



引用格式: 刘同金, 刘振洋, 班秋妍, 等. 丝瓜 *TIFY* 基因克隆及组织表达分析[J]. 西北植物学报, 2024, 44(11): 1752-1759. [LIU T J, LIU Z Y, BAN Q Y, et al. Cloning and tissue expression analysis of *TIFY* genes in *Luffa cylindrica*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2024, 44(11): 1752-1759.] DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.20240327

丝瓜 *TIFY* 基因克隆及组织表达分析

刘同金, 刘振洋, 班秋妍, 周 露, 崔群香*

(金陵科技学院 园艺园林学院, 南京 210038)

摘 要 【目的】*TIFY* 基因在植物生长发育过程中发挥重要的调节作用, 对丝瓜 *TIFY* 基因家族成员进行鉴定, 筛选果实中高表达的成员, 并对其进行克隆和组织表达分析, 为阐明其生物学功能奠定基础。【方法】通过生物信息学方法对丝瓜 *TIFY* 基因家族成员进行鉴定, 基于转录组分析筛选果实中高表达的成员, 基于 RT-PCR 技术对其进行克隆, 基于 qRT-PCR 研究其组织表达。【结果】丝瓜基因组中包含 17 个 *TIFY* 基因, 不均匀地分布于 9 条染色体上, CDS 序列全长 297~1 353 bp, 可分为 4 个亚家族; *LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 在丝瓜果实中的表达量显著高于其他成员; 克隆了其 CDS 序列, 分别具有 3, 5, 6, 2 个外显子; 上述 4 个基因均在丝瓜果皮中的表达量最高, 此外, *LcTIFY7* 和 *LcTIFY13* 在生殖器官中的表达量显著高于营养器官; *LcTIFY11* 在雌花蕾和子房中的表达量显著高于雄花蕾。【结论】丝瓜 *TIFY* 家族成员 *LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 可能在其生殖生长和果实发育过程中发挥作用。

关键词 丝瓜; *TIFY* 基因表达; 果实发育

中图分类号 Q78; S642.4 **文献标志码** A

Cloning and tissue expression analysis of *TIFY* genes in *Luffa cylindrica*

LIU Tongjin, LIU Zhenyang, BAN Qiuyan, ZHOU Lu, CUI Qunxiang*

(College of Horticulture, Jinling Institute of Technology, Nanjing 210038, China)

Abstract [Objective] *TIFY* gene are involved in the regulation of growth and development in plants. This experiment involves the identification of the *TIFY* family members in *Luffa cylindrica*, selecting the highly expressed members in fruits, and further cloning and investigating their expression patterns in different tissues, in order to provide basis for the functional identification of these genes. [Methods] Bioinformatics methods were used to identify the *TIFY* gene family members in *L. cylindrica*. Transcriptome analysis was performed to screen the highly expressed members in *L. cylindrica* fruits, followed by cloning genes using RT-PCR. Tissue expression was analyzed using qRT-PCR. [Results] *L. cylindrica* genome contains 17 *TIFY* genes, which were unevenly distributed across 9 chromosomes, with CDS lengths ranging from 297 bp to 1 353 bp, classifying into four subfamilies. Transcriptome analysis revealed that *LcTIFY2*, *LcTIFY7*, *LcTIFY11*, and *LcTIFY13* were highly expressed in *L. cylindrica* fruits. The CDS sequences of these genes were cloned, comprising 3, 5, 6, and 2 exons, respectively. Tissue expres-

收稿日期: 2024-06-05; 修改稿收到日期: 2024-06-30

基金项目: 国家级大学生创新训练计划项目(202313573033Z); 南京市品种选育专项项目(202210020); 金陵科技学院高层次人才科研启动项目(jit-b-202009); 金陵科技学院科研基金孵化项目(jit-fhxm-202113)

作者简介: 刘同金(1985—), 男, 博士研究生, 讲师, 主要从事蔬菜种质资源与分子生物学研究。E-mail: tongjinliu@163.com

* 通信作者: 崔群香, 教授, 主要从事蔬菜种质资源与分子生物学研究。E-mail: cqx@jit.edu.cn

sion analysis indicated that all four genes had the highest expression in the peel of *L. cylindrica* fruits. Additionally, *LcTIFY7* and *LcTIFY13* showed significantly higher expression in reproductive organs, while *LcTIFY11* exhibited significantly higher expression in female flower buds and ovaries. [Conclusion] The *TIFY* family members *LcTIFY2*, *LcTIFY7*, *LcTIFY11* and *LcTIFY13* may play roles in reproductive growth and fruit development in *L. cylindrica*.

Key words *Luffa cylindrica*; gene expression of *TIFY*; fruit development

TIFY 是植物中特有的一类转录因子家族,最初被称为花序分生组织中表达的锌指蛋白(ZIM),后因其蛋白质序列中含有 1 个高度保守 TIF[F/Y]XG 基序而被命名为 *TIFY* 家族^[1]。根据结构域的组成可将 *TIFY* 家族进一步分为 4 个亚家族:包含 *TIFY* 结构域的 *TIFY* 亚家族,包含 *TIFY*、CCT 和 GATA 结构域的 ZML(ZIM/ZIM-like)亚家族,包含 *TIFY* 和 JAS 结构域的 JAZ(jasmonate-ZIM-domain)亚家族,包含 *TIFY*、PPD 和 Modified jas 结构域的 PPD(PEAPOD)亚家族^[2]。其中,JAZ 是 *TIFY* 的 4 个亚家族中成员数最多的亚家族^[3],不含 DNA 结合结构域,必须通过与其他蛋白相互作用进而发挥其功能,其 JAS 结构域可通过与 MYC2 蛋白互作而参与到 JA 信号传导途径,还可与 MYB、EIN3 和 EIL1 等转录因子互作,从而调控植物的应激反应和次生代谢物质的合成^[4-5]。

自首次在拟南芥中发现 *TIFY* 基因(*At4g24470*)以来^[6],多种植物 *TIFY* 基因被鉴定出来,研究者对其生物学功能也有了更深入的了解。研究发现,*TIFY* 在调控植物花序发育与开花时间^[6]、种子萌发^[7]、根系生长^[8]、块茎形成和膨大^[9]、表皮毛形成^[4]、花器官发育^[10]、叶片衰老^[11]、花青素积累^[4]、响应生物^[12]和非生物胁迫(干旱胁迫、渗透胁迫和盐胁迫)过程中均发挥重要作用。*TIFY* 家族中 JAZ 亚家族成员为茉莉酸途径的抑制因子,通过与多种转录因子和共阻遏蛋白结合,可将茉莉酸途径和其他多种植物激素信号转导通路联系起来,进而调控植物的生长发育、胁迫响应和激素应答^[3]。此外,*TIFY* 还参与植物器官大小的调控。过表达水稻 *OsTIFY11b* 的转基因水稻籽粒长度、宽度和厚度较非转化植株显著增加^[13]。菊花 *TIFY* 家族蛋白 CmJAZ1-like 通过与 bHLH 转录因子 CmBPE2 互作,抑制其对扩张蛋白 CmEXPA7 的促进作用,负调控菊花花瓣的大小^[14]。小果蓝莓幼果中 *VcTIFY9s* 和 *VcTIFY10As* 的表达水平显著高于大果蓝莓,表明其可能参与蓝莓果实大小和发育的调控^[15]。拟南芥 *AtTIFY4a*(*PPD1*)和 *AtTIFY4b*(*PPD2*)参与调控叶片的大小^[16]。

丝瓜($2n=2x=26$)为葫芦科丝瓜属重要的蔬菜作物,具有较高的营养价值、药用价值和工业价值。果实长度是丝瓜的重要外观品质,影响果实的大小和产量,其调控机制获得了研究者的广泛关注^[17]。研究表明 *TIFY* 参与调控果实的发育和大小,但丝瓜中鲜见有该基因的研究报道。丝瓜参考基因组的公布为挖掘 *TIFY* 基因奠定了基础。因此,本研究在全基因组水平对丝瓜 *TIFY* 基因家族成员进行鉴定,基于转录组分析筛选出在果实中高表达的 *TIFY* 基因,并对其进行克隆和组织表达分析,研究结果为解析 *TIFY* 基因功能和丝瓜果实生长和发育的分子调控机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试植物材料为本实验室保存的肉丝瓜种质‘S’,种植于金陵科技学院园艺实验站,常规栽培管理。于盛果期取叶片、茎、卷须、雄花蕾、雌花(花蕾和子房分开取样)、果实(果皮、果肉和种子分开取样),液氮速冻后置于-80℃冰箱中保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 *TIFY* 基因家族成员鉴定与蛋白理化性质分析

丝瓜‘P93075’基因组(v1.0)数据由 CuGenD-Bv2(<http://cucurbitgenomics.org/v2/>)数据库下载,通过 Pfam(<http://pfam.xfam.org/>)数据库下载 *TIFY* 的隐马尔可夫(HMM)模型 PF06200,用 Tbttools 软件^[18]的 Simple HMM Search 功能获取候选丝瓜 *TIFY* 基因;此外,由 TAIR 网站(<https://arabidopsis.org/>)下载拟南芥 *TIFY* 基因家族成员的核苷酸序列,在丝瓜基因组中执行本地 BlastN($E=10^{-5}$)^[19],获得候选丝瓜 *TIFY* 基因。将上述候选基因在 Pfam 和 SMART 数据库中(<http://smart.embl-heidelberg.de>)进一步确认有无结构域,去除不含 *TIFY* 结构域的序列,获得最终序列,根据其在丝瓜染色体上的位置进行命名。用 ExPASy(<https://web.expasy.org/protparam/>)预测和分析丝瓜 *TIFY* 蛋白的分子质量、等电点等理化性质。

1.2.2 染色体定位分析

根据丝瓜‘P93075’基因组注释文件确定 *TIFY* 基因的染色体位置信息,用 TBtools 软件^[18] 进行染色体定位作图和基因结构可视化作图。

1.2.3 基于转录组的 *TIFY* 基因表达分析

根据本实验室前期完成的 2 份不同果形丝瓜‘S’(商品成熟期果实长度约 36.5 cm,直径约 63.4 mm)和‘L’(商品成熟期果实长度约 91.9 cm,直径约 35.7 mm)商品成熟期果实的转录组数据(<https://ngdc.cncb.ac.cn/>,GSA 编号:CRA013782),分析丝瓜 *TIFY* 基因在丝瓜果实中的表达,基因表达量以 FPKM(fragments per kilobase of exon model per million mapped fragments)值表示,使用 SPSS 17.0 软件进行显著性分析。

1.2.4 丝瓜 RNA 的提取及 cDNA 第一链合成

用 FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit(诺唯赞生物科技股份有限公司)进行丝瓜不同组织中总 RNA 的提取,检测合格后使用 HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit(诺唯赞)将 800 ng 总 RNA 反转录成第一链 cDNA。

1.2.5 丝瓜 *TIFY* 基因克隆与序列分析

基于转录组分析获得丝瓜果实中表达量高的 4

个基因(*LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13*),根据‘P93075’基因组序列设计特异性引物(表 1),以‘S’丝瓜果实 cDNA 为模板,用 Primer-STAR Max DNA Polymerase(Takara)进行 PCR 扩增,反应体系(50 μL)参照说明书,反应程序:98 ℃变性 10 s,55 ℃退火 5 s,72 ℃延伸 10 s,35 个循环。将扩增产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳,目的片段经回收后与 pEASY® -Blunt 克隆载体(北京全式金生物)连接,送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行 1 代测序,获得目的基因序列。从 TAIR 网站下载拟南芥 *TIFY* 蛋白质序列,用 MEGA5.05 的 ClustalW 进行序列比对,邻接法(neighbor-joining,NJ)构建系统发育树,自展值(bootstrap)设为 1 000 次。

1.2.6 基于荧光定量 PCR(qRT-PCR)的 *TIFY* 基因表达分析

用 ChamQ® SYBR qPCR Master Mix (Low ROX Premixed)试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)在 ABI7500 荧光定量 PCR 仪上进行丝瓜 *TIFY* 基因的表达分析,体系和反应程序参见试剂盒说明书。以 *LcUBQ* 作为内参,引物序列见表 1。用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法进行相对定量分析。用 SPSS 17.0 软件进行显著性分析,用 Excel 绘图。

表 1 试验所用引物
Table 1 Primers used in the present study

基因名称 Gene name	上游引物 Forward sequence (5'→3')	下游引物 Reverse sequence (5'→3')	用途 Application
<i>LcTIFY2</i>	ATGTCCACTCCCTCCGGC	CTATAAGTTTAGATCAAATTGGCTTG	基因克隆 Gene cloning
	AGATGAGTTTCCGACGGCTC	ACCAACACTTTTCCGCCGTA	荧光定量 qRT-PCR
<i>LcTIFY7</i>	ATGTCGAGTTCTTCGGGTTTC	CTAATGTTGCGGTTGCACAG	基因克隆 Gene cloning
	AATTTTCCGGCGGACAGAGT	CAGGGGAAGTGGAGCTCAAG	荧光定量 qRT-PCR
<i>LcTIFY11</i>	ATGTCTAGGGCTACTGTCGAGCT	TTAAGTTAGGTGGGGGCAGG	基因克隆 Gene cloning
	TTCCAAGATCAACCCGAGC	GGAAGTCGGCCTGAAGAGAG	荧光定量 qRT-PCR
<i>LcTIFY13</i>	ATGCCGGTTCTTCCCATTTTC	TTATTGATTGTATGGTGAAGCAGACT	基因克隆 Gene cloning
	TGCAACTTGGAGCTTCGTCT	TCCGCAACACAACTCTCCC	荧光定量 qRT-PCR
<i>LcUBQ</i>	TGCTTCGTCTCAGGGGTGG	GTCCTGAATTTTAGCTTTCAC	内参基因 Reference gene

2 结果与分析

2.1 丝瓜 *TIFY* 基因家族成员鉴定与蛋白理化性质分析

研究在丝瓜基因组中共鉴定出 17 个 *TIFY* 基因,根据其染色体定位分别命名为 *LcTIFY1*-*LcTIFY17*,CDS 序列全长为 297~1 353 bp,编码 98~450 个氨基酸,蛋白分子质量为 10.94~47.74 kD,

理论等电点(pI)为 5.02~10.57,不稳定指数为 39.39~82.06,亲水性为(−0.899)~(−0.255),脂肪指数为 57.53~85.16(表 2)。 *LcTIFY* 基因家族所有成员均为亲水性、不稳定蛋白, *LcTIFY6*、*LcTIFY9* 和 *LcTIFY14* 理论等电点在酸性范围,其余成员均在碱性范围。

2.2 丝瓜 *TIFY* 基因的染色体定位

17 个 *TIFY* 基因在‘P93075’丝瓜染色体上的

分布不均匀,1 号染色体上有 5 个,5 号染色体上有 3 个,6 号和 12 号染色体上有 2 个,0,3,4,10,13 号染色体上均有 1 个,而 2,7,8,9,11 号染色体上无 *LcTIFY* 分布(图 1)。

2.3 丝瓜 *TIFY* 基因在果实中的表达分析

用转录组数据分析丝瓜 *TIFY* 基因在果实中

的表达(表 3)发现, *LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 在短果丝瓜‘S’和长果丝瓜‘L’果实中的表达量显著高于其他成员,且在‘L’果实中的表达量显著高于‘S’,推测其可能参与了丝瓜果实的发育。因此,选取上述 4 个基因进行克隆和组织表达分析。

表 2 丝瓜 *TIFY* 家族成员信息
Table 2 The basic data of the *TIFY* family members in *L. cylindrica*

基因名称 Gene name	登录号 Accession number	编码区 Length of CDS/bp	氨基酸数目 Number of amino acids	分子质量 Molecular mass/kD	理论等电点 Theoretical pI	不稳定指数 Instability index	亲水性 GRAVY	脂肪指数 Aliphatic index
<i>LcTIFY1</i>	Lcy00g000330.1	1 143	380	39.62	9.11	48.10	−0.292	67.66
<i>LcTIFY2</i>	Lcy01g000280.1	684	227	24.63	9.18	64.58	−0.616	58.24
<i>LcTIFY3</i>	Lcy01g002670.1	1 008	335	36.92	7.56	56.46	−0.752	64.33
<i>LcTIFY4</i>	Lcy01g010530.1	1 353	450	47.74	9.09	51.15	−0.676	57.53
<i>LcTIFY5</i>	Lcy01g012330.1	897	298	32.39	8.22	48.14	−0.414	69.70
<i>LcTIFY6</i>	Lcy01g012340.1	1 059	352	38.39	5.02	41.86	−0.708	61.73
<i>LcTIFY7</i>	Lcy03g010960.1	699	232	24.57	10.57	72.98	−0.386	63.62
<i>LcTIFY8</i>	Lcy04g023010.1	381	126	14.08	10.11	70.37	−0.693	66.67
<i>LcTIFY9</i>	Lcy05g000180.1	909	302	34.29	6.57	43.10	−0.787	64.90
<i>LcTIFY10</i>	Lcy05g000710.1	861	286	30.89	9.40	56.85	−0.848	58.22
<i>LcTIFY11</i>	Lcy05g008490.1	567	188	20.64	9.45	59.01	−0.380	85.16
<i>LcTIFY12</i>	Lcy06g002410.1	1 101	366	38.91	9.37	50.41	−0.255	76.28
<i>LcTIFY13</i>	Lcy06g009020.1	426	141	16.10	9.56	82.06	−0.899	58.16
<i>LcTIFY14</i>	Lcy10g007670.1	621	206	22.96	5.48	48.58	−0.604	69.13
<i>LcTIFY15</i>	Lcy12g003600.1	297	98	10.94	9.91	56.70	−0.304	75.61
<i>LcTIFY16</i>	Lcy12g016740.1	1 248	415	44.46	7.71	39.39	−0.588	65.57
<i>LcTIFY17</i>	Lcy13g011400.1	1 143	380	39.62	9.11	48.10	−0.292	67.66

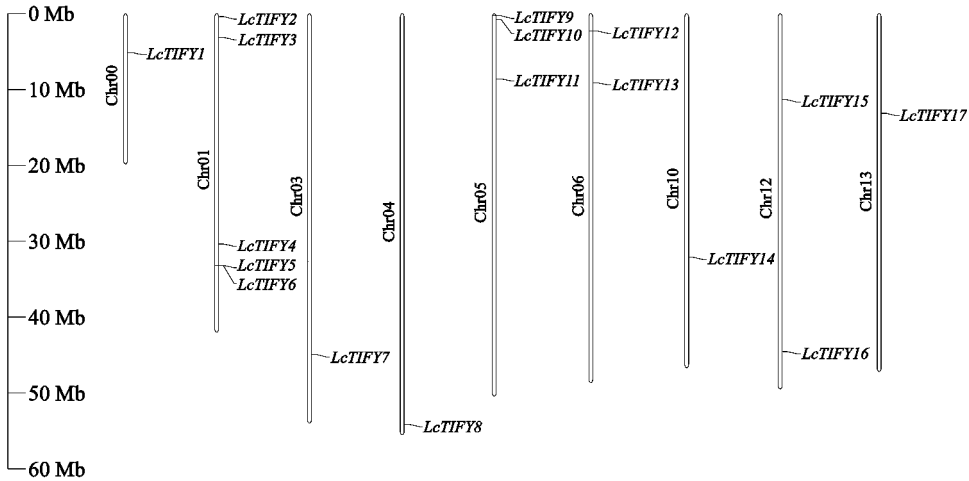


图 1 丝瓜 *TIFY* 基因在染色体上的分布
Fig. 1 The distribution of *TIFY* genes on chromosomes of *L. cylindrica*

表 3 丝瓜 *TIFY* 基因在果实中的表达模式

Table 3 The expression profiles of *L. cylindrica* *TIFY* gens in fruits

基因 Gene	表达量(FPKM) Expression levels		基因 Gene	表达量(FPKM) Expression levels	
	‘S’	‘L’		‘S’	‘L’
<i>LcTIFY1</i>	19.1±10.1a	8.2±2.8a	<i>LcTIFY10</i>	46.9±4.9b	87.1±4.0a
<i>LcTIFY2</i>	111.5±11.8b	241.9±3.2a	<i>LcTIFY11</i>	99.9±14.3b	266.6±10.0a
<i>LcTIFY3</i>	12.4±0.2a	12.7±0.9a	<i>LcTIFY12</i>	15.1±0.7a	15.1±0.8a
<i>LcTIFY4</i>	58.5±1.7a	45.6±1.3b	<i>LcTIFY13</i>	39.6±2.9b	145.6±2.3a
<i>LcTIFY5</i>	18.9±0.1a	17.5±1.4a	<i>LcTIFY14</i>	1.1±0.1a	0.9±0.4a
<i>LcTIFY6</i>	8.5±0.7a	10.8±0.6a	<i>LcTIFY15</i>	0.0±0.0a	0.1±0.1a
<i>LcTIFY7</i>	71.2±1.1b	158.7±2.7a	<i>LcTIFY16</i>	22.2±0.5a	18.2±0.9a
<i>LcTIFY8</i>	31.6±4.0b	51.1±2.4a	<i>LcTIFY17</i>	3.1±0.2a	3.8±0.3a
<i>LcTIFY9</i>	52.1±2.4a	34.4±1.2b			

注:不同小写字母表示基因表达量在‘S’和‘L’丝瓜果实中存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant differences of expression levels between ‘S’ and ‘L’ *L. cylindrica* at $P<0.05$ level.

2.4 丝瓜 *TIFY* 基因克隆

PCR 扩增获得 *LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 的目的条带(图 2),构建载体并测序,分别获得全长 684 bp、699 bp、567 bp 和 426 bp 的序列,且与基因组参考序列一致,分别编码 227, 232,188,141 个氨基酸;基因结构分析表明其分别具有 3,5,6,2 个外显子(图 2,B)。

利用丝瓜和拟南芥的 *TIFY* 蛋白序列构建系统进化树,可将丝瓜 17 个 *TIFY* 蛋白分为 JAZ、PPD、*TIFY* 和 ZML 4 个亚家族,分别含有 11,1,2,3 个成员,研究克隆的 4 个在丝瓜果实高表达的 *TIFY* 基因均为 JAZ 亚家族成员(图 3)。

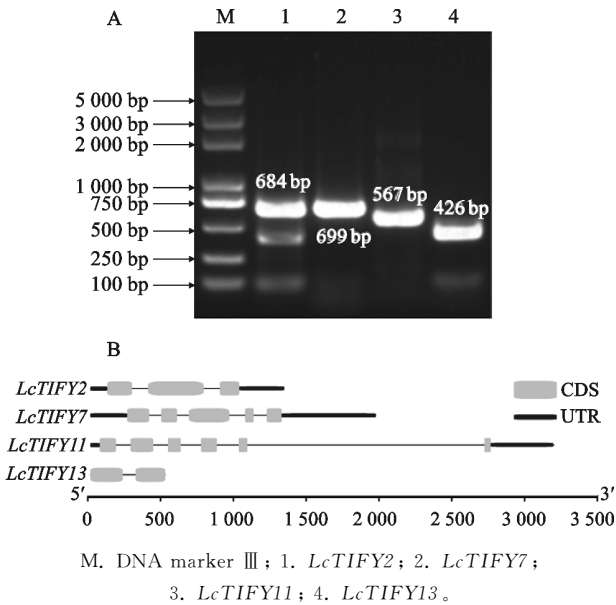


图 2 丝瓜 *TIFY* 基因 PCR 扩增电泳图谱(A)及基因结构(B)
Fig. 2 The electrophoretic map of PCR amplification of *L. cylindrica* *TIFY* gens (A) and gene structures (B)

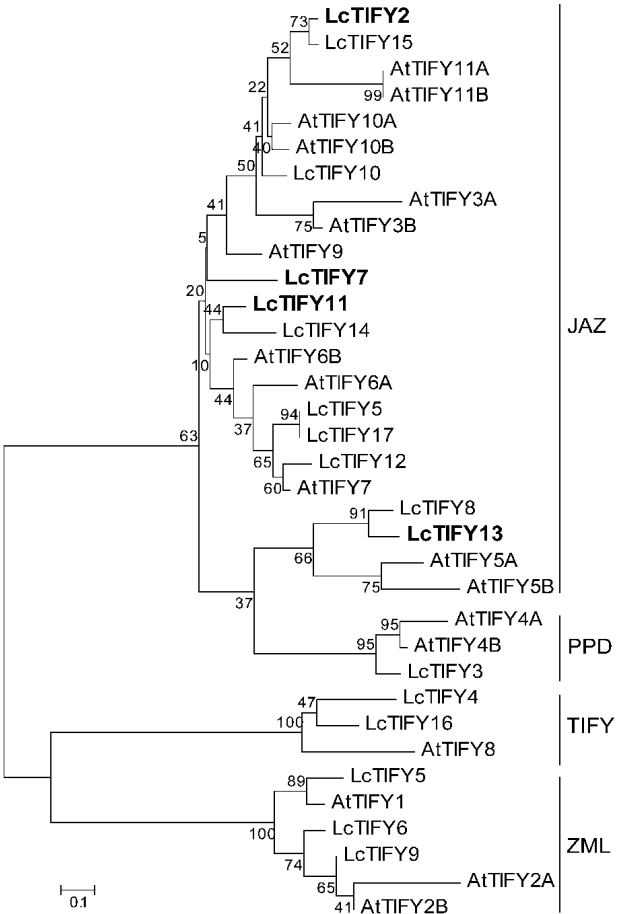


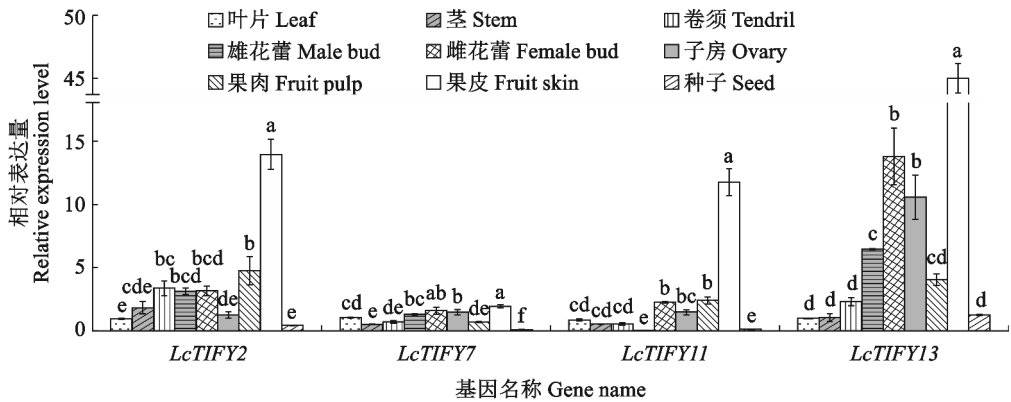
图 3 丝瓜(*Lc*)和拟南芥(*At*)*TIFY* 系统进化树
Fig. 3 Phylogenetic tree for *TIFY* of *L. cylindrica* (*Lc*) and *Arabidopsis thaliana* (*At*)

2.5 丝瓜 *TIFY* 基因的组织表达分析

通过 qRT-PCR 方法检测 *LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 在丝瓜不同组织中的表

达(图 4),发现 4 个基因均在果皮中的表达量最高;*LcTIFY2* 和 *LcTIFY11* 在果肉中的表达量显著高于叶片;*LcTIFY2* 在果肉中也具有较高的表达量,显著高于叶片和子房;*LcTIFY7* 和 *LcTIFY13* 在

生殖器官(雄花蕾、雌花蕾、子房)显著高于营养器官(叶片、茎和卷须);*LcTIFY11* 在雌花蕾和子房中的表达量显著高于雄花蕾。因此,推测 *TIFY* 基因在丝瓜生殖生长和果实发育过程中发挥作用。



不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平存在显著差异。

图 4 qRT-PCR 分析 *TIFY* 基因在丝瓜不同组织中的表达

Different lowercase letters above cloumns indicate significant differences at $P<0.05$ level.

Fig. 4 Expression of *TIFY* genes in various tissues of *L. cylindrica* by qRT-PCR analysis

3 讨 论

TIFY 家族蛋白在植物中广泛分布,在植物生长发育和响应生物和非生物胁迫过程中具有重要作用^[3]。目前已有许多植物的 *TIFY* 家族被鉴定,如拟南芥^[1]、西瓜^[20]、黄瓜^[21]、甘蓝型油菜^[22]、白菜^[22]和甘蓝^[22]基因组中分别有 18, 15, 17, 77, 36, 39 个 *TIFY* 基因。本研究在丝瓜基因组中共鉴定出 17 个 *TIFY* 基因,与同为葫芦科的黄瓜数目相等。丝瓜 *TIFY* 家族成员氨基酸数目为 98(*LcTIFY15*)~450(*LcTIFY4*),与西瓜(118~450 aa)^[20]和黄瓜(80~324 aa)^[21]中的研究结果基本一致。系统进化分析可将丝瓜 17 个 *TIFY* 蛋白分为 JAZ、PPD、*TIFY* 和 ZML 4 个亚家族,其中 JAZ 亚家族成员数目最多,为 11 个,与前人在其他物种中的研究结果^[1,20-22]一致。上述结果表明 *TIFY* 家族在葫芦科作物进化过程中比较保守。

本研究基于转录组分析表明,*LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 在丝瓜果实中的表达量显著高于其他成员,推测其可能在果实发育过程中具有重要功能。前人研究也发现 *TIFY* 基因广泛参与植物器官大小的调控,如拟南芥 *AtTIFY4a* (*PPD1*)和 *AtTIFY4b* (*PPD1*)参与叶片大小的调控^[16];过表达水稻 *OsTIFY11b* 基因增加了茎秆中碳水化合物的积累,进而提高种子的大小^[13];

菊花 *TIFY* 家族蛋白 CmJAZ1-like 负调控菊花花瓣的大小^[14]; *StJAZ1-like* 在马铃薯块茎的形成和膨大过程中具有重要作用^[9]。此外,本研究还发现上述 4 个基因在长果丝瓜‘L’果实中的表达量显著高于短果丝瓜‘S’。前人在蓝莓中的研究发现小果蓝莓幼果 *VcTIFY9s* 和 *VcTIFY10As* 表达水平显著高于大果蓝莓,推测其可能参与了蓝莓果实大小和发育的调控^[15]。葡萄 *VvTIFY10A* 在长圆品种中的表达量显著高于椭圆形品种,而在近圆品种中的表达量最低,其在番茄中异源过表达导致转基因植株果实纵径增加 8.17%,横径减小 16.37%,推测该基因参与葡萄果形的调控^[23]。因此,推测 *LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 基因可能参与了丝瓜果实发育和果形的调控。

对 *LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 基因进行克隆、测序和序列分析,结果表明其均为 JAZ 亚家族成员,分别具有 2, 4, 5, 1 个内含子,与黄瓜 *TIFY* 基因具有 1~9 个内含子的研究结果^[21]一致,表明丝瓜 *TIFY* 家族成员的基因结构多样性。为了进一步明确上述基因在丝瓜不同组织中的表达特性,本研究通过 qRT-PCR 分析了其在丝瓜 9 个组织中的表达,发现 4 个基因均在丝瓜果皮中的表达量最高,推测其可能通过参与调控果皮细胞的分裂和生长进而参与丝瓜果实的发育。据报道,*TIFY* 家族中的 JAZ 蛋白可与多种转录因子及共阻遏蛋

白结合,将茉莉酸和信号通路和其他植物激素信号通路联系起来,进而调节植物的生长发育^[24]。棉花中 *GhJAZ3* 与 *GhSLR1* 的相互作用介导了茉莉酸和赤霉素对表皮细胞分化与伸长的调控^[25]。本研究还发现 *LcTIFY7* 和 *LcTIFY13* 在雄花蕾、雌花蕾和子房中的表达量显著高于营养器官,而 *LcTIFY11* 在雌花蕾和子房中的表达量显著高于雄花蕾,表明上述基因可能在丝瓜的雌、雄生殖器官发育过程中具有特异性功能。前人研究也发现 *TIFY* 家族成员参与植物花器官的发育,如拟南芥 *AtTIFY1(ZIM)*在花和花蕾中高表达^[6],参与花序的发育和开花的调控^[26];异源过表达甘蔗 *ScJAZ2* 使转基因拟南芥提早开花^[27]。植物开花过程和花器官大小受细胞增殖和细胞生长共同决定,Guan 等^[28]研究了蝴蝶兰 13 个 *TIFY* 基因的表达,发现其中 8 个基因在蕾期具有较高的表达量,花开放后表达量逐渐降低,其可能通过调控花蕾中细胞的生长而促

进花开放。因此推测 *LcTIFY7* 和 *LcTIFY13* 可能参与丝瓜花的开放过程。

4 结 论

(1)普通丝瓜基因组中包含 17 个 *TIFY* 基因,可以分为 4 个亚家族,在染色体上的分布不均匀。

(2)基于转录组的表达分析发现 *LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 在丝瓜果实中的表达量显著高于其他成员,对其进行克隆和测序发现分别具有 3,5,6,2 个外显子,均属于 JAZ 亚家族。

(3)基于荧光定量的组织表达分析发现 *LcTIFY2*、*LcTIFY7*、*LcTIFY11* 和 *LcTIFY13* 均在丝瓜果皮中的表达量最高;此外,*LcTIFY7* 和 *LcTIFY13* 在生殖器官中的表达量显著高于营养器官;*LcTIFY11* 在雌花蕾和子房中的表达量显著高于雄花蕾。

参考文献:

- [1] VANHOLME B, GRUNEWALD W, BATEMAN A, *et al.* The tify family previously known as ZIM[J]. *Trends in Plant Science*, 2007, 12(6): 239-244.
- [2] LI G H, MANZOOR M A, CHEN R, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of *TIFY* genes under MeJA, cold and PEG-induced drought stress treatment in *Dendrobium huoshanense*[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2024, 30(4): 527-542.
- [3] 杨锐佳, 张中保, 吴忠义. 植物转录因子 *TIFY* 家族蛋白结构和功能的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(12):121-128.
YANG R J, ZHANG Z B, WU Z Y. Progress of the structural and functional analysis of plant transcription factor *TIFY* protein family[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(12): 121-128.
- [4] HE K R, DU J C, HAN X, *et al.* PHOSPHATE STARVATION RESPONSE1 (PHR1) interacts with JASMONATE ZIM-DOMAIN (JAZ) and MYC2 to modulate phosphate deficiency-induced jasmonate signaling in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2023, 35(6): 2132-2156.
- [5] AN J P, XU R R, LIU X, *et al.* Jasmonate induces biosynthesis of anthocyanin and proanthocyanidin in apple by mediating the JAZ1-TRB1-MYB9 complex[J]. *The Plant Journal*, 2021, 106(5): 1414-1430.
- [6] NISHII A, TAKEMURA M, FUJITA H, *et al.* Characterization of a novel gene encoding a putative single zinc-finger protein, ZIM, expressed during the reproductive phase in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2000, 64(7): 1402-1409.
- [7] JU L, JING Y X, SHI P T, *et al.* JAZ proteins modulate seed germination through interaction with ABI5 in bread wheat and *Arabidopsis* [J]. *New Phytologist*, 2019, 223(1): 246-260.
- [8] ZHANG C, YANG R J, ZHANG T T, *et al.* *ZmTIFY16*, a novel maize *TIFY* transcription factor gene, promotes root growth and development and enhances drought and salt tolerance in *Arabidopsis* and *Zea mays* [J]. *Plant Growth Regulation*, 2023, 100(1): 149-160.
- [9] BEGUM S, JING S L, YU L, *et al.* Modulation of JA signaling reveals the influence of *StJAZ1-like* on tuber initiation and tuber bulking in potato [J]. *The Plant Journal*, 2022, 109(4): 952-964.
- [10] CHEN M, ZHANG W, YAN M, *et al.* Ectopic expression of *Erigeron breviscapus JAZ1* affects JA-induced development processes in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2022, 40(3): 530-538.
- [11] AN J P, WANG X F, ZHANG X W, *et al.* Apple BT2 protein negatively regulates jasmonic acid-triggered leaf senescence by modulating the stability of MYC2 and JAZ2 [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2021, 44(1): 216-233.
- [12] ORTIGOSA A, GIMENEZ-IBANEZ S, LEONHARDT N,

et al. Design of a bacterial speck resistant tomato by CRISPR/Cas9-mediated editing of *SlJAZ2* [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(3): 665-673.

[13] HAKATA M, MURAMATSU M, NAKAMURA H, *et al.* Overexpression of *TIFY* genes promotes plant growth in rice through jasmonate signaling [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2017, 81(5): 906-913.

[14] GUAN Y X, DING L, JIANG J F, *et al.* The TIFY family protein CmJAZ1-like negatively regulates petal size via interaction with the bHLH transcription factor CmBPE2 in *Chrysanthemum morifolium* [J]. *The Plant Journal*, 2022, 112(6): 1489-1506.

[15] YANG L, LIU L M, WANG Z Y, *et al.* Comparative anatomical and transcriptomic insights into *Vaccinium corymbosum* flower bud and fruit throughout development[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1): 289.

[16] BAEKELANDT A, PAUWELS L, WANG Z B, *et al.* *Ara-bidopsis* leaf flatness is regulated by *PPD2* and *NINJA* through repression of *CYCLIN D3* genes[J]. *Plant Physiology*, 2018, 178(1): 217-232.

[17] 王玉倩, 彭丽娟, 刘建汀, 等. 普通丝瓜 *PYL* 基因家族鉴定及其在果实发育中的表达分析[J]. 西北植物学报, 2024, 44(3):408-420.

WANG Y Q, PENG L J, LIU J T, *et al.* Genome-wide identification of the *PYL* gene family in *Luffa cylindrica* and expression analysis in fruit development[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2024, 44(3): 408-420.

[18] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, *et al.* TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.

[19] 刘同金, 徐铭婕, 崔群香, 等. 萝卜乙烯合成途径基因的鉴定及对胁迫的响应[J]. 西北植物学报, 2022, 42(4): 558-568.

LIU T J, XU M J, CUI Q X, *et al.* Identification of genes involved in ethylene biosynthesis in radish and its response to biotic and abiotic stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42(4): 558-568.

[20] YANG Y X, AHAMMED G J, WAN C P, *et al.* Comprehensive analysis of TIFY transcription factors and their expression profiles under jasmonic acid and abiotic stresses in watermelon[J]. *International Journal of Genomics*, 2019; 1-13.

[21] DAI Z N, DONG S Y, MIAO H, *et al.* Genome-wide identification of *TIFY* genes and their response to various pathogen infections in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, 295: 110814.

[22] HE X, KANG Y, LI W Q, *et al.* Genome-wide identification and functional analysis of the *TIFY* gene family in the response to multiple stresses in *Brassica napus* L. [J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 736.

[23] 谢敏. 不同果形葡萄果实转录组分析及 *TIFY10A* 基因功能的初步分析[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2021.

[24] 孙程, 周晓今, 陈茹梅, 等. 植物 JAZ 蛋白的功能概述[J]. 生物技术通报, 2014, 30(6): 1-8.

SUN C, ZHOU X J, CHEN R M, *et al.* Comprehensive overview of JAZ proteins in plants[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2014, 30(6): 1-8.

[25] XIA X C, HU Q Q, LI W, *et al.* Cotton (*Gossypium hirsutum*) *JAZ3* and *SLR1* function in jasmonate and gibberellin mediated epidermal cell differentiation and elongation [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2018, 133(2): 249-262.

[26] LIU H, LI T, WANG Y M, *et al.* TaZIM-A1 negatively regulates flowering time in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2019, 61(3): 359-376.

[27] ZHOU S L, ZHANG J X, JIANG S, *et al.* Genome-wide identification of *JAZ* gene family in sugarcane and function analysis of *ScJAZ1/2* in drought stress response and flowering regulation [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2024, 210: 108577.

[28] GUAN Y X, ZHANG Q Y, LI M H, *et al.* Genome-wide identification and expression pattern analysis of *TIFY* family genes reveal their potential roles in *Phalaenopsis aphrodite* flower opening[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(10): 5422.