

剪接因子 *PagSCL28a* 介导的可变剪接对杨树木材发育的调控机制研究

袁雪宁 卢孟柱 张进*

(省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江农林大学, 浙江杭州, 311300)

摘要:【目的】选择性剪接 (Alternative splicing, AS) 是调控真核生物基因表达的重要机制, 可增强转录组和蛋白质组的多样性。参与 AS 的剪接因子 SR 基因家族在多种植物生长发育过程中发挥重要作用。明确 *PagSCL28a* 在选择性剪接和次生长信号转导过程的分子机制, 为杨树分子育种提供基因资源并为材性改良奠定基础。【方法】通过基因表达数据库分析杨树 *SCL28a* 的组织表达量, 对带有 GUS 标签的转基因植株进行化学染色分析其在不同组织中的表达模式。构建 *35S::PagSCL28a-GFP* 融合表达蛋白载体, 以观察该基因编码蛋白的亚细胞定位情况。并创制 CRISPR/Cas9 基因编辑突变体和过表达转基因植株, 确定不同表达水平 *SCL28a* 对杨树次生组织发育的影响。最后通过全长转录组测序对可变剪接进行差异分析以及多种实验验证与 *SCL28a* 互作的蛋白以明确其作用机制。【结果】通过对不同组织中的表达情况分析, 初步判断 *PagSCL28a* 在杨树茎段不同节间中的第 5、9 节间表达量较高, 根和第 1 节间的表达量较低。亚细胞定位显示 *SCL28a* 定位在细胞核中。并通过 CRISPR/Cas9 进行基因组编辑, 过表达则将基因构建在有 35S 强启动子的载体 pMDC32 上, 遗传转化后获得基因过量表达和基因敲除的转基因‘84K’杨。再通过表型分析、茎组织切片分析和生理指标的测定等, 进行基因功能分析, 目前 *PagSCL28a* 过表达株系有株高变矮、木质部减少、茎段直径变窄、茎段长度变短、幼嫩节间变红的趋势。敲除株系表型则表现为株高增加、木质部加宽加厚。酵母双杂交筛选得到的与 *SCL28a* 互作蛋白 SND2, 目前已通过 BiFC 验证。未来期望通过多种蛋白互作验证实验进行进一步确定, 并利用全长转录组分子将得到的转基因系进行可变剪接差异和基因表达的联合分析, 来共同解析 *SCL28a* 通过介导的剪接作用机制参与杨树次生生长的生物学过程。【结论】本研究以验证 *PagSCL28a* 基因对次生生长的影响机制及信号传递过程, 深入了解剪接因子的功能和作用机制, 可以揭示其对木材品质形成的精准调控机制。

关键词: *PagSCL28a*, 可变剪接, 木材发育