



Genome-wide Identification and Function Analysis of *TaCrRLK1-L* Gene Family in Wheat

小麦 *TaCrRLK1-L* 基因家族的全基因组鉴定和功能分析

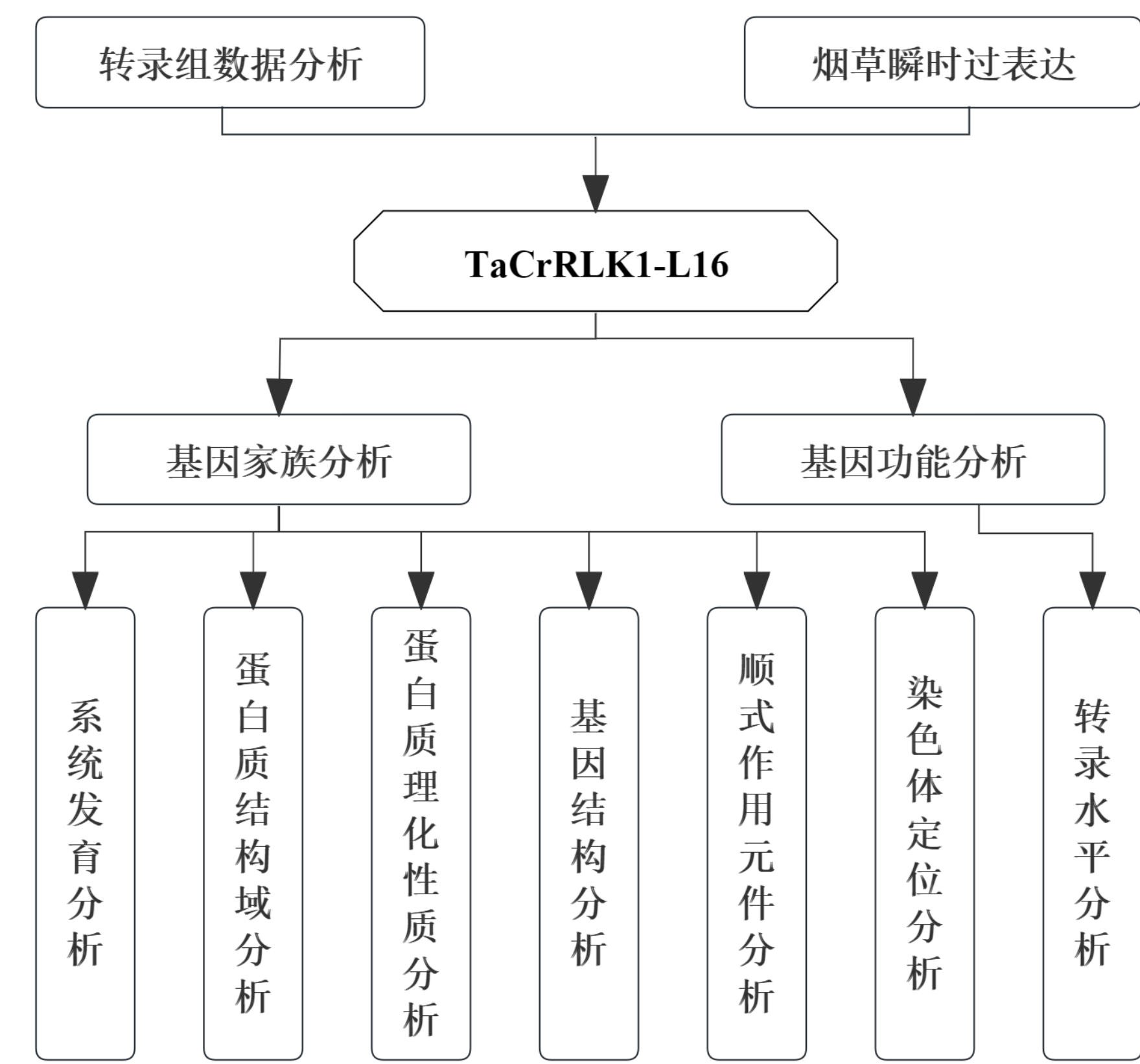
秦世奥 张锦瑜 黄睿捷 付笑霄
指导老师：郭军 教授 植物保护学院

项目负责人邮箱：qinshiao@nwsuaf.edu.cn 联系方式：18292829839

Introduction

小麦条锈病是威胁小麦安全生产的毁灭性气传真菌病害，但目前小麦抗锈品种利用存在抗性退化、广谱与持久抗病资源缺乏等严重问题。因此，挖掘新的小麦免疫受体基因有助于推动小麦广谱持久抗病育种工作。植物类受体激酶 *CrRLK1-L* 亚家族是一类位于细胞膜上的模式识别受体，广泛参与抗病、抗逆等生物学过程，但仍未报道是否介导小麦对条锈菌的抗性。本研究拟开展小麦 *TaCrRLK1-L* 亚家族成员的全基因组鉴定和生物信息学分析，初步鉴定小麦-条锈菌互作过程中发挥关键功能的 *TaCrRLK1-L* 基因，为挖掘具有应用前景的新的小麦免疫受体提供理论支撑。

Methods



Conclusions

在小麦中共鉴定到 61 个 *TaCrRLK1-L* 亚家族成员，并根据系统发育分析将其分为三组。它们分布于小麦 18 个染色体上，其启动子区域富含响应植物激素和逆境胁迫相关的顺式作用元件，具有保守的蛋白基序，多数成员定位于细胞膜。实时荧光 PCR 结果显示 *TaCrRLK1-L16* 在条锈菌感染早期明显上调表达。烟草瞬时过表达 *TaCrRLK1-L16*，4 天后烟草叶片坏死，说明其参与了烟草细胞程序性死亡。但 *TaCrRLK1-L16* 是否在小麦与条锈菌互作过程中发挥作用，仍需进一步确认。

Future Work

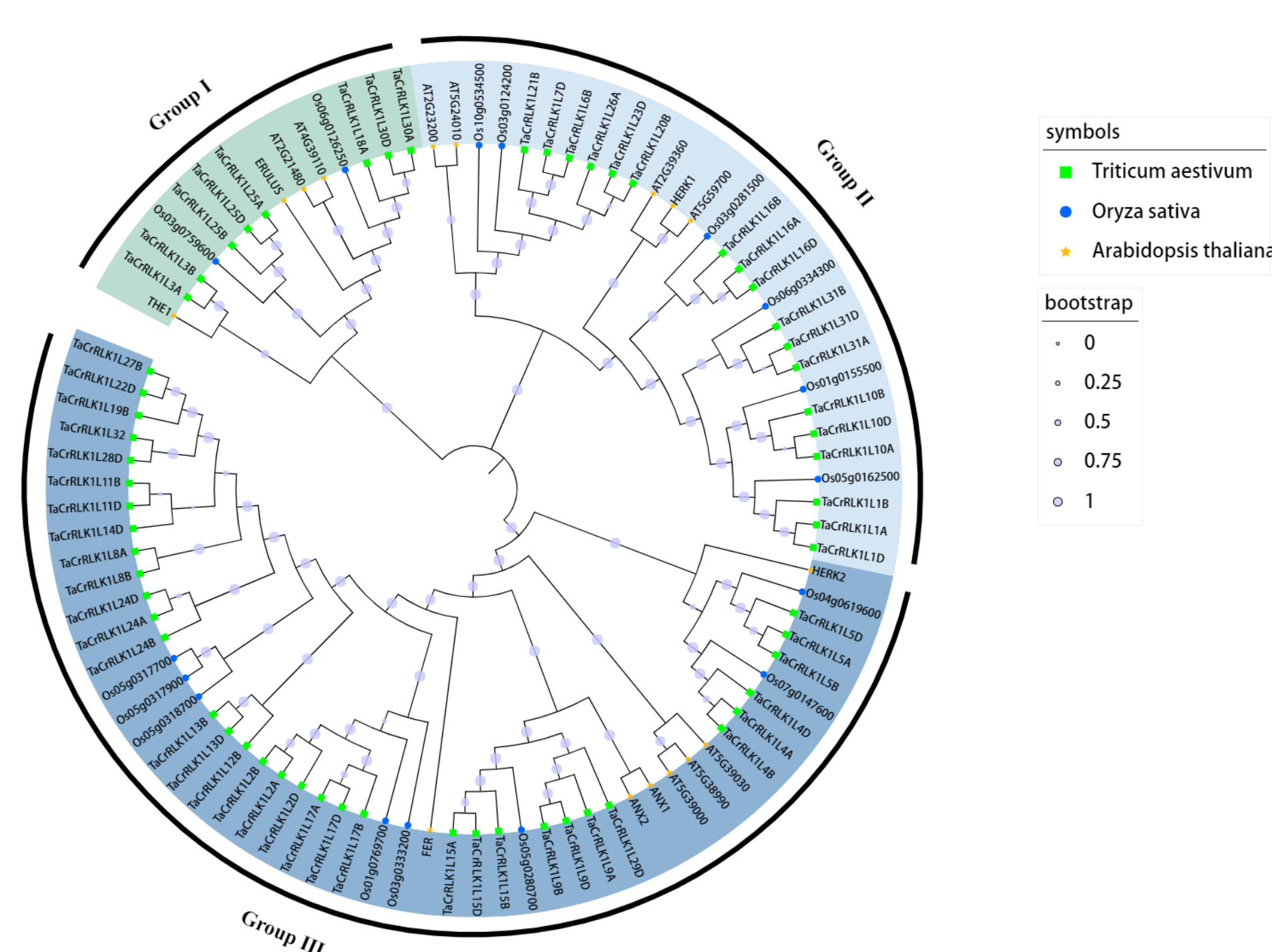
- 利用 BSMV-VIGS 技术沉默小麦中的 *TaCrRLK1-L16*，明确 *TaCrRLK1-L16* 在条锈菌感染过程中发挥的功能。
- 利用转基因技术，获得 *TaCrRLK1-L* 基因稳定的过表达和 RNAi 高代材料，通过抗病功能鉴定，明确 *TaCrRLK1-L* 家族抗条锈病功能。
- 筛选 *TaCrRLK1-L* 互作蛋白，进一步明确互作关系，并探究互作蛋白的功能。

References

韩德俊, 康振生. 2018. 中国小麦品种抗条锈病现状及存在问题与对策. 植物保护, 44(05): 1-12.
Garnica D P, Nemri A, Upadhyaya N M, Rathjen J P, Dodds P N. 2014. The ins and outs of rust haustoria. *PLoS Pathog*, 10(9): e1004329.
Chen C, Chen H, Zhang Y, Thomas H R, Frank M H, He Y, Xia R. 2020. TBtools: An Integrative Toolkit Developed for Interactive Analyses of Big Biological Data. *Mol Plant*, 13(8): 1194-1202.

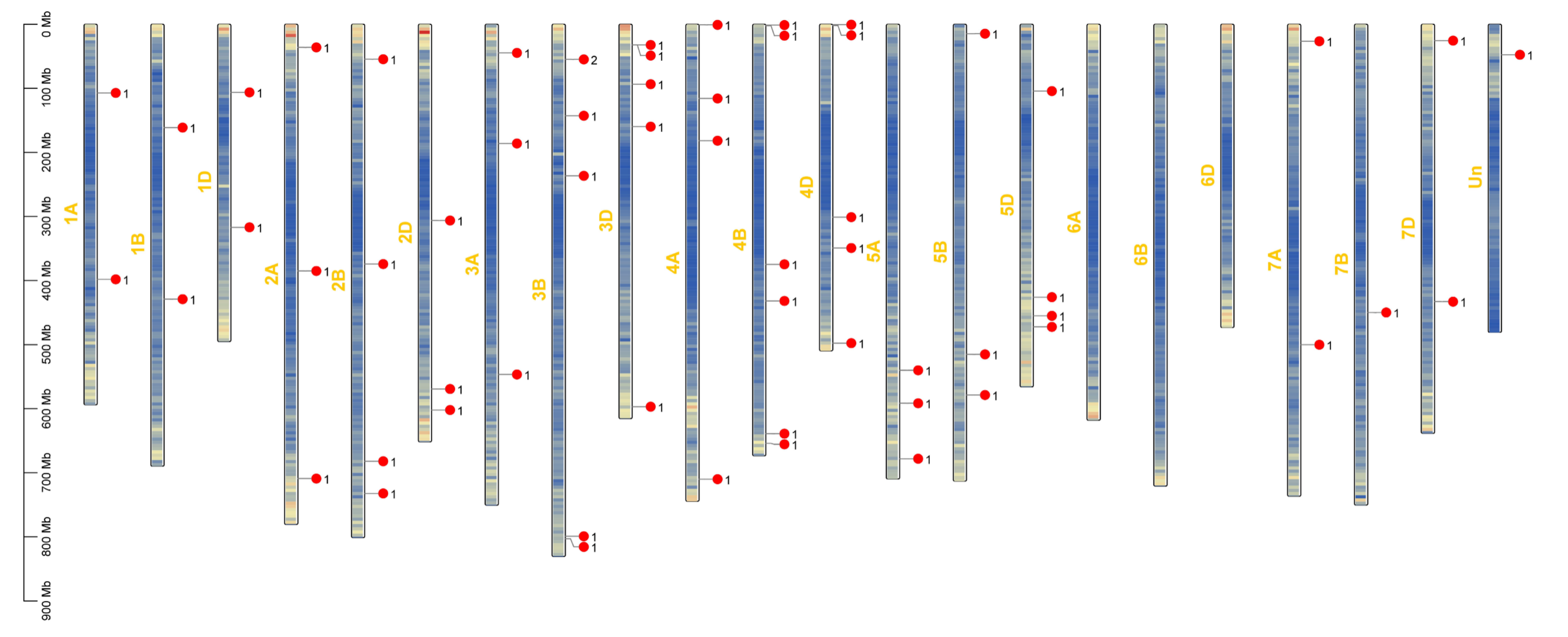
Results

1 *TaCrRLK1-L* 亚家族成员鉴定和系统发育分析



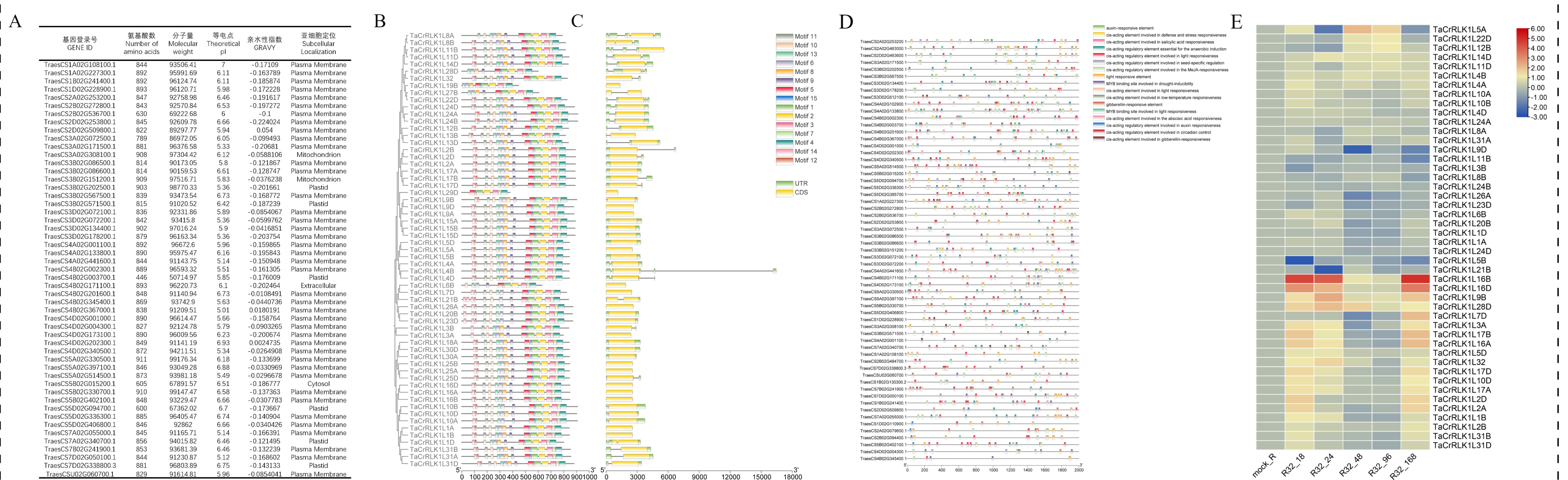
- FIG 1 使用不同的颜色区分不同的分支。
- 共鉴定到 32 个 *TaCrRLK1-L* 亚家族基因。
 - 该家族主要通过染色体加倍的方式发生了扩展。

2 *TaCrRLK1-L* 亚家族成员染色体定位分析



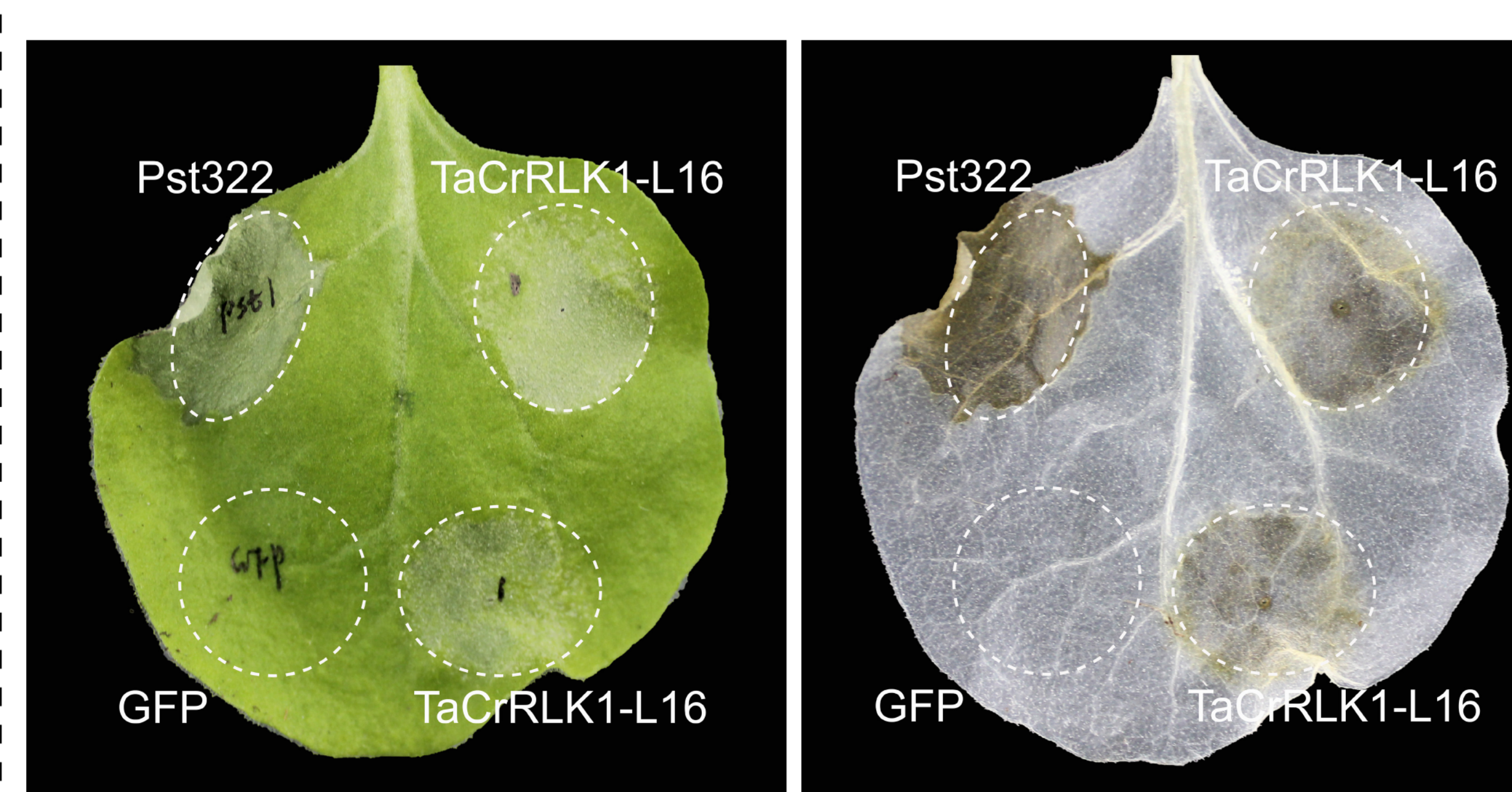
- FIG 2 使用红色圆形图标代表基因，对在染色体上距离不超过 100 kb 的基因合并展示。染色体的颜色代表该位置的基因密度。
- 小麦的 A、B、D 三个同源染色体组中，分别含有 17、21、21 个 *TaCrRLK1-L* 基因，在未分配的染色体骨架上也分布有一个基因。

3 蛋白质理化性质分析、蛋白质结构域分析、基因结构分析、启动子区域顺式作用元件分析、转录水平分析



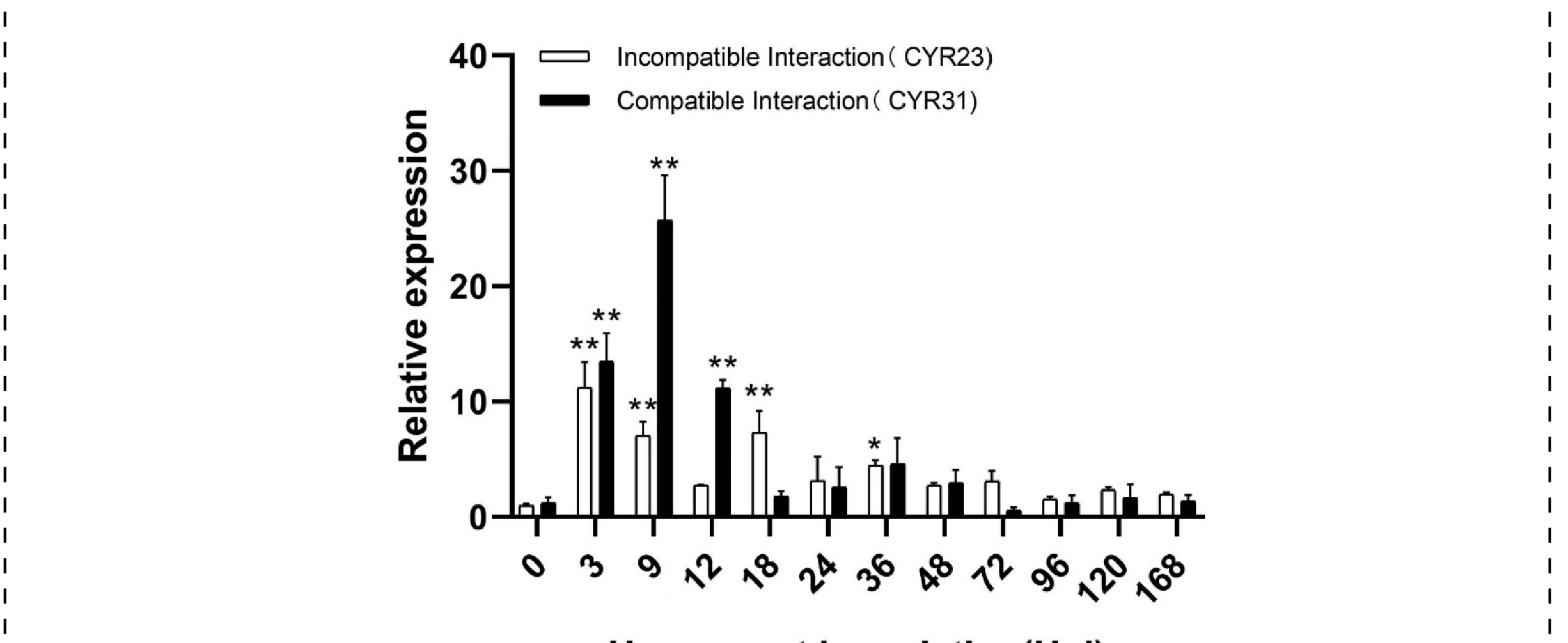
- FIG 3 A. 等电点、亲水性指数、亚细胞定位等分析; B. 使用不同的颜色代表不同的蛋白基序; C. 黄色和绿色矩形分别表示 CDS 和 UTR, 黑线表示内含子; D. 不同的颜色代表不同的顺式作用元件; E. R32 表示非亲和互作, 蓝色和红色分别表示下调和上调。
- *TaCrRLK1-L* 家族成员在分子量、等电点、亲疏水性等方面差异不大，大多数是亲水性、偏酸性蛋白，大部分定位于细胞膜。
 - *TaCrRLK1-L* 亚家族在进化上相当保守，胞外结构域正通过保守 motif 重排等方式发生缓慢的进化，以识别丰富的胞外信号。
 - *TaCrRLK1-L* 基因外显子数量变化从 1 个到 5 个，45.9% 的 *TaCrRLK1-L* 基因不含有内含子，Group II 含有的内含子数量较多。
 - 多数 *TaCrRLK1-L* 基因启动子区域有逆境胁迫响应元件，如防御和压力响应元件、干旱响应元件。
 - *TaCrRLK1-L16* 在条锈菌感染 18 h、24 h、168 h 时明显上调表达。

4 *TaCrRLK1-L16* 参与了烟草细胞程序性死亡



- FIG 4 以 Pst322 为阳性对照，GFP 为阴性对照。
- *TaCrRLK1-L16* 在烟草中表达 4 d 时，可引起烟草叶片坏死，说明其参与了细胞程序性死亡。

5 *TaCrRLK1-L16* 在条锈菌感染早期上调表达



- FIG 5 图中误差线为标准误，采用 t 检验进行显著性分析。*代表 P < 0.05, **代表 P < 0.01。
- 在亲和互作中，*TaCrRLK1-L16* 在接种后 3 h 至 12 h 被诱导上调；
 - 在非亲和互作中，*TaCrRLK1-L16* 在接种后 3 h、9 h、18 h 被显著诱导上调。