

沙冬青干旱胁迫响应的转录组学特征

数据汇交报告

负责人姓名：苏彦华

项目名称：干旱环境下植物水分利用特征及其适应水分胁迫的分子
机制研究

项目批准号：91125028

依托单位：中国科学院南京土壤研究所

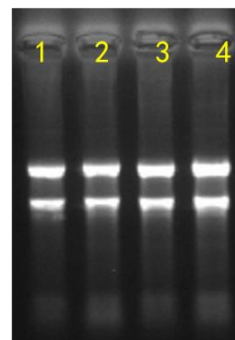
年度工作进展

1、沙冬青 RNA 的提取

由于沙冬青植物含有大量的糖类、酚和单宁等物质，而转录组测序对 RNA 的纯度要求较高，为其 RNA 的提取纯化带来一定难度。通过优化建立沙冬青 RNA 提取体系，对其根部和叶片的 RNA 进行提取纯化，得到的 RNA 完整无降解，达到浓度 ≥ 250 ng/ μ l，总量 ≥ 50 μ g；OD 260/280 介于 1.8-2.2 之间；OD 260/230 值 ≥ 2.0 的要求。

沙冬青RNA质量

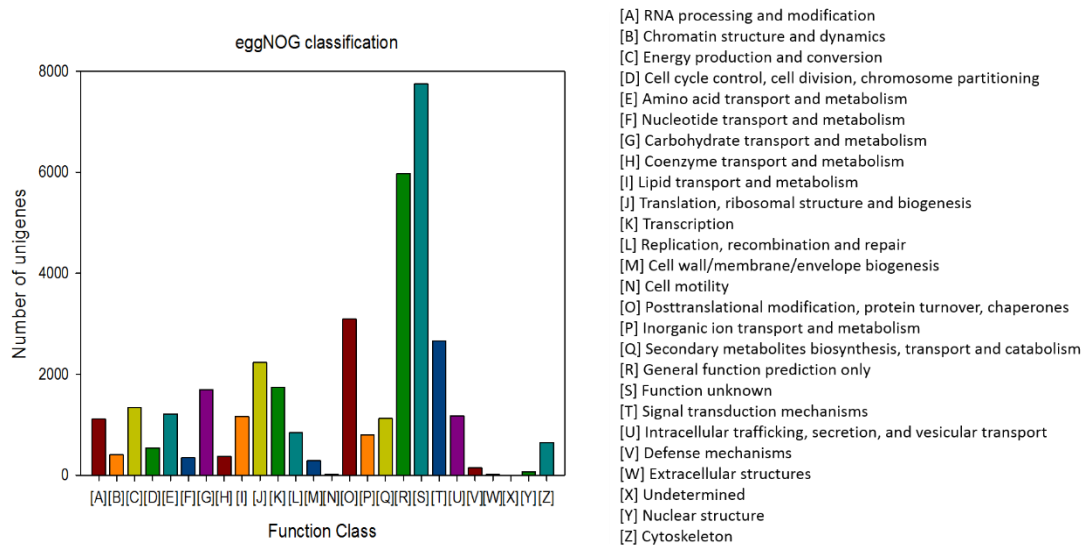
	A260/A230	A260/280	浓度 μ g/ μ l	体积 μ l	总量 μ g
1	2.22	1.89	1.28	50	64
2	2.27	1.88	1.61	55	63.8
3	2.47	1.82	1.77	35	62.2
4	2.44	1.88	1.08	55	59.7



2、测序结果分析

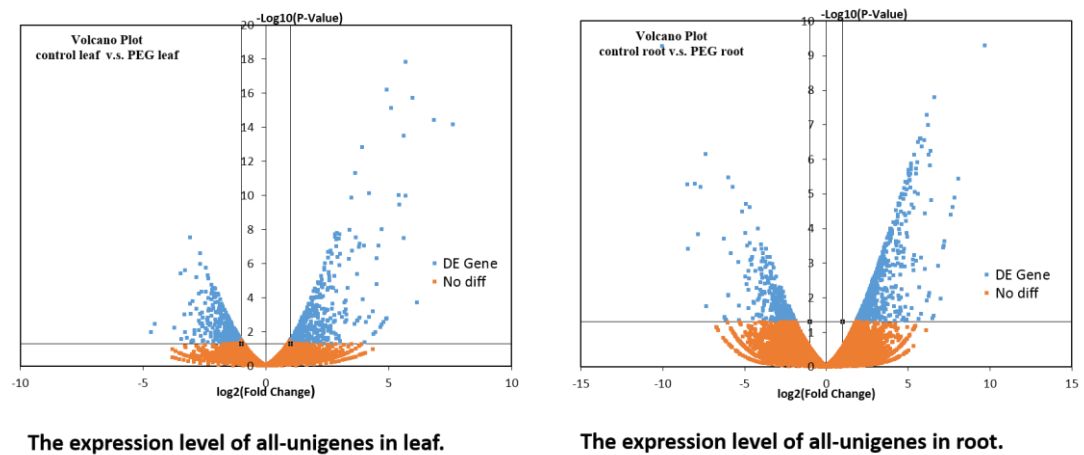
通过 Hiseq2000 对沙冬青叶片和根部进行高通量转录组测序，得到大约 16.6G 的数据，通过拼接比对发现了 **44959** 个 unigene，并对这些 unigene 在数据库中进行比对，对其中的 **43192** 个 unigene 进行功能注释，在转录水平上对沙冬青有了比较完整的认识。

Unigenes在COG数据库比对结果分类



对沙冬青进行干旱处理后，发现在叶片和根中差异表达的基因（表达量上调或下调 2 倍以上）分别有 **1035** 个和 **1210** 个。这些差异表达的基因集中于与物质运输、胁迫响应以及代谢过程，分子结构活性等方面。此外，鉴定出干旱胁迫下差异表达的（专一性）响应基因 40 个。

Distribution of transcript changes in drought stress sample comared with control sample



对这些差异表达的基因进行 KEGG 途径分析，初步明确了干旱胁迫下沙冬青根部的主要代谢途径差异集中表现在碳水化合物代谢途径、氨基酸代谢途径以及能量代谢等途径；叶片部主要表现在核酸代谢、转运以及复制与修复途径。

KEGG enrichment analysis (p value<0.05)

leaf

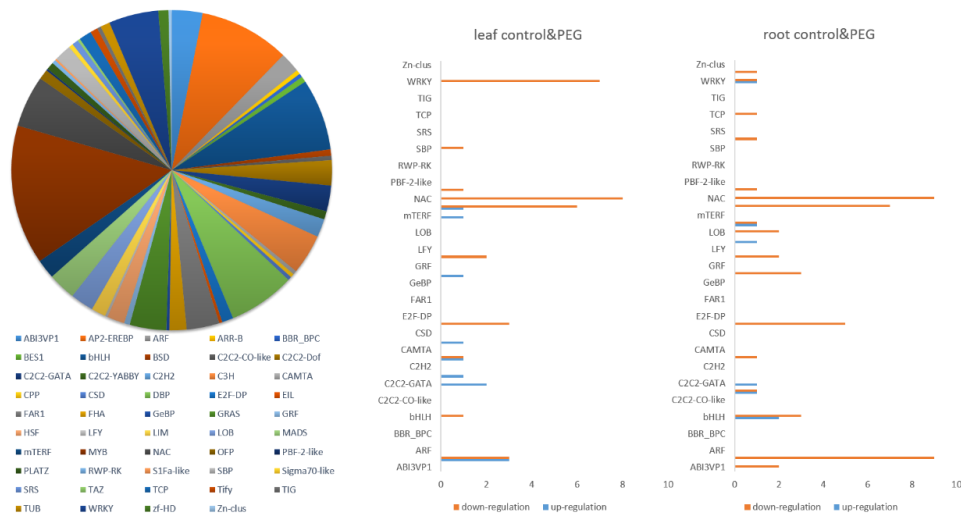
Pathway	Genome	DE Gene	P-value
Nucleotide Metabolism	449	24	3.48E-05
Metabolism of Terpenoids and Polyketides	193	15	1.64E-05
Translation	1708	56	0.000686
Replication and Repair	448	32	2.25E-09
Cell Growth and Death	728	36	2.34E-06

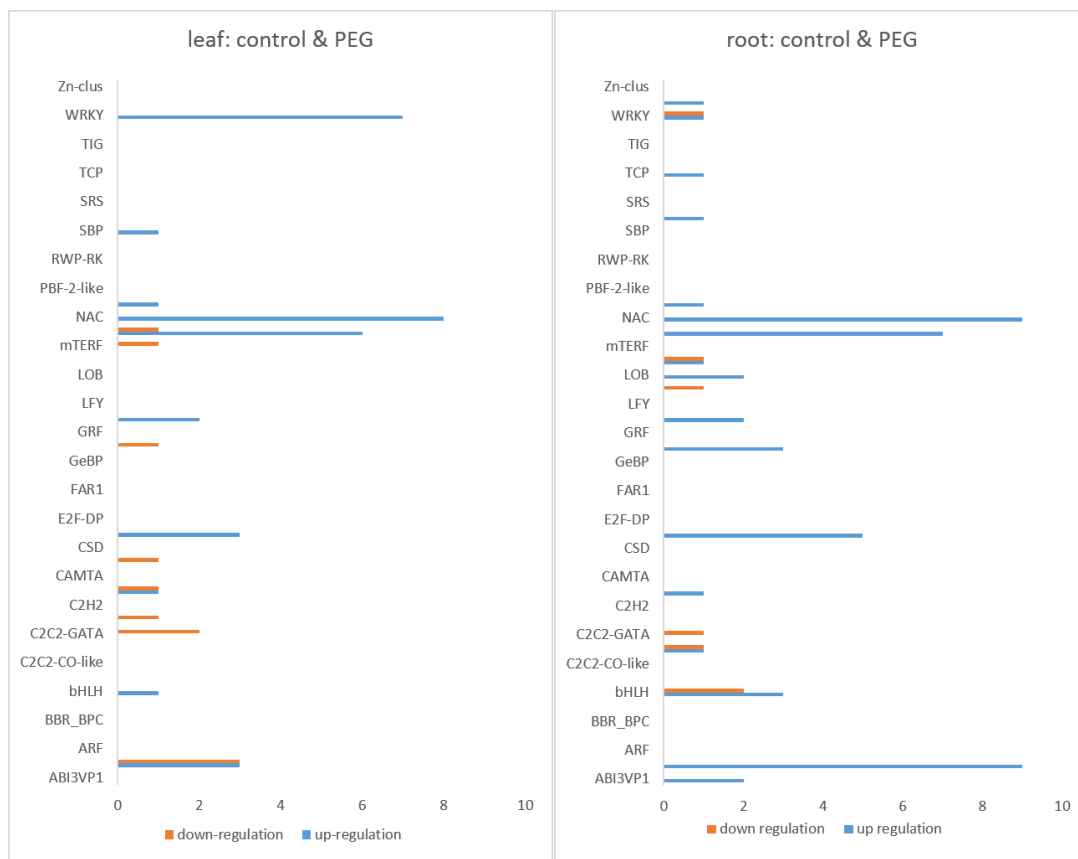
root

Pathway	Genome	DE Gene	P-value
Carbohydrate Metabolism	1729	62	3.35E-03
Energy Metabolism	961	34	3.16E-02
Lipid Metabolism	626	24	2.97E-02
Amino Acid Metabolism	1011	45	1.80E-04
Metabolism of Other Amino Acids	334	22	4.70E-05
Metabolism of Terpenoids and Polyketides	193	13	1.33E-03
Biosynthesis of Other Secondary Metabolites	258	20	1.02E-05
Xenobiotics Biodegradation and Metabolism	274	13	2.30E-02

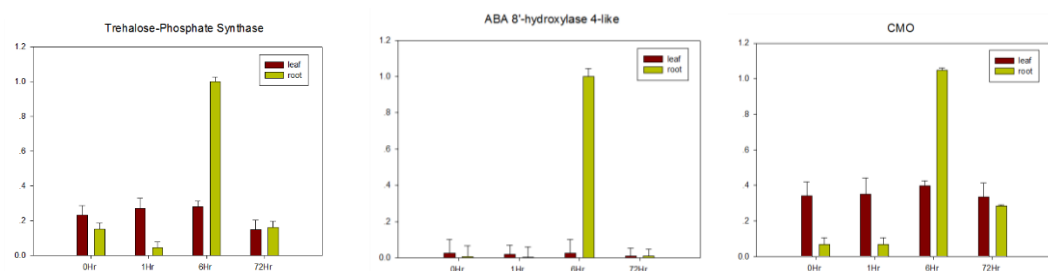
通过对沙冬青转录因子的分析，发现了沙冬青包含 50 个转录因子家族，1575 个转录因子。沙冬青在干旱胁迫后，叶片中 **50 个** 转录因子表达量上升，**7 个** 下降；在根中有 33 上升，11 个下降。

转录因子分析结果





在此基础上，选择转录组测序中显著差异表达的关键基因，通过实时定量 PCR 证明了沙冬青根系中 ABA 8'-hydroxylase 4-like、 α -betaine 合成酶胆碱单氧化酶 CMO 和海藻糖-6-磷酸合成酶（TPS）在干旱胁迫下表达丰度上升 10—几十倍，从而很可能在沙冬青适应水分胁迫过程中发挥重要作用。



除此之外，通过转录组的测序结果对沙冬青简单重复序列进行了统计分析，为后续研究其多态性提供有效数据支撑。

Frequency of SSRs in *A.Mongolicus*

Motif	Repeat Numbers							Total (%)	
Length	5	6	7	8	9	10	>10		
Mono-	-	-	-	-	-	2182	3945	6127	44.21%
Di-	-	975	653	598	536	455	186	3403	24.55%
Tri-	2010	1246	617	44	-	-	-	3917	28.26%
Tetra-	317	47	-	-	-	-	-	364	2.63%
Penta-	48	-	-	-	-	-	-	48	0.35%
Total	2375	2268	1270	642	536	2637	4131	13859	

Frequency of di- and tri-nucleotide in SSR repeats motifs in *A.Mongolicus*

Repeat Motif	Repeat Numbers					Total (%)	
	5	6	7	8	>8		
AC/GT	-	178	119	69	162	528	3.81%
AG/CT	-	589	402	428	731	2150	15.51%
AT/AT	-	205	132	101	284	722	5.21%
CG/CG	-	3	-	-	-	3	0.02%
AAC/GTT	258	188	81	4	-	531	3.83%
AAG/CTT	495	387	164	5	-	1051	7.58%
AAT/ATT	212	172	122	4	-	510	3.68%
ACC/GGT	175	97	35	5	-	312	2.25%
ACG/CGT	35	13	4	1	-	53	0.38%
ACT/AGT	59	34	27	7	-	127	0.92%
AGC/CTG	178	79	61	6	-	324	2.34%
AGG/CCT	209	92	36	5	-	342	2.47%
ATC/ATG	297	148	80	5	-	530	3.82%
CCG/CGG	92	36	7	2	-	137	0.99%
Total	2010	2221	1270	642	1177	7320	
(%)	14.50%	16.03%	9.16%	4.63%	8.49%		52.82%

以下为创建元数据所需信息：

标题

中文： 干旱环境下植物水分利用特征及其适应水分胁迫的分子机制研究

——沙冬青的干旱胁迫响应的转录组学特征

摘要：

通过 Hiseq2000 对沙冬青叶片和根系进行高通量转录组测序,发现了 **44959** 个 unigene。并通过数据库比对，对其中的 **43192** 个 unigene 进行功能注释。发现干旱处理下，在叶片和根中差异表达的基因（表达量上调或下调 2 倍以上）分别有 **1035** 个和 **1210** 个。这些差异表达的基因集中于与物质运输、胁迫响应以及代谢过程，分子结构活性等方面。鉴定出干旱胁迫

胁迫下差异表达的（专一性）响应基因 40 个。通过对沙冬青转录因子的分析，还发现沙冬青包含 50 个转录因子家族，1575 个转录因子。在叶片中 7 个转录因子表达量上升，50 个下降；在根中有 11 个上升，33 个下降。

关键词：荒漠植物；沙冬青；转录组测序

主题：干旱环境下植物水分利用特征及其适应水分胁迫的分子机制研究

地点：黑河流域

时间：2013 年1 月-12 月

学科：生物；植物抗性生理；转录组学