾醇类磺基转移酶基因,可参与调解多种激素反应,以此调控拟南芥代谢。*SULT* 基因的表达水平可不同程度地受水杨酸、茉莉酸、病原细菌和病原病毒的诱导<sup>[7]</sup>。

大豆花叶病毒病是一种同时影响产量和品质的病害类型<sup>[12]</sup>,挖掘抗病基因并应用于分子育种,

收稿日期: 2015-12-06

基金项目: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-04-PS04); 国家自然科学基金 (31301339); 黑龙江省教育厅科学技术研究项目 (12541049); 黑龙江省普通高等学校新世纪优秀人才培育计划 (1253-NCET-005)。

第一作者简介: 井妍 (1991-), 女, 硕士, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: 1497678645@qq.com。

通讯作者: 李文滨 (1958-), 男, 教授, 博导, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: wenbinli@neau.edu.cn;

韩英鹏 (1978-), 男, 教授, 博导, 主要从事大豆遗传育种和分子生物技术研究。E-mail: hyp234286@aliyun.com。

是大豆抗病性改良的基础。本研究前期利用大豆品种东农 93-046 对 SMV N1 株系的抗病位点精确定位于 Chr13 染色体的 0.31 Mbp 区段内,进一步利用隐性集团分析法,从 1 000 个  $F_2$  代单株中筛选感病个体,获得重组率为 0 的分子标记,与该标记仅距 2 kbp 的 *GmST1* 为抗病候选基因。本研究通过对大豆 *GmST1* 基因的编码序列变异、蛋白质结构、启动子元件和同源基因系统进化等进行分析,探究 *GmST1* 基因表达情况,旨在为进一步解析 *GmST1* 基因在大豆抗病方面的功能奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

抗病候选基因供体材料为东农 93-046,此品种为大豆花叶病毒病 N1 株系免疫品种;对照品种为 Williams 82,其为感花叶病毒病品种,均由东北农业大学大豆研究所提供。引物合成及基因测序由上海 Sangon 生物工程公司完成。

### 1.2 方法

1.2.1 *GmST1* 目的基因克隆 在 Phytozome 网站下载 *GmST1* (*Glyma13g191400*) 的全长序列。根据编码区序列设计全长引物,上游: ATGGCTCCAA-CAAATGTCAC,下游: TAGCTACTACTATTGAAGTC。使用 TRNzol Reagent 试剂( TIANGEN, Cat $\neq$  DP405-02) 提取大豆 V1 期叶片总 RNA,利用 cDNA 合成试剂盒( TIANGEN, Cat $\neq$  KR104-02) 进行反转录。以 cDNA 为模板,进行 PCR 扩增,反应体系及程序参考孙晶等<sup>[13]</sup>采用的方法。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离,利用胶回收试剂盒( OMEGA, D2500-01) 纯化目的条带。将回收的目的片段与 pGM-T Vector( TIANGEN, CatVT $\neq$  202-02) 连接,连接产物转化大肠杆菌感受态 Top10,挑取阳性克隆测序。

1.2.2 *GmST1* 基因氨基酸理化性质及基因结构的分析 使用 ProtParam 软件预测其亲水性/疏水性,在线软件 TMHMM 预测蛋白质的跨膜螺旋区来分析 *GmST1* 氨基酸理化性质。ProtParam ( <http://expasy.org/tools/protparam.html/>) TMHMM ( <http://www.cbs.dtu.de/services/TMHMM-2.0>)。利用 SWISS-MODEL ( <http://swissmodel.expasy.org/>) 预测蛋白的三级结构。

1.2.3 *GmST1* 基因同源性分析 将本研究克隆的 *GmST1* 基因的蛋白序列输入到 NCBI 中与其他物种进行同源性比对,利用 MEGA5.2,进行同源性分析

后得到进化树。

1.2.4 *GmST1* 基因启动子分析 启动子元件分析: 在 Phytosome ( <http://www.phytosome.net/soybean.php>) 上选取 *GmST1* 上游 2 000 bp 作为启动子分析区域,利用 TSSP ( <http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=tssp&group=help&subgroup=promoter>) 预测转录起始位点,通过 TATA-box 进一步确定启动子的正确性。利用 PlantCARE( <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线分析软件分析启动子的顺式作用元件。

1.2.5 *GmST1* 的拟南芥同源基因的功能预测分析

拟南芥同源基因分析: 在 TAIR ( <http://www.arabidopsis.org/Blast/index.jsp>) 中找出 *GmST1* 的同源拟南芥基因 *At5g07010*,并且在 Bar ( <http://bar.utoronto.ca/efp/cgi-bin/efpWeb.cgi>) 数据库分析拟南芥同源基因功能。

## 2 结果与分析

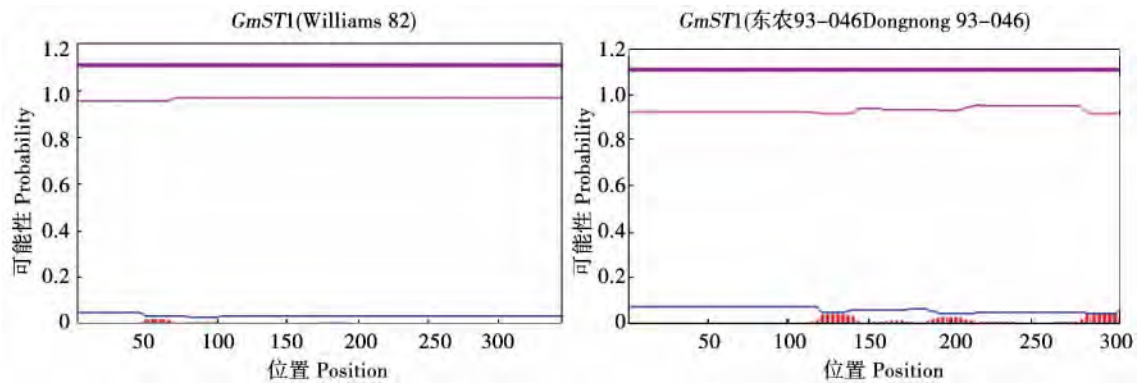
### 2.1 *GmST1* 基因的克隆及序列分析

通过基因克隆及测序分析,从 Williams 82 中获得的 *GmST1* 基因与参考基因组序列完全一致,从抗病品种东农 93-046 中获得的 *GmST1* 基因与参考基因组存在 2 个碱基的差异,其中 825 bp 处存在一个非同义突变 SNP,引起编码氨基酸种类的改变(图 1),说明在不同抗感品种间存在不同的 *GmST1* 基因单倍型。

### 2.2 *GmST1* 编码蛋白的理化性质分析

为了进一步分析 *GmST1* 基因编码蛋白的理化性质及该基因不同单倍型之间的差异,对来自感病品种 Williams 82 和抗病品种东农 93-046 的 *GmST1* 基因进行蛋白理化性质和结构预测,结果表明: *GmST1*(Williams82) 编码蛋白的分子量为 39 760.5, pI6.11,负电残基( Asp + Glu) 为 46,正电残基( Arg + Lys) 是 41,化学式为  $C_{1810}H_{2777}N_{463}O_{518}S_{14}$ ,原子总数是 5 582 个,该蛋白不存在跨膜区域。 *GmST1*(东农 93-046) 编码蛋白分子量是 34 936.8, pI9.29,负电残基( Asp + Glu) 为 27,正电残基( Arg + Lys) 是 39,化学式为  $C_{1574}H_{2520}N_{432}O_{435}S_{15}$ ,原子总数是 4 976 个,未预测到该蛋白的跨膜区域(图 2)。综上所述,由于 Williams 82 和东农 93-046 的 *GmST1* 基因所编码的基因序列发生改变,其编码的蛋白在分子量、等电点、原子组成等方面都存在明显差异。

93-046	ATTGGCCAAGTCAATCAAGGAGTTCAATAGTAGAATAATT	499
Williams82	ATTGGCCAAGTCAATCAAGGAGTTCAATAGTAGAATAATT	560
Consensus	atttgccaagtcattcaaggagt caatagtagaataatt	
93-046	TATATATGTAGGAACCCACTTTGACACTTTTGTGTCTACTT	539
Williams82	TATATATGTAGGAACCCACTTTGACACTTTTGTGTCTACTT	600
Consensus	tatatatgttaggaacccacttgacacttttgtgtctactt	
93-046	GGATTTTCCTCAACAAAATTAAGCCAGAACATTTACCTGA	579
Williams82	GGATTTTCCTCAACAAAATTAAGCCAGAACATTTACCTGA	640
Consensus	ggatttttcctcaacaaaattaagccagaacatttacctga	
93-046	ATTTGAACTAGGGGAAGCTTTTGAAAAGTATTGCAAAGGA	619
Williams82	ATTTGAACTAGGGGAAGCTTTTGAAAAGTATTGCAAAGGA	680
Consensus	atttgaaactaggggaagcttttgaaaagtattgcaaagga	
93-046	ATAATAGGGTTTGGTCCAACCTTGGGACCAAATGTTGGGTT	659
Williams82	ATAATAGGGTTTGGTCCAACCTTGGGACCAAATGTTGGGTT	720
Consensus	ataatagggttttggtccaacttgggaccaaattggtgggtt	
93-046	ATTGGAAGGAGAGTATAGCTAGGCCTAGTAAGGTTTTGTT	699
Williams82	ATTGGAAGGAGAGTATAGCTAGGCCTAGTAAGGTTTTGTT	760
Consensus	attggaaggagagtatagctaggcctagtaagggttttgtt	
93-046	CTTGAAGTACGAGGATCTTAAAAAAGATGTCAATTTTCAT	739
Williams82	CTTGAAGTACGAGGATCTTAAAAAAGATGTCAATTTTCAT	800
Consensus	cttgaagtacgaggatcttaaaaaagatgtcaattttcat	
93-046	GTGAAAAGAATAGCGGAGTTCTTATGATGGCCTTTTCACTT	779
Williams82	GTGAAAAGAATAGCGGAGTTCTTATGATGGCCTTTTCACTT	840
Consensus	gtgaaaagaatagcggagttctta gatggccttttcaactt	

图1 不同大豆基因型 *GmST1* 基因序列差异Fig. 1 Sequence diversity of *GmST1* gene in different soybean genotypes图2 *GmST1* 蛋白跨膜区域的预测Fig. 2 Prediction of the transmembrane domains in *GmST1* protein

### 2.3 *GmST1* 基因及编码蛋白结构分析

为了进一步分析 *GmST1* 基因编码蛋白结构及该基因不同单倍型之间的差异,对来自感病品种 Williams 82 和抗病品种东农 93-046 的 *GmST1* 基因编码蛋白质二级、三级结构进行分析。

*GmST1*(Williams 82) 基因编码 344 个氨基酸,不稳定系数是 37.41,脂肪系数为 79.10,总平均亲水性是 -0.362(图 3)。其二级结构中 38.37% 为  $\alpha$

螺旋结构(Helices),20.64% 为片层结构(Extended strand),9.88% 为  $\beta$  转角结构(Beta turn),31.10% 为不规则卷曲结构(Random coil)。*GmST1*(东农 93-046) 基因编码 305 个氨基酸,不稳定系数是 47.79,脂肪系数为 105.11,总平均亲水性是 0.015(图 3),其编码的二级结构中  $\alpha$  螺旋结构(Helices)与片层结构(Extended strand)比例有所增加,分别为 42.95% 和 21.64%;而  $\beta$  转角结构(Beta turn)和

不规则卷曲结构( Random coil) 相对来说有所下降 , 分别为 9. 18% 和 26. 23% ( 表 1 和图 4) 。 综上可知 , 由于 Williams 82 和东农 93-046 的 *GmST1* 基因所编码的基因序列发生改变 , 导致其编码的蛋白在不稳定系数 , 脂肪系数 , 总平均亲水性以及不同二级结构的比例都存在着明显差异。

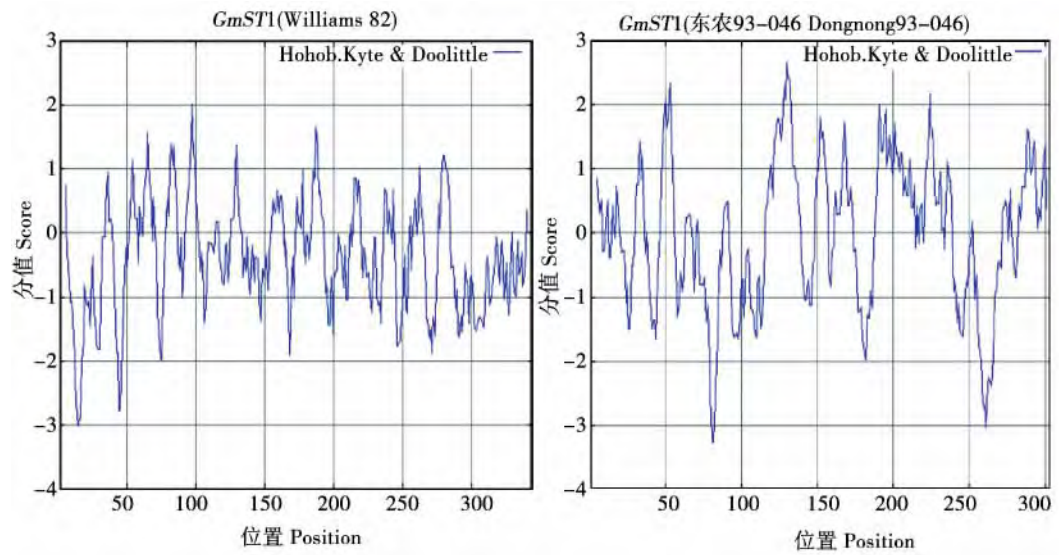


图 3 不同 *GmST1* 基因单倍型编码蛋白疏水性/亲水性预测

Fig. 3 Prediction of the hydrophobic/hydrophilic in different haplotypes of *GmST1* gene

表 1 不同 *GmST1* 基因单倍型编码蛋白的二级结构及比例

Table 1 Percentage of protein secondary structures in different haplotypes of *GmST1* gene

结构名称 Name of the structure	比例 Percentage / %	
	Williams 82	Dongnong93-046
$\alpha$ 螺旋 Alpha helix	38. 37	42. 95
$\pi$ 螺旋 Pi helix	0. 00	0. 00
片层结构 Extended strand	20. 64	21. 64
弯曲区域 Bend region	0. 00	0. 00
模糊状态 Ambiguous states	0. 00	0. 00
310 螺旋 310 helix	0. 00	0. 00
$\beta$ 桥 Beta bridge	0. 00	0. 00
$\beta$ 转角 Beta turn	9. 88	9. 18
不规则卷曲 Random coil	31. 10	26. 23
其它状态 Other states	0. 00	0. 00

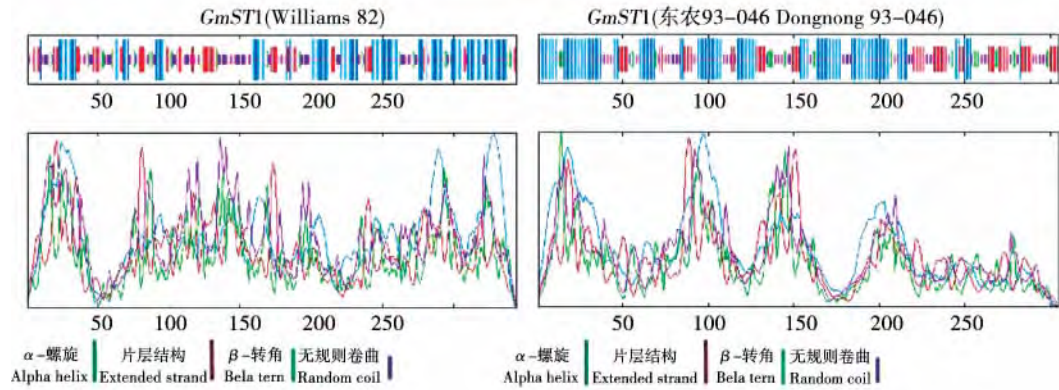


图 4 不同 *GmST1* 基因单倍型编码蛋白质产物的二级结构

Fig. 4 Secondary structure of the protein product encoded by different haplotypes of *GmST1* gene



对来自感病品种 Williams 82 和抗病品种东农 93-046 的 *GmST1* 基因编码蛋白质三级结构进行分析,预测结果表明 *GmST1* (Williams 82) 编码蛋白与该基因氨基酸序列相似度最高的一种编码固醇

类磺基转移酶的基因,而东农 93-046 中的 *GmST1* 基因编码是一种核蛋白,蛋白结构域与 Williams 82 中的 *GmST1* 存在明显差异(图 5)。

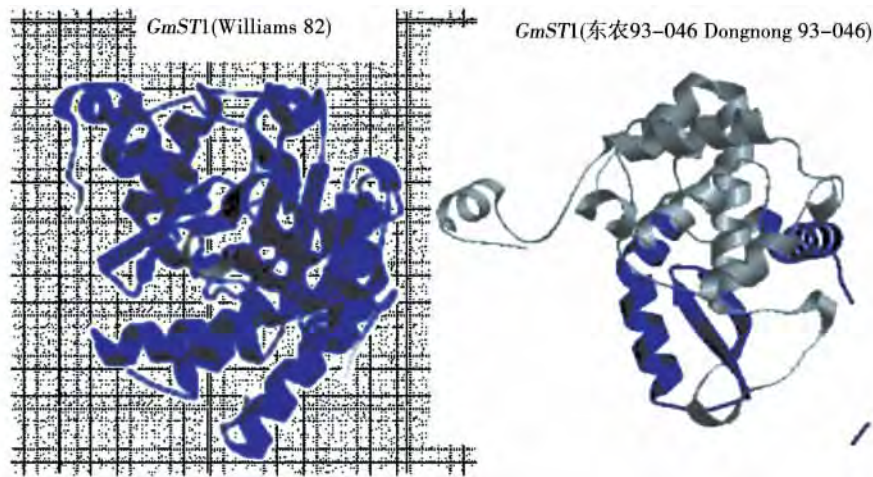


图 5 不同 *GmST1* 基因单倍型编码蛋白质产物的三级结构

Fig. 5 3-D structure of the protein product encoded by different haplotypes of *GmST1* gene

2.4 *GmST1* 与不同来源 SULT 基因系统进化分析

将本研究克隆的 *GmST1* 基因的蛋白序列输入到 NCBI 中与其他物种进行同源性比对,发现大豆 *GmST1* 与拟南芥、油菜、鹰嘴豆、甜橙、中粒咖啡、大桉、野草莓、麻风树、百脉根、苹果、蒺藜苜蓿、菜豆、毛果杨、梅、白梨、蓖麻、可可、赤豆、绿豆等具有相对较高的同源性(表 2)。

利用 MEGA5.2,进行同源性分析后得到进化树,发现与菜豆同源率最高,可能在功能方面存在相似性(图 6)。

2.5 *GmST1* 基因启动子序列分析

选取 *GmST1* 基因 ATG 上游 2 000 bp 的序列作

为启动子候选分析区域,通过 TSSP 预测得到 *GmST1* 的启动子转录起始位点,分析结果表明大豆 *GmST1* 的转录起始位点有 2 个,第一个在 1 073 bp 处,TaTa-box 在其上游 36 bp,即 1 037 bp;第二个在 477 bp 处,TaTa-box 在其上游 16 bp,即 461 bp 处。

利用 PlantCARE 软件 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 分析启动子元件,发现 *GmST1* 基因启动子区存在 14 种类型的调控元件,其中包括逆境相关反应和病程相关元件,如厌氧诱导元件、干旱诱导元件以及参与水杨酸反应元件等。

表 2 不同物种 SULT 基因

Table 2 SULT genes in different plant species

物种 Species	SULT 同源基因 ID ID of homologous SULT genes	物种 Species	SULT 同源基因 ID ID of homologous SULT genes
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_196317. 2	麻风树 <i>Jatropha curcas</i>	XP_012068720. 1
油菜 <i>Brassica napus</i>	XP_013718837. 1	百脉根 <i>Lotus japonicus</i>	AFK43741. 1
鹰嘴豆 <i>Cicer arietinum</i>	XP_004514095. 1	苹果 <i>Malus domestica</i>	XP_008347825. 1
甜橙 <i>Citrus sinensis</i>	KD044381. 1	蒺藜苜蓿 <i>Medicago truncatula</i>	XP_003598424. 2
中粒咖啡 <i>Coffea canephora</i>	CDP16517. 1	菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	XP_007133678. 1
大桉 <i>Eucalyptus grandis</i>	XP_010031022. 1	毛果杨 <i>Populus trichocarpa</i>	XP_002304810. 1
野草莓 <i>Fragaria vesca</i> subsp. <i>Vesca</i>	XP_004307199. 1	梅 <i>Prunus mume</i>	XP_008231647. 1
白梨 <i>Pyrus x bretschneideri</i>	XP_009370647. 1	蓖麻 <i>Ricinus communis</i>	XP_002538120. 1
可可 <i>Theobroma cacao</i>	XP_007010821. 1	赤豆 <i>Vigna angulari</i>	KOM36468. 1
绿豆 <i>Vigna radiata</i>	XP_014504214. 1		

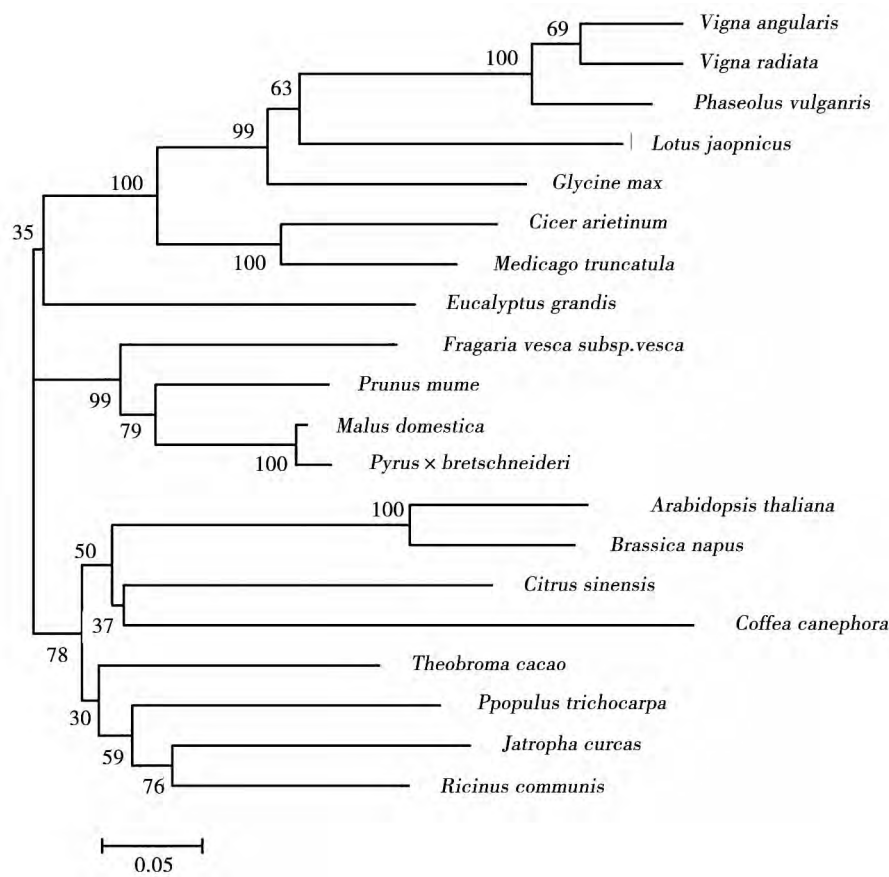


图 6 不同物种 SULT 基因的系统进化树

Fig. 6 The phylogenetic tree of SULT genes in different plant species

表 3 GmST1 启动子元件

Table 3 Promoter elements of GmST1

名称 Name	数量 Amount	功能 Function	序列 Sequence
ABRE	3	参与 ABA 反应 Involved in reaction of ABA	TACGTC
ACE	2	光诱导元件 Light responsive element	AACGT
ARE	1	厌氧诱导 Anaerobic induction	TGCTTT
AT1-motif	2	光响应模块 Light responsive module	ATTA
Box 4	4	光诱导元件 Light responsive element	ATTAAT
G-Box	4	光诱导元件 Light responsive element	CACGTT
GAG-motif	3	光诱导元件 Light responsive element	AGAGATG
GARE-motif	1	赤霉素响应元件 Gibberellin responsive element	AAACAGA
HSE	2	参与热应激反应 Involved in heat stress responsiveness	AAAATT

续表 3

名称 Name	数量 Amount	功能 Function	序列 Sequence
MBS	1	参与干旱诱导的 MYB 结合位点 MYB binding site involved in drought-inducibility	TAACTG
MBSI	1	类黄酮生物合成基因调控的 MYB 结合位点 MYB binding site involved in flavonoid biosynthetic genes regulation	aaaAaaC( G/C) GTTA
TCA-element	2	参与水杨酸反应 Involved in salicylic acid responsiveness	CCATCTTTTT
TGA-element	1	植物生长素反应元件 Auxin-responsive element	AACGAC
Circadian	3	参与生理调控 Involved in circadian control	CAANNNNATC

### 3 结论与讨论

磺基转移酶具有底物结合和催化的功能,在调控植物解毒、抗病,植物的生长发育等方面有重要作用<sup>[14]</sup>。本研究通过对大豆 *GmST1* 基因的理化性质、蛋白质结构、进化树、启动子元件以及拟南芥同源基因功能分析,推测 *GmST1* 基因可能参与大豆相关抗病病程中。

通过基因克隆及抗感品种间序列差异分析发现,抗花叶病毒病品种东农 93-046 中获得的 *GmST1* 基因与感病对照品种 Willianms 82 存在 2 个碱基的差异,其中 825 bp 处存在一个非同义突变 SNP,引起编码氨基酸种类的改变,由基因与共分离标记连锁关系推断,这一突变可能为抗感性相关的功能性突变。蛋白质二级结构是研究蛋白质的功能及其相互作用模式的基础依据<sup>[15]</sup>,且根据二级结构中蛋白质小分子的分布特性可以对不同的三级结构进行预测<sup>[16]</sup>,据此本研究进一步对存在这一突变的两个不同品种的 *GmST1* 基因编码蛋白进行了理化性质和结构的分析,发现在感病品种 Willianms 82 和抗病品种东农 93-046 中 *GmST1* 基因的蛋白质二级结构存在着差异。因此推测这一非同义突变 SNP 所引起的氨基酸改变可能导致了两者二级结构的差异,进一步产生不同的蛋白质三级结构,从而导致基因功能的差异,表现出不同抗感性。

大量实践表明,以序列同源性和模式植物的基因功能研究为基础,进行目标物种同源基因的功能预测是研究复杂基因组物种功能基因的有效手段。如黄燕平等<sup>[17]</sup>由拟南芥同源基因找出的大豆

*GmTLP* 基因,通过亚细胞定位实验得出 *GmTLP* 基因三级结构域间的切割位点会与真菌细胞膜上的阳离子相互作用,使细胞膜渗透压改变,从而达到抗 SMV 的作用;周练<sup>[18]</sup>也是通过 *GmAKT2* 的拟南芥同源基因 *AtAKT2* 的参与拟南芥初皮部流的长距离  $K^+$  转运的功能,遵循植物处于高钾状态能降低多种病害的发病率的规律,证明 *GmAKT2* 过表达大豆植株对 SMV 的抗病性存在着一定影响<sup>[18]</sup>。同样地,国内外研究表明本研究涉及的目标基因——磺基转移酶与植物的抗病性有关。Chen 等<sup>[19]</sup>证明拟南芥磺基转移酶 *AtSOT12* 具有抗病解毒功能,文中提出磺基转移酶的特异性以及 *At-SOT12* 的诱导,不仅可以调节水杨酸等内源物质还可以磺化病毒小分子以保护拟南芥不受病菌感染。本研究通过 BAR 数据库中对 *GmST1* 的同源拟南芥基因 *SULT* 进行了功能分析,在低温、盐渍、干旱等非生物胁迫处理时拟南芥根、茎、叶各个部分的基因表达量均有明显的变化,且在低温胁迫下有明显的组织表达特异性;在病菌处理下,如  $10^6$  孢子  $\cdot$   $mL^{-1}$  的致病疫霉菌处理以及白粉菌处理后,都有相应表达量变化。同时,结合对启动子元件的分析结果,推测 *ST1* 基因参与了干旱、低温、光诱导等不同非生物胁迫反应,且也是一种病程相关基因。

基于以上可以推断磺基转移酶与生物抗病反应存在着一定关系,而根据基因序列同源性和功能域保守性,可以推测编码磺基转移酶的 *GmST1* 基因可能参与大豆病程、抗逆相关反应,尤其在大豆抗病毒和抗病病原菌等方面具有潜在的生物学功能,本研究结果可以为后续 *GmST1* 基因功能的深入研究

提供良好的理论基础。

## 参考文献

- [1] Ahima R S ,Stanley T L ,Khor V K ,et al. Estrogen sulfotransferase is expressed in subcutaneous adipose tissue of obese humans in association with TNF- $\alpha$  and SOCS3 [J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2011 96( 7) : E1153-E1158.
- [2] Habuchi H ,Nagai N ,Sugaya N ,et al. Mice deficient in heparan sulfate 6-O-sulfotransferase-1 exhibit defective heparan sulfate biosynthesis ,abnormal placentation and late embryonic lethality [J]. Journal of Biological Chemistry 2007 282( 21) : 15578-15588.
- [3] 陈坤 ,范春红 ,金明娟 ,等 . 磺基转移酶 IAI 基因多态性和饮食暴露与结直肠癌易感性的关系 [J]. 中华肿瘤杂志 2006 28 ( 9) : 670-673. ( Chen K ,Fan C H ,Jin M J ,et al. Relationship between polymorphism of IAI gene of sulfotransferase and dietary exposure also with susceptibility of colorectal cancer [J]. Chinese Journal of Oncology 2006 28( 9) : 670-673. )
- [4] Hernández-Sebastià C ,Varin L ,Marsolais F. Sulfotransferases from plants ,algae and phototrophic bacteria [J]. Sulfur Metabolism in Phototrophic Organisms 2008 27: 111-130.
- [5] Gidda S K ,Varin L. Biochemical and molecular characterization flavonoid 7-sulfotransferase from *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiology and Biochemistry 2006 44: 628-636.
- [6] Frédéric M ,Jason B ,Yosabeth P ,et al. Molecular and biochemical characterization of two brassinosteroid sulfotransferases from *Arabidopsis AtST4a* ( At2g14920) and *AtST1* ( At2g03760) [J]. Planta , 2007 225: 1233-1244.
- [7] Lacomme C ,Roby D. Molecular cloning of a sulfotransferase in *Arabidopsis thaliana* and regulation during development and in response to infection with pathogenic bacteria [J]. Plant Molecular Biology ,1996 30: 995-1008.
- [8] 李珍珍 . 水稻白叶枯病菌磺基转移酶 RaxST 的活性分析 [D]. 杭州: 浙江师范大学 2014. ( Li Z Z. Activity analysis of sulfotransferase RaxST from *Xanthomonas oryzae* [D]. Hangzhou: Zhejiang Normal University 2014. )
- [9] Marsolais F ,Sebastia C H ,Varin L. Molecular and biochemical characterization of *BNST4* , an ethanol-inducible steroid sulfotransferase from *Brassica napus* and regulation of *BNST* genes by chemical stress and during development [J]. Plant Science 2004 166: 1359-1370.
- [10] 李猛 . 水稻抗稻瘟病菌质膜蛋白的蛋白质组学 [D]. 南京: 南京农业大学 2011. ( Li M. Proteomics of bacterial plasma membrane proteins in rice blast resistance [D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University 2011. )
- [11] Wang Q ,Liu Y Q ,He J ,et al. STV11 encodes a sulphotransferase and confers durable resistance to rice stripe virus [J]. Nature Communications 2014.
- [12] 韩英鹏 ,程章 ,赵雪 ,等 . 大豆花叶病毒病和疫霉根腐病抗性的 SSR 标记辅助鉴定 [J]. 大豆科学 2013 32( 6) : 740-743. ( Hang Y P ,Cheng Z ,Zhao X ,et al. SSR Marker assisted identification of soybean mosaic virus and *Phytophthora root rot* [J]. Soybean Science 2013 32( 6) : 740-743. )
- [13] 孙晶 ,盛碧涵 ,韩英鹏 ,等 . 大豆基因组 WRKY31 同源基因的生物信息学分析 [J]. 大豆科学 2014 33( 5) : 642-647. ( Sun J ,Sheng B H ,Han Y P ,et al. Bioinformatics analysis of soybean genomic WRKY 31 homologous genes [J]. Soybean Science 2014 , 33( 5) : 642-647. )
- [14] 董龙 ,罗聪 ,何新华 ,等 . 芒果类黄酮磺基转移酶基因克隆及表达分析 [J]. 热带作物学报 2014 35( 4) : 706-711. ( Dong L , Luo C ,He X H ,et al. Cloning and expression analysis of the flavonoids sulfotransferase gene of mango [J]. Chinese Journal of Tropical Crops 2014 35( 4) : 706-711. )
- [15] 唐媛 ,李春花 ,张媛 ,等 . 蛋白质的二级结构预测研究进展 [J]. 现代生物医学进展 2013 13( 26) : 5180-5182. ( Tang Y ,Li C H ,Zhang Y ,et al. Advances in prediction of protein secondary structure [J]. Progress in Modern Biomedicine ,2013 13( 26) : 5180-5182. )
- [16] 高冶 . 基于二级结构的蛋白质三维结构预测方法研究 [D]. 海口: 海南大学 2013. ( Gao Y. The Research of protein 3D structure prediction method based on secondary structure [D]. Haikou: Hainan University 2013. )
- [17] 黄燕平 . 大豆 *GmTLP* 基因的克隆及其功能的初步研究 [D]. 南京: 南京农业大学 2010. ( Huang Y P. Cloning and preliminary functional analysis of *GmTLP* in soybean [J]. Nanjing : Nanjing Agricultural University 2010. )
- [18] 周练 . *GmPIPL*: 6 和 *GmAKT2* 基因在大豆抗逆中的功能研究 [D]. 杭州: 浙江大学 2014. ( Zhou L. Function analysis of *GmPIPL*: 6 and *GmAKT2* in soybean stress resistance [D]. Hangzhou: Zhejiang University 2014. )
- [19] Chen J H ,Gao L Q ,Baek D ,et al. Detoxification function of the *Arabidopsis* sulphotransferase *AtSOT12* by sulphonation of xenobiotics [J]. Plant ,Cell and Environment 2015 38: 1673-1682.