

# 玉米 bZIP 转录因子的生物信息学分析

于 滔<sup>1</sup>, 王成波<sup>1</sup>, 曹士亮<sup>1</sup>, 孙培元<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 玉米研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 齐齐哈尔分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161041)

**摘要:**碱性亮氨酸拉链(Basic leucine zipper, bZIP)转录因子家族是真核生物中分布最为广泛、结构极其保守的家族之一,能够参与多种生物学过程,但有些 bZIP 转录因子的功能还未知。研究采用生物信息学方法,对一个玉米 bZIP 转录因子的理化性质、跨膜结构域、疏水性/亲水性、亚细胞定位及功能域等方面进行了预测和分析。结果表明:该玉米转录因子是一种不稳定的亲水、酸性蛋白,无信号肽序列,无跨膜结构域,亚细胞定位在细胞核上,主要参与信号转导。本研究结果为进一步研究该转录因子功能奠定了基础。

**关键词:**玉米; bZIP; 转录因子; 生物信息学

**中图分类号:**S511 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)04-0001-05 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.04.0001

逆境,尤其是干旱、土壤盐渍化和低温等是植物生长发育的主要环境胁迫因素<sup>[1]</sup>。植物在漫长的进化过程中逐渐形成了一套复杂的分子调控机制,以响应多种逆境胁迫<sup>[2-4]</sup>,这种分子调控网络主要是通过转录因子与相应的顺式作用元件特异性结合,进而启动植物对逆境胁迫的应答反应。转录因子大量存在于植物基因组中,例如在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的全部 27 000 个基因中就有将近 5.9%的基因编码转录因子<sup>[5]</sup>。

碱性亮氨酸拉链(basic leucine zipper motif, bZIP)转录因子家族是真核生物中分布最广泛、结构最保守,研究最多的一类转录因子家族。bZIP 转录因子能够通过与位于 ABA(脱落酸)诱导基因上游启动子区域的 ABRE(ABA-responsive element)应答元件结合参与 ABA 信号转导进而响应植物逆境胁迫<sup>[6-7]</sup>。如拟南芥 AtABI5 转录因子,是 ABA 介导的种子萌发和幼苗生长过程中重要的调控因子,受 ABA、干旱和高盐胁迫诱导而大量表达,对植物抗逆性起关键作用<sup>[8]</sup>。与 AtABI5 相似,水稻(*Oryza sativa* L.) OsABI5 转录因子能抑制种子萌发和萌发后幼苗的生长,可以与 G-box 元件结合从而激活抗逆基因的转录表达<sup>[9]</sup>。大豆(*Glycine max*)中超过 1/3 的 bZIP 基因家族成员参与 ABA、盐、干旱和冷害胁迫响应中的一种或多种的防御反应<sup>[10]</sup>。番

茄(*Lycopersicon esculentum* M.)在遭受低温侵害时,LebZIP1 基因响应胁迫能够被诱导表达<sup>[11]</sup>。毛茛柳(*Tamarix hispida* W.) ThbZIP1 基因的表达受 NaCl、PEG、NaHCO<sub>3</sub> 和 CdCl<sub>2</sub> 胁迫诱导<sup>[12]</sup>。

玉米(*Zea mays* L.)是重要的粮饲作物。然而,干旱、土壤盐渍化和低温等逆境胁迫严重影响了玉米的产量和品质。bZIP 转录因子对植物逆境基因表达调控具有重要作用,迄今为止,其在拟南芥和水稻中的抗逆性研究较为深入,但在玉米中的研究却相对较少<sup>[13-18]</sup>。因此,本研究以玉米为试材,对其中的一个 bZIP 转录因子进行相关的生物信息学分析,为玉米 bZIP 转录因子在逆境胁迫中的功能及玉米抗逆育种奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

玉米 bZIP 转录因子序列登录号为 DAA42014.1,来自于 National Center for Biotechnology Information(NCBI)中 GenBank 数据库。

### 1.2 玉米 bZIP 转录因子的生物信息学分析

选择相应的生物信息学数据库及生物学软件对玉米 bZIP 转录因子进行详细的生物信息学分析:利用 ProtParam 分析理化性质(<http://www.expasy.org/tools/protparam.html>);运行 TM-HMM Server v. 2.0 在线分析软件寻找该玉米 bZIP 转录因子中的跨膜结构域(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>);进入 ProtScale 数据库完成亲水性/疏水性分析(<http://www.expasy.org/tools/protscale.html>);采用 SOPMA

收稿日期:2015-12-15

基金项目:黑龙江省农业科技创新工程资助项目(2012 ZD026)

第一作者简介:于滔(1982-),女,山东省黄县人,博士,助理研究员,从事玉米生物技术的相关研究。E-mail: yutaoweiwei@163.com。

服务器对其二级结构进行预测 ([http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=/NPSA/npsa\\_sopma.html](http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html));使用 PSORT 对该玉米 bZIP 转录因子的亚细胞定位进行预测 (<http://psort.hgc.jp/form.html>);通过 SignalP4.1 预测其可能存在的信号肽位置 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>);利用 NCBI 中的 CD-search 功能搜索该玉米 bZIP 转录因子的保守结构域 ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/docs/cdd\\_search.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/docs/cdd_search.html));操作 NetPhos 2.0 Serve 在线分析工具预测其磷酸化位点 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>);运用 Protfun 2.0 Server 软件分类蛋白质功能 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/ProtFun/>)。

2 结果与分析

2.1 玉米 bZIP 转录因子理化性质预测

采用 Protparam 对玉米 bZIP 转录因子进行基本的理化性质的预测和分析。结果表明:该玉米 bZIP 转录因子分子式为 C<sub>2931</sub>H<sub>4600</sub>N<sub>830</sub>O<sub>942</sub>S<sub>31</sub>, 相对分子质量为 67.531 6 kDa;理论等电点(pI)为 5.93;带负电残基(Asp+Glu)总数为 62,正电残基(Arg+Lys)为 51,为酸性蛋白;亲水性系数为-0.380,说明该蛋白是亲水性蛋白;不稳定系数为 68.17,属于不稳定蛋白,这可能是其功能不明确的原因之一。说明该玉米 bZIP 转录因子为具有一定亲水能力,不稳定的酸性蛋白,其氨基酸组成详见表 1。

由表 1 可知,该玉米 bZIP 转录因子含Ser(S)最多,占 15.4%;其次为 Ala(A),占 10.2%;不含 Pyl(O)、Sec(U)、Asx(B)、Glx(Z)和 Xaa(X)氨基酸。

2.2 玉米 bZIP 转录因子跨膜结构域分析

跨膜结构域是一般由 20 个左右疏水氨基酸残基形成的 α螺旋,它位于细胞膜上起着“锚定”作用。跨膜结构域的分析对于解析蛋白质的结构、功能、分类以及作用部位均有重要的意义。运行 TMHMM Server 分析玉米 bZIP 转录因子中可能存在的跨膜结构域,参数设置为默认值,结果表明该转录因子不存在跨膜结构域,并不进行跨膜转运,属于非跨膜类蛋白,位于膜外区的可能性最大(可能性=1.1)。

表 1 玉米 bZIP 转录因子的氨基酸组成

Table 1 Amino acid compositions of the bZIP in maize

氨基酸类型 Types	类型比例/% Types percentage	氨基酸 Amino acids	氨基酸比例/% Amino acids percentage
疏水氨基酸 Hydrophobic amino acids	42.5	Ala(A)	10.2
		Ile(I)	2.7
		Leu(L)	7.8
		Met(M)	3.6
		Phe(F)	3.1
		Pro(P)	9.1
		Val(V)	4.4
亲水氨基酸 Hydrophilic amino acids	44.3	Trp(W)	1.6
		Asp(D)	3.8
		Cys(C)	1.3
		Glu(E)	6.0
		Gly(G)	7.4
		Ser(S)	15.4
		Thr(T)	5.5
碱性氨基酸 Basic amino acids	8.0	Tyr(Y)	1.1
		Gln(Q)	3.8
		Arg(R)	4.4
酸性氨基酸 Acidic amino acids	9.8	Lys(K)	3.6
		Asp	3.8
		Glu	6.0

2.3 玉米 bZIP 转录因子疏水性/亲水性预测和 分析

蛋白质的疏水性/亲水性预测目的在于通过分析不同肽段的亲/疏水区域,为蛋白的二级结构、结构域及功能域的划分提供理论参考。进入 Protscale 数据库采用 Kyte & Doolittle 算法对玉米 bZIP 转录因子的疏水性/亲水进行预测。结果如图 1 所示,该蛋白的亲水性最高值为-3.500,疏水性最高值为 1.578,且亲水性氨基酸残基均匀的分布在整条肽链上,并明显多于疏水性氨基酸残基,因此推测玉米 bZIP 转录因子是亲水性蛋白质,这一结论与由一级结构分析得出的结果相吻合。

2.4 玉米 bZIP 转录因子的二级结构预测

蛋白质的二级结构是指多肽链借助于氢键排列成有规律的、重复的构象,主要包括有 α-螺旋、



2.7 玉米 bZIP 转录因子保守结构域分析

保守结构域是指在生物进化过程中结构和功能均高度保守的一类结构域。使用 NCBI-CDD 数据库分析该玉米 bZIP 转录因子中的保守结构域。结果如图 4 所示,该转录因子含有一个 bZIP 超级家族(bZIP super family)和 Zein-binding 超

级家族(Zein-binding super family),这些结构域从植物到人类均高度保守(拟南芥、水稻、线虫、斑马鱼),主要参与包括植物生长、花发育、种子成熟、衰老、光信号、损伤、病菌防御以及对各种环境胁迫的响应在内的多种生物学过程。

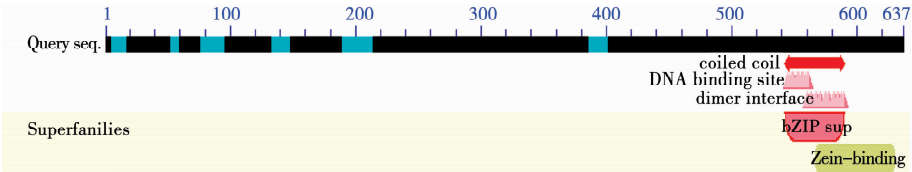


图 4 玉米 bZIP 转录因子的保守结构域预测

Fig. 4 Conserved domains prediction of the bZIP in maize

2.8 玉米 bZIP 转录因子磷酸化位点预测

利用 NetPhos 2.0 预测该玉米 bZIP 转录因子的磷酸化位点,结果如图 5 所示,整条肽链共有 57 个氨基酸磷酸化位点(>0.5),其中有 45 处丝氨酸(Ser)磷酸化位点,在该转录因子中占主导地位,9 处苏氨酸(Thr)磷酸化位点和 3 处酪氨酸(Tyr)磷酸化位点。可以推测,该玉米 bZIP 转录因子可能是通过可逆的磷酸化反应对逆境胁迫进行感知和应答的。

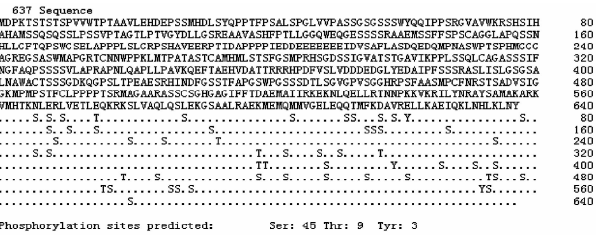


图 5 玉米 bZIP 转录因子的磷酸化位点预测

Fig 5 Phosphorylation sites prediction of the bZIP in maize

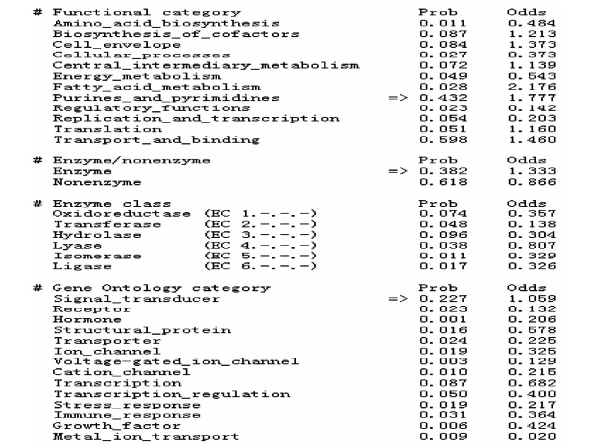


图 6 玉米 bZIP 转录因子功能分类预测

Fig. 6 Function prediction of the bZIP in maize

2.9 玉米 bZIP 转录因子功能分类预测

用 CBS 的 ProtFun 软件预测玉米 bZIP 转录因子的功能,结果如图 6 所示,该转录因子为酶蛋白,具有信号转导功能的概率最高为 0.227,可能参与信号转导(Signal\_transducer),根据酶的分类,很可能属于裂解酶。因此可以做推断:该蛋白是一个与信号转导有关的裂解酶蛋白。

3 结论与讨论

玉米是一种重要的粮饲作物,总产量居全球第一。我国是世界第二大玉米生产国,确保我国玉米生产持续稳定发展事关国家粮食安全战略部署。然而,干旱、高盐和低温等逆境胁迫严重影响了玉米的分布和产量。因此,作为植物中最大、最保守的转录因子之一的 bZIP 转录因子在玉米中的研究就显得尤为重要。

近年来,随着生物信息学的迅猛发展,各种分子生物学数据库提供了大量的核苷酸和氨基酸序列,利用生物信息学方法通过对这些已有的核苷酸和氨基酸序列的数据库进行分析和计算,搜索目标序列独特的结构特征(如保守结构域、功能修饰位点、亚细胞的定位信号等),对目标基因的功能进行初步的预测,已成为发现新基因和预测蛋白质结构最快捷有效的方法。

本研究借助生物信息学工具对一个玉米 bZIP 转录因子进行了从结构组成、基本理化性质、跨膜结构域、亲水性/疏水性、亚细胞定位、信号肽、保守结构域、磷酸化位点以及功能分类等方面进行了预测和分析。结果表明,该转录因子相对分子质量为 67.531 6 kDa,是一种不稳定的酸性亲水蛋白,正是这种不稳定性可能造成其功能尚未明确;信号肽、跨膜结构域、亚细胞定位及保守

结构域分析表明此转录因子中未发现可能的信号肽序列,属于非跨膜类蛋白,极有可能是一种核蛋白,在细胞核上合成后,直接在细胞核上行使功能;功能分类预测其可能参与信号转导,根据酶的分类,推断该蛋白是一个与信号转导有关的裂解酶蛋白。本研究结果为进一步研究该转录因子功能奠定了基础。

#### 参考文献:

- [1] Bartels D, Nelson D E. Approaches to improve stress tolerance using molecular genetics[J]. *Plant Cell and Environment*, 1994, 17: 659-667.
- [2] Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross talk between two stress signaling pathways[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, 3: 217-223.
- [3] Bray E A. Molecular responses to water deficit[J]. *Plant-Physiol*, 1993, 103: 1035-1040.
- [4] Bohnert H J, Nelson D E, Jensen R G. Adaptations to environmental stresses[J]. *The Plant Cell*, 1995, 7: 1099-1111.
- [5] Zhang J Z, Creelman R A, Zhu J K. From laboratory to field. Using information from *Arabidopsis* to engineer salt, cold and drought tolerance in crops[J]. *Plant Physiol*, 2004, 135: 615-621.
- [6] Schütze K, Harter K, Chaban C. Post-translational regulation of plant bZIP factors[J]. *Trends Plant Sci*, 2008, 13: 247-255.
- [7] Nakashima K, Ito Y, Yamaguchi-Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in *Arabidopsis* and grasses [J]. *Plant Physiol*, 2009, 149: 88-95.
- [8] Lopez-Molina L, Mongrand S, Chua N. A postgermination developmental arrest checkpoint is mediated by abscisic acid and requires the ABI5 transcription factor in *Arabidopsis*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 4782-4787.

- [9] Zou M J, Guan Y C, Ren H B, et al. A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance[J]. *Plant Mol Biol*, 2008, 66: 675-683.
- [10] Liao Y, Zou H F, Wei W, et al. Soybean GmbZIP44, GmbZIP62 and GmbZIP78 genes function as negative regulator of ABA signaling and confer salt and freezing tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2008, 228 (2): 225-240.
- [11] Stan Kovic B, Vian A, Henry-Vian C, et al. Molecular cloning and characterization of a tomato cDNA encoding a systemically wound-inducible bZIP DNA binding protein[J]. *Planta*, 2000, 212(1): 60-66.
- [12] Wang Y C, Gao C, Liang Y, et al. A novel bZIP gene from *Tamarix hispida* mediates physiological responses to salt stress in tobacco plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2010, 167(3): 222-230.
- [13] Yang Q, Popova O V, Süthoff U, et al. The *Arabidopsis* basic leucine zipper transcription factor AtbZIP24 regulates complex transcriptional networks involved in abiotic stress resistance[J]. *Gene*, 2009, 436: 45-55.
- [14] Wei K F, Chen J, Wang Y M, et al. Genome-wide analysis of bZIP-encoding genes in maize[J]. *DNA Res*, 2012, 19: 463-476.
- [15] Ying S, Zhang D F, Fu J, et al. Cloning and characterization of a maize bZIP transcription factor, ZmbZIP72, confers drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*[J]. *Planta*, 2012, 235: 253-266.
- [16] Yan F, Deng W, Wang X M, et al. Maize (*Zea mays* L.) homologue of ABA-insensitive (ABI) 5 gene plays a negative regulatory role in abiotic stresses response[J]. *Plant Growth Regul*, 2012, 68: 383-393.
- [17] 王策, 杨艳歌, 吕维涛, 等. 玉米 A 亚族 bZIP 转录因子基因 ZmbZIP81 的克隆、表达与功能分析[J]. *作物学报*, 2014, 40(9): 1549-1556.
- [18] 李横江. 玉米 ZmbZIP 基因的克隆及表达模式分析[J]. *吉林农业科学*, 2014, 39(2): 25-27, 46.

## Bioinformatics Analysis of the bZIP Transcription Factor in Maize

YU Tao<sup>1</sup>, WANG Cheng-bo<sup>1</sup>, CAO Shi-liang<sup>1</sup>, SUN Pei-yuan<sup>2</sup>

(1. Maize Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Qiqihar Branch Academy of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar, Heilongjiang 161041)

**Abstract:** Basic leucine zipper transcription factors are one of the most extensively and conserved transcription factors in the eukaryote proteins and involved in various biological functions, but some of the bZIP transcription factor function is unknown yet. Some characters of a bZIP transcription factor in maize, including the physical and chemical properties, transmembrane domain, hydrophobicity/hydrophilicity, subcellular localization plus the functional domain were analyzed by bioinformatics tools. The results showed that this maize bZIP transcription factor was an unstable hydrophilic acidic protein. It was no signal peptide, no transmembrane domain, located in the nucleus, and involved in signal transduction. The results laid a foundation for further study on the function of this bZIP transcription factor in maize.

**Keywords:** maize; bZIP; transcription factor; bioinformatics