

# BBR/BPC转录因子BPC<sub>2</sub>在调控植株生长过程中的作用

赵海艳<sup>1</sup> 万淑媛<sup>1</sup> 黄燕妮<sup>1</sup> 李小强<sup>1</sup> 焦田甜<sup>1</sup> 李明军<sup>1\*</sup>

(1.西北农林科技大学林学院, 陕西省咸阳市杨陵区 712100)

**摘要:** 株高是重要的农艺性状, 对作物产量有显著影响。以矮秆或半矮秆作物为基础的“绿色革命”证实了作物株高的重要性。控制株高的主要途径是阻断植物激素赤霉素(giberellin, GA)的生物效应。最近的研究证实, 其他植物激素也在调节植物结构的发育中发挥重要作用, 作为调控植物生长发育的经典植物激素, 生长素在刺激细胞迅速扩增以及长期持续生长中具有重要作用。然而, 生长素调控植物结构的机制尚不清楚。我们在苹果中发现了 BARLEY B RECOMBINANT/BASIC PENTACYSTEINE (BBR/BPC) 家族中的一个转录因子 MdBPC<sub>2</sub>, 该转录因子在矮化砧木中高表达, 为此, 本论文基于 RNA-Seq 和 DAP-seq 分析鉴定并验证了在苹果中 MdBPC<sub>2</sub> 调控生长素生物合成基因的表达, 证明其在致矮中的机理和功能, 探索了其参与植物生长过程中生长素合成的关系, 解析了其参与苹果致矮的分子调控机制, 主要研究结果如下:

1. MdBPC<sub>2</sub> 作为转录抑制因子负向调控生长素的积累。利用生物信息学方法从苹果基因组鉴定了 6 个 MdBPC。I 类 BPC 转录因子 MdBPC<sub>2</sub> 在苹果矮化砧木中高表达。酵母中转录自激活活性与转录功能分析证实其是一个转录抑制因子。为进一步探明其功能, 获得了 *MdBPC2* 转基因苹果株系, MdBPC<sub>2</sub> 的过表达显著降低生长素的积累。外源生长素的补充恢复了 MdBPC<sub>2</sub> 过表达转基因苹果植株的高度、叶片形态和根系发育。而生长素作用抑制剂的处理抑制了野生型植物生长素的积累, 导致与 *MdBPC2* 过表达转基因苹果植株的表型类似。这些结果表明, 具有转录抑制功能的 MdBPC<sub>2</sub> 在介导生长素积累过程中发挥重要作用。

2. MdBPC<sub>2</sub> 抑制生长素生物合成基因 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 的表达。RNA-seq 数据分析表明, MdBPC<sub>2</sub> 抑制几个生长素合成基因 *MdYUC2*, *MdYUC6* 和 *MdGH3.1* 的表达。DAP-Seq 数据与电泳迁移实验 (EMSA) 结果显示, MdBPC<sub>2</sub> 通过与 GAGA-Rich 元件结合调控靶基因的表达。酵母单杂交 (Y1H) 与染色质免疫共沉淀 (CHIP-qPCR) 实验证实 MdBPC<sub>2</sub> 直接结合 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 启动子中的 GAGA-Rich 元件, 同时, 双荧光素酶分析和 RT-qPCR 证实 MdBPC<sub>2</sub> 转录抑制 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 的表达。上述结果表明, MdBPC<sub>2</sub> 通过负向调控 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 的表达水平, 抑制生长素的积累。

3. MdBPC<sub>2</sub> 蛋白将 PcG 蛋白 MdLHP1 募集到 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 基因座上, 随后催化抑制性组蛋白标记 H3K27me<sub>3</sub> 来抑制 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 的表达。CHIP-qPCR 结果显示, MdBPC<sub>2</sub> 过表达后, *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 基因座的 H3K27me<sub>3</sub> 修饰水平显著增加。利用酵母双杂交筛库实验发现 MdBPC<sub>2</sub> 与 PcG 蛋白 MdLHP1 可能存在相互作用。在野生型和转基因植株中表达 MdLHP1-Flag 融合蛋白时, 过表达 MdBPC<sub>2</sub> 的植物中 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 位点 MdLHP1-Flag 的富集水平明显增加, 而在过表达转基因株系中沉默 MdLHP1 的表达后 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 基因座的 H3K27me<sub>3</sub> 水平明显下降。上述结果表明, MdLHP1 在 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 基因座上富集后, 催化 H3K27me<sub>3</sub> 来抑制 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 的表达。

4. MdLHP1 介导的 H3K27me<sub>3</sub> 对 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 的抑制直接影响生长素含量。为了进一步探究 MdBPC<sub>2</sub> 与 MdLHP1 的互作关系对生长素含量的直接影响, 获得了过表达 *MdBPC2* 的转基因苹果愈伤

组织, RT-qPCR 分析显示, *MdBPC2* 的过表达抑制了 *MdYUC2* 和 *MdYUC6* 的转录, 这与转基因植株结果相一致。在过表达 *MdBPC2* 的基础上, 沉默 *MdLHP1* 基因后, 利用 DR5:GUS 报告基因检测转基因愈伤组织的生长素含量, 结果显示, *MdBPC2* 的过表达抑制生长素的积累, 导致 GUS 活性降低, 相反, 在沉默 *MdLHP1* 基因后这种抑制作用被消除, 甚至 GUS 活性高于野生型。这些结果表明, *MdLHP1* 参与了生长发育过程中 *MdBPC2* 对生长素生物合成的调控。

**关键词:** 苹果; 生长素; 生物合成; H3K27me3; *MdBPC2*; *MdLHP1*