



大豆 *GmNF-YA11* 基因克隆及特征分析

白玉翠, 王 萍, 倪志勇, 于月华

(新疆农业大学 农学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要: NF-Y 类转录因子是真核生物中普遍存在的一种转录因子复合物, 在植物胚胎发育、光合作用、开花时间调控、逆境胁迫响应等诸多方面起重要作用, 因此研究 NF-Y 类转录因子对提高大豆抗逆性有重要意义。为初步了解大豆 *GmNF-YA11* 基因的基本特征并为后续实验提供理论基础, 本研究从大豆中克隆 *GmNF-YA11* 基因, 其 cDNA 序列为 1 553 bp, 包含 1 个 912 bp 的开放阅读框, 编码 1 个含 303 个氨基酸的蛋白质, 分子量为 34.06 kD, 等电点为 9.50; *GmNF-YA11* 基因组包含 5 个外显子和 4 个内含子。进化树分析发现 *GmNF-YA11* 和 *GmNF-YA13* 在同一个分支上。转录活性分析表明, *GmNF-YA11* 转录因子并不具有转录激活功能。组织特异性表达模式分析表明, *GmNF-YA11* 在检测的所有组织中均有表达, 在花中的表达量最低, 而在种子中的表达量最高。

关键词: 大豆; *GmNF-YA11*; 克隆; 转录激活

Cloning and Characterization of *GmNF-YA11* Gene in Soybean

BAI Yu-cui, WANG Ping, NI Zhi-yong, YU Yue-hua

(College of Agriculture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: The NF-Y transcription factor is a ubiquitous transcription factor complex in eukaryotes, recent studies have found that NF-Y plays an important role in plant embryo development, photosynthesis, flowering time regulation, stress response and so on. Therefore, studying NF-Y transcription factors is important to improve soybean resistance. We cloned the *GmNF-YA11* gene from soybean in order to preliminarily understand its basic characteristics. The full-length cDNA sequence is 1 553 bp containing open reading frame of 912 bp, encodes a protein of 303 amino acids with a molecular weight of 34.06 kD and pI 9.50. The *GmNF-YA11* genome contains five exons and four introns. Phylogenetic tree analysis showed that *GmNF-YA11* and *GmNF-YA13* were on the same branch. Transcriptional activity analysis showed that *GmNF-YA11* transcription factor didn't have transcriptional activation function. The analysis of tissue specific expression pattern showed that *GmNF-YA11* was expressed in all the tissues detected, the highest expression in the seeds and the lowest expression in the flowers.

Keywords: Soybean; *GmNF-YA11*; Cloning; Transcriptional activation

大豆中蛋白质含量通常为 40% ~ 50%^[1], 是小麦、大米等谷类作物的两倍以上。大豆是重要的油料作物之一, 也是我国生产豆粕及大豆油的主要原料^[2], 大豆的产量及质量会受到非生物胁迫的影响, 其中干旱是影响其产量的重要因素之一, 干旱会严重限制大豆的种植地域及种植面积^[3]。

目前改良和提高植物的综合抗逆性的有效方法之一是对转录因子的表达进行调控。转录因子又被叫做反式作用因子, 简称 TF 因子, 是一类蛋白质分子并能够参与真核细胞的转录调控, 与原核细胞中的 DNA 结合蛋白存在一定的相似性。核因子 Y (NF-Y) 作为新近发现的一种特异转录因子, 具有多种生物功能。NF-Y 又称为 CCAAT 盒结合因子 (CBF) 或亚铁血红素激活蛋白 (HAP), 是一种能高度识别并结合 CCAAT 盒的转录因子。许多研究表明单个的 NF-Y 亚基在植物对逆境胁迫响应以及生理生化发生等各个发育阶段均发挥着重要作用。植物中的第一个 NF-YA 亚基于 1995 年在油菜中被报道^[4], 后续研究证明绒毡层细胞和小室的发育受到 *BnCBF* (*AtNF-YA9* 的同源基因) 的影响, *BnCBF* 全长反义结构的特异表达会使绒毡层细胞和小室

退化, 进而影响花粉活力^[5]。蒺藜苜蓿中的 *MtNF-YA1* 基因是影响根瘤发育的关键因素; RNAi 沉默 *MtNF-YA1* 基因导致根瘤分生组织功能严重受损进而影响根瘤发育^[6]。在拟南芥中, 过表达 *TaNF-YA10-1* 使拟南芥对盐胁迫的敏感性显著增加, 但会抑制拟南芥对 ABA 的敏感性, 同时使逆境胁迫相关基因 *AtRAB18*、*AtRD29B*、*AtABI5*、*AtCBF1* 和 *AtCBF3* 的表达水平下降^[7]。而过量表达 *AtNF-YA1* 使植株对 ABA 和高盐胁迫的敏感性增加^[8]。在非生物胁迫下 (如 NaCl、甘露醇、PEG 和 ABA), 拟南芥中 *NF-YA1* 的表达会显著升高。但是, 过表达 *NF-YA1* 拟南芥植株的萌发在盐胁迫下会受到抑制^[5]。NF-YA 转录因子基因也被鉴定为是 miRNA169 家族成员的靶基因^[9], 在上游区域存在 ABRE 顺式作用原件的 miRNA169 家族成员, 可能会受到 ABA 的调控。同时 DRE 作用原件使一些 miRNA169 家族成员受到渗透胁迫的诱导^[10]。研究发现干旱会诱导番茄中的 *Sly-miR169* 累积, 因此, 使得 *Sly-miR169* 的靶基因 *SIN1F-YA1/2/3* 的表达量都下调^[11]。

目前已经从大豆基因组中鉴定出了 21 个 *GmNF-YA*、32 个 *GmNF-YB* 和 15 个 *GmNF-YC* 基因, 且

收稿日期: 2019-03-22

基金项目: 国家自然科学基金 (31860295, 31660295); 新疆维吾尔自治区天山英才计划 (201720085); 新疆农业大学作物学重点学科 (XNC-DKY2018013)。

第一作者简介: 白玉翠 (1995-), 女, 硕士, 主要从事植物逆境分子生物学研究。E-mail: 1491218269@qq.com。

通讯作者: 于月华 (1981-), 女, 高级实验师, 博士, 主要从事作物分子育种研究。E-mail: yuyuehua1213@sina.com。

系统发育分析表明,大豆的蛋白质与拟南芥具有很强的同源性^[12]。其中大豆 *GmNF-YA3* (*GmNF-YA12*)被证明是 miR169c 的靶基因,参与大豆逆境胁迫响应,过表达 *GmNF-YA3* 基因可以提高拟南芥的抗旱性,且对高盐及外源 ABA 敏感^[13]。研究表明 *GmNFYB1* 基因与大豆抗旱性相关,过表达大豆 *GmNFYB1* 基因拟南芥和大豆的抗旱性增强,且 *GmNFYB1* 蛋白与 *GmNFYC4*、*GmNFYC6*、*GmNFYC9* 蛋白互作^[14-15]。研究发现 *GmNF-YA11* 基因可能受干旱胁迫诱导且与种子的发育相关^[12],所以本研究对 *GmNF-YA11* 基因进行克隆和生物信息学分析,并分析了该基因的表达模式以及转录激活活性,为该基因的进一步研究提供了理论基础,也为大豆抗逆新品种的培育提供了科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

供试大豆品种为 Williams 82,由本课题组提供。供试普通 DNA 产物纯化试剂盒、质粒 DNA 提取试剂盒及其它试剂盒购于北京天根生化公司;所用酶为北京全式金生物有限公司的 *Taq* DNA 聚合酶,限制性内切酶 *Sal* I、*Bam* H I 和 *T₄* DNA 连接酶购于 Fermentas 公司。大肠杆菌菌株 (*E. coli*) DH5 α 感受态细胞购于北京全式金生物有限公司;引物由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成;酵母 YP-DA 培养基粉末、酵母单缺培养基粉末 (SD/ - His) 及酵母双缺培养基粉末 (SD / - Trp/ - His) 购自北京泛基诺生物有限公司。

1.2 方法

1.2.1 大豆叶片总 RNA 的提取和 cDNA 第一链的合成 利用 Trizol 总 RNA 提取试剂盒 (Invitrogen) 提取水培至 25 日龄的大豆叶片总 RNA。琼脂糖凝胶电泳验证 RNA 完整性,使用核酸蛋白测定仪 (Eppendorf) 测定 RNA 浓度,利用 First strand cDNA Synthesis 试剂盒 (Thermo Fisher) 将 RNA 反转录为 cDNA 第一链,于 -20 ℃ 备用。

1.2.2 *GmNF-YA11* 基因的克隆 依据在 Phytozome V 12.1 数据库中得到的大豆 *GmNF-YA11* (Gly-ma12g36540. 1) 基因序列设计 1 对特异引物, Gly-ma12g36540-F: 5'-TGAGTGAAGGGGAAAAGTTGTGCTA-3' 和 Gly-ma12g36540-R: 5'-GTGGAGCATGTCA CACAAATCAG-3'。PCR 扩增该基因的开放阅读框 (ORF), 采用 TransStart *Taq* DNA 酶 (Transgen), 以反转录的 cDNA 第一链为模板, 用特异性引物扩增 *GmNF-YA11* 基因。PCR 反应程序为: 94 ℃

5 min, 94 ℃ 30 s, 62 ℃ 45 s, 72 ℃ 1 min, 35 个循环; 72 ℃ 10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳初步检测, 将目的 PCR 条带回收并连接至 pGM-T (Tiangen) 载体上, 将 PCR 检测为阳性克隆的菌液送至北京华大公司测序验证。

1.2.3 生物信息学分析 在 Phytozome V 12.1 网站 (<http://www.phytozome.net>) 中, 利用已经获得的 *GmNF-YA11* 基因的 cDNA 序列作为探针, 筛选获得对应的基因组 DNA 序列, 并利用该网站获得 *GmNF-YA11* 基因的染色体定位及其在大豆不同组织中的数字表达谱信息。使用在线软件 GSDS 2.0 分析 *GmNF-YA11* 基因的结构, 获得其内含子及外显子数量, 利用在线软件 ProtScale 预测其空间结构及疏水性。

使用 PSIPRED 在线软件预测 *GmNF-YA11* 蛋白的二级结构, 用 SWISS-MODEL 预测该蛋白的三级结构, 并使用在线软件 Plant-mPLoc 预测 *GmNF-YA11* 蛋白的亚细胞定位。

利用 SMART 在线软件以及 DNAMAN 软件和 NCBI 数据库中的 blast 比对, 预测蛋白的保守域 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>), 并进行多序列比对及同源性分析, 利用 Clustalx 1.83 软件和 MEGA 5 软件构建同源的拟南芥及大豆序列的系统发生树。

1.2.4 *GmNF-YA11* 酵母表达载体的构建及转录激活活性分析 用带有 *Eco*R I 和 *Bam*H I 酶切位点的引物扩增 *GmNF-YA11* 的 ORF 序列, 引物序列为 12g36540TA-1F: 5'-TTTGAATTCATGCCAGGGAAACCTGACACT-3' 和 12g36540TA-1R: 5'-TTTGGATCCTTATTTGAAATCCCCATTAGGGTCC-3' (下划线表示酶切位点)。对扩增出的带有酶切位点 *GmNF-YA11* 的 ORF 序列用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收, 将回收产物进行双酶切, 酶切后连接至 pGBKT7 载体上, 构建好的载体通过测序验证其正确性。将质粒 *GmNF-YA11*-pGBKT7 和空载 pGBKT7 转化至在酵母菌株 AH109 上, 在 SD/ - Trp 和 SD/ - Trp/ - His 营养缺陷型培养基上涂布培养, 30 ℃ 培养 2 ~ 3 d 后, 观察转化后的酵母菌落的生长情况。

2 结果与分析

2.1 *GmNF-YA11* 的生物信息学分析

2.1.1 *GmNF-YA11* 的理化性质及疏水性分析 核苷酸序列分析表明, *GmNF-YA11* 的 cDNA 序列对应大豆基因组序列第 12 号染色体 Chr12: 39555221-39561252 reverse 上的 Glymal2g36540. 1 序列, 长度为 6 032 bp, 包含 5 个外显子和 4 个内含子 (图 1)。

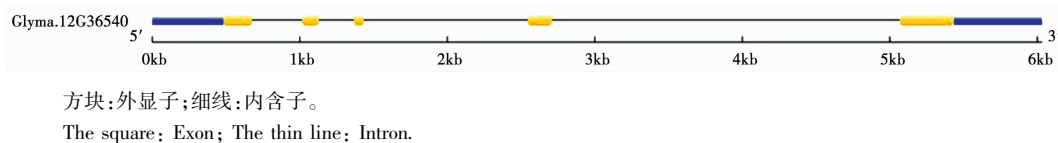


图 1 *GmNF-YA11* 结构示意图
Fig. 1 Schematic diagram of *GmNF-YA11*

GmNF-YA11 的 cDNA 序列长为 1 553 bp, 开放阅读框长 912 bp, 其中 5' - 非编码区 (UTR) 长为 262 bp, 3'-UTR 长为 380 bp, 编码 1 个含 303 个氨基酸的蛋白。用 ProtParam 预测该蛋白的分子量为 34.06 kD, 理论等电点为 9.50; 不稳定系数为 40.08, 此蛋白为不稳定蛋白; 总平均亲水性为 -0.987, 疏水性分析发现该蛋白为亲水性蛋白 (图 2)。

2.1.2 GmNF-YA11 蛋白的空间结构预测及亚细胞

定位预测 GmNF-YA11 蛋白的二级结构中无规则卷曲较多,存在 6 个 α -螺旋、3 个 β -折叠(图 3)。三级结构预测与其二级结构预测结果相符合(图 4)。细胞定位预测结果显示 *GmNF-YA11* 蛋白可能定位于细胞核中。

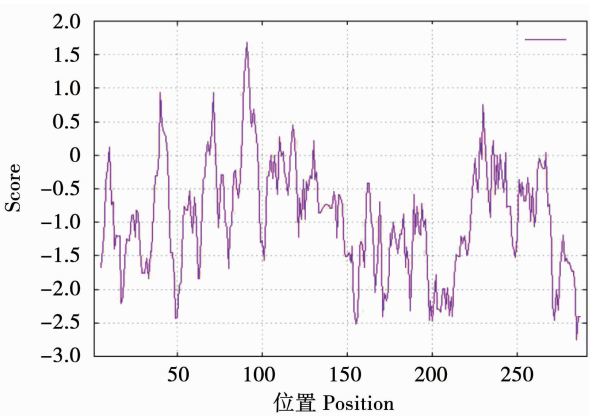


图2 GmNF-YA11 蛋白的疏水性分析
Fig. 2 Hydrophobicity profile of GmNF-YA11 protein



图3 GmNF-YA11 蛋白的二级结构预测
Fig. 3 Secondary structure of GmNF-YA11 protein

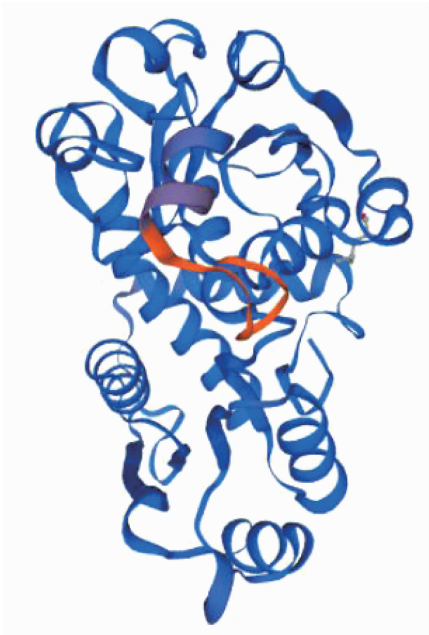


图4 GmNF-YA11 蛋白的三级结构预测

Fig.4 The tertiary structure of GMNF-YA11 protein

2.1.3 GmNF-YA11 的保守域分析及系统进化分析

GmNF-YA11 蛋白包含 1 个 CCAAT 结合转录因子 NF-YA 特有的结构域,位于第 146 ~ 207 位氨基酸的 CBF 保守域(图 5)。氨基酸多序列比对分析发现,*GmNF-YA11* 与其它 5 条序列在第 146 ~ 202 位氨基酸的相似性最高,*GmNF-YA11* 在这一区域多为无规则卷曲及 α - 螺旋(图 6)。构建进化树发现 *GmNF-YA11* 与 *GmNF-YA13*、*GmNF-YA7*、*GmNF-YA2*、*AtNF-YA9*、*AtNF-YA1* 在同一支(图 7),其中 *GmNF-YA11* 与 *GmNF-YA13* 的亲缘关系最近,氨基酸一致性为 88.78%。

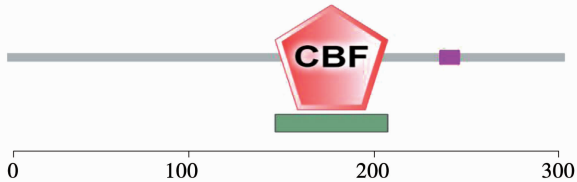


图5 GmNF-YA11 保守结构域分析

Fig.5 The structure of the conserved regions

GmNF-YA11MPGKPTDDWRVERGEQIQFOSSSIYSHHQPWWRGVG.....BNASKSSSDQQLNG...SIVN.....	54
GmNF-YA13MPGKADTDDWRVERGEQIQFOSSSIYSHHQPWRCGVG.....BNASKSSSDQQLNG...SIVN.....	54
GmNF-YA7MQSKSETANRIRSDPHSFQPGGVYS...EPWWRGIG.YNPMATMACANANSSSLECPNGDSESNEEGQSLSNS	71
GmNF-YA2MQSKSETANRIRSDPHSFPTNNAYS...EPWWRGIG.YNPVPQAMLGYNASNSSSLERNGDSESSE	64
AtNF-YA9	MGIEDMHKSDSGGNKVDSEVHGTVSSSINSLNPWHRAAAACNANSSVEAGDKSSKSTALALESNNGSKSPSN.....	72
AtNF-YA1MQSKPGRNNEEVNHHAVQCPMMYA...EPWWRKNSN.FGVVPQARPSGIPSNSSSLDCPNG.SESNDVHSASEDG	71
Consensus	m k p w s s s	
GmNF-YA11GILIRSETN...DKSGGGVAKFYQNIKHAMLSTPFTMKHLAPNPQMBELVGHSVVLTS...PYSDAQHGQILTTY	122
GmNF-YA13GILIRSETN...DKSGGGVAKFYQNIKHAVLSTPFTMDKHLAPNPQMBELVGHSVVLTS...PYSDAQHGQILTTY	122
GmNF-YA7	GMNEEDDDATKDSKPA.APNETCNYEQQQGMQHTASSPPSMRECLTQTPQLELVGHSIACST.NPYQDPYYGGMMAAY	149
GmNF-YA2DDDATKESOPT.APNQSCNYGQDHQAMQHSSSSAPLVRDDCTQAPQVELVGHSIG.....	119
AtNF-YA9RDNTVNKESQVTTSPQASGDYSDKNQESLHHCITOP.....PPHPOLVGHTVGWASNPYQDPYYAGVMGAY	139
AtNF-YA1	ALNGENDGHWKDSQ....AATSSRSNDNHGMEGNDPALSIKRMHDOPEVQPE...ELVGHYIACVP.NPYQDPYYGGLMGAY	145
Consensus	p lvgh	
GmNF-YA11	GQQVMINPOLYGMHARMPLPLEMBEPEPVYNKQYHGILRRRQSRAKAEIEKKVKNRKPYPHESRHLHAMRRARGNGG	202
GmNF-YA13	GQQVMINPOLYGMHARMPLPEMBEPEPVYNKQYHGILRRRQSRAKAEIEKKVKNRKPYPHESRHLHAMRRARGNGG	202
GmNF-YA7	GHQQLGYAFETICMPHARMPLPLEMAQEPVYVNAKQYQGILRRRQARAKAELEKLIKSRKPYPHESRHQHAMRRARGTGG	229
GmNF-YA2YTFETICMPHARMALPLEMAQEPVYVNAKQYQGILRRRQARAKAELEKLIKSRKPYPHESRHQHAIARRARGNGG	193
AtNF-YA9	GHHPLGFVBYGMPHSMPLPLEMAQEPVFVNAKQYQAILRRRQARAKAELEKLIKSEKYPHESRHQHAMRRRPRGTGG	219
AtNF-YA1	GHQQLGFREYLGMPRELTALPLDMAQEPVYVNAKQYEGILRRRKARAKAELEKRVIRDRKPYPHESRHKHAMRRARASGG	225
Consensus	gm r lp m epv vnakqy ilrrr rakae e k i rkpylhesrh ha rr r gg	
GmNF-YA11	RFLNTKKLNNNSNSTSDKGNIRAN...ASTNSPNTQLFTNNLNLGSSNVSCATVQHMHTEQSFTIGYHNGNC....	274
GmNF-YA13	RFLNRKKLNNYNSDATSDIGQNTGAN...PSTNSPNTQHLFTNNENLGSSNASCATVQDMHRVBSFNIYHNGNC....	274
GmNF-YA7	RFAKKTDEGGSNHLG.REKDNGTDSV...QSISSSGSEPLHSDSAETWNSPNMQDARASKVHNSRFEAPSPYQNGSGSYH	305
GmNF-YA2	RFAKKTEVBASNHMN.REKDMGTGQVPLSRISISSGFGSLPDSAEATWNSPSVQDARGSQVH.ERFEERNYANVLQS..	269
AtNF-YA9	RFAKKTINTEASKRKA.BEKSNGHVTQ.....SPSSS...NSDQGEAWNGDYRTPOGDEMQSS.....	272
AtNF-YA1	RFAKKSEVEAGEDAGGRDRERSATN.....SSGSEQVETSDNETLNSSGAP.....	272
Consensus	rf e s	
GmNF-YA11LTALYRSQANGKKEGNGFKEKRDPN.GDFK.....	303
GmNF-YA13LAELYHSQANGKKEGNGFKEKRDPNNGAFK.....	304
GmNF-YA7	NHNGLSQVYHSSSGERVEERDCSGQQ....LNHN.....	336
GmNF-YA2SSTFCLHSGERVEEGDCSGQQRGSILSEHTSQRRLAI	306
AtNF-YA9AYKREEGECSSGQQRNSLSSNHPSQARLAI	302
AtNF-YA1	272
Consensus		

图6 大豆与拟南芥 NF-YA 蛋白序列比对

Fig.6 The alignment of GmNF-YA protein sequences from soybean and *Arabidopsis thaliana*

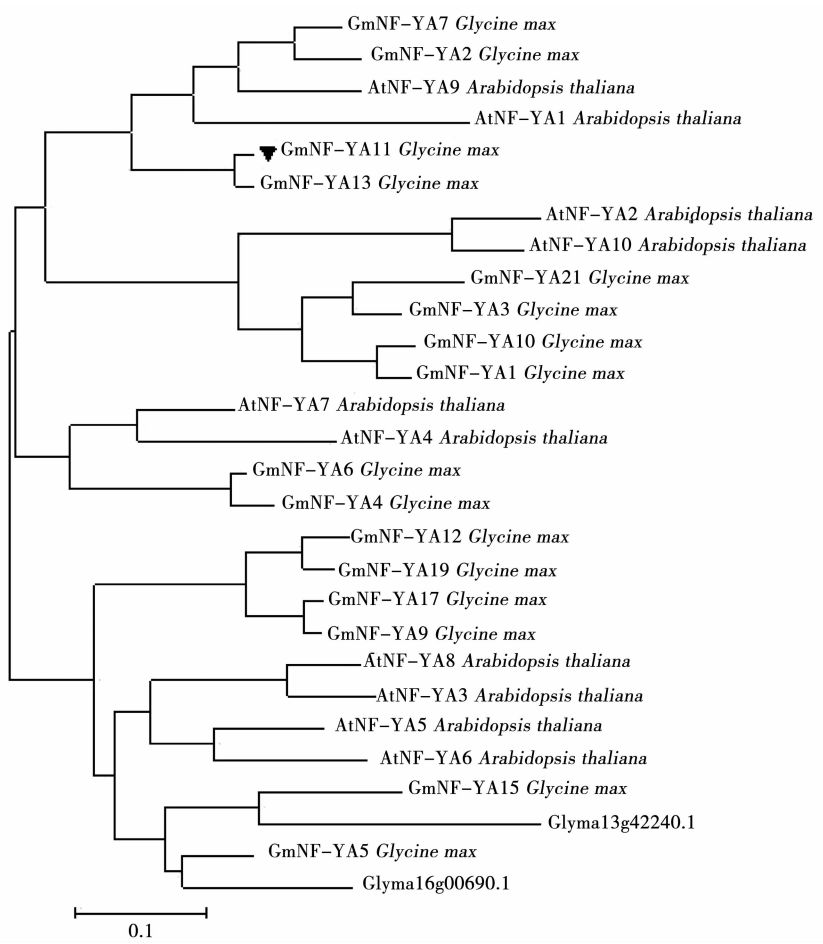


图 7 大豆和拟南芥的 NF-YA 蛋白进化树分析

Fig. 7 Phylogenetic analysis of NF-YA-domain-containing proteins in soybean and *Arabidopsis*

2.2 *GmNF-YA11* 基因的表达模式分析

GmNF-YA11 基因在大豆不同组织中的表达数据分析发现在大豆的不同组织中 *GmNF-YA11* 基因均有表达,但在不同组织中的表达量各有不同,其

中在种子中 *GmNF-YA11* 基因的 FPKM 值最大,达到 79.127。*GmNF-YA11* 基因在花中的 FPKM 值最小,为 1.980(图 8)。

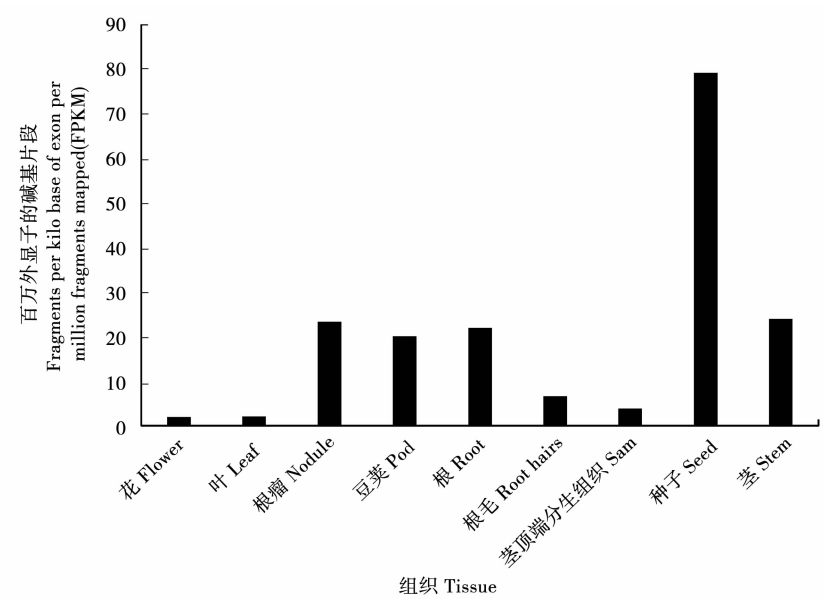


图 8 大豆 *GmNF-YA11* 基因在不同组织中的表达模式

Fig. 8 Expression profile of *GmNF-YA11* gene in different tissues

2.3 *GmNF-YA11* 的转录激活活性分析

酵母双杂交结果显示:转化了 pGBKT7 和 *GmNF-YA11*-pGBKT7 的酵母菌落在 SD/- Trp 营养缺陷型培养基上均能正常生长,说明酵母中已经成功的转入了上述 2 个质粒。但在转化了 pGBKT7 和 *GmNF-YA11*-pGBKT7 的酵母菌落的 SD/- Trp/- His 营养缺陷型培养基上,对照 pGBKT7 和转化 *GmNF-YA11*-pGBKT7 的酵母菌落均不能正常生长。说明 *GmNF-YA11* 转录因子不具有转录激活活性(图 9)。

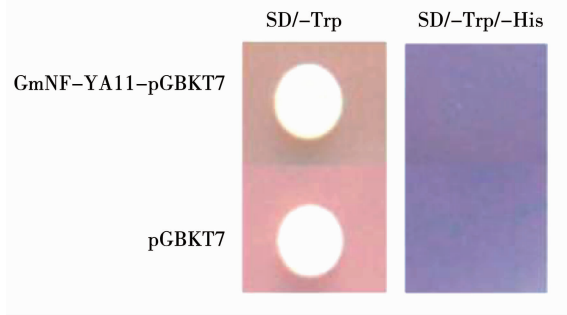


图 9 *GmNF-YA11* 转录因子的转录激活活性分析

Fig. 9 Analysis of transactivation activity of *GmNF-YA11* transcription factor

3 讨论

NF-Y 转录因子普遍存在于动物、植物、酵母和哺乳动物等真核生物中,最早发现于酵母中,由 NF-YA (CBF-B 或 HAP2) 和包含组蛋白折叠域 (HFDs) 的 NF-YB (CBF-A 或 HAP3)/NF-YC (CBF-C 或 HAP5) - 异二聚体 3 种不同的亚基组成^[16-17]。这 3 个亚基均包含 1 个保守的 DNA 结合功能域或蛋白-蛋白互作功能域^[18],其中 NF-YA 蛋白具有 1 个保守的 56 - 氨基酸结构域,由两个具有不同功能的螺旋(A1 和 A2)组成,NF-YB 和 NF-YC 能形成紧密二聚体,且 NF-YB 和 NF-YC 分别与核心组蛋白 H2B 和 H2A 共享 HFDs^[19-20]。在酵母、动物等真核生物中,NF-Y 的 3 个亚基一般由 1 或 2 个基因编码。而在植物中,NF-Y 复合体通常由基因家族编码,如拟南芥具有 10 个 NF-YA、13 个 NF-YB 和 13 个 NF-YC^[21],在二穗短柄草中发现了 7 个 NF-YA 亚基、17 个 NF-YB 亚基和 12 个 NF-YC 亚基^[22],小麦中的 NF-YA、NF-YB 和 NF-YC 分别为 10、11 和 14 个^[23],水稻中先后鉴定出了 10 个 NF-YA 亚基、11 个 NF-YB 亚基和 7 个 NF-YC 亚基^[24]。本研究克隆了 1 个具有 5 个外显子和 4 个内含子的 NF-Y 转录因子基因 *GmNF-YA11*,*GmNF-YA11* 其具有 1 个 NF-YA 特有的 CBF 保守结构域,研究表明 *AtNF-YA* 成员的编码区通常包含 3 ~ 5 个内含子,*GmNF-YA11*

同样具有保守的基因组结构。

大豆 *NF-YA* 基因与拟南芥 *NF-YA* 基因的系统进化树表明大豆 *GmNF-YA11* 与拟南芥 *AtNF-YA9* 及 *AtNF-YA1* 在同一分支,且与大豆 *GmNF-YA13* 的同源性较近,有研究表明 *AtNF-YA9* 及 *AtNF-YA1* 与胚胎发生,种子发育和萌发相关,转 *AtNF-YA9* 及 *AtNF-YA1* 基因拟南芥对脱落酸 (ABA) 具有敏感性^[25]。这些结果表明 *GmNF-YA11* 基因可能与拟南芥 *AtNF-YA9* 和 *AtNF-YA1* 基因具有相似功能。*GmNF-YA11* 在不同组织中的表达模式分析表明, *GmNF-YA11* 在种子中的表达量最高,在叶中的表达量最低。转录激活分析表明 *GmNF-YA11* 不具有转录激活活性,NF-YA 是 NF-Y 转录因子 3 个亚基中的 1 个。Nardini 等^[26] 报道过 NF-YA 可以插入 DNA 双螺旋的小沟中与 CCAAT-box 结合,由此推测 *GmNF-YA11* 是作为结合因子来发挥作用,而起到转录激活作用的可能是其它两个亚基 NF-YB/C。

4 结论

本研究推测 *GmNF-YA11* 基因编码的蛋白为 1 个定位于细胞核的亲水性蛋白,不具有转录激活活性,仅起到结合因子的作用。系统进化树分析表明该基因可能与拟南芥 *AtNF-YA9* 和 *AtNF-YA1* 基因功能相似,即发挥参与种子萌发、对 ABA 敏感或对非生物胁迫逆境响应等功能。由表达模式分析可知 *GmNF-YA11* 基因在大豆各个组织中均有表达,且表达量有明显差异,该结果表明 *GmNF-YA11* 基因可能参与大豆生长发育的各环节。本研究初步分析和预测 *GmNF-YA11* 基因的结构和功能,为该基因的深入研究提供了理论依据,并为下一步具体验证该基因在模式植物拟南芥及大豆中的功能打下基础。

参考文献

[1] 刘新旗,涂丛慧,张连慧,等. 大豆蛋白的营养保健功能研究现状[J]. 北京工商大学学报(自然科学版), 2012, 30(2):1-6. (Liu X Q, Tu C H, Zhang L H, et al. Research status of nutritional and health function of soybean protein[J]. Journal of Beijing Technology and Business University (Social Sciences Edition), 2012, 30(2):1-6.)

[2] 周新安. 我国大豆生产与科研现状及其发展对策[J]. 作物杂志, 2007(6): 1-4. (Zhou X A. Current situation and development strategy of soybean production and scientific research in China[J]. Crops, 2007(6): 1-4.)

[3] 杨如萍,包振贤,陈光荣,等. 大豆抗旱性研究进展[J]. 作物杂志, 2012(5): 8-12. (Yang R P, Bao Z X, Chen G R, et al. Advances in drought resistance of soybean[J]. Crops, 2012(5):

- 8 -12.
- [4] Albani D, Robert L S. Cloning and characterization of a *Brassica napus* gene encoding a homologue of the B subunit of a heteromeric CCAAT-binding factor[J]. *Gene* (Amsterdam), 1995, 167 (1-2): 209-213.
- [5] Lévesque-Lemay M, Albani D, Aldcorn D, et al. Expression of CCAAT-binding factor antisense transcripts in reproductive tissues affects plant fertility[J]. *Plant Cell Reports*, 2003, 21(8): 804-808.
- [6] Combier J P, Frugier F, de Billy F, et al. *Mt HAP2-I* is a key transcriptional regulator of symbiotic nodule development regulated by micro RNA169 in *Medicago truncatula* [J]. *Genes Development*, 2006, 20(22): 3084-3088.
- [7] Ma X, Zhu X, Li C, et al. Overexpression of wheat *NF-YA10* gene regulates the salinity stress response in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2015, 86: 34-43.
- [8] Li Y J, Fang Y, Fu Y R, et al. *NFYAI* is involved in regulation of postgermination growth arrest under salt stress in *Arabidopsis* [J]. *Plos One*, 2013, 8(4): e61289.
- [9] Jones-Rhoades M W, Bartel D P, Bartel B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57: 19-53.
- [10] Zhao B, Ge L, Liang R, et al. Members of miR-169 family are induced by high salinity and transiently inhibit the NF-YA transcription factor[J]. *BMC Molecular Biology*, 2009, 10: 29.
- [11] Zhang X, Zou Z, Gong P, et al. Over-expression of microRNA169 confers enhanced drought tolerance to tomato [J]. *Biotechnology Letters*, 2011, 33(2): 403-409.
- [12] Quach T N, Nguyen H T M, Valliyodan B, et al. Genome-wide expression analysis of soybean NF-Y genes reveals potential function in development and drought response[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2014, 290(3): 1095.
- [13] Ni Z, Hu Z, Jiang Q, et al. *GmNFYA3*, a target gene of miR169, is a positive regulator of plant tolerance to drought stress[J]. *Plant Molecular Biology*, 2013, 82(1-2): 113-129.
- [14] 王涛, 李永光, 王英琪, 等. 大豆 *GmNFYBI* 基因功能预测及表达分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2015, 34(5): 1034-1039. (Wang T, Li Y G, Wang Y Q, et al. Functional prediction and expression analysis of soybean *GmNFYBI* gene[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2015, 34(5): 1034-1039.
- [15] 李涵哲. 大豆 *GmNFYBI* 互作蛋白分析及与干旱相关下游基因分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016. (Li H Z. Analysis of *GmNFYBI* interaction protein and drought-related downstream genes in soybean[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2016.
- [16] Mantovani R. The molecular biology of the CCAAT-binding factor NF-Y[J]. *Gene*, 1999, 239(1): 15-27.
- [17] McNabb D S, Tseng K A, Guarente L. The *Saccharomyces cerevisiae* Hap5p homolog from fission yeast reveals two conserved domains that are essential for assembly of heterotetrameric CCAAT-binding factor[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1997, 17(12): 7008-7018.
- [18] Gusmaroli G, Tonelli C, Mantovani R. Regulation of the CCAAT-Binding NF-Y subunits in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Gene*, 2001, 264(2): 173-185.
- [19] Luger K, Armin W Mäder, Richmond R K, et al. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution[J]. *Nature*, 1997, 389: 251-260.
- [20] Petroni K, Kumimoto R W, Gnesutta N, et al. The promiscuous life of plant nuclear factor Y transcription factors[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(12): 4777-4792.
- [21] Siefers N, Dang K K, Kumimoto R W, et al. Tissue-specific expression patterns of *Arabidopsis* NF-Y transcription factors suggest potential for extensive combinatorial complexity[J]. *Plant Physiology*, 2008, 149(2): 625-641.
- [22] Cao S, Kumimoto R W, Siriwardana C L, et al. Identification and characterization of NF-Y transcription factor families in the monocot model plant *Brachypodium distachyon* [J]. *PLoS One*, 2011, 6: e21805.
- [23] Stephenson T J, McIntyre C L, Collet C, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the NF-Y family of transcription factors in *Triticum aestivum* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 65(1-2): 77-92.
- [24] Kubo T, Serizawa A. Identification, characterization and interaction of HAP family genes in rice [J]. *Journal of Receptor Research*, 2008, 7(1-4): 279-289.
- [25] Mu J, Tan H, Hong S, et al. *Arabidopsis* transcription factor genes *NFYAI*, 5, 6, and 9 play redundant roles in male gametogenesis, embryogenesis, and seed development [J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(1): 188-201.
- [26] Nardini M, Gnesutta N, Donati G, et al. Sequence-specific transcription factor NF-Y displays histone-like DNA binding and H2B-like ubiquitination[J]. *Cell*, 2013, 152(1-2): 132-143.