

BpEBP1 转录因子调控白桦抗旱的分子机制

孙士林, 王玉成*

(沈阳农业大学林学院辽宁省林木遗传育种与培育重点实验室, 沈阳 110866)

摘要: AP2/ERF 基因家族是独属于植物的一大基因家族, 不但参与植物生长发育过程, 而且响应生物胁迫与非生物胁迫反应, 对植物生理生化调节起到重要的作用。本研究通过白桦层级干旱调控网络, 针对最上层的隶属于 ERF 家族成员基因 *BpEBP1* 展开研究, 主要结果如下: (1) 干旱胁迫下, 我们发现 *BpEBP1* 表达量上调表达, 且主要在根中受到诱导; (2) 通过对 *BpEBP1* 过表达株系、野生型和 *bpebp1* 基因敲除株系进行干旱胁迫处理, 发现过表达 *BpEBP1* 使白桦抗旱能力得到增强, 而敲除 *BpEBP1* 则出现干旱敏感表型。另外, 通过生理指标的测定结果发现 *BpEBP1* 能够减少细胞受损伤程度, 从而提高过表达 *BpEBP1* 基因白桦耐旱能力; (3) 对干旱胁迫下的转基因植株进行 RNA-Seq 和 ChIP-Seq 联合分析后发现: 干旱条件下, *BpEBP1* 调控苯丙烷类和类黄酮相关基因的表达, 并通过与 PUM 和 RRM 元件直接结合的方式, 直接调控了 4 个苯丙烷类和类黄酮相关基因的表达量, 最终影响了木质素和花青素含量的积累; (4) 通过 Co-IP 结合 LC-MS/MS 对 *BpEBP1* 体内互作蛋白进行鉴定, 共鉴定到 37 个互作蛋白, 其中丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 EDR1 可以与 *BpEBP1* 发生互作, 通过体外 Y2H 同样证明了 *BpEBP1* 与蛋白激酶 EDR1 间的互作关系; (5) 结合体内体外实验, 我们发现在干旱胁迫条件下 *BpEBP1* 存在磷酸化修饰响应, 且响应位点为 *BpEBP1* 第 148 位丝氨酸位点; 且该磷酸化响应是由 EDR1 激酶介导完成的 (6) 通过 Chip-qPCR 和 GUS/LUC 酶活实验发现 *BpEBP1*^{T148A} 稳转株系内花青素和木质素显著降低, 其对直接调控的下游基因的调控作用减弱, 降低了 *BpEBP1*^{T148A} 稳转株系对干旱胁迫的耐受性。本实验为揭示 *BpEBP1* 基因耐旱调控途径提供了基础, 为白桦遗传改良提供了理论参考, 为在易干旱的土地中扩大栽植培育出的耐旱白桦以创造更大的价值。