



马铭浩,张哈,肖英,等.水曲柳 FmMYB 转录因子生物信息学及表达模式分析[J].黑龙江农业科学,2020(7):21-28.

水曲柳 FmMYB 转录因子生物信息学及表达模式分析

马铭浩¹,张 哈¹,肖 英²,刘华领²,周 珊¹,詹亚光¹,曾凡锁¹

(1. 东北林业大学 生命科学学院,黑龙江 哈尔滨 150040;2. 黑龙江省山河屯林业局,黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:MYB 蛋白广泛存在于植物中,参与植物生长发育等多种代谢途径。前期研究获得 2 个 FmMYB 转录因子 cDNA 全长序列(FmMYB2 和 FmMYB20),已上传至 NCBI 并获得登录号(KT261341 和 KT261342)。为揭示 FmMYB 转录因子功能,对这两个 MYB 转录因子的结构特征、生化特性进行分析,利用实时荧光定量 PCR,对 FmMYB2 和 FmMYB20 的时空表达模式以及施加应力后的转录水平进行分析。结果表明:FmMYB 转录因子的时空表达模式有所差异,FmMYB2 基因在 7 月相对表达量最高,约为最低值 5 月的 60 倍;然而在 8 月,FmMYB20 基因的相对表达量最高,约为最低值 5 月的 5 倍;同时在叶、木质部、皮 3 个部位中,FmMYB2 和 FmMYB20 基因在木质部中表达量最高。FmMYB2 与 FmMYB20 基因均对应拉处理有响应,FmMYB20 与木质素合成相关基因 4CL 表达模式相似。研究结果初步说明 FmMYB2 和 FmMYB20 可能参与木质素的合成。

关键词:水曲柳;MYB;时空表达;应拉木;生物信息学分析

转录因子(Transcription Factor,TF)也称反式作用因子,其主要功能是对基因的转录进行激活或抑制^[1]。目前有 58 个 TF 家族,由 165 种植物的 320 370 个成员组成,调控生长发育、胁迫响应、激素诱导等相关基因表达^[2]。MYB 蛋白广泛存在于植物中,参与植物初生和次生代谢反应、细胞形态与模式建成、植物生长发育等各个方面^[3]。MYB 蛋白由高度保守的 MYB DNA 结合结构域定义。MYB 结构域通常由多达 50~53 个氨基酸的 4 个不完整氨基酸序列重复(R)组成,每个重复序列形成 3 个 α -螺旋,每个重复序列的第 3 个螺旋被鉴定为直接与 DNA 接触的 DNA 识别螺旋^[4]。在植物中,MYB 转录因子通常根据位于 N 末端的 MYB 结构域的数量分为 4 种,其中 R2R3-MYB(2R)亚科是植物中数量最多的一类 MYB 蛋白^[5]。许多 MYB 相关基因在不同的生物学过程中扮演着转录调节因子、昼夜节律相关抑制因子和端粒重复结合蛋白等关键角

色^[6-7]。基于 NAC-MYB 的基因调控网络(NAC-MYB-GRN)模型被广泛认为是支撑木质素生物合成的基础^[8]。木质素含量的减少导致木材强度和刚度的降低,木材的发病率增加。因此,对 MYB 转录因子调控木质素合成的研究对本植物至关重要。

在陆地上,为了抵抗断裂或塌陷,本植物因此产生了次生木质部,它提供支撑功能、机械阻力和原始树液传导^[9]。除了正常的生长发育和应对环境因素之外,树木在保持树干垂直性方面表现出了独创性。已经被证明,当干扰发生时,本植物在倾斜的茎或枝的上表面形成应拉木(TW)^[10]。应拉木的木质素含量较正常木材中低^[11]。在杨树中,木材的拉伸处理清楚地表明,机械弯曲 6 h 后,可以减少木质素的沉积^[12]。在胡杨树种中,经过 7 d 的拉伸后,TW 的木质素含量比未经处理的木材低 20%^[13]。

水曲柳(*Fraxinus mandshurica* Rupr.),木犀科,白蜡属,木材纹理美丽,木制优良,是我国东北地区三大硬阔之一,被列为国家二级保护的渐危种^[12]。水曲柳木材总体强度高,抗震力良好,因此,在林业生产上具有重要经济价值。本文以水曲柳为材料,通过前期研究获得 2 个水曲柳

收稿日期:2020-04-06

基金项目:黑龙江省应用技术与开发计划项目(GA19 B201);东北林业大学大学生创新项目(201810225337)。

第一作者:马铭浩(1995-),女,在读硕士,从事林木遗传育种和生物技术研究。E-mail:1658735089@qq.com。

通信作者:曾凡锁(1980-),男,博士,教授,从事林木遗传育种和生物技术研究。E-mail:zengfansuo@126.com。

MYB 转录因子基因,进行生物信息学分析,揭示 2 个转录因子的结构与生物进化的差异。对 Fm-MYB2 与 FmMYB20 的时空表达模式进行分析。同时研究了应拉处理对水曲柳 FmMYB 转录因子表达的影响,进一步探讨应拉处理对木材形成与发育的相关基因表达的影响。明确了 2 个 MYB 转录因子的结构、遗传进化关系及时空表达模式,为完善水曲柳 *FmMYB* 基因功能奠定基础,为其他木本植物的相关研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

在东北林业大学实验林场取材。在 5-9 月选取距地面同样高度的水曲柳枝条上的叶片作为样本,每株随机选取 5 片,共 3 株;在 5 月,同样选取距地面 5 m 左右的多年生枝条,共 3 株,收集剥下的表皮,同时刮取未成熟木质部组织进行收集;水曲柳应拉木处理设样本为对照(CK),应拉受力面(TW),对应面(OW),选取 5 年生水曲柳,进行人工拉弯处理,使 1.0~1.5 m 树干与竖直方向成 45°角,上部与地面平行,倾斜方向全部一致。应拉处理时间分别为 1,3 和 7 d,分别对应拉木和对应木的木质部进行取材,每组处理 3 次重复。全部采集处理妥当之后存于-80 ℃的冰箱中待用。

1.2 生物信息学分析

利用 Protparam 对 FmMYB2 和 FmMYB20 的氨基酸序列的理化性质进行分析。利用 ProtScale 的 Kyte and Doolittle 算法分析 Fm-MYB 蛋白的亲水/疏水性。利用在线分析工具 SignalP 的神经网络算法对 FmMYB 蛋白进行预测并分析 FmMYB 蛋白的信号肽^[14]。利用 TM-Pred 预测和分析 FmMYB 蛋白的跨膜结构^[15]。应用 GOR4 分析 FmMYB 蛋白的二级结构^[16]。利用 NCBI 数据库对 *FmMYB* 基因序列进行同源性比对分析。应用 PRALINE 分析 FmMYB 蛋白与其他物种的蛋白的同源性。利用 MEGA 5.0 软件,应用 Neighbor-Joining 算法构建系统进化树。

1.3 荧光定量 PCR

RNA 的提取以及荧光定量实验方法参照文献^[17]进行操作。引物序列见表 1。利用 $\Delta\Delta C_T$

法处理数据。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物
Table 1 The primers used for real-time quantitative PCR

| 引物名称 Primer name | 引物序列 Primer sequence |
|----------------------------|--------------------------------|
| <i>FmMYB2</i> -sense | 5'-GGGCAAAGATAGAGTACCGAGC-3' |
| <i>FmMYB2</i> -anti-sense | 5'-ATAGTTAATCCAACGAAGACGG-3' |
| <i>FmMYB20</i> -sense | 5'-ACCACCCGTGTGTGAACCAGAT-3' |
| <i>FmMYB20</i> -anti-sense | 5'-TAAGCCTTGCAACCACCTATAT-3' |
| <i>Fm4CL2</i> -sense | 5'-CTAACAATGGCGGAATCAAG-3' |
| <i>Fm4CL2</i> -anti-sense | 5'-GAGAAGGTGAAATTCAGAGTAGGA-3' |
| <i>Fm4CL4</i> -sense | 5'-ATTTTATCTAGACGGGCGCTCA-3' |
| <i>Fm4CL4</i> -anti-sense | 5'-GAGGCGAGAAGCGGCACAT-3' |
| <i>Fm4CL5</i> -sense | 5'-CCAAGAAATCAAAACCCTTTGT-3' |
| <i>Fm4CL5</i> -anti-sense | 5'-CATGGTCTTTCAGGATACTGTGC-3' |
| <i>Fm4CL6</i> -sense | 5'-CCATGGCGGAAGTCAACCAG-3' |
| <i>Fm4CL6</i> -anti-sense | 5'-ACGGCTATCCAGACGTCGGA-3' |
| <i>Fm4CL11</i> -sense | 5'-TGGAGACTAAAGCAATGCAAGA-3' |
| <i>Fm4CL11</i> -anti-sense | 5'-ATCTTGTTAAGCCCGGAAGC-3' |
| <i>Fm4CL12</i> -sense | 5'-CATTGATGGAGACTAAAAGGATG-3' |
| <i>Fm4CL12</i> -anti-sense | 5'-CACCTTGTTGTATGCCAATCTT-3' |

2 结果与分析

2.1 FmMYB2 和 FmMYB20 氨基酸理化性质分析

前期研究克隆了水曲柳转录因子基因 *Fm-MYB2* 和 *FmMYB20* 的开放阅读框 cDNA 序列。其中 *FmMYB2* 全长 1 002 bp,编码 333 个氨基酸;*FmMYB20* 全长 495 bp,编码 164 个氨基酸。*FmMYB2* 蛋白等电点(pI)为 5.09;不稳定系数为 44.97,为不稳定类蛋白;总平均疏水性为 0.789,为疏水性蛋白。*FmMYB20* 蛋白等电点(pI)为 5.03;不稳定系数为 41.88,为不稳定类蛋白;总平均疏水性为 0.718,为疏水性蛋白。

2.2 FmMYB2 和 FmMYB20 蛋白质一级结构分析

2.2.1 亲水区域/疏水区域预测 蛋白质折叠的主要驱动力是蛋白质亲疏水性氨基酸的组成,蛋白质的折叠情况可通过亲水性反映。利用

ProtScale 的 Kyte and Doolittle 算法对 FmMYB2 和 FmMYB20 蛋白进行亲水/疏水性分析(>0.5 的区域为疏水区,<-0.5 的区域为亲水区,介于 0.5~-0.5 主要为两性区域)。结果表明,FmMYB2 蛋白在第 92 位置处疏水性最强(1.978),在 288 的位置具有最强的亲水性(-2.644)(图 1A);FmMYB20 蛋白在第 149 位置处疏水性最强(1.044),在 123 的位置具有最强的亲水性(-2.856)(图 1B)。

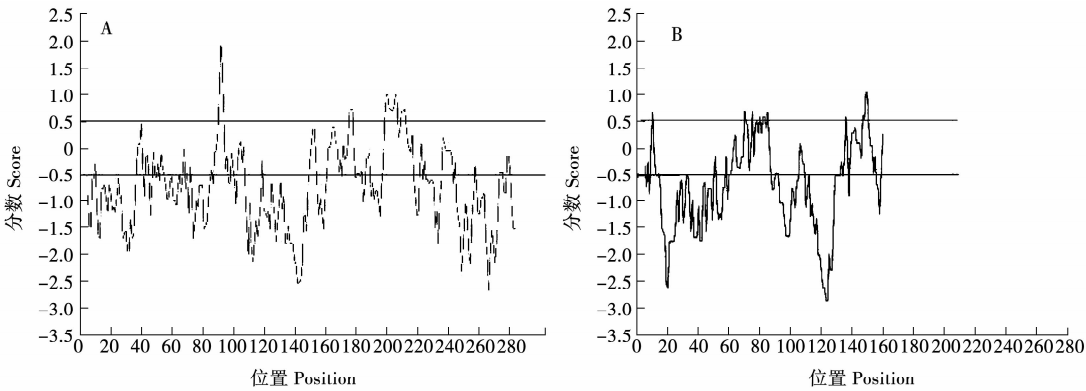


图 1 水曲柳 FmMYB2(A)和 FmMYB20(B)转录因子的亲水/疏水性分析

Fig. 1 Analysis of hydrophilic/hydrophobic FmMYB2(A) and FmMYB20(B) transcription factor in *Fraxinus mandshurica* Rupr.

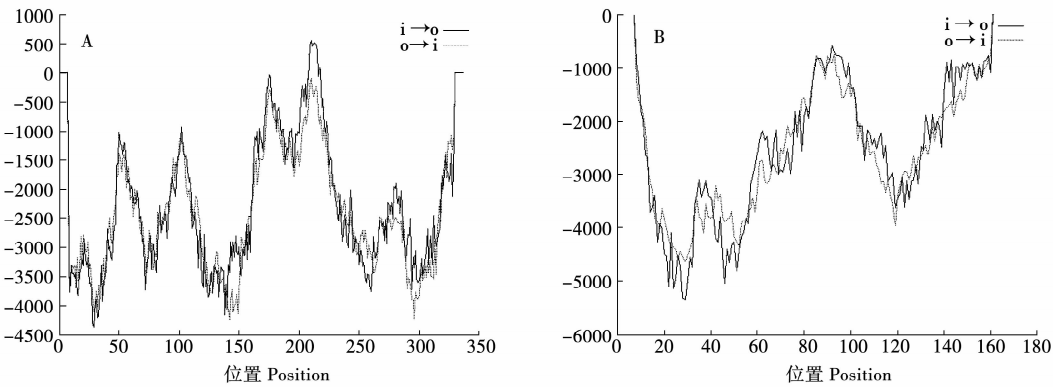


图 2 水曲柳 FmMYB2(A)和 FmMYB20(B)跨膜结构域预测和分析

Fig. 2 Prediction and analysis of FmMYB2(A) and FmMYB20(B) transcription factor transmembrane domain in *Fraxinus mandshurica* Rupr.

2.3 FmMYB2 和 FmMYB20 蛋白质的二级结构预测与分析

应用 GOR4 分析 FmMYB2 和 FmMYB20 蛋白的二级结构。FmMYB2 和 FmMYB20 蛋白都是由 α -螺旋(Alpha helix)、延伸链(Extended strand)、无规则卷曲(Random coil)所组成的,并且分布于整个蛋白。其中 FmMYB2 蛋白由 19.82%的 α -螺旋、60.66%的无规则卷曲和 19.52%延伸链组成(图 3A);FmMYB20 蛋白由

2.2.2 信号肽及跨膜结构域的预测和分析 利用 SignalP 的神经网络算法对 FmMYB2 和 FmMYB20 蛋白进行分析预测,结果表明 FmMYB2 和 FmMYB20 均不存在信号肽。利用 TMPRe 分析 FmMYB2 和 FmMYB20 编码蛋白的跨膜结构。结果表明,FmMYB2 蛋白含有跨膜结构域(图 2A),总分为:562;FmMYB20 蛋白不含有跨膜结构域(图 2B)。

32.32%的 α -螺旋、49.39%的无规则卷曲和 18.29%延伸链组成(图 3B)。

2.4 氨基酸序列比对及系统进化树构建

利用 NCBI 数据库对 FmMYB2 和 FmMYB20 转录因子序列以及推测的编码蛋白进行同源序列比对,结果如表 2 所示。

系统进化树是物种的进化史,通过构建系统进化树可以根据这些物种的祖先描述它们的进化关系。利用 MEGA 5.0 中的 Neighbor-Joining

算法, 自检举 1 000 次, 对 FmMYB2 和 FmMYB20 与其他物种中的 MYB 转录因子进行系统发育进化分析。其中 FmMYB2 与胡杨、毛果杨聚成一类, 其整体与可可、棉花聚成一类, FmMYB2 与胡杨、毛果杨遗传距离较近, 说明有

着较近的亲缘关系。FmMYB20 与拟南芥等聚成一类, 其整体与芜菁、油菜聚成一类, FmMYB20 与拟南芥、芥菜的遗传距离较近, 说明有着较近的亲缘关系(图 4)。

表 2 FmMYB2 和 FmMYB20 转录因子序列与其他物种同源比对
Table 2 FmMYB2 and FmMYB20 transcription factor sequence homology with other species

| 比较对象 | 名称 | 拉丁名 | 登录号 | 比对得分 | 与 FmMYB 蛋白的一致性 |
|-------------------|------|-----------------------------|----------------|-----------------|---------------------------------|
| Comparison object | Name | Latin name | Accession No. | Alignment score | Consistent with FmMYB protein/% |
| FmMYB2 | 胡杨 | <i>Populus euphratica</i> | XP_011025434.1 | 538 | 94 |
| | 毛果杨 | <i>Populus trichocarpa</i> | XP_002299944.2 | 474 | 80 |
| | 可可 | <i>Theobroma cacao</i> | XP_007052536.1 | 398 | 73 |
| | 脐橙 | <i>Citrus sinensis</i> | KDO83397.1 | 357 | 70 |
| | 柑橘 | <i>Citrus clementina</i> | XP_006439122.1 | 347 | 69 |
| | 棉花 | <i>Gossypium raimondii</i> | XP_012475461.1 | 341 | 68 |
| | 芝麻 | <i>Sesamum indicum</i> | XP_011090366.1 | 253 | 83 |
| | 拟南芥 | <i>Arabidopsis thaliana</i> | NP_187463.1 | 278 | 81 |
| FmMYB20 | 拟南芥 | <i>Arabidopsis thaliana</i> | AAC83591.1 | 192 | 99 |
| | 芥蓝 | <i>Camelina sativa</i> | XP_010511551.1 | 138 | 72 |
| | 芥菜 | <i>Capsella rubella</i> | XP_006302662.1 | 126 | 73 |
| | 芜菁 | <i>Brassica rapa</i> | XP_009105194.1 | 97.4 | 57 |
| | 油菜 | <i>Brassica napus</i> | CDY49639.1 | 80.1 | 54 |

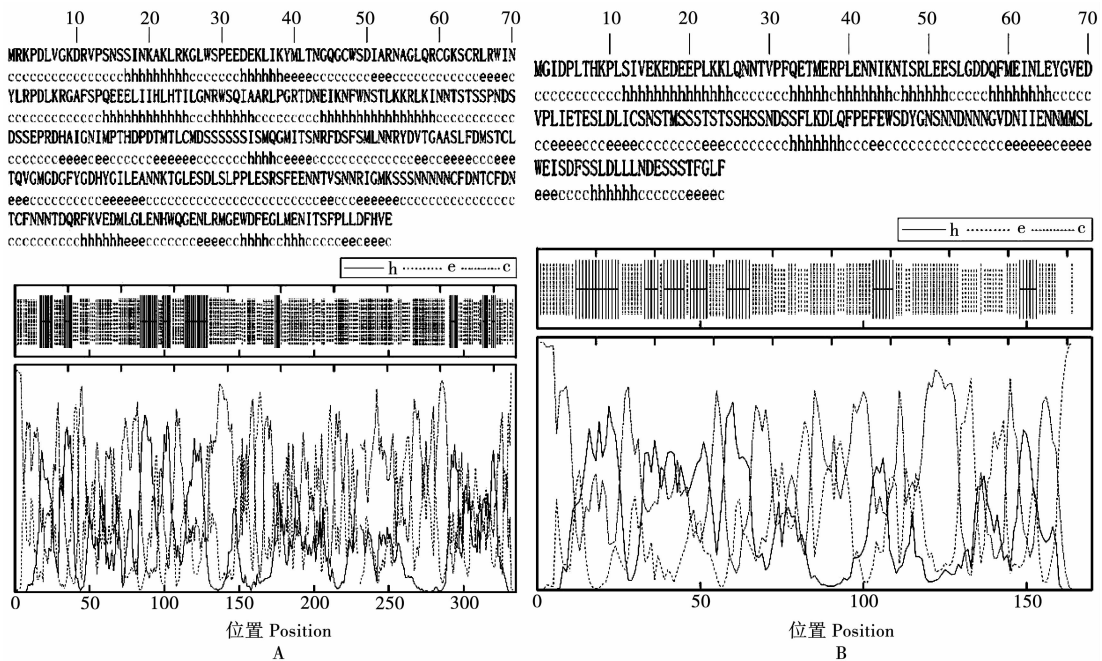


图 3 水曲柳 FmMYB2(A)和 FmMYB20(B)蛋白二级结构预测
Fig. 3 Prediction of secondary structure of FmMYB2(A) and FmMYB20(B) transcription factor in *Fraxinus mandshurica* Rupr.

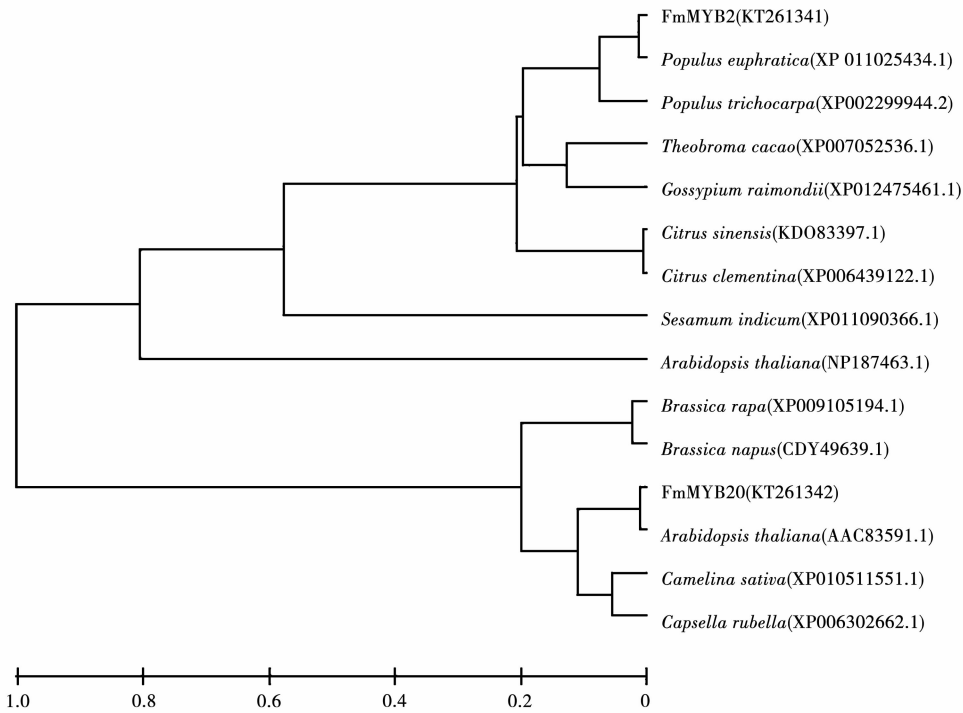


图 4 FmMYB2 和 FmMYB20 转录因子与其他物种的系统发育进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of FmMYB2 and FmMYB20 transcription factor and other species

2.5 水曲柳 FmMYB2 和 FmMYB20 转录因子表达模式分析

2.5.1 时空表达模式分析 以 5 月作为对照,比较不同月份水曲柳叶子的基因相对表达量。结果表明(图 5),FmMYB2 基因在 5 月表达量逐渐升高,7 月达到最大值,其相对表达量为 5 月的 60 倍,随后 8-9 月表达量逐渐降低,但仍高于 5 月;FmMYB20 在 5-7 月表达量基本一致,8 月叶片中的相对表达量最高,为 5 月的 5 倍,9 月稍有降低,为 5 月的 3 倍。对 FmMYB2 和 FmMYB20 转录因子在叶片、木质部和皮 3 个部位的表达模式进行分析,结果表明:FmMYB2 和 FmMYB20 基因表达量最低的部位均是叶片,表达量最高的部位是木质部。其中 FmMYB2 在木质部中的表达量是叶片中的 24 倍,在皮中的表达量是叶片的 5 倍。FmMYB20 在木质部中的表达约为叶片中的 5 倍,在皮中的表达为叶片中的 2 倍(图 6)。这些结果表明,水曲柳 FmMYB 基因具有时空表达特异性。

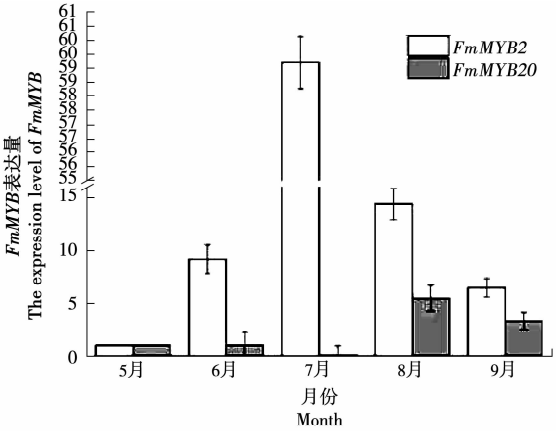


图 5 不同时间水曲柳叶片 FmMYB2 和 FmMYB20 基因表达水平

Fig. 5 The expression level of FmMYB2 and FmMYB20 gene in the leaves of F. mandshurica Rupr. in different time

2.5.2 应拉处理后 FmMYB2 和 FmMYB20 基因的表达水平分析 对水曲柳进行应拉处理,其中 FmMYB2 在第 1 天的 OW 表达量升高,约为对照的 2 倍,而 TW 表达量基本不变,第 7 天时二者表达量均低于对照;FmMYB20 的表达量,

在第 1 天 TW 较高,约为对照的 2.5 倍,第 3 天 *FmMYB20* 的表达量,无论 TW 还是 OW 均有所上升,分别为对照的 7 倍和 4 倍,第 7 天有所下降,但仍高于对照(图 7)。可见 2 个基因表达模式虽不相同,但均对应拉处理有响应,初步说明 *FmMYB* 可能参与细胞壁木质素的合成。

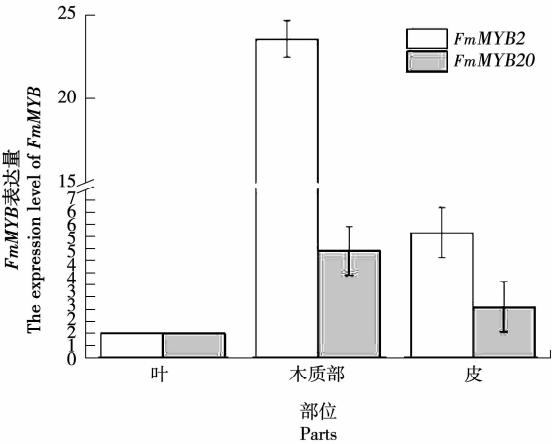


图 6 水曲柳不同生长部位 *FmMYB2* 和 *FmMYB20* 基因表达水平

Fig. 6 The expression level of *FmMYB2* and *FmMYB20* gene in different parts of *F. mandshurica* Rupr.

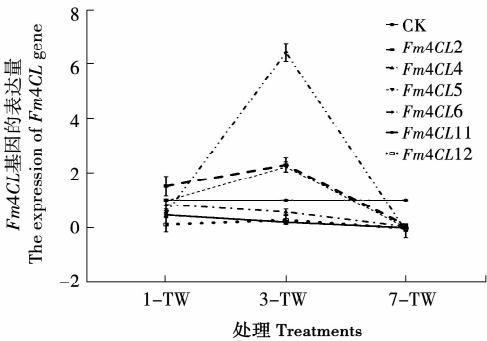


图 8 水曲柳应拉木中 *Fm4CL* 基因表达结果

Fig. 8 The expression level of *Fm4CL* gene in tension wood of *F. mandshurica* Rupr.

3 结论与讨论

Wang 等^[21]研究发现 *PtrMYB152* 的时空表达具有特异性。Hu 等^[22]对红豆杉 *TcMYB* 家族基因表达模式进行分析,发现在不同组织和不同年龄木质部的 *TcMYB* 差异表达。本试验对 *FmMYB* 的时空表达模式进行分析,也证明了

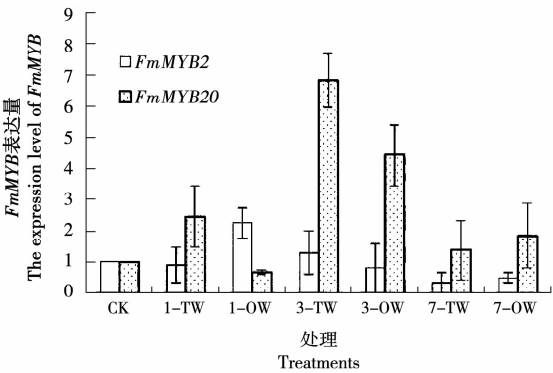
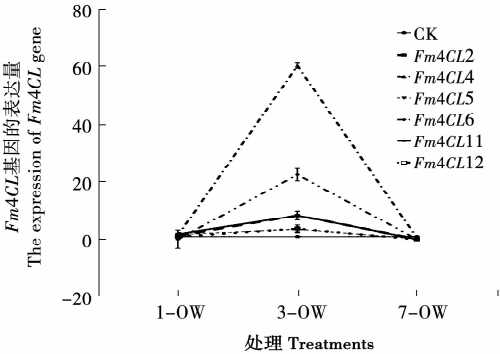


图 7 水曲柳应拉木 *FmMYB2* 和 *FmMYB20* 基因表达水平

Fig. 7 The expression level of *FmMYB2* and *FmMYB20* in tension wood of *F. mandshurica* Rupr.

已有研究表明 MYB 转录因子可以参与木质素形成的过程^[18-20]。因此,本研究对木质素合成的相关基因 4CL 在应拉处理后的表达模式进行了分析。共选取了 6 个水曲柳 *Fm4CL* 基因进行荧光定量 PCR。结果表明(图 8),这 6 个基因均是在应拉处理第 3 天表达量达到最大值,其表达模式的变化趋势与 *FmMYB20* 相似。进一步说明 *FmMYB* 可能参与木质素的合成。



*FmMYB*在时空表达上具有特异性。倪飞等^[23]研究发现,拉弯处理 48 h 和 7 d 时,处理材料中的 *BlMYB2* 的表达量显著低于 CK。这与本研究的结果类似,应拉木中,*FmMYB2* 表达量先升高后下降,在应拉处理 1 d 后,在 OW 的表达量达到最大值,约为对照的 2 倍,而 *FmMYB20* 表达量在

应拉处理 3 d 无论是 TW 还是 OW 的表达量均有所上升,分别为对照的 7 倍和 4 倍。虽然表达模式不同,但均对应拉处理有响应,初步说明 MYB 在细胞壁的生物合成中发挥作用。

在树种中,已经显示出许多 R2R3-MYB 通过调节细胞壁成分在木材形成中发挥潜在作用,例如,在杨树中,*PtrMYB20* 和 *PtrMYB21* 在次级细胞壁生物合成中起重要作用^[22]。在胡杨中,*MYB189* 负调节胡杨次生细胞壁的生物合成。Wang 等^[21]的研究表明,*PtrMYB152* 在次生木质部中的表达约为韧皮部的 18 倍。这与本研究的结果类似,*FmMYB2* 在木质部中的表达量为叶片中的 24 倍,在皮中的表达量是叶片中的 5 倍;*FmMYB20* 在木质部中的表达量约为叶片中的 5 倍,在皮中的表达量为叶片的 2 倍。表明 *Fm-MYB* 可能参与调控细胞次生壁的形成。许多研究表明,MYB 转录因子参与调节木质素的合成。在菊花中,*CmMYB8* 过表达时,许多编码木质素合成成分的基因被下调,植物的木质素含量降低,说明 *CmMYB8* 负调控木质素的形成^[24];在拟南芥中,*MYB20*、*MYB42*、*MYB43* 以及 *MYB85* 基因突变,显著降低了木质素生物合成^[25]。*MYB58* 和 *MYB63* 在拟南芥中被报道为木质素特异性转录激活因子^[26]。这些 MYB 能够直接激活木质素生物合成相关基因,其中包括 *PAL* 和 *4CL* 等。对木质素合成关键酶 *Fm4CL* 基因进行表达模式分析,结果表明,在应拉处理中,*Fm4CL* 表达模式与 *FmMYB20* 相似。进一步说明 *Fm-MYB* 可能参与细胞壁木质素的合成。为进一步研究水曲柳 MYB 家族基因功能奠定基础。

参考文献:

- [1] Sharma R, Upadhyay S, Bhat B, et al. Abiotic stress induced miRNA-TF-gene regulatory network: A structural perspective[J]. Genomics, 2020, 112(1): 412-422.
- [2] Samad A F A, Muhammad S, Nazaruddin N, et al. MicroRNA and transcription factor: Key players in plant regulatory network[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 565.
- [3] Millard P S, Kragelund B B, Burow M. R2R3 MYB transcription factors-functions outside the DNA-binding domain[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 24(10): 934-946.
- [4] Fan Z Q, Ba L J, Shan W, et al. A banana R2R3-MYB transcription factor MaMYB3 is involved in fruit ripening through modulation of starch degradation by repressing starch degradation-related genes and MabHLH6[J]. Plant Journal, 2018, 96: 1191-1205.
- [5] Ma D, Constabel C P. MYB repressors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants[J]. Trends in Plant Science, 2019, 24(3): 275-289.
- [6] Du H A I, Wang Y B, Xie Y I, et al. Genome-wide identification and evolutionary and expression analyses of MYB-related genes in land plants[J]. DNA Research, 2013, 20(5): 437-448.
- [7] Kumari S, Jo J S, Choi H S, et al. Molecular characterization and expression analysis of MYB transcription factors involved in the glucosinolate pathway in Chinese Cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) [J]. Agronomy, 2019, 9(12): 807.
- [8] Clair B, Thibaut B, Sugiyama J. On the detachment of the gelatinous layer in tension wood fiber[J]. Journal of Wood Science, 2005, 51(3): 218-221.
- [9] Decou R, Labrousse P, Béré E, et al. Structural features in tension wood and distribution of wall polymers in the G-layer of in vitro grown poplars[J]. Protoplasma, 2020, 257(1): 13-29.
- [10] 周亮, 刘盛全, 高慧, 等. 欧美杨 107 正常木与应拉木纤维形态和化学组成比较[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(2): 64-70.
- [11] Jin H, Kwon M. Mechanical bending-induced tension wood formation with reduced lignin biosynthesis in *Liriodendron tulipifera* [J]. Journal of Wood Science, 2009, 55(6): 401-408.
- [12] Chen X, Wang H, Li X, et al. Molecular cloning and functional analysis of 4-Coumarate: CoA ligase 4 (4CL-like 1) from *Fraxinus mandshurica* and its role in abiotic stress tolerance and cell wall synthesis[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 231.
- [13] Ohtani M, Demura T. The quest for transcriptional hubs of lignin biosynthesis: Beyond the NAC-MYB-gene regulatory network model[J]. Current opinion in biotechnology, 2019, 56: 82-87.
- [14] Petersen T N, Brunak S, Von Heijne G, et al. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane

- regions[J]. *Nature methods*, 2011, 8(10): 785.
- [15] Hofmann K, Stoffel W. TMbase-A database of membrane spanning proteins segments[J]. *Seyler Biological Chemistry Hoppe-Seyler*, 1993, 374: 166.
- [16] Sen T Z, Jernigan R L, Garnier J, et al. GOR V server for protein secondary structure prediction[J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(11): 2787-2788.
- [17] 周姗, 孙丰坤, 姜涛, 等. 白桦 *BpNOS* 基因的生物信息及表达模式分析[J]. *中草药*, 2015, 46(8): 1203-1208.
- [18] An C, Sheng L, Du X, et al. Overexpression of *CmMYB15* provides chrysanthemum resistance to aphids by regulating the biosynthesis of lignin[J]. *Horticulture Research*, 2019, 6(1): 1-10.
- [19] Xue C, Yao J L, Xue Y S, et al. *PbrMYB169* positively regulates lignification of stone cells in pear fruit[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(6): 1801-1814.
- [20] Chezem W R, Memon A, Li F S, et al. SG2-type R2R3-MYB transcription factor MYB15 controls defense-induced lignification and basal immunity in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(8): 1907-1926.
- [21] Wang S, Li E, Porth I, et al. Regulation of secondary cell wall biosynthesis by poplar R2R3 MYB transcription factor PtrMYB152 in *Arabidopsis* [J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 5054.
- [22] Hu X L, Zhang L S, Wilson I, et al. Taxus chinensis The R2R3-MYB transcription factor family in: Identification, characterization, expression profiling and posttranscriptional regulation analysis[J]. *Peer Journal*, 2020, 8: e8473.
- [23] 倪飞, 励文豪, 林二培, 等. 光皮桦 MYB 基因的克隆及表达和调控分析[J]. *林业科学*, 2018, 54(12): 70-81.
- [24] Jiao B, Zhao X, Lu W, et al. The R2R3 MYB transcription factor MYB189 negatively regulates secondary cell wall biosynthesis in *Populus* [J]. *Tree Physiology*, 2019, 39(7): 1187-1200.
- [25] Zhu L, Guan Y X, Zhang Z H, et al. CmMYB8 encodes an R2R3 MYB transcription factor which represses lignin and flavonoid synthesis in *Chrysanthemum* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 149: 217-224.
- [26] Geng P, Zhang S, Liu J Y, et al. MYB20, MYB42, MYB43, and MYB85 regulate phenylalanine and lignin biosynthesis during secondary cell wall formation[J]. *Plant Physiology*, 2020, 182: 1272-1283.

Bioinformatic and Expression Pattern Analyses of FmMYB Transcription Factor in *Fraxinus mandshurica* Rupr.

MA Ming-hao¹, ZHANG Han¹, XIAO Ying², LIU Hua-ling², ZHOU Shan¹, ZHAN Ya-guang¹, ZENG Fan-suo¹

(1. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; 2. Heilongjiang Shanhetun Forestry Bureau, Harbin 150001, China)

Abstract: MYB protein is widely present in plants and participates in various aspects of plant primary and secondary metabolic reactions. The structure characteristics of MYB transcription factors in *Fraxinus mandshurica* Rupr. were studied. Two full-length FmMYB transcription factor (FmMYB2 and FmMYB20) were obtained, which were uploaded to the NCBI and got the accession number (KT261341 and KT261342). The spatiotemporal expression patterns and the mechanism of response to gravity were revealed. Using bioinformatics software, FmMYB and its encoding protein were analyzed in detail. FmMYB amino acid sequence phylogenetic tree was constructed. The expression pattern of FmMYB transcription factor was detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The results showed that *FmMYB2* was highest in July, about 50 times of May's, while *FmMYB20* gene was highest in August, about 5 times of May's; The expressions of *FmMYB* were highest in xylem. Expression patterns of FmMYB transcription factor were different. These results showed the expressions of FmMYB transcription factor were spatiotemporal specificity. There were differences between the 2 genes in response to gravity treatment, which suggested FmMYB transcription factor might be involved in lignin synthesis.

Keywords: *Fraxinus mandshurica* Rupr.; MYB; temporal and spatial expression; tension wood; bioinformatics analysis