

小麦八氢番茄红素合成酶家族的生物信息学分析及表达模式检测

石永春¹, 乔占锋¹, 卢了一², 李欢欢¹

(1.河南农业大学 生命科学学院, 郑州 450046; 2.河南省人民胜利渠保障中心, 河南 新乡 453000)

摘要:八氢番茄红素合成酶(phytoene synthase, PSY)是植物中类胡萝卜素合成途径的限速酶.提高 PSY 基因的表达量有助于提升植株中类胡萝卜素含量,进而提高植物的光合作用和籽粒品质,但小麦(*Triticum aestivum*)中有关 PSY 的研究报道较少.以拟南芥和水稻 PSY 蛋白序列为模板,从小麦数据库中筛选到 9 个同源蛋白序列,通过生物信息学技术分析后发现,9 个小麦 PSY 蛋白(TaPSYs)可聚为 3 组,均为疏水性蛋白,皆定位于叶绿体,都含有 SQS-PSY 基序,基序内以 α -螺旋结构为主.分析 PSY 基因的启动子序列,发现含有脱落酸(abscisic acid, ABA)、水杨酸(salicylic acid, SA)、茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)等激素的响应元件和逆境响应元件.对小麦幼苗分别用 ABA、SA、MeJA 和聚乙二醇 6000(polyethylene glycol 6000, PEG6000)分别处理 6 h 后,RT-qPCR 检测叶片中 TaPSY1-6 的表达量,发现都显著下调,但 TaPSY7-9 基因的表达水平在不同品种的小麦中差异较大,认为 TaPSY7-9 基因的表达水平与品种间的抗性差异有关.本研究对小麦 PSY 蛋白家族的生物信息学分析为深入探讨小麦 PSY 的功能提供了理论参考,对小麦 PSY 基因家族的表达模式分析为小麦抗性育种提供新的候选基因.

关键词:小麦; PSY; 生物信息; 启动子; 表达分析

中图分类号: Q527

文献标志码: A

文章编号: 1000-2367(2025)05-0016-08

类胡萝卜素是类异戊二烯的衍生物,多为 40C 化合物^[1-2],属于脂溶性色素^[3],参与植物光系统的组装,并与植物光保护机制有关^[2].八氢番茄红素合成酶(phytoene synthase, PSY)是催化植物中类胡萝卜素合成途径的第一步,使两个牻牛儿苗基焦磷酸(geranylgeranyl pyrophosphate, GGPP)合成一分子的八氢番茄红素(phytoene)^[4-5].植物中一般含有多个 PSY 基因,如番茄(*Solanum lycopersicum*)^[4]、水稻(*Oryza sativa*)^[6]和玉米(*Zea mays*)^[7]中各存在 3 个,木薯(*Manihot esculenta* Crantz)^[8]中有 2 个,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中只存在 1 个^[9].PSY 基因的功能在双子叶植物中研究较多.如过表达 PSY 基因使油菜(*Brassica campestris*)籽中类胡萝卜素含量增加 43~50 倍^[10],使拟南芥愈伤组织和根中的类胡萝卜素含量显著增加^[11];沉默烟草(*Nicotiana tabacum*)中的 PSY 基因^[12]或敲除番茄中的 PSY 基因^[13]会造成植株的光合效率下降,以及植株对强光的敏感性. PSY 基因的表达受到 ABA、盐、干旱和光周期等因素的影响^[5].如拟南芥在光照下诱导光敏色素互作因子 PIF1(phytochrome interacting factors)快速降解,导致 PSY 基因表达增加^[14].PSY 基因家族的不同成员在植物不同组织中表达情况不同.如番茄 *SlPSY1* 主要在果实中表达, *SlPSY2* 主要在花和叶片中表达, *SlPSY3* 则只在根部表达^[13].但单子叶植物中 PSY 基因家族的表达差异和功能研究仅有少量报道,如水稻中 *OsPSY1* 基因受光诱导表达, *OsPSY3* 基因在 ABA、盐和干旱处理过程中上调表达^[6];藏红花(*Crocus sativus*)的 *CsPSY1* 主要在叶片中表达, *CsPSY2* 主要在柱头中表达, *CsPSY3* 主

收稿日期: 2024-01-10; **修回日期:** 2024-03-14.

基金项目:国家自然科学基金(32272070);河南省人民胜利渠保障中心科研项目(2022001).

作者简介:石永春(1978—),女,河南宝丰人,河南农业大学教授,研究方向为植物次生代谢调控, E-mail: shiyongchun@henau.edu.cn.

通信作者:李欢欢, E-mail: lihuanhuanhappy@henau.edu.cn.

引用本文:石永春, 乔占锋, 卢了一, 等.小麦八氢番茄红素合成酶家族的生物信息学分析及表达模式检测[J].河南师范大学学报(自然科学版), 2025, 53(5): 16-23. (Shi Yongchun, Qiao Zhanfeng, Lu Liaoyi, et al. Bioinformatic identification and expression profile analysis of PSY gene family in wheat[J]. Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition), 2025, 53(5): 16-23. DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2024.01.10.0003.)

要在根部表达^[15].

小麦属单子叶植物,也是我国主要的粮食作物之一.小麦中报道了 3 个 *PSY* 基因^[16].其中 *TaPSY1* 与小麦籽粒着色有关,影响小麦籽粒中类胡萝卜素含量^[17],*TaPSY3* 对于旱和高温胁迫敏感^[16].可见研究 *PSY* 基因的功能和表达模式对于小麦抗逆育种和籽粒质量调控都有重要作用.本文以拟南芥和水稻 *PSY* 蛋白(*AtPSY* 和 *OsPSY1*)的氨基酸序列为模板,在小麦基因组数据库中检索,对获得的小麦 *PSY* 蛋白序列进行生物信息学分析,并对其相应激素和胁迫的表达模式进行初步研究,以期为小麦 *PSY* 家族研究提供理论参考.

1 材料和方法

1.1 实验材料及处理方法

小麦 *PSY* 蛋白序列的获取:以拟南芥 *PSY*(*AtPSY*,GI:NP_001031895)和水稻 *PSY1*(*OsPSY1*,GI:NP_001389894)蛋白的氨基酸序列为模板,在小麦数据库(<http://wheatomics.sdau.edu.cn/>,Chinese Spring protein v1.0)中检索,选取与 *AtPSY* 和 *OsPSY1* 同源性都高于 65%且含有 *PSY* 特有的天冬氨酸富集区和酶活性位点 YAKTF 和 RAYV 的序列进行分析.

基因表达分析所用小麦为豫麦 49 和西农 979,在气候室(温度 20 ℃;相对湿度 40%;光周期 16 h 光照:8 h 黑暗;光照强度 3 000 lx)培养至两叶一心期,分别用 250 mmol · L⁻¹ NaCl、100 μmol · L⁻¹ ABA、15% PEG6000、500 μmol · L⁻¹ MeJA、100 mmol · L⁻¹ SA 处理,在处理 0、3、6、24 h 取展开叶,液氮速冻后储藏至 -80 ℃ 保存备用.每种处理设 3 个生物学重复.

1.2 生物信息学分析方法

多序列对比采用 DNAMAN 软件进行,进化分析用 MEGA7 软件 Neighbor-Joining 法绘制系统进化树.采用 ProtParam(<https://web.expasy.org/protparam/>)在线软件进行蛋白质理化性质分析.亚细胞定位的预测采用 Cello(<http://cello.life.nctu.edu.tw/>)在线软件进行,采用 SOPMA(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)在线工具进行二级结构分析.采用 MOTIF 在线软件(<https://www.genome.jp/tools/motif/>)分析蛋白质的基序.*TaPSY* 基因的启动子序列从 WheatOmics 1.0 在线数据库(<http://202.194.139.32/>)获取,选取基因起始密码子 ATG 上游 2 000 bp 的序列,用 Plant CARE(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare>)在线软件分析顺式作用元件.

1.3 RNA 提取和 RT-qPCR

从小麦数据库获得 9 个 *TaPSY* 基因的 ORF 序列,并据此设计引物(附录表 S1).按照 RNA 提取试剂盒(北京诺贝莱生物科技有限公司)的方法,将冻存的小麦叶片用液氮研磨为匀浆后提取 RNA.参照反转录试剂盒(北京诺贝莱生物科技有限公司)的方法将 RNA 反转录为 cDNA,以 β -actin 作为内参基因,用荧光定量 PCR 试剂盒(北京诺贝莱生物科技有限公司)的方法进行 RT-qPCR 检测.

1.4 数据分析

采用 Excel 2019 进行数据分析,采用 Student's *T*-test 进行差异显著性分析.

2 结果与分析

2.1 小麦 *TaPSY* 基因家族成员鉴定

以 *AtPSY*(GI:NP_001031895)和 *OsPSY1*(GI:NP_001389894)的氨基酸序列为模板,在小麦基因组数据库中检索,将所获序列采用 SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)和 Pfam(<https://pfam.xfam.org/>)在线软件进行结构域预测,去除不含 *PSY* 完整结构域的蛋白,共获得 9 个高度同源序列,分别命名为 *TaPSY1-9*(附录表 S2).

2.2 小麦 *TaPSY* 的进化分析

通过 MEGA 软件对比 *TaPSY1-9*、*AtPSY* 和 *OsPSY1* 蛋白的氨基酸序列,并构建系统进化树(图 1).发现 9 个小麦 *PSY* 蛋白可以聚为 3 组,其中 *TaPSY1-2、3* 为第 I 组,与 *OsPSY1* 和 *AtPSY* 亲缘关系较近;

TaPSY4、5、6 聚为第Ⅱ组;TaPSY7、8、9 聚为第Ⅲ组.在小麦基因组数据库分析 *TaPSY* 基因在小麦染色体的分布情况,发现 *TaPSY*1、2、3 分别位于小麦 7A、7B、7D 染色体,含有 7 个外显子;*TaPSY*4、5、6 分别位于染色体 5A、5B、5D 的短臂,含有 6 个外显子和 5 个内含子;*TaPSY*7、8、9 分别位于染色体 5A、5B、5D 的长臂,含有 4 个外显子和 3 个内含子.比对上述蛋白质的氨基酸序列,发现 TaPSY 序列的长度变化从 391 到 428 个氨基酸,且部分区域高度保守,尤其在 PSY 家族共有的天冬氨酸富集区:DXXXD/DXXD(图 2 中绿色方框内),以及酶活位点:YAKTF 和 RAYV 基序(图 2 中黑色方框内).

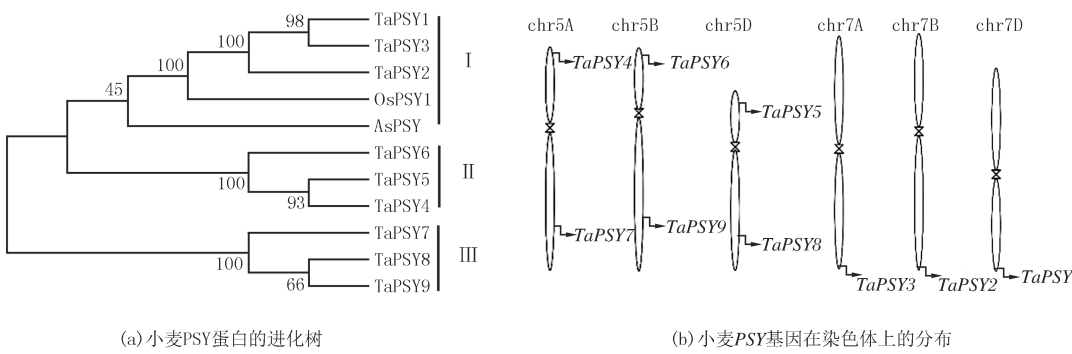


图1 进化树及染色体分布分析
Fig.1 Phylogenetic tree and chromosome distribution analysis

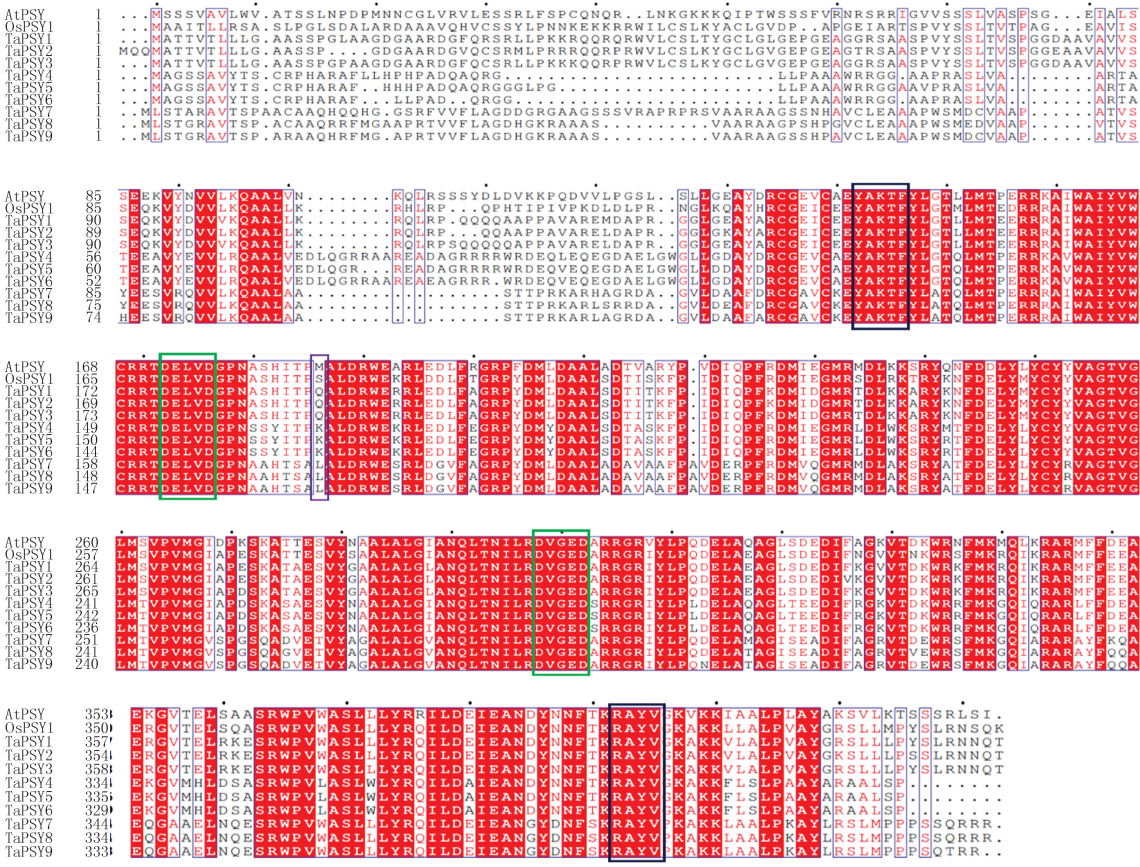


图2 PSY氨基酸序列比对
Fig.2 Alignment of the amino acid sequence of PSY

2.3 TaPSY 的理化性质和亚细胞定位分析

采用 ProtParam 分析 TaPSY 的理化性质(附录表 S3),发现 TaPSY 的氨基酸数目在 391~428 之间,相对分子质量在 43.74~47.66 kDa 之间,第Ⅰ组 TaPSY 肽链最长,氨基酸数目分别为 427、424、428 个;第Ⅱ组

肽链长度最短,氨基酸数目分别为396、397、391;第Ⅲ组肽链长度居中,氨基酸数目分别为413、403、401。在等电点(pI)方面,除TaPSY5为6.98,属于中性蛋白质以外,其余TaPSY的pI皆大于7,属于偏碱性蛋白质,以TaPSY9的pI值最大(9.25)。9个小麦PSY蛋白质都属于疏水性蛋白质,其中第Ⅱ组TaPSY的疏水性最强,分别为-0.369、-0.399、-0.354;第Ⅰ组TaPSY居中;第Ⅲ组TaPSY疏水性最弱,分别为-0.188、-0.154、-0.134。TaPSY的不稳定系数皆大于40,其中第一组TaPSY的不稳定系数接近OsPSY1,第三组TaPSY的不稳定系数接近AtPSY。亚细胞定位预测结果显示,叶绿体的分值最高,说明TaPSY都定位于叶绿体(附录表S4)。

2.4 二级结构和基序分析

分析PSY蛋白的二级结构和基序(图3),发现所有PSY蛋白都只含有一个SQS-PSY基序(附录表S5)。将所有PSY蛋白的基序用绿色方框对齐,发现PSY蛋白基序内的二级结构高度相似,均以 α -螺旋为主,在第300、350,以及370个aa附近存在 β -转角结构。在绿色方框外序列的二级结构存在较大的差别。TaPSY6、8、9的N末端结构以 α -螺旋为主,TaPSY1、2、3、4、5、7的N末端以无规则卷曲居多,而TaPSY1、2、3的N末端存在较多的 β -折叠结构。绿色方框外,TaPSY的C末端结构较为相似,大多以 α -螺旋和无规则卷曲结构结尾。

2.5 启动子分析

为分析TaPSY基因的表达调控机制,通过Plant CARE软件分析了TaPSY基因启动子的顺式作用元件。发现除一些核心启动子响应元件外,TaPSY基因的启动子中还存在光响应元件、干旱响应元件、低温响应元件、缺氧信号响应元件、生长素响应元件、赤霉素响应元件、水杨酸响应元件、脱落酸响应元件、茉莉酸甲酯响应元件等(附录表S6),可见TaPSY基因参与多种生长发育和非生物胁迫响应过程。

2.6 小麦TaPSY响应多种胁迫的表达模式分析

RT-qPCR结果(图4)显示,盐胁迫处理后,TaPSY1-6基因的表达量在豫麦49和西农979的叶片中都显著降低,且在6h时降至最低水平,在24h时基本恢复;TaPSY7在豫麦49中变化不明显,但在西农979中在盐胁迫24h时表达量达到0h的1.71倍;在豫麦49中TaPSY8和9在盐胁迫24h时表达量都显著高于对照,而在西农979中显著低于对照。

MeJA处理后,在豫麦49中,TaPSY1-6从0~24h都显著下调,而TaPSY7-9则都在3h和6h显著上调,分别达到对照水平的6~8倍,而后在24h显著下调并低于对照水平。在西农979中,TaPSY1-6从0~6h都显著下调,而24h时上调并显著高于对照;TaPSY7-9在6h显著上调,并高于对照,但仅TaPSY7在24h时还维持高水平表达。

PEG6000处理后,在豫麦49中,TaPSY1-6、9从0h到24h都出现先降低再恢复的表达趋势,但TaPSY7则在0和24h都出现高表达,TaPSY8则出现先轻微升高,再持续下降的表达趋势。在西农979中,所有TaPSY基因从0~24h显著表达水平都下降。

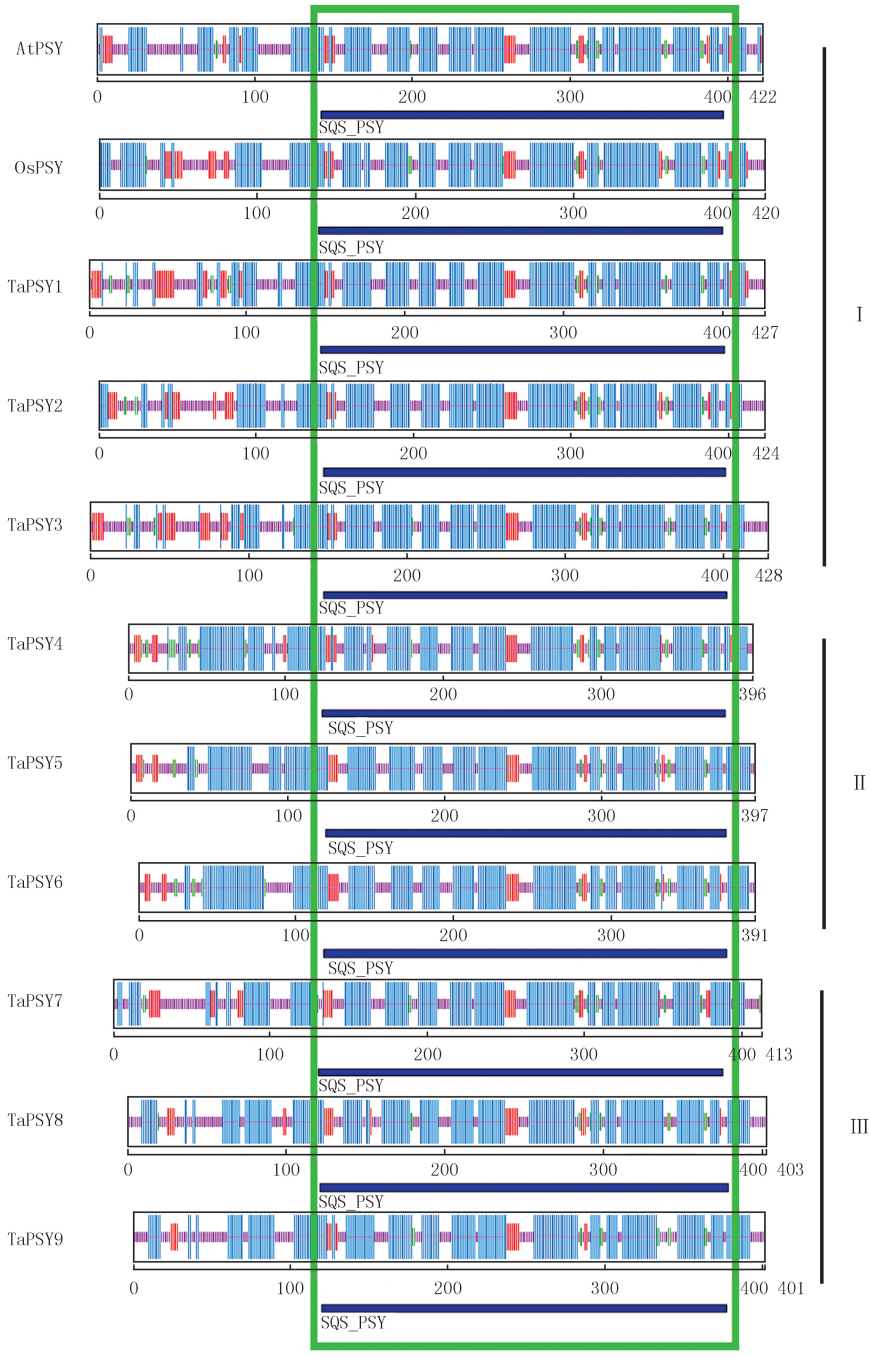
ABA处理后,豫麦49中TaPSY1-6都出现先降低再恢复的表达趋势,但西农979中TaPSY1-6在24h的恢复程度显著高于豫麦49,约为0h的2倍。TaPSY7在豫麦49中表达变化不明显,但在西农979中其24h表达量为0h的2倍。TaPSY8和9在ABA处理后显著下调。

SA处理后,豫麦49中TaPSY的表达变化较为一致,大多在6h时表达量达到最低,之后恢复。但在西农979中TaPSY1、2、3的表达量先降低后在24h升高,接近0h时的2倍,其他TaPSY都出现先下降,24h时又恢复的趋势。

3 讨 论

PSY属于类异戊二烯生物合成酶C1超家族,是植物类胡萝卜素合成途径的限速酶^[6,17]。本研究依据拟南芥和水稻PSY的蛋白序列,在小麦中鉴定到9个TaPSY基因,分布于6条染色体上。分析蛋白质一级结构发现,TaPSY1、2、3的第1个天冬氨酸富集区DELVD后的第10个氨基酸为谷氨酰胺(图1),CAO等^[18]在番茄中发现的高活性PSY1具有相同结构,FLOWERIK等^[16]发现TaPSY1具有高酶活性,推测第Ⅰ组

TaPSY 的酶活性都较高.二级结构分析发现,9 种 TaPSY 只含有 SQS-PSY 基序,该基序含有 2 个富含天冬氨酸的结构用于结合底物^[19],基序内 α -螺旋, β -折叠, β -转角在数目和位置上都高度一致(图 2 和图 3),证明 TaPSY 在功能上高度保守.



注:竖线从长到短依次为 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角、无规则卷曲.

图3 二级结构分析

Fig. 3 Analysis of secondary structure

不同 TaPSY 基因的表达调控机制不同.在烟草中,MeJA 处理 8 h 时,*NtPSY1* 上调约为 *NtPSY2* 的 7 倍^[12].盐处理后,水稻叶片中 *OsPSY3* 基因表达出现上调^[6].用 ABA、MeJA、SA 处理禾本科植物结缕草(*Zoysia japonica*)^[20],其 *ZjPSY* 表达量均出现先下调后恢复的趋势.干旱处理玉米^[21],*ZmPSY2*、3 在叶片中的表达量持续上调,但 *ZmPSY1* 的表达量波动很小.小麦 PSY 基因启动子的分析结果显示,*TaPSY1-9* 启动子都

含有光反应元件、ABA 和 MeJA 响应元件,*TaPSY*1-6 启动子还含有受干旱诱导的 MYB 结合位点,*TaPSY*2、4 启动子含有参与水杨酸反应的顺式作用元件.RT-qPCR 的检测结果表明,两种小麦的 *TaPSY*1-6 在 ABA 处理 6 h 后都出现下调,在 24 h 后恢复;*TaPSY*7-9 的表达变化在不同的小麦品种中变化较大,这与结缕草 *ZjPSY* 的表达情况类似.MeJA 处理后,两种小麦中 *TaPSY*1-6 表达量在 6 h 时都显著下调,而 *TaPSY*7-9 则显著上调.豫麦 49 较西农 979 更为抗旱,在 PEG6000 模拟干旱处理小麦后,不同小麦中的 *PSY* 表达情况不同,豫麦 49 叶片中 *PSY* 的表达出现先降低后升高的趋势,而西农 979 则持续降低,这可能与材料间的表达调控机制不同有关.

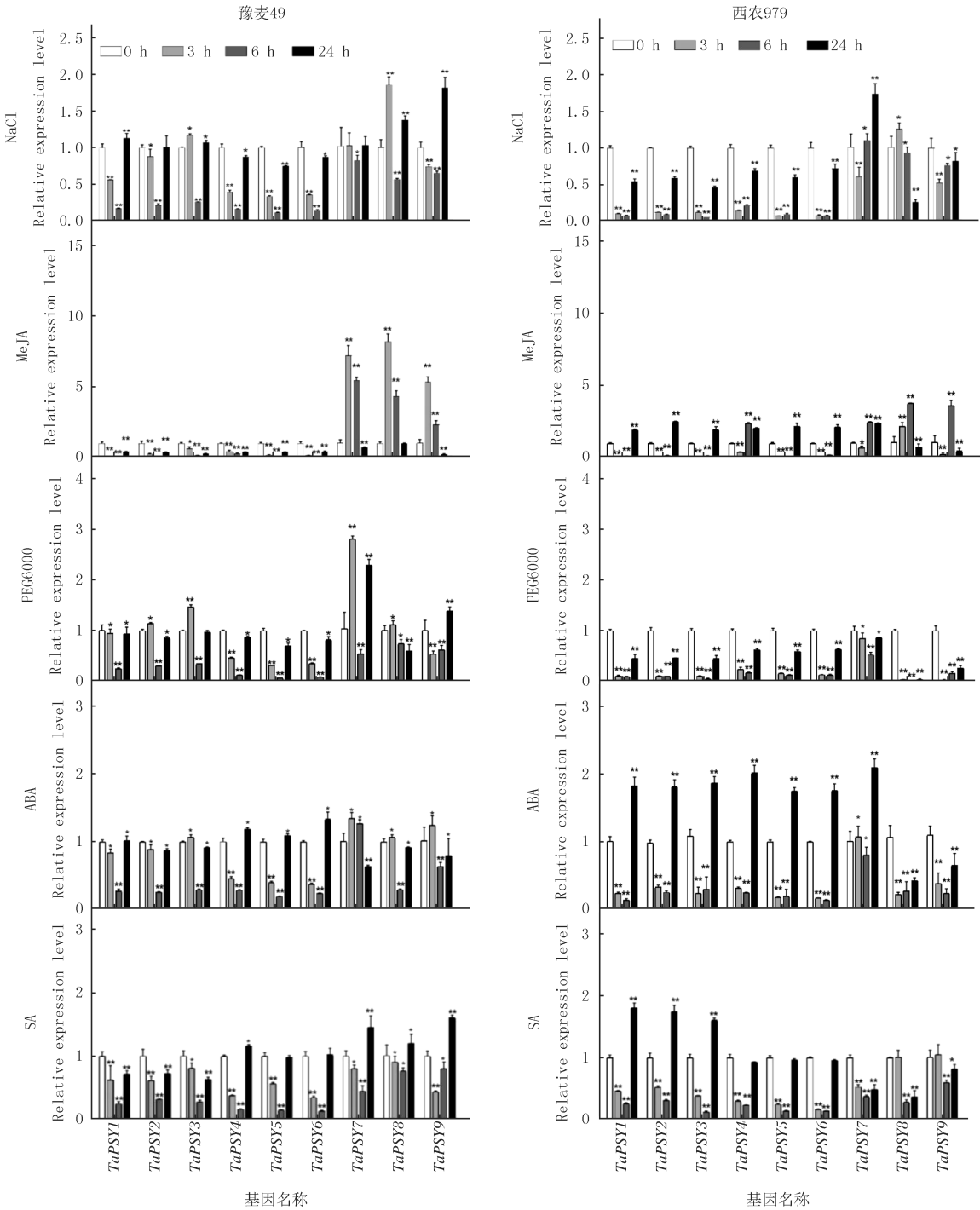


图4 小麦*TaPSY*基因在不同胁迫下的相对表达水平

Fig.4 Relative expression levels of *TaPSY* genes in wheat under different treatment

4 结 论

在小麦基因组数据库中鉴定到 9 个八氢番茄红素合成酶蛋白,发现其可聚为 3 组,分析蛋白序列的二级结构和结构域发现,它们都含有 SQS-PSY 基序,该基序在不同蛋白序列的二级结构中高度保守.启动子分析显示小麦 PSY 基因对光、干旱、ABA 等因素响应.RT-qPCR 检测了不同处理下抗旱性不同的小麦中 TaP-SY 家族的表达差异,发现抗旱性更强的豫麦 49 中,TaPSY7 和 TaPSY8 对 MeJA 和 PEG6000 响应强烈.

附录见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2024.01.10.0003).

参 考 文 献

[1] HIRSCHBERG J.Carotenoid biosynthesis in flowering plants[J].Current Opinion in Plant Biology,2001,4(3):210-218.

[2] 蒿宝珍,马静丽,董嘉强,等.不同耐旱性玉米品种叶片光合特性和产量对干旱胁迫的响应[J].河南师范大学学报(自然科学版),2022,50(6):29-36.

HAO B Z,MA J L,DONG J Q,et al.Response of leaf photosynthesis characteristics and yield of maize hybrids differing in drought tolerance to drought stress[J].Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition),2022,50(6):29-36.

[3] JURČACKOVÁ Z,CIGLANOVÁ D,MUDROŇOVÁ D,et al.Astaxanthin extract from *Haematococcus pluvialis* and its fractions of astaxanthin mono- and diesters obtained by CCC show differential antioxidant and cytoprotective effects on Naïve-mouse spleen cells[J].Antioxidants,2023,12(6):1144.

[4] 张荣,刘淋茹,陈如雪,等.褪黑素对两种穗型冬小麦小花发育成粒及营养供应的影响[J].河南农业大学学报,2024,58(6):908-918.

ZHANG R,LIU L R,CHEN R X,et al.Effect of melatonin on floret development into grain and carbon nutrient supply in winter wheat with two spike types[J].Journal of Henan Agricultural University,2024,58(6):908-918.

[5] CAZZONELLI C I,POGSON B J.Source to sink;regulation of carotenoid biosynthesis in plants[J].Trends in Plant Science,2010,15(5):266-274.

[6] WELSCH R,WÜST F,BÄR C,et al.A third phytoene synthase is devoted to abiotic stress-induced abscisic acid formation in rice and defines functional diversification of phytoene synthase genes[J].Plant Physiology,2008,147(1):367-380.

[7] LI F Q,VALLABHANENI R,WURTZEL E T.PSY3 a new member of the phytoene synthase gene family conserved in the Poaceae and regulator of abiotic stress-induced root carotenogenesis[J].Plant Physiology,2008,146(3):1333-1345.

[8] ARANGO J,WÜST F,BEYER P,et al.Characterization of phytoene synthases from cassava and their involvement in abiotic stress-mediated responses[J].Planta,2010,232(5):1251-1262.

[9] ÁLVAREZ D,VOß B,MAASS D,et al.Carotenogenesis is regulated by 5'UTR-mediated translation of phytoene synthase splice variants [J].Plant Physiology,2016,172(4):2314-2326.

[10] LINDGREN L O,STÅLBERG K G,HÖGLUND A S.Seed-specific overexpression of an endogenous *Arabidopsis* phytoene synthase gene results in delayed germination and increased levels of carotenoids, chlorophyll, and abscisic acid[J].Plant Physiology,2003,132(2):779-785.

[11] MAASS D,ARANGO J,WÜST F,et al.Carotenoid crystal formation in *Arabidopsis* and carrot roots caused by increased phytoene synthase protein levels[J].PLoS One,2009,4(7):e6373.

[12] WANG Z J,ZHANG L,DONG C,et al.Characterization and functional analysis of phytoene synthase gene family in tobacco[J].BMC Plant Biology,2021,21(1):32.

[13] GIORIO G,STIGLIANI A L,D'AMBROSIO C.Phytoene synthase genes in tomato(*Solanumlycopersicum* L.)-new data on the structures,the deduced amino acid sequences and the expression patterns[J].The FEBS Journal,2008,275(3):527-535.

[14] TOLEDO-ORTIZ G,HUQ E,RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN M.Direct regulation of phytoene synthase gene expression and carotenoid biosynthesis by phytochrome-interacting factors[J].PNAS2010,107(25):11626-11631.

[15] AHRAZEM O,DIRETTO G,ARGANDOÑA PICAZO J,et al.The specialized roles in carotenogenesis and apocarotenogenesis of the phytoene synthase gene family in saffron[J].Frontiers in Plant Science,2019,10:249.

[16] FLOWERIK A,ALOK A,KUMAR J,et al.Characterization and expression analysis of phytoene synthase from bread wheat (*Triticum aestivum* L.)[J].PLoS One,2016,11(10):e0162443.

[17] ZHAI S N,LI G Y,SUN Y W,et al.Genetic analysis of phytoene synthase 1 (Psy1) gene function and regulation in common wheat[J].BMC Plant Biology,2016,16(1):228.

[18] CAO H B,LUO H M,YUAN H,et al.A neighboring aromatic-aromatic amino acid combination governs activity divergence between tomato phytoene synthases[J].Plant Physiology,2019,180(4):1988-2003.

[19] PANDIT J,DANLEY D E,SCHULTE G K,et al.Crystal structure of human squalene synthase.A key enzyme in cholesterol biosynthesis [J].The Journal of Biological Chemistry,2000,275(39):30610-30617.

[20] DONG D,ZHAO Y,TENG K,et al.Expression of ZjPSY,a phytoene synthase gene from *Zoysia japonica* affects plant height and photo-synthetic pigment contents[J].Plants (Basel),2022,11(3):395.

[21] LI F Q,VALLABHANENI R,YU J,et al.The maize phytoene synthase gene family:overlapping roles for carotenogenesis in endosperm, photomorphogenesis,and thermal stress tolerance[J].Plant Physiology,2008,147(3):1334-1346.

Bioinformatic identification and expression profile analysis of PSY gene family in wheat

Shi Yongchun¹, Qiao Zhanfeng¹, Lu Liaoyi², Li Huanhuan¹

(1. College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China;
2. Henan Provincial People's Victory Canal Security Center, Xinxiang 453000, China)

Abstract: Phytoene synthase(PSY) is a rate limiting enzyme in the carotenoid synthesis pathway in plants. Increasing the expression level of *PSY* gene helps to increase the carotenoid content in plants, thereby improving photosynthesis and grain quality. However, there is still a significant gap in research on PSY in wheat(*Triticum aestivum*). Here, the PSY protein sequences of *Arabidopsis* and rice were used as templates and screened 9 homologous sequences from a wheat database. Through bioinformatics analysis, it was found that they can be clustered into three groups, all of which are hydrophobic proteins located in chloroplasts and contain SQS-PSY motifs. α -helix is dominant in secondary structure of PSY in wheat. After analyzing the cis-acting element, the hormone responsive elements such as response to abscisic acid(ABA), salicylic acid(SA), methyl jasmonate(MeJA), and stress responsive elements were found in promoters of *TaPSY* genes. RT-qPCR technique was used to detect the expression levels of *TaPSY*1-6 in the leaves of wheat seedlings treated with ABA, SA, MeJA, and polyethylene glycol 6000(PEG6000) for 6 hours, respectively. It was found that they were significantly downregulated. However, the expression levels of *TaPSY*7-9 varied greatly among wheat varieties, suggesting that the expression levels of *TaPSY*7-9 are related to the stress resistance differences between varieties. The bioinformatics analysis of the wheat PSY protein family in this study provides a theoretical reference for further exploring the function of wheat *PSY*, and the expression profile analysis of the wheat PSY gene family provides new candidate genes for wheat resistance breeding.

Keywords: wheat; PSY; bioinformatics; promoter; expression analysis

[责任编辑 刘洋 赵晓华]

附 录

表 S1 引物序列

Tab. S1 Primer sequences

基因名称	正向	反向
TaPSY1	AAGAGGGAGGATATATTTGCC	ACAACAGAGAGGCCCAAAC
TaPSY2	CATCGTCAAAGGAGTCGTCACT	TAAGAGCAGCGATTTCCTCGTAT
TaPSY3	GGTGATGGGCATTGCGCCCGAC	GATCTGCCTCTTCATGAATTTT
TaPSY4	CTGGCACAGCGGGTCT	CCTTGCCACGTAAGCCC
TaPSY5	GCGTCATGCATCTAGACTCCG	TCTACGGGATTGCTTTGCTC
TaPSY6	CCGAGATGTAGGAGAAGACTCGAGG	CAGATGCATGACGCCCTTCT
TaPSY7	GAGCCGGTTCGTCGTGTTCC	GCGACACAGTCCATGCTCCAC
TaPSY8	GTGGAGCATGGAGGACGTCG	GCAGCGGTCTGAAGGCCTC
TaPSY9	CACCGGTTCATGGGCGCAC	CACAGTCCATGCTCCATGGC
β -actin	TGCCAAGAACAGCTCCTCAG	CCACTGAGCACAATGTTGCC

表 S2 筛选序列及命名

Tab. S2 Selected sequence and name

名称	编号	与 AtPSY 的同源性	与 OsPSY 的同源性
AtPSY	NP_001031895	100.00 %	64.29 %
OsPSY1	NP_001389894	64.29 %	100.00 %
TaPSY1	TraesCS7D01G553300	83.80 %	88.80 %
TaPSY2	TraesCS7B01G482000	83.80 %	88.80 %
TaPSY3	TraesCS7A01G557300	83.80 %	87.50 %
TaPSY4	TraesCS5A01G020900	85.20 %	84.00 %
TaPSY5	TraesCS5D01G026000	85.20 %	84.00 %
TaPSY6	TraesCS5B01G017900	85.20 %	84.00 %
TaPSY7	TraesCS5A01G356300	74.70 %	71.10 %
TaPSY8	TraesCS5D01G365100	74.70 %	65.90 %
TaPSY9	TraesCS5B01G358800	74.70 %	65.90 %

表 S3 蛋白质理化性质分析

Tab. S3 Physical and chemical properties

分组	名称	氨基酸个数	蛋白质分子质量/Da	等电点(pI)	不稳定系数(Ⅱ)	总平均亲水性
/	AtPSY	422	47 486.66	9.22	50.76	－0.234
/	OsPSY1	420	47 582.80	8.96	63.06	－0.288
I	TaPSY1	427	47 663.67	9.01	59.12	－0.310
	TaPSY2	424	47 338.47	9.13	57.73	－0.306
	TaPSY3	428	47 660.67	8.96	57.33	－0.316
Ⅱ	TaPSY4	396	44 822.01	7.59	57.24	－0.369
	TaPSY5	397	44 886.94	6.98	56.65	－0.399
	TaPSY6	391	44 177.26	7.55	55.87	－0.354
Ⅲ	TaPSY7	413	45 024.26	9.09	50.51	－0.188
	TaPSY8	403	44139.50	9.24	51.90	－0.154
	TaPSY9	401	43 740.02	9.25	45.17	－0.134

表 S4 亚细胞定位预测

Tab. S4 Prediction of subcellular localization

名称	TaPSY1	TaPSY2	TaPSY3	TaPSY4	TaPSY5	TaPSY6	TaPSY7	TaPSY8	TaPSY9
叶绿体	2.773	3.089	2.742	2.327	2.433	2.800	3.113	2.448	2.362
线粒体	1.146	1.054	1.078	1.207	1.144	0.885	0.574	0.705	0.905
细胞质	0.356	0.322	0.447	0.427	0.427	0.360	0.367	0.638	0.652
细胞核	0.191	0.185	0.228	0.199	0.204	0.267	0.190	0.247	0.202
质膜	0.057	0.030	0.047	0.154	0.133	0.121	0.164	0.224	0.177
液泡	0.047	0.028	0.043	0.140	0.107	0.098	0.157	0.215	0.174
胞外	0.039	0.023	0.033	0.037	0.033	0.036	0.039	0.055	0.052
溶酶体	0.009	0.006	0.011	0.016	0.017	0.011	0.024	0.026	0.026

表 S5 基序说明

Tab. S5 Motif description

基序	描述	Pfam 编号
SQS-PSY	Squalene/phytoene synthase	PF00494

表 S6 小麦 PSY 家族基因启动子顺式作用元件分析

Tab. S6 Analysis of cis-acting elements in PSY promoter in wheat

作用元件	序列	功能	含有该元件的启动子
GATA-motif	GATAGGG/AAGATAAGATT	光响应元件 Light responsive element	1/2/3/4/5/6
CGTCA-motif/ TGACG-motif	CGTCA/TGACG	茉莉酸甲酯响应元件 MeJA-responsive element	1/2/3/4/5/6/7/9
CAT-box	GCCACT	参与分生组织表达 Involved in meristem expression	1/2/3/7/8/9
LTR	CCGAAA	参与低温响应 Response to low-temperature	1/5/6/8/9
ARE	AAACCA	响应缺氧 Anaerobic induction	1/3/4/5/6
TGA-element/ AuxRR-core	AACGAC/GGTCCAT	参与生长素反应 Involved in auxin responsiveness	6/7/9
ABRE	ACGTG/TACGGTC	参与脱落酸反应 Involved in ABA responsiveness	1/2/3/4/5/6/7/8/9
RY-element	CATGCATG	参与种子特异性调节 Involved in seed-specific regulation	4/8/9
GT1-motif/Sp1	GGTTAA/GGGCGG	光响应元件 Light responsive element	1/2/3/5/8
G-box	TACGTG/CACGTT	光响应元件 Light responsive element	1/2/3/4/5/6/7/8/9
GC-motif	CCCCCG	参与缺氧响应 Anoxic specific inducibility	1/2/3/4/6/7/8/9
GARE-motif/ P-box	GTTGTCT/CCTTTTG	赤霉素应答元件 Gibberellin-responsive element	1/2/3/4/5/6/8/9
TCA-element	TCAGAAGAGG	参与水杨酸反应的顺式作用元件 Involved in salicylic acid responsiveness	2/4