

鸡骨草与毛鸡骨草的比较转录组学分析

邱雨, 黄伟斌, 何翠敏, 薛显妹, 袁旭江(广东药科大学新药研发中心, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 广东省教育厅现代中药重点实验室, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 比较鸡骨草和毛鸡骨草转录组信息, 获得两者比较转录组学的差异。**方法** 利用 Illumina HiSeq™ 4000 高通量测序平台对鸡骨草和毛鸡骨草嫩叶样品进行转录组测序; 将基因序列与蛋白库作 blastx 比对, 通过预测编码蛋白框获得编码蛋白和蛋白序列; 使用 blastp 和 OrthoMCL 软件联用法找出物种间的特有基因和同源基因, 开展特有基因 KEGG 和 GO 富集分析、单拷贝同源基因分析。**结果** 鸡骨草和毛鸡骨草分别检测出 18 073、17 189 个特有基因, 同源基因有 37 881 个。特有基因 KEGG 富集分析发现, 鸡骨草的核糖体途径富集基因数量最多且差异最显著, 毛鸡骨草中 ABC 转运蛋白和胞吞作用途径等显著性富集, 植物-病原互作在两个物种间都呈现显著性富集; GO 富集分析中发现, 鸡骨草的胞吞作用调节、囊泡介导的转运调节、核糖体等显著富集, 毛鸡骨草中的微管结合复合物、细胞骨架、细胞膜和蛋白磷酸化作用呈现显著性富集。近缘物种比对分析结果显示鸡骨草和毛鸡骨草的物种亲缘关系极为相近。此外, 鸡骨草和毛鸡骨草分别发现了 2 102、1 794 个简单重复序列(SSR), 两者出现频率最高的串联重复单元都为 AG/CT。**结论** 研究揭示了鸡骨草与毛鸡骨草在转录组学上的异同, 两者具有极为接近的亲缘关系, 而特有基因差异揭示了两者在生物代谢、信号传导、发育和功能等方面又存在不同, 研究结果将为两者在栽培、生物调控和品质等方面的后续研究奠定基础。

关键词: 鸡骨草; 毛鸡骨草; 转录组; 高通量测序

中图分类号: R282.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)06-0853-09

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.06.015

Comparative Transcriptomic Study of *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis*

QIU Yu, HUANG Weibin, HE Cuimin, XUE Xianmei, YUAN Xujiang (Center for Drug Research and Development, Class III Laboratory of Modern Chinese Medicine Preparation, State Administration of Traditional Chinese Medicine of the People's Republic of China, Key Laboratory of Modern Chinese Medicine of Education Department of Guangdong Province, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To compare and analyze the transcriptome information of *Abrus cantoniensis* and *A. mollis*, and obtained the comparative analysis results of transcriptome between them. **Methods** Transcriptomes of tender leaves samples of *A. cantoniensis* and *A. mollis* were sequenced by using Illumina HiSeq™ 4000 platform. The unigenes sequences were compared with the protein library by Blastx, and the coding protein and protein sequences were obtained by predicting the protein coding frames. Blastp combined with OrthoMCL software were used to identify the specific genes and homologous genes in two species. The specific genes were further enriched by KEGG and GO analysis. The single copy homologous genes were analyzed by evolution analysis. **Results** 18 073 and 17 189 specific unigenes were obtained respectively in *A. cantoniensis* and *A. mollis* with 37 881 homologous unigenes. KEGG enrichment analysis of the specific genes showed that the number of ribosomal enrichment genes in *A. cantoniensis* was the largest and most significant, ABC transporter and endocytosis pathway were significantly

收稿日期: 2020-12-21

作者简介: 邱雨, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药质量分析与评价。Email: 978269097@qq.com。通信作者: 袁旭江, 男, 副研究员, 研究方向: 中药新药开发利用与质量研究。Email: xjyuan.xj@163.com。

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2018A030313312)。

enriched in *A. mollis*, and plant pathogen interaction was significantly enriched in both two species. In GO enrichment analysis, it was found that the endocytosis regulation, vesicle mediated transport regulation and ribosome were significantly enriched in *A. cantoniensis*. The microtubule associated complex, cytoskeleton, cell membrane and protein phosphorylation in *A. mollis* were significantly enriched. The comparison results of the two genetically closed species showed that the species similarity of *A. cantoniensis* and *A. mollis* was very high. In addition, 2 102 and 1 794 SSRs were found in *A. cantoniensis* and *A. mollis*, respectively. The most frequent tandem repeats among them were AG/CT. **Conclusion** This study revealed the similarities and differences in transcriptomes between *A. cantoniensis* and *A. mollis*. They have very close genetic relationship, and the specific gene differences revealed the differences in biological metabolism, signal transduction, development and function between them. These results will lay a foundation for the cultivation, biological regulation and quality research of the two species.

Keywords: *Abrus cantoniensis* Hance; *Abrus mollis* Hance; transcriptome; high-throughput sequencing

鸡骨草在我国主产于广东和广西, 是一个重要的南药品种^[1]。据《中国药典》记载, 鸡骨草基源为豆科相思子属植物广州相思子(*Abrus cantoniensis* Hance)^[2]。毛相思子(*A. mollis* Hance)也是鸡骨草的基源之一, 习称毛鸡骨草^[3], 常作为鸡骨草的替代品使用。在外观上, 二者相似但有所区别: 其叶片大小、茎粗细、叶片和茎部覆盖的茸毛疏密程度有所差别^[4]; 两者均含有生物碱、黄酮类、酰胺类和皂苷类等成分^[5-8], 但各成分含量有差异^[9], 可能对药理药效产生影响^[10-13]; 而且毛鸡骨草比鸡骨草生长速度快、产量高^[14]。鉴于这些差异, 利用转录组学分析揭示鸡骨草和毛鸡骨草在分子水平上的异同具有重要意义。有学者用 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶的大亚基基因(*rbcL*)序列开展了鸡骨草 DNA 条形码鉴别研究^[15]。前期本项目组开展了毛鸡骨草及其黄酮类成分在转录组方面的信息分析^[16]。比较转录组学是研究植物转录差异的有效手段^[17-19]。因此, 本研究利用转录组学技术, 在分子生物学水平上开展鸡骨草和毛鸡骨草转录组信息分析比较, 揭示其代谢途径和功能基因差异, 为鸡骨草栽培、生物调控和品质研究奠定基础。

1 材料与仪器

鸡骨草和毛鸡骨草嫩叶均采自广东省广州市大学城, 由广东药科大学中药学院潘利明副教授鉴定分别为豆科相思子植物广州相思子(*Abrus cantoniensis* Hance)和毛相思子(*Abrus mollis* Hance), 两者分别简称为 ACH 和 AMO。液氮(广州市震宇纬欧贸易有限公司); Trizol 试剂(美国 Life technologies 公司); 氯仿、酚、异丙醇、乙醇(广州化学试剂厂)。NEB[®]

7530 试剂盒(美国 New England Biolabs 公司)。Eppendorf concentrator Plus 真空干燥设备、Eppendorf 移液器、Eppendorf 5427R 离心机(德国艾本德股份公司); Nanodrop 2000 微量分光光度计(美国赛默飞世尔科技公司); ETC811 PCR 仪(东胜兴业科学仪器有限公司); 12321D 磁力架(美国生命技术公司); Mix-28⁺ 涡旋振荡器(杭州米欧仪器有限公司)。

2 方法

2.1 高通量测序方法 通过 Trizol 法从鸡骨草和毛鸡骨草嫩叶中提取总 RNA, 用 Oligo(dT)磁珠富集 mRNA, 片段缓冲液将富集的 mRNA 断裂为短片段, 加入随机引物逆转录成 cDNA。加入 DNA 聚合酶 I、RNase H、dNTP 以及缓冲液 buffer 将 cDNA 转化合成第 2 链 cDNA。通过 QiaQuick PCR Extraction Kit 将 cDNA 进行纯化, 再将纯化后的 cDNA 进行末端修复, 添加 poly(A)之后连接到 Illumina 测序适配器中。连接产物通过琼脂糖凝胶电泳筛选其大小, 然后进行 PCR 扩增, 最后通过 Illumina HiSeq[™] 4000 进行转录组测序。测序由基迪奥生物科技有限公司(广州)完成。转录组原始数据已由本项目组上传至 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)的 SRA 数据库(鸡骨草 ID: SRP292456, 毛鸡骨草 ID: SRP075728)。

2.2 转录组数据处理和注释 将鸡骨草和毛鸡骨草的原始测序数据进行 De-novo 测序(从头测序)组装, 获得二者转录组数据, 再通过 Trinity 软件(<http://sourceforge.net/projects/trinityrnaseq/>)组装获得转录组参考序列, 预测其编码蛋白框得到编码序列(coding sequence, CDS)和 phosphoenolpyruvate (PEP)蛋白

序列。

2.3 蛋白家族分析 联用 blastp(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 与 OrthoMCL 软件(<http://orthomcl.org/orthomcl/>) 对两者转录组中各序列间进行比对。Blast 比对结果中 E 值小于 $1e^{-7}$ 的基因认为是物种间的同源基因, 否则为物种的特有基因。

2.4 特有基因 KEGG 和 GO 分析 针对鸡骨草和毛鸡骨草特有基因分别进行 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)和 GO(Gene Ontology)富集分析, 进一步了解特有基因的生物学功能。

2.5 亲缘关系分析 分别选取鸡骨草和毛鸡骨草在类黄酮、萜类、相思子碱合成途径中共有的关键酶基因, 开展两者及其近缘物种亲缘关系分析, 构建系统进化树。

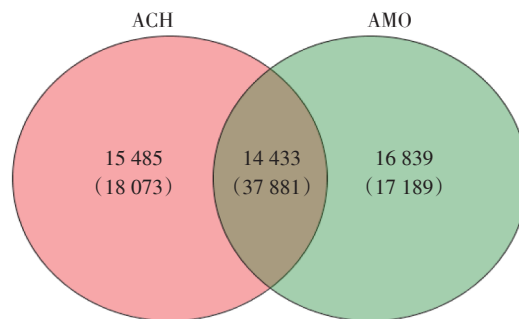
2.6 单拷贝同源基因分析 选取鸡骨草和毛鸡骨草中主要成分合成代谢途径中共有的单拷贝同源基因, 通过 Blast 找出 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库中近缘物种基因序列, 再通过 CLUSTALW 软件进行多序列比对, 使用 MEGA 6.0 软件构建系统进化树并进行分析。单拷贝同源基因采用非同义替换率(K_a)与同义替换率(K_s)的比值(K_a/K_s)来判断是否有选择压力作用于这个蛋白质编码基因, 当基因 $K_a/K_s > 1$ 时受到强烈正向选择, 当 $0.5 < K_a/K_s < 1$ 时受到弱正向选择, 当 $0.1 < K_a/K_s < 0.5$ 时受到中性选择, 当 $K_a/K_s < 0.1$ 时受到负向选择。分析受选择基因受到的选择压力作用, 其次对受到不同选择压力的基因作进一步的 GO/KEGG 富集分析; 最后对单拷贝同源基因进行简单重复序列(SSR)分析, 得到物种间单拷贝同源基因 SSR 信息。

3 结果

3.1 转录组数据分析 鸡骨草和毛鸡骨草分别获得了 57 325 和 53 743 个单基因簇(unigene), N50 分别为 1 945 和 1 455, GC 含量均大于 45%。鸡骨草基因序列长度最长为 16 921, 毛鸡骨草则为 11 948, 两者最短基因长度均为 201。通过序列预测编码蛋白框, 得到了 CDS(鸡骨草: 37 090 条, 毛鸡骨草: 36 053 条)及 PEP 蛋白序列(鸡骨草: 37 090 条, 毛鸡骨草: 36 053 条)。

3.2 蛋白家族分析 鸡骨草特有基因家族有 15 485 个、特有基因有 18 073 个; 毛鸡骨草特有基因家族有 16 839 个、特有基因有 17 189 个; 两者的同源基因有 37 881 个, 归属于 14 433 个基因家族, 见图 1。

3.3 特有基因 KEGG 富集分析 将鸡骨草和毛鸡骨



注: 图中首行数据为基因家族数, 括号内的数据为基因数

图 1 鸡骨草(ACH)和毛鸡骨草(AMO)基因家族的韦恩图

Figure 1 The venn gram of unigene family of *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis*

草的特有基因与 KEGG 数据库进行比对, 结果显示鸡骨草和毛鸡骨草分别有 3 837、3 527 个特有基因得到了 Pathway 注释。再对两者所注释的特有基因进行显著性富集分析, 进一步获得了两者特有基因主要参与的生物代谢途径和信号转导途径信息。从排名前 20 位的 Pathway 富集分析(见图 2)可知, 鸡骨草在核糖体途径(Ribosome pathway)中富集的基因数量最多且差异最明显; 毛鸡骨草富集基因数量最多的代谢途径为次生代谢产物的生物合成途径(Biosynthesis of secondary metabolites), 显著性富集的代谢途径有 ABC 转运蛋白(ABC transporters)、胞吞作用(Endocytosis)以及植物-病原互作(Plant-pathogen interaction)途径。

3.4 特有基因 GO 富集分析 将鸡骨草、毛鸡骨草特有基因与 GO 数据库比对, 从生物过程(biological process)、细胞组分(cellular component)、分子功能(molecular function) 3 个类别对两者之间的特有基因进行富集分析, 结果见图 3。毛鸡骨草在 3 个类别中大部分条目中的特有基因富集数量是鸡骨草的 2~3 倍。将富集分类的各条目进行显著性分析, 计算 P 值及校正后的 P 值, 获得二者在生物过程、细胞组分、分子功能 3 个分类中的显著性富集排名, 结果见表 1。鸡骨草与毛鸡骨草在 3 个类别中呈显著性富集的条目明显不同。

3.5 近缘物种进化分析 从类黄酮途径中选取查尔酮异构酶(CHI 酶)、查尔酮合成酶(CHS 酶)、黄烷酮-3-羟化酶(F3H 酶)和黄烷酮-3'-羟化酶(F3'H)构建进化树(见图 4-A~D), 可知鸡骨草和毛鸡骨草的物种亲缘关系最为接近。从萜类途径中选取 1-脱氧木酮糖-5-磷酸合成酶(DXS 酶)、1-脱氧木酮糖-5-磷酸还原异构酶(DXR 酶)、羟甲基戊二酰辅酶 A 还原

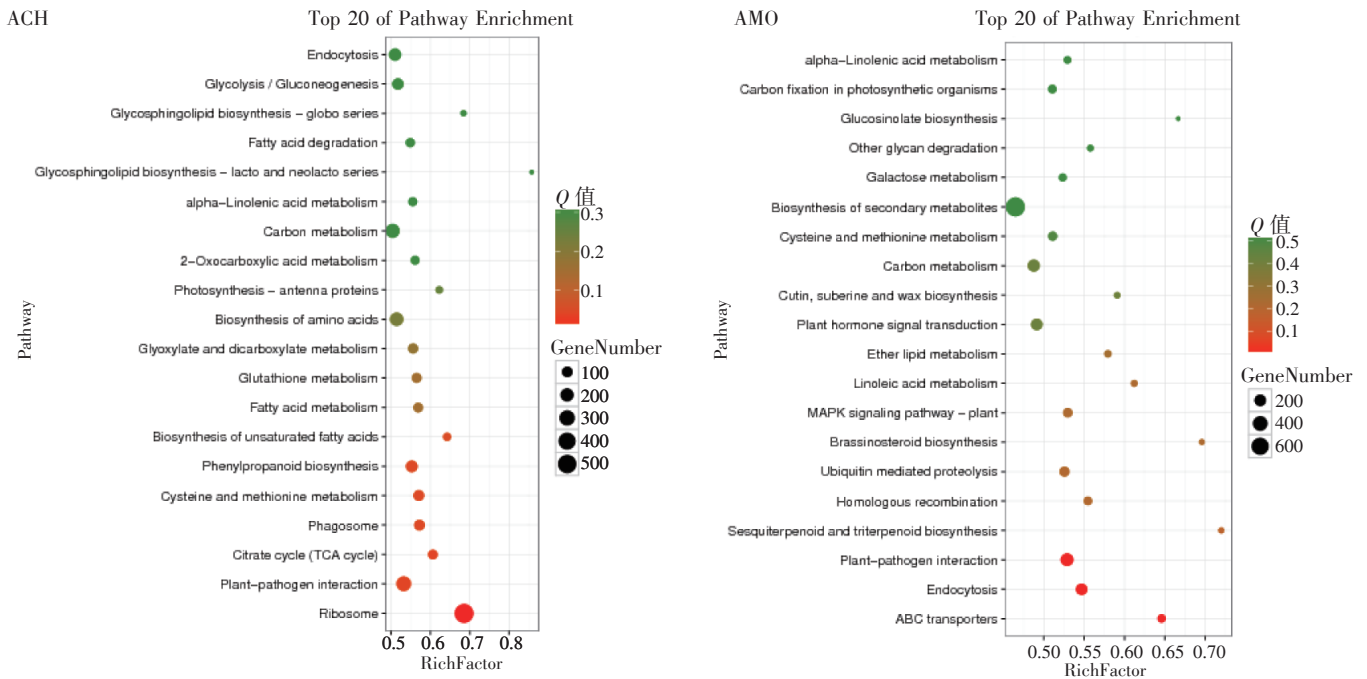
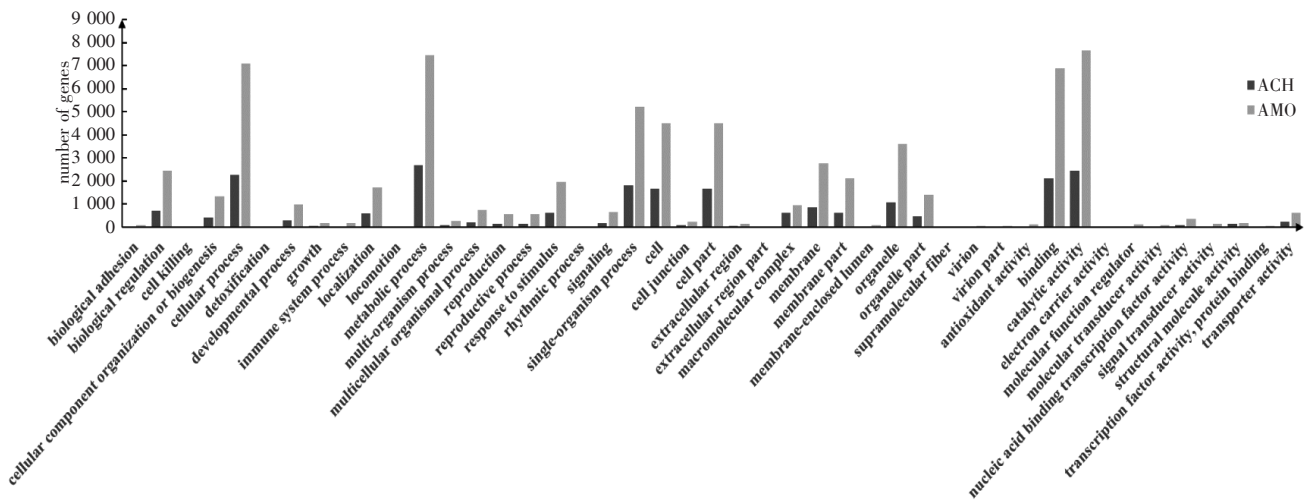


图2 鸡骨草(ACH)和毛鸡骨草(AMO)特有基因 KEGG 显著性富集气泡图

Figure 2 Bubble charts of KEGG enrichment in specific unigenes of *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis*



注: 从左至右, 由 biological adhesion 至 single-organism process 归属于生物过程分类; 由 cell 至 virion part 归属于细胞组分; 由 antioxidant activity 至 transporter activity 归属于分子功能。横坐标代表注释条目, 纵坐标代表鸡骨草和毛鸡骨草各注释条目所归属的基因数量

图3 鸡骨草(ACH)和毛鸡骨草(AMO)特有基因的 GO 分类图

Figure 3 GO classification of specific unigenes in *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis*

酶(HMGCR 酶)构建进化树(见图 4-E~G), 可知除了 DXR 酶基因, 其余各基因进化情况中均显示鸡骨草与毛鸡骨草的亲缘关系最接近。从相思子碱所在的色氨酸合成途径中选取色氨酸合成酶 α 链(trpA)、色氨酸合成酶 β 链(trpB)构建进化树(见图 4-H~I), 结果显示毛鸡骨草的 trpA 基因与相思子遗传距离最接近, 而鸡骨草的 trpB 基因与相思子遗传距离最接近。

3.6 单拷贝同源基因 Ka/Ks 分析 单拷贝同源基因

的 Ka/Ks 结果显示, 在 7 668 个单拷贝同源基因中, 强烈正向选择、弱正向选择、中性选择和负向选择的基因分别有 544、1 887、4 508、729 个, 各类基因散点图见图 5。GO 富集分析显示, 鸡骨草和毛鸡骨草呈现显著性富集的强烈正向选择单拷贝同源基因分别有 67、102 个条目。在细胞组分分类中, 两者共同在质体、细胞内细胞膜结合细胞器、细胞膜结合细胞器、胞内细胞器以及光系统显著富集。在

表 1 鸡骨草和毛鸡骨草特有基因 GO 显著富集分析(前 3 位)
Table 1 The table of GO significant enrichment analysis in specific unigenes of *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis* (TOP 3).

类别	药名	显著性富集条目	P 值	P 值 (adjust)
生物过程	鸡骨草	基因表达	0.000 000	0.000 000
		胞吞作用的调节	0.000 001	0.000 632
		囊泡介导的转运调控	0.000 017	0.005 485
	毛鸡骨草	DNA 代谢过程	0.000 000	0.000 000
		磷酸化作用	0.000 000	0.000 000
		蛋白磷酸化作用	0.000 000	0.000 000
细胞组分	鸡骨草	胞内核糖蛋白复合物	0.000 000	0.000 000
		核糖蛋白复合物	0.000 000	0.000 000
		核糖体	0.000 000	0.000 000
	毛鸡骨草	微管结合复合物	0.000 001	0.000 176
		细胞骨架部分	0.000 003	0.000 336
		细胞膜	0.000 004	0.000 336
分子功能	鸡骨草	结构分子活性	0.000 000	0.000 000
		RNA 糖基化酶活性	0.000 001	0.000 172
		单糖结合活性	0.000 001	0.000 172
	毛鸡骨草	嘌呤核苷结合活性	0.000 000	0.000 000
		核糖核苷结合活性	0.000 000	0.000 000
		嘌呤核糖核苷结合活性	0.000 000	0.000 000

分子功能中,毛鸡骨草的核酸结合转录因子活性在显著性富集中处首位,但鸡骨草无显示;两者的 DNA 结合注释条目都有富集且显著性排名在前列。在生物过程中,显著性富集的条目较多,鸡骨草有 40 个条目,毛鸡骨草有 70 个条目,重复富集的有 26 个。鸡骨草和毛鸡骨草在显著性富集排名靠前的条目有重叠,但有差异。鸡骨草中,对胁迫的反应、核酸代谢过程、器官形态发生的排名在前列,毛鸡骨草中,DNA 修复、细胞芳香族化合物代谢过程、细胞对 DNA 损伤刺激反应的排名在前列。KEGG 富集分析显示,鸡骨草的单拷贝基因显著富集于 4 个 pathway 中,毛鸡骨草则有 3 个 pathway。两者共同显著富集的代谢途径有泛酸和辅酶 A 生物合成途径(ko00770)和真核生物核糖体生物合成途径(ko03008)。此外,鸡骨草在错配修复途径(ko03430)、光合作用途径(ko00195),毛鸡骨草在蛋白质输出途径(ko03060)富集。

3.7 单拷贝同源基因 SSR 分析 SSR 分析结果见表 2。鸡骨草检测出了 2 102 个 SSR,其中二核苷酸重复 SSR 位点数占比最多,为 999 个(47.53%),五核苷酸重复 SSR 位点数占比最少,为 53 个(2.52%);毛鸡骨草检测出了 1 794 个 SSR,其中二核苷酸重复

SSR 位点数占比最多,为 831 个(46.32%),五核苷酸重复 SSR 位点数占比最少为 43 个(2.40%)。SSR 基元分析显示鸡骨草和毛鸡骨草出现频率最高的串联重复单元都为 AG/CT(鸡骨草为 35.8%,毛鸡骨草为 34.4%),各类串联重复单元在总 SSR 中的占比见图 6。

4 讨论

本研究首次开展鸡骨草与毛鸡骨草的生物信息学比对研究,从鸡骨草和毛鸡骨草特有基因 GO 显著性富集分析看,鸡骨草在生物过程中的基因表达、胞吞作用的调节和囊泡介导的转运调控呈现显著性富集,说明除了基因表达的影响外,胞吞作用的调节和囊泡介导的转运调控在鸡骨草的生长发育过程中起到重要作用。同时在细胞组分中,鸡骨草和毛鸡骨草与“大分子复合物”相关的特有基因数量趋势差异明显,这也很可能与其物质转运方式相关。毛鸡骨草在 DNA 代谢过程、磷酸化作用、蛋白磷酸化中显著富集。蛋白质磷酸化是一种蛋白质翻译后修饰的过程,可改变其活性、稳定性和细胞定位,在信号传导和酶活性调控中起到分子开关的作用^[20]。有研究发现蛋白质的磷酸化途径对植物的防御、碳代谢、根部生长、RNA 代谢、花药发育等有着重要作用^[21-22]。因此,可推测蛋白磷酸化对毛鸡骨草生长发育过程中的信息传递起着重要影响。综上,鸡骨草和毛鸡骨草生长发育过程中的差异很可能与其遗传物质的代谢和表达、物质的转运以及信息传递方式相关的特异基因的表达密切联系。

细胞组分中,鸡骨草的特有基因在核糖体、核糖蛋白复合物上显著富集。核糖体是由 rRNA 和核糖体蛋白质组成,具有控制蛋白质生物合成的作用。蛋白质的合成过程是以 mRNA、rRNA 和 tRNA 的相互作用来调节,而核糖体蛋白质可通过改变 rRNA 上功能位点的构象来影响其功能,植物核糖体中的蛋白质种类多样,并且每种蛋白质序列都有所差异,因此植物核糖体具有高度的异质性,同时核糖蛋白表达量和功能上的差异会对一些基因的表达起到调节作用。植物核糖体蛋白可能参与了植物的胚胎、叶片、根的发育过程以及胁迫应答^[23-25],因此与核糖体相关的特有基因对鸡骨草的生长发育具有重要意义。在毛鸡骨草的细胞结构中,与微管结合复合物、细胞骨架成分和细胞膜相关的特有基因呈显著

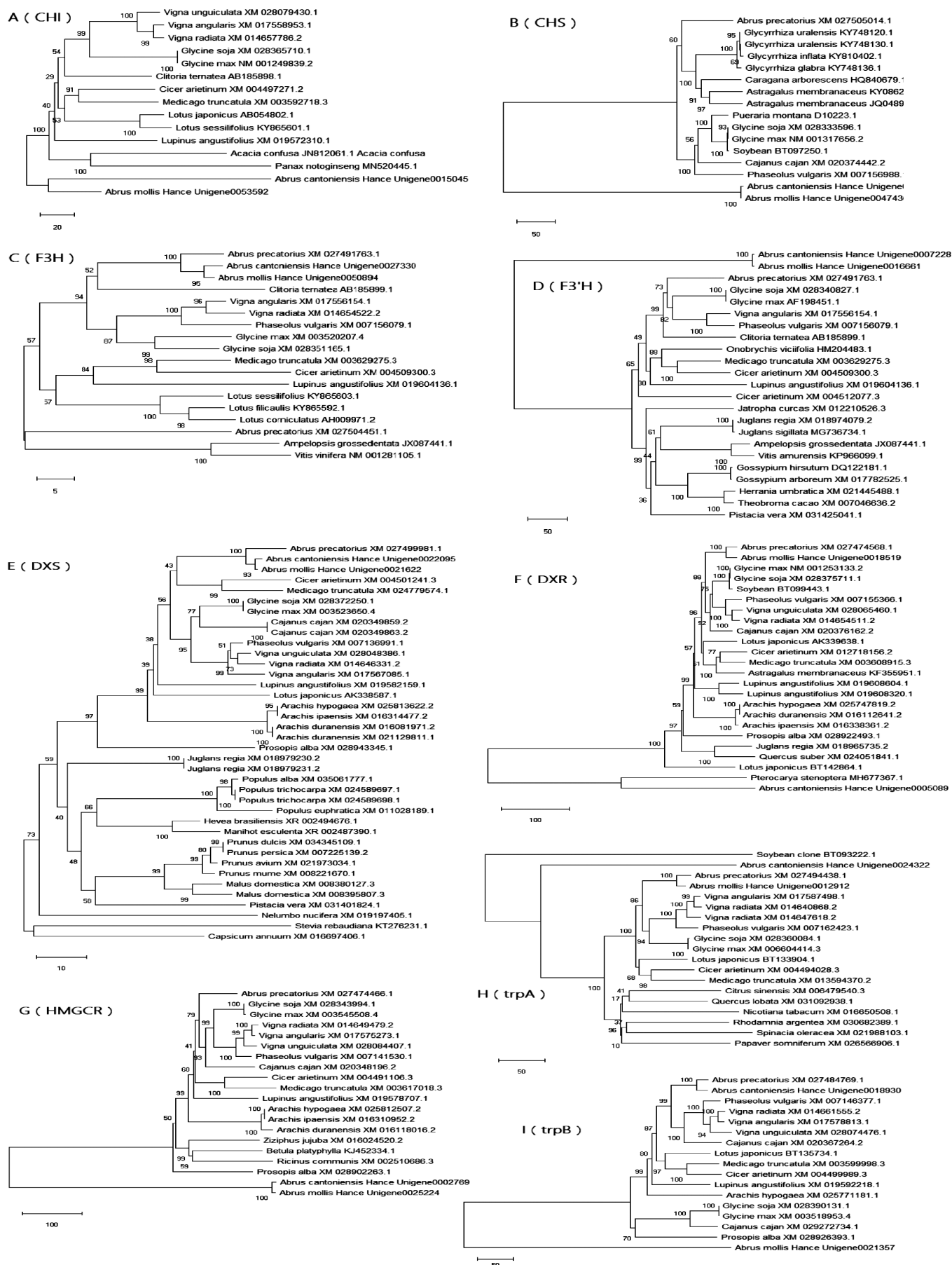
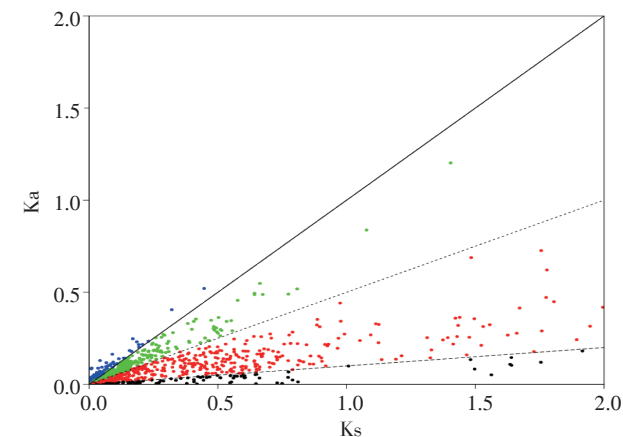


图4 鸡骨草和毛鸡骨草与近缘物种的关键酶基因进化树

Figure 4 The phylogenetic tree of key enzyme unigenes in *Abrus cantoniensis*, *Abrus mollis* and related species.



注：Ks：同义转换率，Ka：非同义转换率。蓝色点代表受到强烈正向选择的基因；绿色点代表受到弱正向选择的基因；红色点代表受到中性选择的基因；黑色点代表受到负向选择的基因

图 5 鸡骨草和毛鸡骨草单拷贝同源基因的 Ka/Ks 散点图
Figure 5 Ka/Ks scatter diagram of single copy homologous unigenes in *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis*

表 2 鸡骨草和毛鸡骨草 SSR 位点统计
Table 2 Characteristics of SSRs in *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis*

项目	数量/个	
	鸡骨草	毛鸡骨草
序列总数	10 958	10 958
序列总长	20 436 661	15 358 920
SSR 位点总数	2 102	1 794
含 SSR 位点的序列数	1 742	1 488
含一个以上 SSR 序列数	287	240
复合型 SSR 位点	148	128
二核苷酸重复 SSR 位点数	999(47.53%)	831(46.32%)
三核苷酸重复 SSR 位点数	796(37.87%)	710(39.58%)
四核苷酸重复 SSR 位点数	138(6.57%)	109(6.08%)
五核苷酸重复 SSR 位点数	53(2.52%)	43(2.40%)
六核苷酸重复 SSR 位点数	116(5.52%)	101(5.63%)

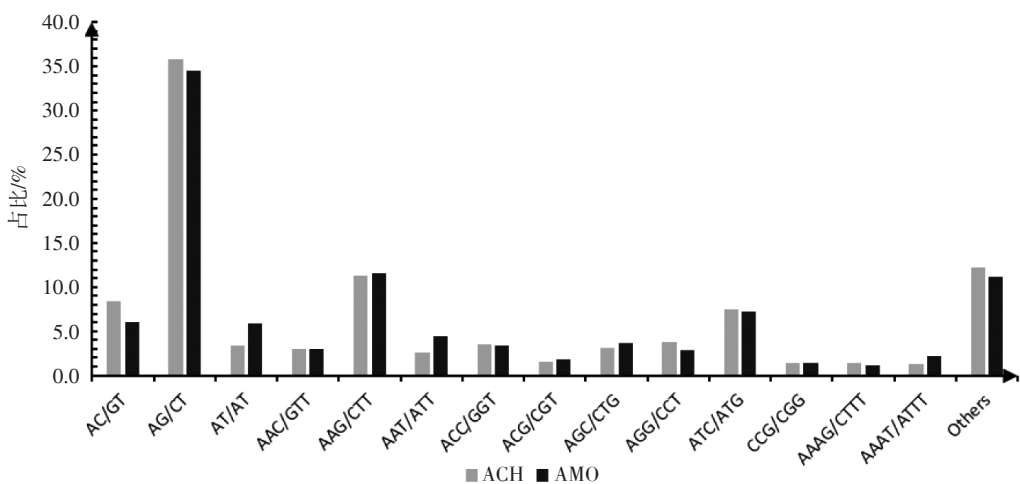


图 6 不同串联重复单元类型的 SSR 在总 SSR 中的占比
Figure 6 Frequency of SSR motifs in total SSRs

富集，这可能是在细胞结构层面构成鸡骨草和毛鸡骨草外观差异的重要原因。

分子功能中，鸡骨草的特有基因在结构分子活性、RNA 糖基化酶活性、单糖结合 3 项显著富集，毛鸡骨草的特有基因中的核糖核苷结合，特别是嘌呤的核糖核苷结合显著富集。有研究表明嘌呤核糖核苷及其类似物在抗病毒、抗肿瘤方面起着重要作用^[26]，这是值得关注的信息点。

在 KEGG 代谢通路分析中，鸡骨草在核糖体途径富集的特有基因数量最多且差异最显著，这与 GO 分类富集中细胞组分的显著性差异结果相同，提示鸡骨草蛋白质合成过程是值得关注的差异点。此

外，鸡骨草还在不饱和脂肪酸的生物合成、苯丙素生物合成、胱氨酸和蛋氨酸代谢、植物-病原互作、吞噬体以及三羧酸循环途径显著富集。其中不饱和脂肪酸的生物合成与苯丙素生物合成两条途径的显著性富集解释了鸡骨草与毛鸡骨草的脂肪酸成分^[27]、黄酮成分^[28-29]的含量差异的原因。

毛鸡骨草的特有基因中 ABC 转运蛋白、植物-病原互作、胞吞作用途径显著富集。ABC 转运蛋白也称三磷酸腺苷结合盒(ATP-binding cassette, ABC)跨膜转运蛋白，可与 ATP 结合释放能量参与底物的跨膜转运，其广泛存在于细胞质膜、液泡膜、线粒体内膜、叶绿体内膜和过氧化物酶体膜^[30]，参与体内

脂质、氨基酸等物质的转运、植物的器官发育、激素运输和次生代谢物的分泌、气孔调节、抵抗环境胁迫、植物对病原体的免疫应答等过程^[31-34]。鸡骨草和毛鸡骨草的植物-病原互作途径都呈现显著富集,植物-病原互作可参与多种反应,胞质 Ca^{2+} 、蛋白激酶、蛋白磷酸脂酶、G 蛋白、磷酸肌醇、环磷腺苷(cAMP)、鸟嘌呤核糖苷(cGMP)、 H_2O_2 、茉莉酸脂等可能是参与反应的信号分子^[35-36]。植物-病原互作过程可影响过氧化酶、苯丙氨酸解氨酶等来影响植物细胞内化学物质合成积累及其反应过程^[37],因此植物-病原互作可能对鸡骨草和毛鸡骨草的化学成分合成与积累有重要影响。有的植物病原菌互作表现出抗病性,病毒的无毒基因产物可与植物抗病基因产物识别结合产生信号分子,通过一系列信号转导使得植物特异性抗病防卫反应基因的表达,表现出抗病性^[38-39]。在上述 GO 富集分类中提到,毛鸡骨草的磷酸化作用、蛋白磷酸化呈显著性富集,而植物-病原互作过程中蛋白磷酸化对植物免疫途径中细胞免疫信号的传递也有重要影响。有的病原微生物的效应蛋白通过蛋白激酶和蛋白磷酸酶来调控植物免疫信号中关键蛋白的磷酸化状态来影响免疫系统;有的效应蛋白模拟植物激素,或利用植物蛋白磷酸酶等免疫负调控因子来增强致病毒力,影响免疫信号的激活,从而提高致病性^[40]。植物中的胞吞作用途径在调节植物生长发育过程中发挥重要作用,它参与调节气孔开闭、根的生长和植物免疫等生理活动^[41]。在鸡骨草生物过程中胞吞作用的调节以及毛鸡骨草代谢通路中的胞吞作用途径都呈现显著性富集,因此,未来在鸡骨草及毛鸡骨草生长发育过程中物质转运方式的研究上,胞吞作用是值得关注的项目。

本研究通过鸡骨草及毛鸡骨草的转录组信息比较分析,对两者在结构、生长发育、成分组成及其含量等方面在分子生物信息学水平上可能产生差异进行了推测。要准确了解基因的具体转录调控过程、程度等方面的信息需要进一步的研究。本研究结果为鸡骨草和毛鸡骨草的植物栽培、代谢调控和生物代谢分子机制等方面研究提供了基础和思路。

参考文献:

- [1] 韩春艳, 孙卫邦, 董青松, 等. 广州相思子种子质量分级标准研究[J]. 种子, 2011, 30(4): 120-122.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 298.
- [3] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准[S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1990: 58.
- [4] 刘传明. 鸡骨草的种类与鉴别[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(11): 767-768.
- [5] 徐柯心, 贾子尧, 王宝丽, 等. 鸡骨草化学成分研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(7): 125-129.
- [6] YUAN X J, LIU Y D, ZHAO H, et al. The isolation, structure and fragmentation characteristics of natural truxillic and truxinic acid derivatives in *Abrus mollis* leaves[J]. Phytochemistry, 2021, 181: 112572.
- [7] YUAN X J, LI L, ZHANG X Q, et al. Abrusamide A and B, two hepatoprotective isomeric compounds from *Abrus mollis* Hance[J]. Phytochemistry Letters, 2014, 7(1): 137-142.
- [8] 孔德鑫, 黄荣韶, 黄庶识, 等. 基于FTIR比较分析鸡骨草与毛鸡骨草的化学组分[J]. 光谱实验室, 2010, 27(2): 512-516.
- [9] 曾琦, 齐元博, 薛锦文, 等. 中药鸡骨草和毛鸡骨草的HPLC指纹图谱研究[J]. 中国民族民间医药, 2014, 23(14): 22-23.
- [10] 孔德鑫, 梁惠凌, 邹蓉, 等. 干旱胁迫对两种鸡骨草活性成分影响比较研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(3): 531-533.
- [11] YANG M, SHEN Q, LI L Q, et al. Phytochemical profiles, antioxidant activities of functional herb *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis*[J]. Food Chemistry, 2015, 177(15): 304-312.
- [12] 周芳, 李爱媛. 鸡骨草与毛鸡骨草抗炎免疫的实验研究[J]. 云南中医中药杂志, 2005, 26(4): 33-35.
- [13] 李爱媛, 周芳, 成彩霞. 鸡骨草与毛鸡骨草对急性肝损伤的保护作用[J]. 云南中医中药杂志, 2006, 27(4): 35-36.
- [14] 刘大强, 黄荣韶, 任志杰, 等. 鸡骨草与毛鸡骨草光合作用日变化的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4): 909-911.
- [15] 魏妮娜, 王晓明, 牛宪立, 等. 不同地区毛鸡骨草与鸡骨草rbcL序列差异分析[J]. 广东农业科学, 2013, 40(17): 137-139.
- [16] YUAN X, LI K, HUO W, et al. De Novo transcriptome sequencing and analysis to identify genes involved in the biosynthesis of flavonoids in *Abrus mollis* leaves[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2018, 65(3): 333-344.
- [17] 钟莎, 尹彦棚, 贺亚男, 等. 2种附子栽培叶型的转录组比较分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(07): 1633-1640.
- [18] 张飞, 王艳秋, 朱凯, 等. 不同耐盐性高粱在盐逆境下的比较转录组分析[J]. 中国农业科学, 2019, 52(22): 4002-4015.
- [19] 鲜小林, 潘远智, 陈睿, 等. 初花期和盛花期的桂花比较转录组分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(03): 1208-1214.
- [20] FUENTE V B S, ANRATHER D, DOHNAL I, et al. Site-specific phosphorylation profiling of Arabidopsis proteins by mass spectrometry and peptide chip analysis[J]. Journal of Proteome Research, 2008, 7(6): 2458-2470.
- [21] BIGEARD J, RAYAPURAM N, PFLIEGER D, et al. Phosphorylation-dependent regulation of plant chromatin and chromatin-associated proteins[J]. Proteomics, 2015, 14(19): 2127-2140.
- [22] ZHANG Z B, HU M H, FENG X B, et al. Proteomes and

- phosphoproteomes of anther and pollen: availability and progress[J]. *Proteomics*, 2017, 17(20): 1–36.
- [23] ARSOVA B, WATT M, USADEL B. Monitoring of plant protein post-translational modifications using targeted proteomics[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9(1168): 1–9.
- [24] KONDRASHOV N, PUSIC A, STUMPF C, et al. Ribosome-mediated specificity in hox mRNA translation and vertebrate tissue patterning[J]. *Cell*, 2011, 145(3): 383–397.
- [25] 靳聪聪, 侯名语, 潘延云. 拟南芥核糖体蛋白生物学功能研究进展[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(2): 203–212.
- [26] 郭晓河, 李玉江, 陶乐, 等. 新型类嘌呤脱氧核糖核苷类化合物的抗乙型肝炎病毒体外活性实验研究[J]. *河南科学*, 2015, 33(6): 911–914.
- [27] 肖晓, 许重远, 杨德俊, 等. 鸡骨草与毛鸡骨草挥发油及脂肪酸成分的比较分析[J]. *药学实践杂志*, 2017, 35(1): 39–42.
- [28] 程瑛琨, 陈勇, 王璐, 等. 正交设计优选鸡骨草总黄酮和总生物碱的提取工艺[J]. *西北药学杂志*, 2007, 22(2): 61–62.
- [29] 袁旭江. 鸡骨草有效成分与质量评价研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.
- [30] 严黎, 张建红, 姜丹, 等. 植物次生代谢物转运蛋白研究进展[J]. *中草药*, 2020, 51(19): 5065–5076.
- [31] GOOSSENS A, SUVI T, LAAKSO I, et al. Secretion of secondary metabolites by ATP-binding cassette transporters in plant cell suspension cultures[J]. *Plant Physiology*, 2003, 131(3): 1161–1164.
- [32] 张小芳, 乔亚科, 王冰冰, 等. 干旱胁迫下野生大豆ABC转运蛋白转录组测序分析[J]. *核农学报*, 2019, 33(8): 1474–1482.
- [33] HIGGINS C F. ABC transporters: from microorganisms to man[J]. *Annual Review of Cell Biology*, 1992, 8: 67–113.
- [34] KANNO Y, HANADA A, CHIBA Y, et al. Identification of an abscisic acid transporter by functional screening using the receptor complex as a sensor[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(24): 9653–9658.
- [35] BOLLER T. Chemoperception of microbial signals in plant cells[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1995, 46: 189–214.
- [36] YANG Y, SHAH J, KLESSIG D F. Signal perception and transduction in plant defense responses[J]. *Genes & Development*, 1997, 11(13): 1621–1639.
- [37] 阙友雄, 宋弦弦, 许莉萍, 等. 植物与病原真菌互作机制研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2009, 20(2): 282–285.
- [38] YURIKO O, KAZUKO Y S, KAZUO S, et al. Sensing the environment: key roles of membrane-localized kinases in plant perception and response to abiotic stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(2): 445.
- [39] 刘雅琼, 侯岁稳. 蛋白磷酸化修饰在植物-病原微生物互作中的作用研究进展[J]. *植物学报*, 2019, 54(2): 168–184.
- [40] MASAOKI Y, NAOTO Y, YOJI T. Elicitors: Their significance and primary modes of action in the induction of plant defense reactions[J]. *Plant & Cell Physiology*, 1993, 34(8): 1163–1173.
- [41] HAMMOND-KOSACK K E, JONES J D G. Plant disease resistance genes[J]. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology*, 1997, 48(1): 575–607.

(编辑: 梁进权)