

向日葵 *HaDof1* 基因克隆及表达模式分析

张晶晶,张抗萍,郭建忠,李林,卜鹏佳,张先平,秦旭,罗天杨

(太原学院园艺园林系,山西太原 030032)

摘要:Dof(DNA binding with one finger)转录因子在植物响应非生物胁迫及生长发育过程中发挥着重要调控作用,为探究 Dof 转录因子在向日葵中的生物学功能,以向日葵 *HaDof1* 基因为研究对象,通过 PCR 技术获得 *HaDof1* 基因序列,并对其编码蛋白的理化特性及结构特征进行一系列生物信息学分析。结果显示,*HaDof1* 基因编码 451 个氨基酸,分子量为 49.29 ku,等电点为 5.36,属于不稳定性亲水蛋白,含有典型的 zf-Dof 保守结构域,预测定位于细胞核,且具有多个潜在磷酸化修饰位点,主要集中在丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基上。*HaDof1* 蛋白的二级结构,无规则卷曲结构的占比居主导地位,达 77.61%,随后依次为 α -螺旋和延伸链结构, β -转角结构的比例最低,仅为 2.22%。组织特异性表达分析结果表明,*HaDof1* 基因在向日葵茎、种子和苞片中表达水平较高,说明其可能参与多器官发育调控。在干旱和盐胁迫下,*HaDof1* 基因的表达水平与对照呈现显著性差异。结果可为解析 Dof 蛋白在向日葵抗逆分子网络中的作用提供理论基础,同时为作物抗逆遗传改良提供候选基因资源。

关键词:向日葵;*HaDof1*;基因克隆;生物信息学;表达模式

中图分类号:S188;S565.501 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2026)08-0044-07

向日葵 (*Helianthus annuus* L.) 属菊科向日葵属,是我国北方主要的经济作物之一^[1]。向日葵的生长对土壤条件的要求不高,具备耐贫瘠、耐盐碱、抗旱力强以及适应性广等多项优势特性,因此得到广泛种植与应用,被誉为盐渍土上的先锋作物,是开发盐碱地及生物治理盐碱地的首选经济作物之一^[2-3]。近年来,伴随着我国种植业结构的优化调整,向日葵在我国农业生产与生态环境建设中的地位日益凸显^[4-5]。然而,随着全球气候的不断变化,各种作物开始面临盐碱、高温等多种非生物胁迫^[6]。为适应和抵御各种环境胁迫,植物在长期进化过程中形成了复杂的适应性机制。转录因子作为调节基因表达水平的重要物质,在植物逆境胁迫应答过程中起着关键作用^[7]。

单锌指 DNA 结合蛋白(Dof)属于 C2-C2 单锌指蛋白超家族,包含 1 个保守的 Dof 结构域,该结构包含 52 个氨基酸残基,通过识别下游基因启动子中的 AAAG/CTTT 顺式调节元件来调控基因的表达^[8]。此外,Dof 蛋白还包含 N 末端保守的 DNA 结

合结构域和 C 末端转录调控域 2 个功能结构域^[9]。自 1993 年从玉米中克隆出第 1 个 Dof 基因 (*ZmDof1*) 以来^[10],研究学者对不同植物中的 Dof 类转录因子进行挖掘和功能分析,并对拟南芥、大麦、大豆、番茄、水稻、玉米等植物基因组中的 Dof 成员进行了综述报道^[11]。

Dof 基因在植物生长发育、碳氮代谢和开花时间方面均起一定调控作用。在拟南芥中,*AtDof1.1* 和 *AtDof5.4* 基因参与细胞周期调控^[12-13]; *AtDof6* 基因负调控种子萌发,增强植物 ABA 敏感性^[14]; *AtDof4.7* 基因通过调控细胞壁水解酶基因的表达参与控制花器官的脱落^[15]。在玉米中,*ZmDof1* 基因调控氮代谢,过表达 *ZmDof1* 基因可显著提升转基因拟南芥氮含量^[16]; *ZmDof36* 基因可直接调控淀粉合成相关基因,促进淀粉合成^[17]。在水稻中,*OsDof18* 基因通过调控氨转运体影响水稻根系对氨的吸收^[18]; *OsDof12* 基因参与水稻植株结构的形成,并调控开花时间^[19-20]。番茄的 *SlDof1* 基因通过直接调控多个成熟相关基因和转录因子来调节果实成熟过程^[21]。茄子 *SmCDF2* 基因的过表达能够显著提高拟南芥中花青素的含量,导致植株叶片呈现更深的紫色,且能够延迟拟南芥的开花时间^[22]。

除了参与植物生长发育过程外,Dof 转录因子在植物响应非生物胁迫方面也起到重要作用。陆

收稿日期:2025-04-26

基金项目:太原学院重点研究项目(编号:23TYZD03);太原学院引进博士科研启动基金(编号:24TYKY004,24TYKY005,24TYKY003)。

作者简介:张晶晶(1994—),女,河南安阳人,博士,讲师,主要从事植物分子育种。E-mail:zhangjj_mhs@163.com。

地棉的 *GhDofl. 7* 通过与 GhCAR4 蛋白互动,调控 ABA 信号通路,影响植物对盐胁迫的响应;过表达陆地棉 *GhDofl. 7* 基因可以增强拟南芥的耐盐性,而利用病毒诱导 *GhDofl. 7* 基因或其互作蛋白 GhCAR4 沉默,会导致棉花耐盐性降低^[23]。*CqDof27* 是藜麦耐冷性的负调控因子,通过抑制类黄酮合成途径,减少抗氧化物质积累量,从而降低植物的耐冷性^[24]。大多数胭脂萝卜 *Dof* 家族成员表现出镉敏感性,其中 *RsDof33* 作为一个多功能基因,参与胭脂萝卜的镉胁迫响应、花青素生物合成和叶片发育等生理过程^[25]。*Dof* 转录因子通过调控下游靶基因的表达,影响植物的渗透调节、活性氧清除、脯氨酸积累等生理过程,从而提高植物对非生物胁迫的耐受性。

加强向日葵抗逆、耐逆品种选育是减轻环境胁迫对其生长发育造成损失的有效策略之一。近年来,关于向日葵抗逆基因的挖掘逐渐受到重视,但关于向日葵 *Dof* 基因家族功能的研究及系统分析报道较少。本研究克隆向日葵 *HaDofl* 基因,并结合生物信息学方法对其理化性质、信号肽、蛋白结构等进行系统分析。同时,利用转录组数据分析 *HaDofl* 基因在不同组织中的时空表达模式,并通过 qRT-PCR 技术研究其在干旱和盐胁迫下的表达模式,初步揭示 *HaDofl* 基因的功能,以期为进一步探究 *Dof* 基因的生物学作用奠定基础,并为向日葵的分子遗传改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料种植与处理

本研究选用的试验材料为耐盐碱、适应性强的中早熟油葵杂交种 TD-567,购自山西益丰种业有限责任公司。2023 年 10 月,挑选籽粒饱满、健康的向日葵种子保湿催芽,露白后进行沙培,种植于太

原学院智能温室人工气候室内。待出芽萌发至离土 3~5 cm 后,挑选生长良好、长势一致的向日葵幼苗,利用种植篮和海绵于霍格兰营养液中进行水培。待幼苗 4 张真叶展平后,分别置于 15% 聚乙二醇(PEG)溶液和 200 mmol/L NaCl 溶液中进行干旱和盐胁迫处理,分别在干旱胁迫处理 0、3、6、9 h 时取样,盐胁迫处理 0、6、12、24 h 取样,以胁迫 0 h 时为对照,将样品置于液氮中速冻后,保存至 -80 °C 冰箱,每个处理取 3 个生物学重复。

1.2 叶片 RNA 提取及 cDNA 合成

利用研钵和研杵在液氮中将叶片研磨成粉末,在十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法的基础上加入氯化锂(武汉赛维尔生物科技有限公司)选择性沉淀 RNA,提取植物总 RNA,通过 Nanodrop 2000 检测 RNA 浓度及纯度,并使用反转录试剂盒(莫纳生物科技有限公司)进行 cDNA 的合成。

1.3 目的基因克隆

利用 Primer 5.0 软件设计 *HaDofl* 基因的扩增引物(表 1),以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。本研究利用高保真酶(全式金生物技术有限公司)对目标基因进行扩增,扩增程序:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 5 s,54 °C 退火 15 s,72 °C 延伸 1.5 min,35 个循环;72 °C 延伸 5 min。利用琼脂糖凝胶电泳确认 PCR 产物是否符合预期。将过表达载体 pBI121 菌液置于 LB + Kana 液体培养基中进行扩播,然后提取质粒,利用限制性内切酶 *Sac* I 和 *Xba* I 对 pBI121 载体进行双酶切,然后对目标片段和酶切载体进行纯化回收,使用同源重组酶(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)连接目标片段和酶切载体获得重组质粒。采用热激法将重组质粒转化至大肠杆菌内,涂布于 LB + Kana 的固体培养基上进行培养,挑取单克隆送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

表 1 引物序列

引物名称	引物序列(5'→3')
<i>HaDofl</i>	F: CACGGGGACTCTAGAATGTCGGATCCTGCTATCAAGC; R: GATCGGGGAAATTCGAGCTCTATGAGCTCTCTTGAAGTTAAG
<i>ACT2</i>	F: GATTGCGCGTGATGATGCT; R: TCCATGTCATCCCAGTTGCT
<i>qPCR - HaDofl</i>	F: GAGGAGTTACAGAGCCGAATG; R: CACCCACAGGAACATTTCTCATT

1.4 生物信息学分析

利用 ProtParam 软件对蛋白质理化性质进行分析,NCBI conserved domain 鉴定蛋白保守结构域,ProtScale 软件分析蛋白亲疏水性,TMHMM 2.0 预测跨膜结构,SignalP-4.1 预测信号肽,NetPhos-3.1

预测磷酸化位点,SOPMA 和 Swiss-Model 预测蛋白二级和三级结构,CELLO v. 2.5 进行亚细胞定位预测^[26]。在 NCBI 中利用 BLASTp 获取 *HaDofl* 在其他植物中的同源蛋白,使用 DNAMAN 进行序列比对,并利用 MEGA 7.0 进行系统发育分析^[27]。从

Sunflower Genome Database (<https://sunflowergenome.org/>) 中下载向日葵参考基因组,并提取 *HaDof1* 基因的序列和在不同组织中的 FPKM 值,用于分析其在不同组织中的表达模式^[28]。

1.5 qRT-PCR 检测

以 *ACT2* 基因作为内参基因^[29],利用 2 × Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix 荧光定量试剂盒和 Bio-rad 荧光定量 PCR 仪检测 *HaDof1* 基因在盐胁迫和干旱胁迫下的表达模式情况。*HaDof1* 基因和内参基因的引物序列如表 1 所示,相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 进行计算^[30]。qRT-PCR 的反应体系:2 × Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix 7.5 μL, Water Nuclease-Free 4 μL, 反转录产物 (cDNA) 2 μL, qPCR-HaDof1-F 0.75 μL, qPCR-HaDof1-R 0.75 μL。反应程序:95 °C 预变性 30 s;

95 °C 15 s, 60 °C 30 s, 40 个循环;熔解曲线为 65 ~ 95 °C, 采集荧光信号。

2 结果与分析

2.1 *HaDof1* 基因克隆与检测

以向日葵 TD-567 的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,并对获取的目的片段进行纯化回收,连接至过表达载体 pBI121 中。将重组载体转化至大肠杆菌 DH5α 中进行培养,然后进行菌落 PCR 检测,结果见图 1,在 1 356 bp 处存在 1 条明显的条带,与目标基因片段大小相匹配,挑取单克隆送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。通过与参考基因组比对,与参考基因序列一致,长度为 1 356 bp,编码 451 个氨基酸,表明成功克隆向日葵 *Dof* 基因,命名为 *HaDof1*。



M 为 DNA 分子量标记(DNA Marker D2000)
图1 *HaDof1* 基因菌落 PCR 检测及氨基酸序列

2.2 *HaDof1* 蛋白理化性质分析

对 *HaDof1* 蛋白进行理化性质分析,结果显示,该蛋白的分子量为 49.29 ku,等电点为 5.36,包含 451 个氨基酸,其中包括 50 个带正电荷的氨基酸 (Arg + Lys),以及 60 个带负电荷的氨基酸 (Asp 和 Glu),在所有氨基酸种类中,脯氨酸 (Pro) 占比最大,为 11.1%;其次为丝氨酸 (Ser),占比为 10.4%。*HaDof1* 蛋白由 5 种原子构成,分别为 C、H、N、O、S,总

计拥有 6 779 个原子,分子式为 C_{2 140}H_{3 319}N₆₀₁O₆₉₉S₂₀,蛋白质不稳定系数为 59.30,预测其属于不稳定类型。蛋白保守结构域预测结果(图 2)显示,*HaDof1* 蛋白包含 1 个保守的 zf-Dof 结构域,位于第 123 ~ 181 位氨基酸之间。亚细胞定位预测结果显示,*HaDof1* 基因编码的蛋白主要定位于细胞核内,可能在细胞核内发挥作用。

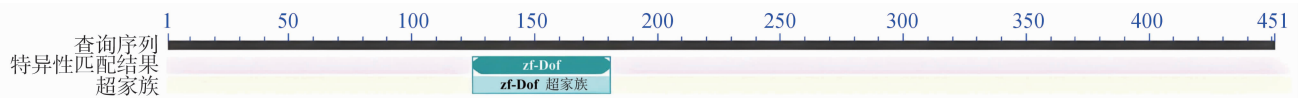


图2 *HaDof1* 蛋白保守结构域预测

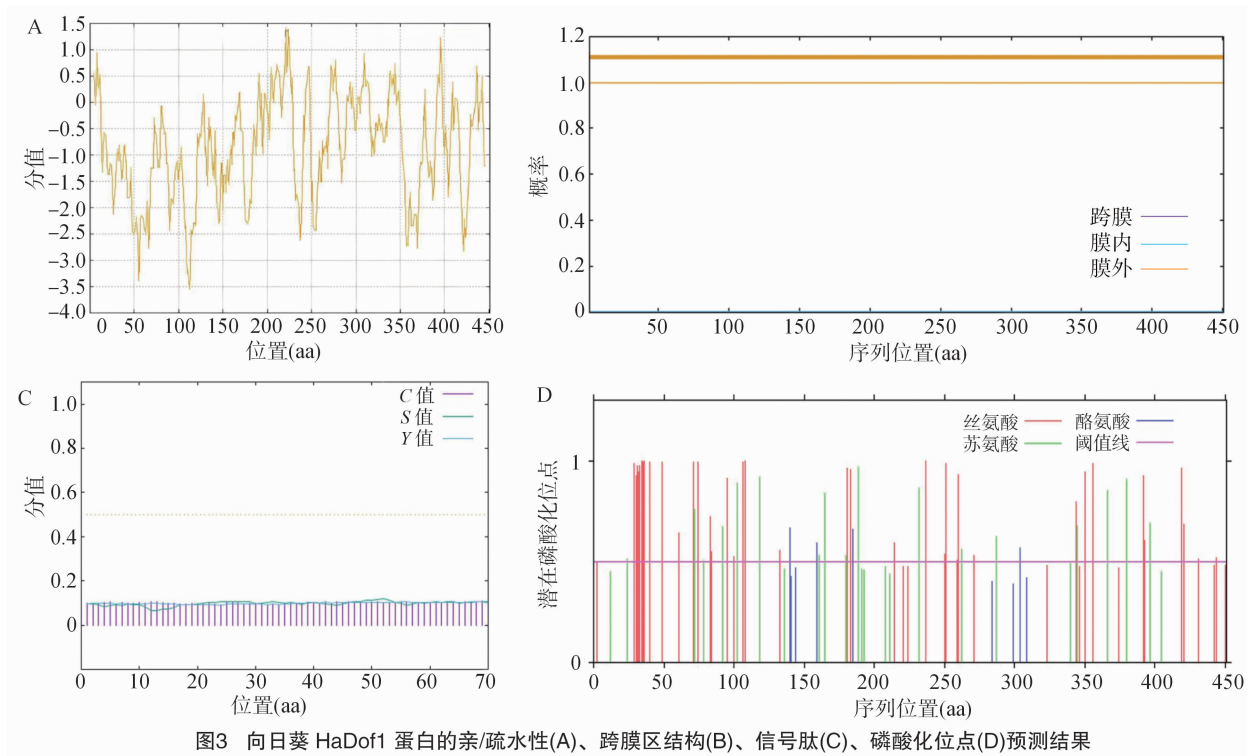
2.3 *HaDof1* 蛋白亲/疏水性、跨膜区结构、信号肽和磷酸化位点预测

利用 ProtScale 软件对 *HaDof1* 蛋白进行亲疏水性分析,结果(图 3-A)表明,氨基酸序列中第 221 位的 Ser(丝氨酸)所对应的峰值为 1.433,具有最强

的疏水性;氨基酸序列中第 112 位的 Gln(谷氨酰胺)所对应的峰值为 -3.544,具有最强的亲水性。根据亲疏水性分值分析,分值小于 0 的区域相较于大于 0 的区域具有更多亲水区,其平均亲水性计算值为 -0.878,因此预测 *HaDof1* 蛋白为亲水性蛋白。

通过 TMHMM 对 HaDof1 蛋白质的跨膜区进行预测,结果(图 3 - B)表明,HaDof1 蛋白不存在跨膜结构,因此为非跨膜蛋白。利用 SignalP 软件对 HaDof1 蛋白的信号肽进行预测分析,结果(图 3 - C)显示,该蛋白缺乏信号肽结构,不属于分泌蛋白。利用

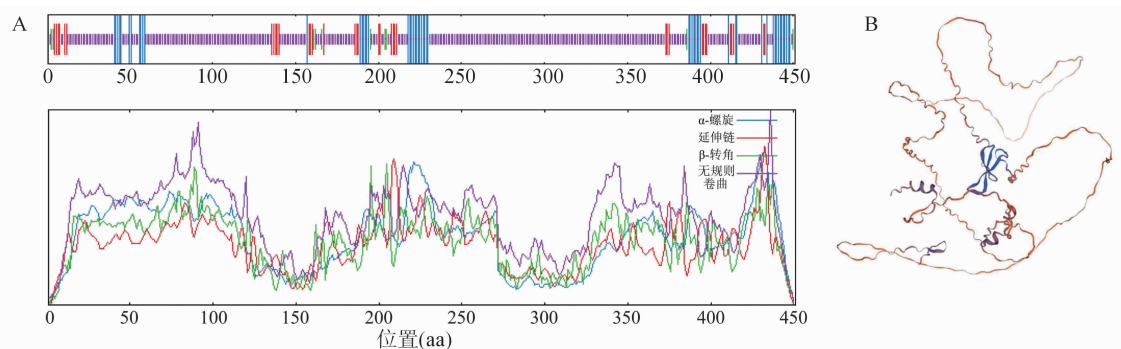
NetPhos - 3.1 预测 HaDof1 的磷酸化位点,结果(图 3 - D)表明,该蛋白具有较多的潜在磷酸化氨基酸,其中包括 38 个丝氨酸(Ser)磷酸化位点,17 个苏氨酸(Thr)磷酸化位点和 4 个酪氨酸(Tyr)磷酸化位点。



2.4 HaDof1 蛋白二级和三级结构预测

利用 SOPMA 软件对 HaDof1 蛋白的二级结构进行预测,结果(图 4 - A)表明,HaDof1 蛋白的二级结构形态包括 α - 螺旋、 β - 转角、延伸链及无规则卷曲等类型,其中无规则卷曲占比最高,达

77.61% ; α - 螺旋次之,占比 12.19% ;延伸链结构居于第 3 位,占比 7.98% , β - 转角则相对较少,低至 2.22% 。三级结构预测结果如图 4 - B 所示,与二级结构相似,包含较多无规则卷曲,表明其结构的一致性。



2.5 不同物种同源性分析

将向日葵的 HaDof1 蛋白序列与青蒿、菊花、茼蒿和可可树的 Dof1 蛋白序列进行多重比对分析,结果(图 5)显示,HaDof1 蛋白与其他物种的 Dof1 蛋白

一样,包含保守的 C2 - C2 锌指序列。利用 MEGA 7.0 对包括拟南芥、葡萄、玉米和水稻等在内的 15 个物种的 Dof 蛋白进行系统进化分析,结果(图 6)表明,向日葵与菊科植物,如青蒿、菊花、除虫菊、小

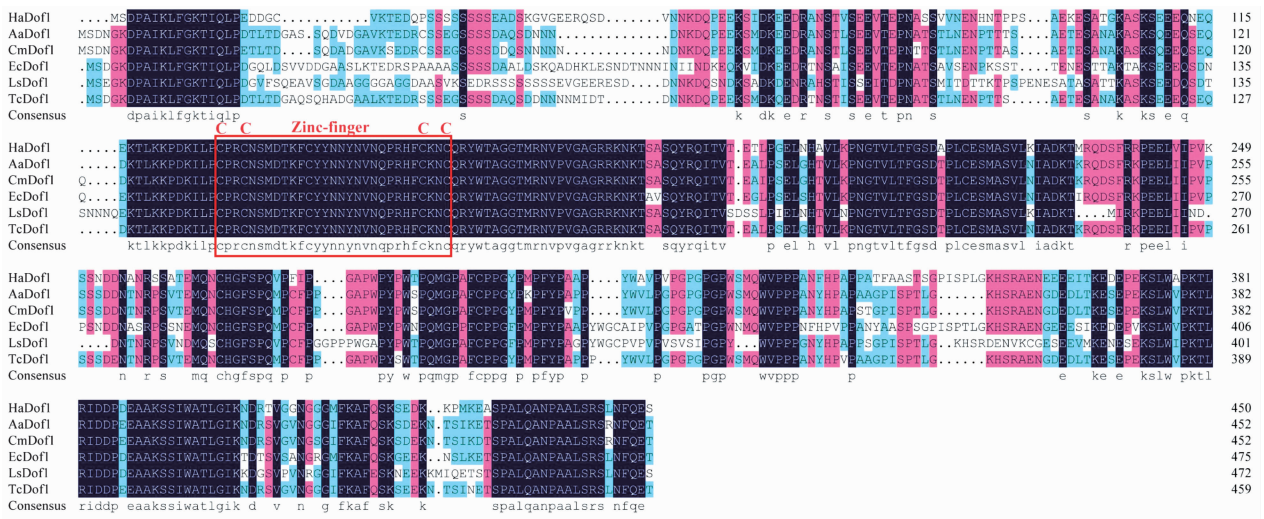


图5 向日葵 HaDof1 蛋白与 AaDof1、CmDof1、LsDof1、TcDof1 蛋白多重序列比对

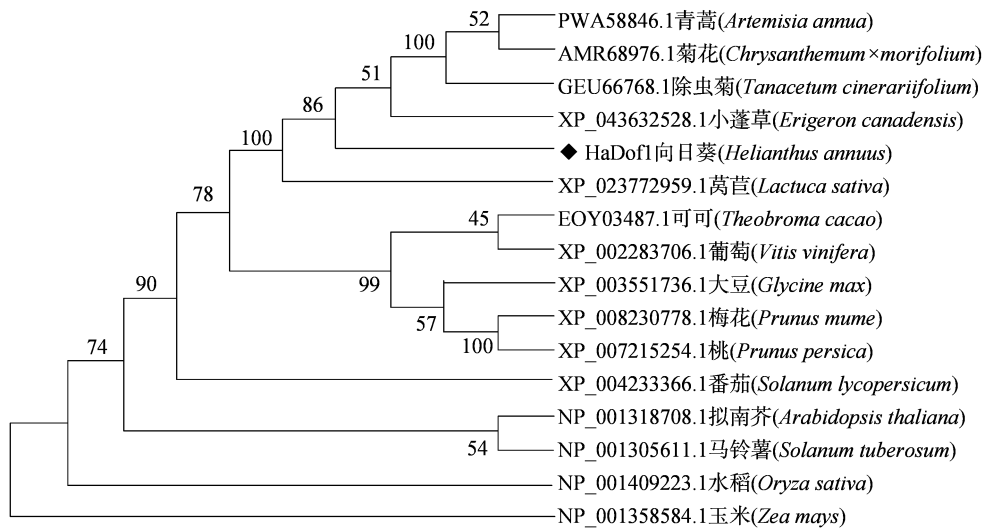


图6 向日葵 HaDof1 蛋白氨基酸序列系统进化树

蓬草、莴苣等的 Dof 蛋白同源性较高,均超过 70%,其中与青蒿的 AaDof1 蛋白同源性最高,达到 79.09%;而与水稻、玉米的 Dof 蛋白相似性较低,分别为 44.01%、36.93%。

2.6 HaDof1 基因表达模式分析

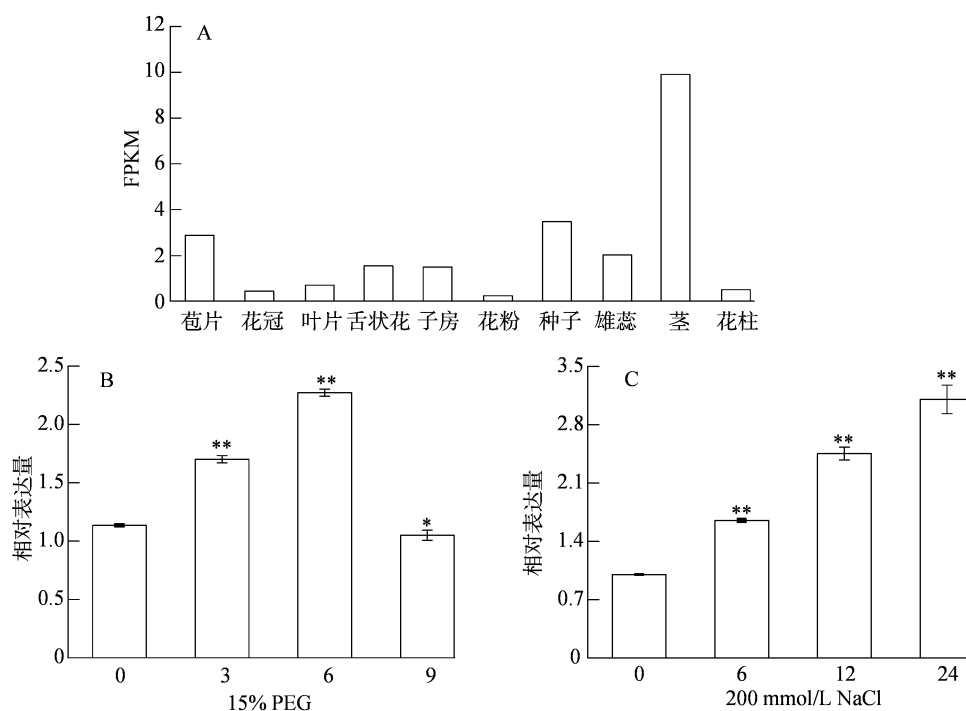
为了探究 HaDof1 基因在向日葵生长发育中的功能,提取 HaDof1 基因在向日葵 10 个组织中的 FPKM 值,分析结果(图 7 - A)表明,该基因在向日葵茎中具有较高的表达量,其次为种子、苞片、雄蕊,FPKM 值均大于 2;而在花粉中表达量最低,FPKM 值为 0.275。此外,探究 HaDof1 基因在干旱和盐胁迫下的表达情况,实时荧光定量 PCR 分析结果(图 7 - B、图 7 - C)显示,在干旱胁迫下,HaDof1 基因的相对表达量呈现先上升后下降的趋势;在盐胁迫下,HaDof1 基因的表达量随胁迫时间的延长呈

现逐渐上升的趋势,且都与对照具有显著性差异,表明该基因可能在向日葵响应非生物胁迫中起到调控作用。

3 讨论

Dof 基因作为植物特有的一类转录因子,在植物响应非生物胁迫及生长发育过程中发挥着重要的调控作用^[31],目前拟南芥、水稻和玉米等植物中的 Dof 基因功能被陆续报道^[9],而关于向日葵 Dof 基因克隆和逆境胁迫响应方面的研究报道较少。本研究通过 PCR 技术从向日葵中克隆到 HaDof1 基因,并构建过表达载体,进一步对其理化性质、蛋白结构与表达模式等进行分析。

本研究结果显示,向日葵 HaDof1 基因编码 451 个氨基酸残基,将其氨基酸序列与青蒿、菊花、莴苣



* 表示在 0.05 水平上差异显著; ** 表示在 0.01 水平上差异显著

图7 *HaDof1* 基因在不同组织和非生物胁迫下的表达模式分析

等植物的 Dof 蛋白序列进行比对,序列中包含一个保守的 C2 - C2 型锌指结构域,表明 *HaDof1* 蛋白具有 Dof 家族成员的典型特征^[32]。*HaDof1* 蛋白的氨基酸序列中包含较多的潜在磷酸化位点,推测其可能通过磷酸化共价修饰调节 *HaDof1* 蛋白与下游基因启动子顺式作用元件的结合^[33]。*HaDof1* 蛋白的二级结构包含较多的无规则卷曲,与前人报道的菜心 Dof 蛋白二级结构^[32]一致。系统进化分析结果表明,向日葵 *HaDof1*、青蒿 *AaDof1*、菊花 *CmDof1*、除虫菊 *TcDof2*、莴苣 *LsDof1*、小蓬草 *EcDof1* 具有较近的亲缘关系,可能与其均属于菊科植物有关。

基因在植物不同组织中的表达水平可能暗示该基因参与特定组织或器官的生长发育^[9]。*HaDof1* 基因在向日葵茎、种子、苞片等不同组织中均有表达,表明该基因可能与向日葵不同组织的生长发育相关。在前人的报道中,菠菜超过 40% 的 *SoDof* 基因在叶片中表达水平较高,而近 50% 的 *SoDof* 基因在生殖器官(如雄花和雌花)中表达活跃,表明 *SoDof* 基因可能参与叶片和生殖器官的发育过程^[34]。在拟南芥中,*HaDof1* 的同源基因 *CDF2* 与 *DCL1* 相互作用,并调控一组 miRNA 的积累,其中 *CDF2* 直接结合某些 miRNA 的启动子区域,并作为这些 miRNA 基因的转录激活因子或抑制因子发挥作用,调控植物发育;在基因层面上,*CDF2* 与

miR156 或 miR172 在同一通路中发挥作用,共同调控开花时间^[35]。推测 *HaDof1* 基因在向日葵生长发育、miRNA 转录方面也可能发挥重要作用,但其具体功能还需进一步验证。

在非生物胁迫下检测基因表达水平,可为筛选和鉴定非生物胁迫响应关键基因提供重要参考。本研究对 PEG 模拟干旱和盐胁迫下 *HaDof1* 的表达量进行检测,结果表明,*HaDof1* 基因在逆境胁迫下的表达水平显著高于对照。由此推测,*HaDof1* 基因在调控向日葵响应非生物胁迫中起到重要作用,但其生物学功能及分子调控机理仍有待深入研究。*Dof* 基因在其他植物中的表达模式分析结果显示,猕猴桃 *AcDof* 基因在干旱和盐处理下表现出不同程度的响应,其中 *AcDof22* 基因在抗旱性强的猕猴桃品种中高表达,并在干旱胁迫下持续上调表达,*AcDof22* 的过表达可以增强猕猴桃的抗旱性,并激活下游干旱胁迫标志基因 *AcDREB2A* 的表达,进而增强抗旱性^[36]。在干旱条件下,玉米 *ZmDof21* 基因在抗旱性强的自交系中的表达水平显著高于干旱敏感材料,过表达 *ZmDof21* 能提升转基因拟南芥在干旱胁迫下的 SPAD 值以及叶片相对含水量、脯氨酸含量,同时增强超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性,降低离子渗透率,从而提高抗旱性^[37]。刚毛柞柳 *ThDof1.4* 通过激活 *ThZFP1* 的表达,协同提升脯

氨酸水平和抗氧化能力,从而增强抗逆性^[38]。这些研究互相佐证,进一步强化了 Dof 基因家族在植物响应多重逆境胁迫中的重要作用。本研究对 *HaDof1* 基因进行了克隆以及生物信息学的系统分析,结果可为向日葵抗逆分子遗传改良提供理论依据。

参考文献:

- [1] 李一男. 向日葵产业现状调查及发展前景预测[J]. 农业开发与装备,2020(4):41,44.
- [2] 郭树春,苗红梅,李素萍,等. 向日葵抗列当育种研究进展[J]. 作物杂志,2022(3):27-32.
- [3] 张艳芳. 向日葵耐盐调控机制及其盐胁迫应答基因克隆与功能验证的研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2017.
- [4] 石鑫岩,王志丹. 内蒙古向日葵产业发展问题与对策研究[J]. 农业经济,2020(2):12-13.
- [5] 郭树春,张艳芳,孙瑞芬,等. 向日葵核心种质资源基础类群划分研究[J]. 华北农学报,2017,32(4):107-113.
- [6] Hao Y Q, Zong X M, Ren P, et al. Basic helix - loop - helix (bHLH) transcription factors regulate a wide range of functions in *Arabidopsis* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(13):7152.
- [7] 李红霞,汪 好,张战凤,等. 植物转录因子与作物抗逆胁迫关系的研究进展[J]. 麦类作物学报,2013,33(3):613-618.
- [8] 赵秋竹,栾鑫超,李婷婷,等. 大豆 Dof 类转录因子家族生物信息学分析及油脂合成相关 *GmDof4* 基因的克隆[J]. 吉林农业大学学报,2025,47(5):864-875.
- [9] 刘 俊,金 钰,吴耀松,等. 植物 Dof 基因结构特点及功能研究进展[J]. 生物技术通报,2020,36(10):180-190.
- [10] Yanagisawa S, Izui K. Molecular cloning of two DNA - binding proteins of maize that are structurally different but interact with the same sequence motif [J]. Journal of Biological Chemistry, 1993, 268(21):16028-16036.
- [11] Gupta S, Malviya N, Kushwaha H, et al. Insights into structural and functional diversity of Dof (DNA binding with one finger) transcription factor [J]. Planta, 2015, 241(3):549-562.
- [12] Skiryecz A, Radziejwoski A, Busch W, et al. The DOF transcription factor OBPI is involved in cell cycle regulation in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2008, 56(5):779-792.
- [13] Xu P P, Chen H Y, Ying L, et al. *AtDOF5. 4/OBP4* a DOF transcription factor gene that negatively regulates cell cycle progression and cell expansion in *Arabidopsis thaliana* [J]. Scientific Reports, 2016, 6:27705.
- [14] Rueda - Romero P, Barrero - Sicilia C, Gómez - Cadenas A, et al. *Arabidopsis thaliana* DOF6 negatively affects germination in non - after - ripened seeds and interacts with TCP14 [J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(5):1937-1949.
- [15] Wei P C, Tan F, Gao X Q, et al. Overexpression of *AtDOF4. 7*, an *Arabidopsis* DOF family transcription factor, induces floral organ abscission deficiency in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2010, 153(3):1031-1045.
- [16] Yanagisawa S. Dof domain proteins: plant - specific transcription factors associated with diverse phenomena unique to plants [J]. Plant & Cell Physiology, 2004, 45(4):386-391.
- [17] Wu J D, Chen L, Chen M C, et al. The DOF - domain transcription factor ZmDOF36 positively regulates starch synthesis in transgenic maize [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10:465.
- [18] Wu Y F, Yang W Z, Wei J H, et al. Transcription factor OsDOF18 controls ammonium uptake by inducing ammonium transporters in rice roots [J]. Molecules and Cells, 2017, 40(3):178-185.
- [19] Wu Q, Li D Y, Li D J, et al. Overexpression of OsDof12 affects plant architecture in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6:833.
- [20] Li D J, Yang C H, Li X B, et al. Functional characterization of rice OsDof12 [J]. Planta, 2009, 229(6):1159-1169.
- [21] Rojas - Gracia P, Roque E, Medina M, et al. The DOF transcription factor SIDOF10 regulates vascular tissue formation during ovary development in tomato [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10:216.
- [22] 胡艺伟. 光调控茄子花青素合成途径中 *SmCDF2* 的功能研究 [D]. 上海:上海交通大学,2020.
- [23] Li Y, Tian M M, Feng Z, et al. GhDof1. 7, a dof transcription factor, plays positive regulatory role under salinity stress in upland cotton [J]. Plants, 2023, 12(21):3740.
- [24] Sun W J, Xu H S, Zhan J Y, et al. The transcription factor DNA binding with one finger 27 suppresses chilling tolerance by negatively regulating flavonoid accumulation in quinoa [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 309:143009.
- [25] Gou C M, Li J, Chen B, et al. Genome wide identification of Dof transcription factors in Carmine radish reveals *RsDof33* role in cadmium stress and anthocyanin biosynthesis [J]. Scientific Reports, 2025, 15:4766.
- [26] 金时酉,刘 畅,焦 鹏,等. 玉米抗冷相关基因 *ZmSAMDC* 克隆及生物信息学分析[J]. 吉林农业大学学报,2021,43(6):651-656.
- [27] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7. 0 for bigger datasets [J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7):1870-1874.
- [28] Badouin H, Gouzy J, Grassa C J, et al. The sunflower genome provides insights into oil metabolism, flowering and Asterid evolution [J]. Nature, 2017, 546(7656):148-152.
- [29] Li J J, Islam F, Huang Q, et al. Genome - wide characterization of WRKY gene family in *Helianthus annuus* L. and their expression profiles under biotic and abiotic stresses [J]. PLoS One, 2020, 15(12):e0241965.
- [30] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real - time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ Method [J]. Methods, 2001, 25(4):402-408.
- [31] 张焕欣,李国权,杨惠栋,等. 甜瓜 Dof 家族全基因组鉴定与表达分析[J]. 园艺学报,2019,46(11):2176-2187.

陆红臣,刘陈玮,王 凡,等. 蚕豆 *VfSOC1* 基因的克隆及非生物胁迫下表达分析[J]. 江苏农业科学,2026,54(8):51-58.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2026.08.007

蚕豆 *VfSOC1* 基因的克隆及非生物胁迫下表达分析

陆红臣,刘陈玮,王 凡,卞晓春,徐仁超,吴春芳

(江苏沿江地区农业科学研究所,江苏南通 226012)

摘要:在蚕豆中克隆开花信号整合因子 *SOC1*,分析其编码蛋白的理化特性,明确该基因的组织表达特性并初步探究其在蚕豆非生物胁迫应答中的潜在功能,以期蚕豆花期调控以及抗逆育种提供理论依据。研究以拟南芥 *SOC1* 蛋白序列为检索模板,通过本地 BLAST 获得候选基因 *VfSOC1* (ID:Vfaba. Tiffany. R1. 4g112200. 1) 的编码序列;以蚕豆品种通鲜 2 号混合组织 cDNA 为模板,设计特异性引物通过 PCR 扩增、测序后获得 *VfSOC1* 编码区序列;利用多种生物信息学工具对 *VfSOC1* 的蛋白特性、保守结构域、启动子顺式调控元件及蛋白互作网络进行系统性分析;采用实时荧光定量 PCR 对 *VfSOC1* 在蚕豆多个组织(根、茎、叶、蕾、荚果等)及非生物胁迫(干旱胁迫、盐胁迫、低温胁迫)和激素(脱落酸、茉莉酸甲酯)下的表达水平进行分析。结果表明,*VfSOC1* CDS 长度为 627 bp,编码 208 个氨基酸,蛋白分子量为 24.21 ku,预测等电点为 7.53,平均亲水性系数为 -0.71,无跨膜结构域,属于不稳定的亲水核蛋白;*VfSOC1* 含有 MADS_MEF2_like 和 K-box 结构域,属于 MADS-box 家族成员;启动子分析揭示 *VfSOC1* 含有 G-box、ABRE 等顺式元件,可响应光周期、激素及逆境胁迫;系统进化分析表明其与豌豆(85.99%)、苜蓿(75.60%)亲缘关系最近;表达分析显示 *VfSOC1* 在叶片、荚果和种子中高表达,且显著响应干旱(6 h 峰值)、盐胁迫(1 h 诱导)、脱落酸(12 h 响应)及低温(30 d 积累);蛋白互作网络预测其与开花调控核心蛋白(LFY、FRI、VRN2 等)存在互作。上述结果表明:*VfSOC1* 是蚕豆中 1 个典型的 MADS-box 家族基因,参与多种逆境胁迫响应,可能通过整合春化信号及激素通路在花期调控中起核心作用,是具备多功能潜力的候选基因,可用于后续转基因功能验证与分子育种研究。

关键词:蚕豆;*VfSOC1*;克隆;非生物胁迫;表达分析

中图分类号:S188;S643.601 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2026)08-0051-08

蚕豆(*Vicia faba* L.)为一年生或越年生草本植

物,是长三角及周边地区重要越冬作物之一,具备多元利用价值,既可作为粮食和蔬菜,还可用于饲料生产及绿肥还田^[1-2]。蚕豆籽粒中蛋白质含量高,同时富含碳水化合物、矿物质(钙、铁、锌等)、维生素以及多种生物活性化合物,具有重要的食用价值^[3]。我国蚕豆种植面积和总产均居世界首位,实践证明蚕豆春化可促使花期提早,设施条件下产量显著增加,可有效提高种植效益^[3-5]。近期蚕豆基因组的发布为相关的分子生物学研究提供了重要

收稿日期:2025-07-31

基金项目:江苏省种业揭榜挂帅项目[编号:JBGS(2021)058];江苏现代农业产业技术体系建设项目[编号:JATS(2023)158];江苏沿江地区农业科学研究所博士基金[编号:YJBS(2023)003]。

作者简介:陆红臣(1993—),男,河南周口人,博士,助理研究员,主要从事蚕豆春化基因挖掘及育种研究。E-mail:20230017@jaas.ac.cn。

通信作者:吴春芳,硕士,研究员,主要从事蚕豆遗传育种研究。

E-mail:jsyias@163.com。

[32]朱云娜,蔡墩旭,郑开聪,等. 菜心 Dof 基因克隆、生物信息学分析及表达分析[J]. 分子植物育种,2022,20(13):4224-4233.

[33]何佳琦,翟莹,张军,等. 大豆转录因子 GmDof1.5 的克隆与非生物胁迫诱导表达[J]. 浙江农业学报,2021,33(1):1-7.

[34]Yu H Y, Ma Y Y, Lu Y J, et al. Expression profiling of the Dof gene family under abiotic stresses in spinach [J]. Scientific Reports, 2021, 11:14429.

[35]Sun Z F, Guo T T, Liu Y, et al. The roles of *Arabidopsis* CDF2 in transcriptional and posttranscriptional regulation of primary microRNAs[J]. PLoS Genetics, 2015, 11(10):e1005598. Sciences,

2024, 25(16):9103.

[36]Zhao C, Bai H, Li C S, et al. Genome-wide identification of the DOF gene family in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) and functional validation of AcDOF22 in response to drought stress [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(16):9103.

[37]曹丽茹,王国瑞,马晨晨,等. 玉米逆境胁迫响应因子 *ZmDof21* 的克隆及功能分析[J]. 玉米科学,2024,32(10):23-32.

[38]Zang D D, Wang L N, Zhang Y M, et al. *ThDof1.4* and *ThZFP1* constitute a transcriptional regulatory cascade involved in salt or osmotic stress in *Tamarix hispida* [J]. Plant Molecular Biology, 2017, 94(4):495-507.