

研究报告

Research Report

玉米成蛋白家族的鉴定与生物信息学分析

杜志焯^{1*} 李斌^{1*} 石杨¹ 姜南¹ 陈稷^{2**} 黄进^{1**}

1 成都理工大学生态环境学院, 成都, 610059; 2 四川农业大学农学院, 成都, 611130

* 同等贡献作者

** 共同通信作者, jichen@sicau.edu.cn; huangjin18@cdut.edu.cn

摘要 成蛋白(formins)在细胞骨架的调控中起着关键作用,并通过该过程参与细胞的动态调控。研究成蛋白对进一步了解真核细胞的生长和形态变化具有重要意义。但玉米(*Zea mays*)作为一种重要的农作物,其成蛋白家族并未被系统性鉴定以及分析。因此,本文通过对两种模式植物水稻(*Oryza sativa*)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的成蛋白进行同源性分析,鉴定出玉米中22个成蛋白家族成员,其氨基酸数目为300~1 699 aa,蛋白分子量为36 376.32~184 309.82 kDa,等电点为6.88~9.76。基于它们的结构域组成,这些成员可以分为16个植物I类成蛋白,6个植物II类成蛋白。亚细胞定位和蛋白互作网络分析结果表明,玉米成蛋白主要定位在细胞质膜上,且主要与抑制蛋白(profilin)以及ROP(rho-related GTPases from plants)蛋白互作。GO功能富集网络分析表明,玉米成蛋白主要参与细胞骨架的组成以及介导肌动蛋白聚合过程。顺式作用元件分析结果表明,玉米成蛋白基因受生长素、赤霉素等激素以及光照、昼夜节律、温度等环境因子的调控,并且都存在厌氧诱导相关顺式调节元件。基因表达模式分析表明,玉米成蛋白基因在玉米根部的表达水平更高,暗示成蛋白基因可能在玉米根部起着关键作用。共线性分析表明,水稻和玉米具有较高的共线性,说明两种植物基因组进化的相似性。综上所述,该研究为未来对玉米成蛋白的研究提供了启示,并为进一步研究成蛋白在玉米中的功能提供了方向。

关键词 生物信息学;成蛋白;玉米;蛋白互作;共线性分析

Identification and Bioinformatics Analysis of Formin Family in *Zea mays*

Du Zhiye^{1*} Li Bin^{1*} Shi Yang¹ Jiang Nan¹ Chen Ji^{2**} Huang Jin^{1**}

1 College of Ecology and Environment, Chengdu University of Technology, Chengdu, 610059, China; 2 College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu, 611130

* These authors contributed equally to this work

** Co-corresponding authors, jichen@sicau.edu.cn; huangjin18@cdut.edu.cn

DOI: 10.13417/j.gab.041.001505

Abstract Formins, who play a crucial role in regulating the cytoskeleton, are involved in the dynamic regulation of cell morphology. The research on the function and signal pathways of Formins are meaningful for exploring eukaryotic cells' growth and morphological changes. But the Formin family of *Zea mays* which is one of the most important crop plants, has not been characterized yet. Therefore, in this study, 22 Formin family members in maize have been identified by homology analysis with Formins from the two model plants (rice and *Arabidopsis*). The numbers of amino acids ranged from 300 to 1 699 aa, the molecular weight of the proteins ranged from 36 376.32 to 184 309.82 kDa, and the isoelectric points ranged from 6.88 to 9.76. Based on

基金项目:本研究由国家自然科学基金项目(31870383)资助

引用格式:Du Z.Y., Li B., Shi Y., Jiang N., Chen J., and Huang J., 2022, Identification and bioinformatics analysis of formin family in *Zea mays*, *Genomics and Applied Biology*, 41(7):1505-1520. (杜志焯, 李斌, 石杨, 姜南, 陈稷, 黄进, 2022, 玉米成蛋白家族的鉴定与生物信息学分析, 基因组学与应用生物学, 41(7):1505-1520.)

their domain composition, these maize Formins could be classified as 16 type I Formins and 6 type II Formins. The analyses of the subcellular localization and protein-protein interaction network showed that maize Formin proteins were mainly located in the plasma membrane, and most of them interacted with profilin and ROP protein. Go function enrichment analysis of the network showed that Formin proteins were mainly involved in the composition of the cytoskeleton and the process of actin-binding. The result of *cis*-acting element analysis showed that maize *Formin* genes are regulated by hormones including auxin, gibberellin as well as environmental factor like light, circadian rhythm, temperature and so on. Intriguingly, they all had *cis*-regulatory elements related to anaerobic induction. The expression pattern analysis showed that maize *Formin* genes were highly expressed in the root, implying that they might function in the roots development or activities. Collinearity analysis showed that rice and maize shared high collinearity, suggesting that the similarity of genome evolution between the two species. In summary, the study sheds light on future research on maize Formin family and provides a direction for further research on the function of Formin in corn.

Keywords Bioinformatics; Formin; Maize; Protein-protein interaction; Collinearity analysis

微丝(microfilaments)、微管(microtubule)作为细胞骨架(cytoskeleton)的重要构成部分,在真核、原核细胞的形态变化中起着重要作用。而细胞内成蛋白通过直接调控微丝、微管结构介导细胞骨架形态变化,从而参与真菌、霉菌、后生动物和植物等生物的生长发育过程(Deeks et al., 2002; Wallar and Alberts, 2003; Zigmond, 2004)。在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)中,成蛋白通过聚合或降解肌动蛋白丝,或直接结合微丝(Yang et al., 2011; Zhang et al., 2011; Zhang et al., 2016)、微管(Deeks et al., 2010; Li et al., 2010; Zhang et al., 2011; Sun et al., 2017)从而改变微丝、微管的构型,参与调控细胞的分裂、膨胀以及极性生长,促使细胞形态改变,生成形态特异的组织。植物相关研究也表明,成蛋白调控根毛以及花粉管等,对植物的表型具有相当重要的影响,因此应加深对植物成蛋白功能及结构特性的研究。

当前研究已确定,大部分成蛋白通常具有1个富含脯氨酸的FH1结构域(formin homology 1)以及最保守也是主要行使功能的FH2结构域(formin homology 2),因此成蛋白家族成员的鉴定主要也是以是否具有FH2结构域作为依据。并且根据FH2保守结构域中的序列差异,植物成蛋白被分为2个亚家族。其中,I类亚家族的成蛋白在距离保守基序的核心部分约170~190 aa处含有1个保守的V/IRD-FL基序;II类亚家族的成蛋白则在位于中央基序下游31 aa处含有1个MHYL/YCK基序(Cvrcková et al., 2004)。研究表明FH1和FH2结构域具有不同的功能,其中FH1结构域包含1个或多个聚左旋脯氨酸结构,在胞质中负责募集肌动蛋白单体;FH2结

构域通常结合于肌动蛋白丝的倒刺末端,通过促进肌动蛋白聚合参与肌动蛋白成核以及伸长(Xu et al., 2004; Otomo et al., 2005; Kovar, 2006; Courtemanche, 2018)。如今也认为FH2结构域和抑制蛋白(profilin)可能直接干扰倒刺末端(Funk et al., 2019),或者成蛋白改变末端结构促进profilin释放来刺激肌动蛋白丝生长(Aydin et al., 2018)。在这一个过程中,FH1结构域通过与肌动蛋白和抑制蛋白的复合物(profilin-actin)形成复合物来转运大量肌动蛋白单体以促进FH2结构域聚合成肌动蛋白丝(Chang et al., 1997; Pruyne et al., 2002)。随着物种的进化,成蛋白结构发生改变,导致其功能在不同物种之间出现差异。例如,植物并不存在动物和酵母特异性具有的FH3(formin homology 3)、GBD(GT-Pase binding domain)、DID(diaphanous inhibitory domain)、DAD(diaphanous auto-regulatory domain)等成蛋白激活结构域(Cvrcková et al., 2004; Grunt et al., 2008)。与之相对的是植物特有的结构域包括TM(transmembrane domain)、PTEN(phosphatase tensin)结构域等。因此,植物成蛋白行使功能的分子机制可能和动物、微生物之间存在较大差异。但当前植物成蛋白如何行使功能的分子机制尚不明朗,还需要对其相关机理进行进一步的探索(Grunt et al., 2008; Blanchoin and Staiger, 2010; Van Gisbergen and Bezanilla, 2013)。

目前成蛋白仅在拟南芥、水稻、小立碗藓(*Physcomitrella patens*)等植物中被鉴定,例如拟南芥中有21个成蛋白家族成员(AtFH1~AtFH21)(Cvrcková et al., 2004),小立碗藓中有9个成蛋白家族成员(PpFH1~PpFH21)(Cvrcková et al., 2004; Vidali et

al., 2009)。研究还发现成蛋白在植物生长发育过程中极其重要,可以影响植株的高矮、根部发育、胚乳发育等表型。例如,拟南芥中 *AtFH1* 的突变将改变根细胞的分裂、根毛的形态 (Rosero et al., 2013), *AtFH2* 可通过覆盖和稳定胞间连丝处的肌动蛋白丝来调节细胞间的运输 (Diao et al., 2018), *AtFH3* 与 *AtFH5* 参与花粉管末端肌动蛋白聚合以及肌动蛋白结构的构建 (Lan et al., 2018), *AtFH13* 参与花粉管生长的调节 (Kollárová et al., 2021)。而在水稻中 *OsFH1* 参与根毛的发育以及极性生长 (Huang et al., 2013), *OsFH15* 蛋白与微丝微管相互作用,通过调节细胞的膨胀来控制水稻籽粒大小等 (Sun et al., 2017), 但对于植物成蛋白具体调控的分子机理并未阐明。

玉米 (*Zea mays*) 是一种仅次于小麦 (*Triticum aestivum*) 和水稻的重要谷类作物,并且由于其淀粉含量高、成长周期短、生物量大等特点,还可作为工业原料直接或间接被制作为工业产品。成蛋白作为细胞形态的关键调控因素之一,对植物的生长发育极其重要。但是现在还缺少对玉米成蛋白家族进行鉴定及分析的研究,相关工作并无太大的进展。因

此,本文基于相对完善的基因组信息以及相关的数据库,利用生物信息学的方法对玉米成蛋白家族的成员进行鉴定,并对其功能预测及表达数据进行分析,以期对未来对玉米成蛋白家族相关的研究奠定基础,提供参考。

1 结果

1.1 玉米成蛋白家族成员的鉴定

成蛋白家族的鉴定是基于是否具有保守的 FH2 结构域,因此,为了获得玉米中存在的所有成蛋白家族成员,本研究通过水稻以及拟南芥成蛋白家族的氨基酸序列,比对从玉米基因组翻译得到的玉米所有蛋白的氨基酸序列,发现 22 个玉米成蛋白家族成员,通过对保守 FH2 结构域、保守基序等分析对其进行进一步鉴定并对蛋白 (*ZmFH1* ~ *ZmFH22*) 进行命名。22 个玉米成蛋白分子量在 36.38 ~ 184.31 kDa, 氨基酸数量范围为 300 ~ 1 699 aa, 理论等电点为 6.88 ~ 9.76, 除去 *ZmFH18* 外,其余玉米成蛋白皆为碱性蛋白 (表 1)。

表 1 玉米成蛋白家族成员信息

Table 1 The information of the Formin family members of *Zea mays*

基因号 Gene ID	基因名称 Gene name	染色体位置 Chromosome number	氨基酸数量 (aa) Number of amino acid (aa)	分子量 (kDa) Molecular weigh (kDa)	等电点 Isoelectric point
<i>Zm00001d032545</i>	<i>ZmFH1</i>	1; 230 120 439-230 130 739	856	91.29	9.15
<i>Zm00001d006549</i>	<i>ZmFH2</i>	2; 210 779 601-210 785 969	922	99.96	8.51
<i>Zm00001d015326</i>	<i>ZmFH3</i>	5; 84 614 161-84 619 449	1 012	111.20	8.25
<i>Zm00001d013926</i>	<i>ZmFH4</i>	5; 24 983 948-24 987 816	835	89.51	8.79
<i>Zm00001d032225</i>	<i>ZmFH5</i>	1; 217 881 333-217 884 547	892	96.53	8.91
<i>Zm00001d048142</i>	<i>ZmFH6</i>	9; 150 751 083-150 755 678	861	92.36	9.41
<i>Zm00001d017983</i>	<i>ZmFH7</i>	5; 211 349 626-211 354 097	921	97.04	9.76
<i>Zm00001d006132</i>	<i>ZmFH8</i>	2; 199 483 327-199 486 703	842	89.13	9.31
<i>Zm00001d028089</i>	<i>ZmFH9</i>	1; 22 608 980-22 613 235	882	95.14	9.16
<i>Zm00001d024947</i>	<i>ZmFH10</i>	10; 96 358 474-96 363 316	943	102.00	9.12
<i>Zm00001d012158</i>	<i>ZmFH11</i>	8; 169 118 061-169 122 308	951	101.87	8.59
<i>Zm00001d042506</i>	<i>ZmFH12</i>	3; 170 090 737-170 094 686	956	102.82	9.02
<i>Zm00001d021985</i>	<i>ZmFH13</i>	7; 167 543 499-167 549 627	793	84.32	9.13
<i>Zm00001d006758</i>	<i>ZmFH14</i>	2; 216 069 791-216 101 183	1 608	174.52	8.36
<i>Zm00001d004557</i>	<i>ZmFH15</i>	2; 117 903 594-117 908 380	941	101.47	9.05
<i>Zm00001d021173</i>	<i>ZmFH16</i>	7; 144 970 206-144 973 502	762	80.75	9.64
<i>Zm00001d050024</i>	<i>ZmFH17</i>	4; 60 837 568-60 886 545	1 386	152.56	8.38
<i>Zm00001d018371</i>	<i>ZmFH18</i>	5; 219 425 678-219 440 046	1 414	156.67	6.88
<i>Zm00001d003406</i>	<i>ZmFH19</i>	2; 43 299 785-43 302 959	841	89.65	9.26
<i>Zm00001d022040</i>	<i>ZmFH20</i>	7; 168 411 875-168 421 767	1 699	184.31	8.31
<i>Zm00001d032101</i>	<i>ZmFH21</i>	1; 212 826 023-212 863 575	322	36.38	8.12
<i>Zm00001d041515</i>	<i>ZmFH22</i>	3; 125 289 850-125 330 088	300	46.14	8.61

蛋白水平保守性分析表明,除去 ZmFH21、Zm-FH22 蛋白不具有 FH1 结构域,另外 20 个蛋白在 310~350 位点均具有富含脯氨酸的 FH1 结构域,并

且 22 个蛋白在 570~650 位点具有高度保守的 FH2 结构域(图 1)。

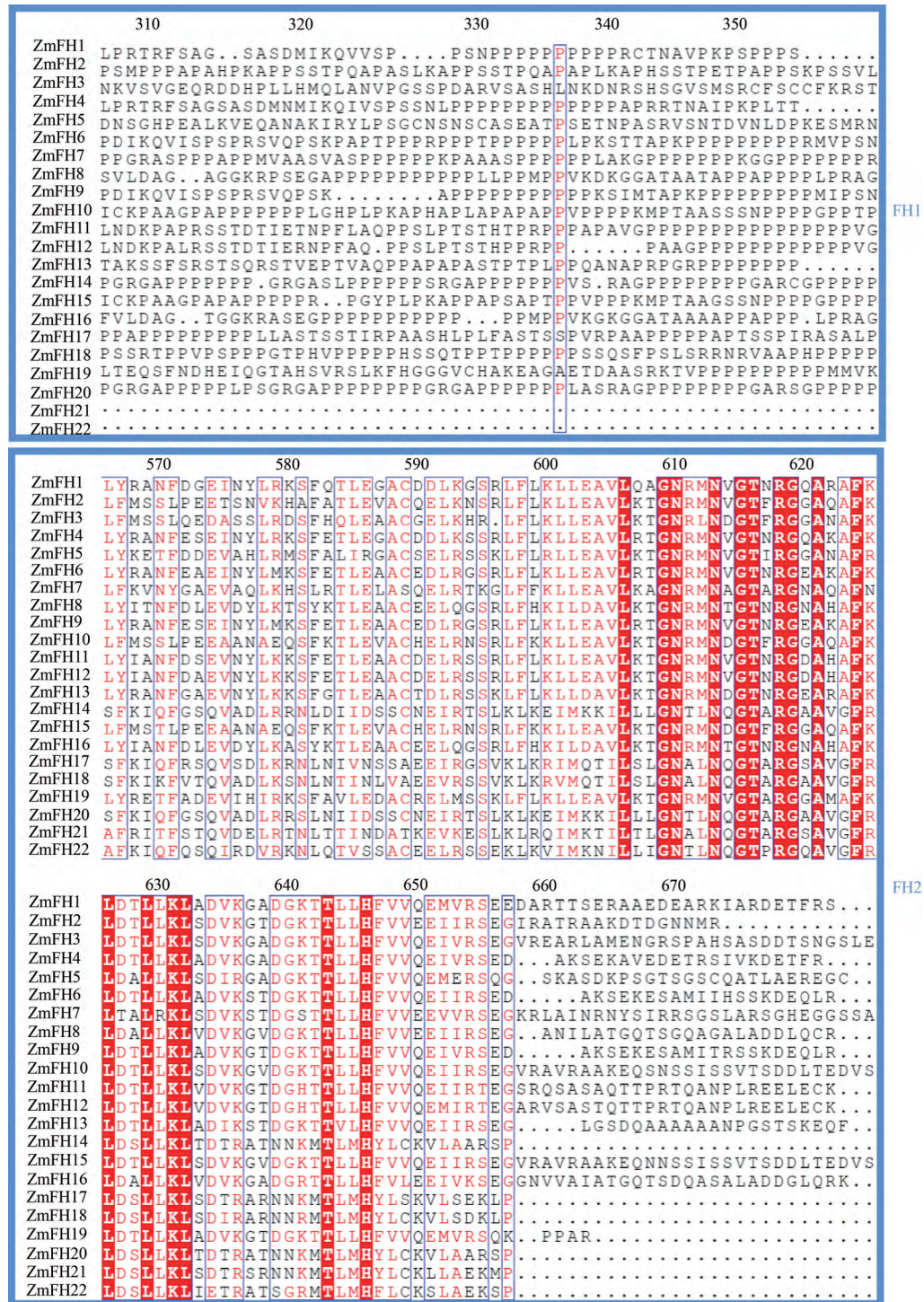


图 1 玉米成蛋白 FH1 以及 FH2 结构域氨基酸序列比对分析

注:红色字体:高度相似的氨基酸序列;星号与红色背景:完全相同的氨基酸序列

Figure 1 Amino acid sequence alignment analysis of FH1 and FH2 domains of Formins of *Zea mays*

Note: Red font: Highly similar amino acid sequence; Red background and the asterisk: Exactly the same amino acid sequence

1.2 玉米成蛋白家族的系统进化分析

为了解玉米成蛋白家族成员的进化关系,利用其氨基酸序列构建玉米成蛋白家族成员的系统发育图(图 2A),开展对玉米成蛋白家族的研究。分析结果表明,玉米成蛋白家族被分为两个亚家族,Ⅰ类亚家族共有 16 个成员,分别是 *ZmFH1*、*ZmFH2*、*ZmFH3*、*ZmFH4*、*ZmFH5*、*ZmFH6*、*ZmFH7*、*ZmFH8*、*ZmFH9*、*ZmFH10*、*ZmFH11*、*ZmFH12*、*ZmFH13*、*ZmFH15*、*ZmFH16*、*ZmFH19*,Ⅱ类亚家族由其余 6 个成员 *ZmFH14*、*ZmFH17*、*ZmFH18*、*ZmFH20*、*ZmFH21*、*ZmFH22* 组成。为分析玉米成蛋白家族基因的序列结构,我们通过比较基因组 DNA 序列来分析内含子和外显子的组成以及基因长度(图 2B)。结果表明,Ⅰ类亚家族成员通常包含 1~5 个内含子,而Ⅱ类亚家族成员普遍包含 9 个以上,结果表明玉米成蛋白的外显子-内含子分布与其分类有关。同一亚家族中的成员具有类似的外显子-内含子结构,因此,外显子-内含子结构的差异可能与其生物学功能有关。并且Ⅱ类亚家族 6 个成员的基因序列长度远长于另外 16 个成员,其长度达到 10 000 bp 及以上,最长的 *ZmFH17* 长度接近 50 000 bp,而它们中最短的 *ZmFH20* 长度也有 10 000 bp 左右。同时,这 6 个基因的编码区域大部分集中在 10 000 bp 以内,但在

10 000 bp 外仍有少部分编码区域。而另外 16 种成蛋白基因长度整体较均匀,大部分处于 10 000 bp 内,只有 *ZmFH1* 长度在 10 000 bp 左右,且它们的编码区域都集中在 1~5 000 bp 内。

基于氨基酸结构的分析表明,所有的玉米成蛋白家族成员均具有 FH2 结构域(图 2C),并且 *ZmFH2* 还具有Ⅱ型分泌系统蛋白 B 结构域(type II secretion system protein B superfamily, T2SSB superfamily)以及纤维连接蛋白结合蛋白的结构域(fibronectin FbpA superfamily),该结构域可能具有连接细胞壁的作用;*ZmFH6* 具有超抗原样蛋白的结构域(PRK13042 superfamily);*ZmFH11*、*ZmFH12* 具有 DNA 聚合酶Ⅲ亚单位 γ/τ (PRK07764 superfamily, PRK12323 superfamily),可能参与 DNA 的复制;*ZmFH14*、*ZmFH17*、*ZmFH18*、*ZmFH20* 均具有类似 PTEN 蛋白磷脂酰肌醇三磷酸磷酸酶的结构域(C2 domain of phosphatase and tensin homolog, PTEN_C2)以及蛋白酪氨酸磷酸酶结构和双特异性磷酸酶超家族结构(cys-based protein tyrosine phosphatase and dual-specificity phosphatase superfamily, PTP_DSP_cys superfamily),它们可能通过 PTEN 结构域将蛋白定位至细胞质膜等,以及在促分裂原活化的蛋白激酶信号途径中对多种信号分子的介导作用。

不同物种中属于同一个亚家族的成员通常具

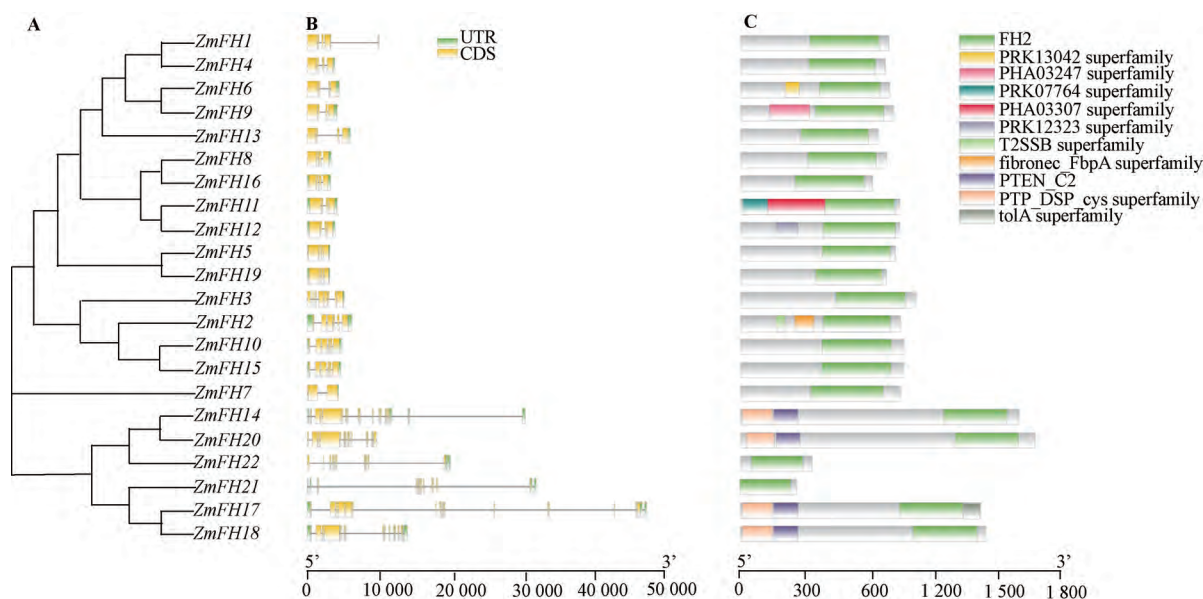


图 2 玉米成蛋白家族成员系统进化树、基因结构和结构域保守性分析

注: A: 玉米成蛋白系统进化树; B: 玉米成蛋白基因结构图; C: 玉米成蛋白功能域分布

Figure 2 Phylogenetic tree, gene structure and structural domain conservative analysis of Formin family members of *Zea mays*

Note: A: Phylogenetic tree of Formins in *Zea mays*; B: The gene structure of *Formin* genes in *Zea mays*; C: The functional domain distribution of Formins in *Zea mays*

有相似的功能。由于植物成蛋白根据 FH2 保守结构域序列的差异进行分类,因此本研究对拟南芥、水稻、玉米的成蛋白的 FH2 结构域进行了系统发育分析。结果表明,水稻、玉米和拟南芥成蛋白都分为两类亚家族(图 3),同一亚家族成员功能可能趋于一致。

为进一步了解玉米成蛋白信息,通过 TBtools 软件构建得到玉米成蛋白家族成员在染色体的分布图(图 4)。分析结果可知,22 个玉米成蛋白基因分散在 9 条染色体上。其中,2 号染色体上的成员数量最多,共有 5 个;4、8、9、10 号染色体上分别只有 1 个成员;而 6 号染色体上不包含任何成蛋白基因。

1.3 玉米成蛋白家族的顺式作用元件分析

在动植物体内,顺式作用元件是基因调控的关键结构,是调控蛋白特异性识别、结合的一段 DNA 序列,包括启动子、增强子、上游启动子元件、反应元

件和加尾信号等。真核生物的转录调控是调控基因表达的最重要的途径,大多都是通过基因中顺式作用元件和反式作用因子(如基础因子、上游因子、诱导因子)之间复杂的相互作用进行的。因此,研究成蛋白家族成员上游启动子区的顺式作用元件有助于我们进一步了解玉米成蛋白的功能。通过 PlantCare 网站对玉米成蛋白的 CDS 上游 2 000 bp 序列进行顺式作用元件分析(图 5),结果表明,除常见的增强启动子以及和生长发育相关的顺式作用元件[如启动子和增强子区的共同顺式作用元件(common *cis*-acting element in promoter and enhancer regions)]、富含 AT 的 DNA 结合蛋白的结合位点和 MYB 结合位点等外,另外有 23 种顺式作用元件包括多种光响应与调控元件、激素响应元件、抗胁迫响应元件、昼夜节律调节元件等。所有成员都具有参与光反应的调控元件和厌氧诱导所必需的顺式调节元件,参与脱落酸反应的作用元件和参与茉莉酸甲酯反应的调控

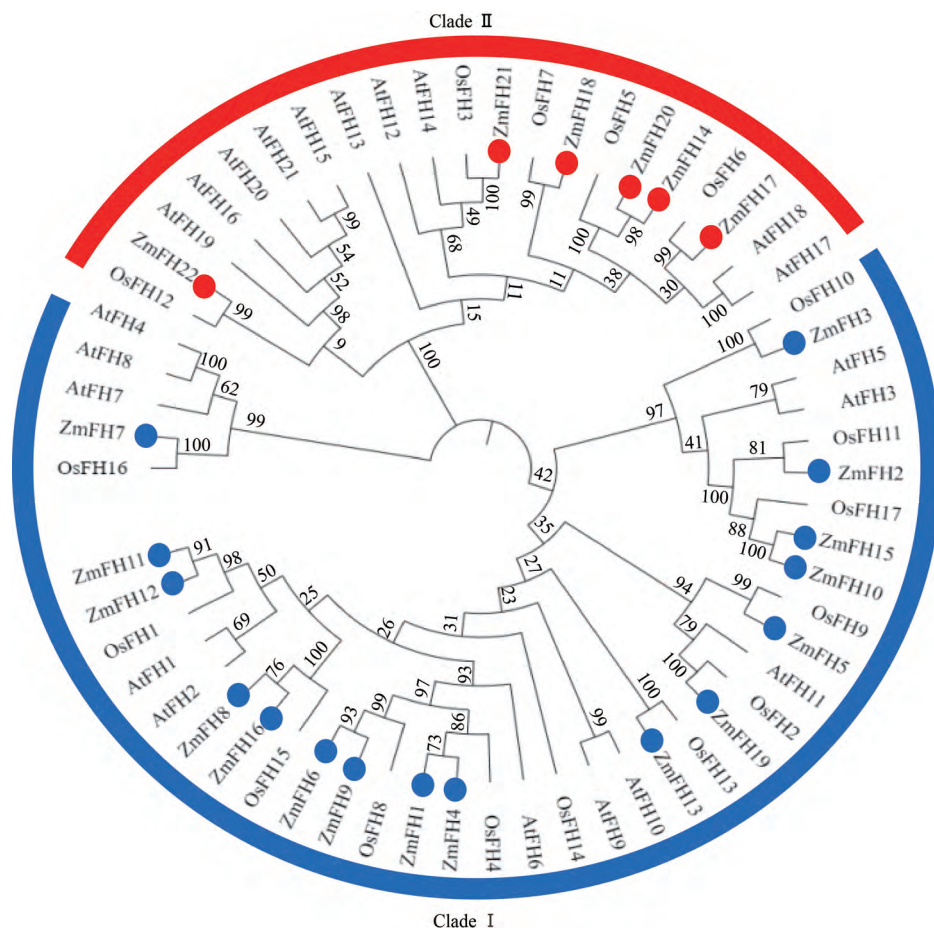


图 3 玉米、水稻与拟南芥成蛋白家族的系统进化树

注:利用 MEGA 7.0 软件中 NJ 法(neighbor-joining method, 近邻相接法)构建系统发育树,bootstrap 值设为 1 000

Figure 3 Phylogenetic tree of *Zea mays*, *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana* Formin families

Note: This phylogenetic unrooted tree was constructed by the neighbor-joining method (NJ) with MEGA 7.0, with 1 000 bootstrap replicates

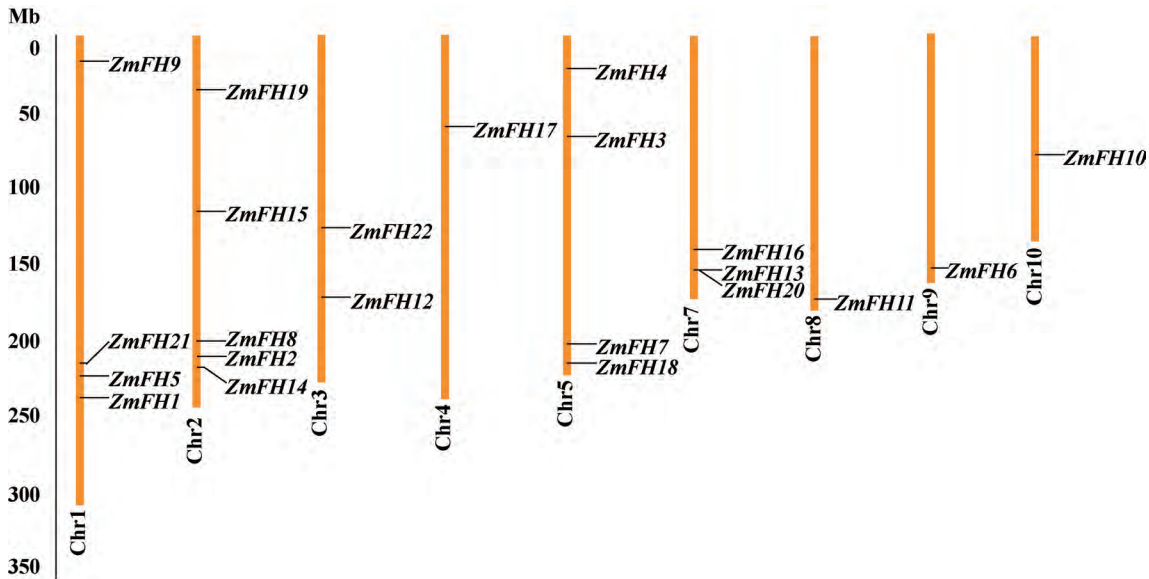


图4 玉米成蛋白基因的染色体定位分析

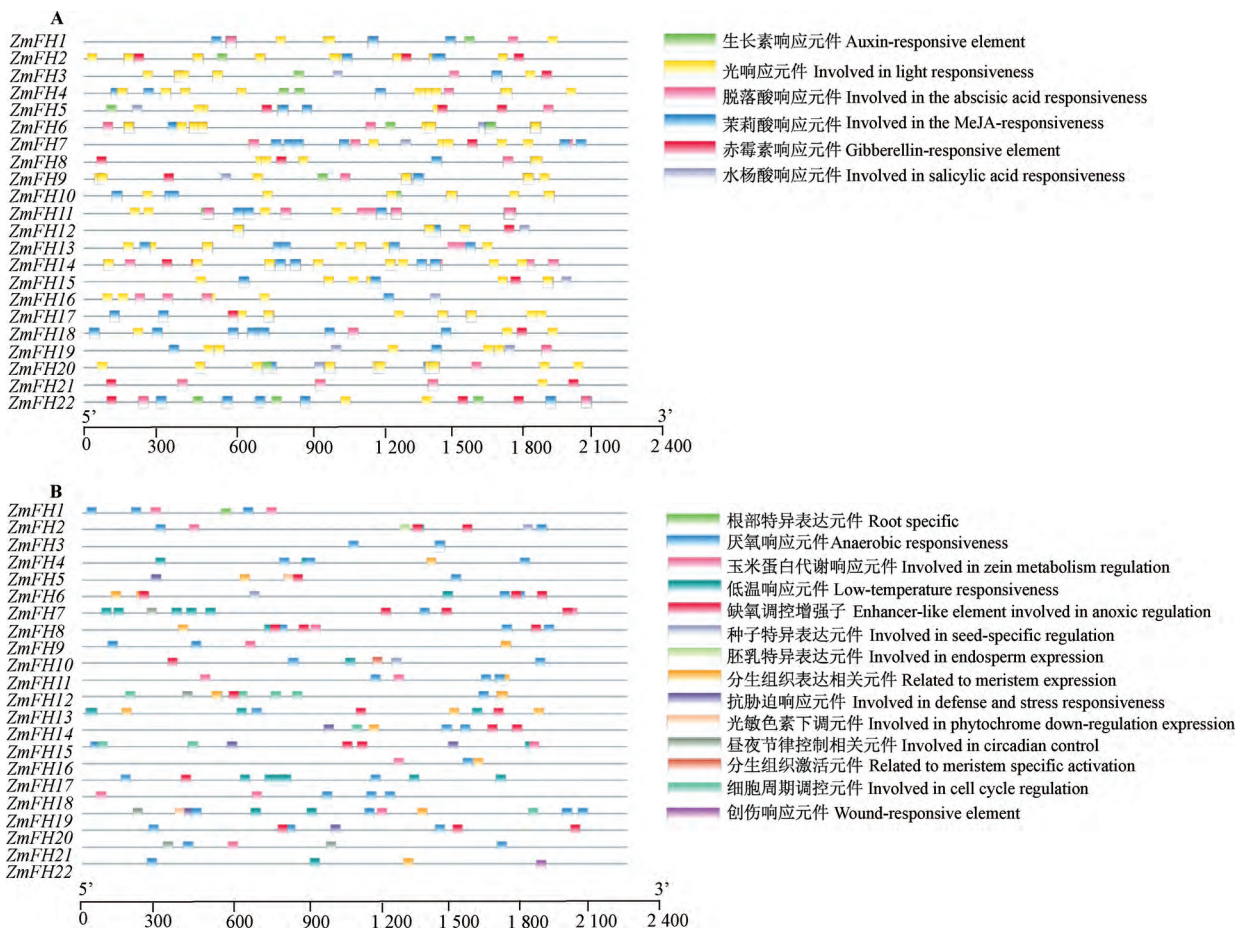
Figure 4 Chromosomal localization analysis of *Formin* genes of *Zea mays*

图5 玉米成蛋白家族基因上游 2 000 bp 顺式作用元件分析

注: A: 激素反应以及光反应相关的顺式作用元; B: 与胁迫相关等其他元件

Figure 5 Analysis of 2 000 bp *cis*-acting elements upstream of *Formin* genes of *Zea mays*Note: A: *Cis*-elements related to hormone response and light response; B: *Cis*-elements related to stress resistance

元件也普遍存在,成蛋白基因的表达很可能受脱落酸和茉莉酸甲酯的调控。并且,22个成蛋白成员中,*ZmFH2*、*ZmFH6*和*ZmFH10*上具有种子特异性调控以及分生组织特异性激活的元件,可能参与种子的初始生长;*ZmFH2*还具有胚乳表达的调控元件以及低温和缺氧胁迫响应元件,有可能对胚乳的形成过程起调控作用;*ZmFH22*具有伤口反应元件,可能参与伤口的愈合与修复;*ZmFH1*上具有根特异性调节的元件,有可能在根细胞的分生、分裂过程中起作用。*ZmFH4*、*ZmFH5*、*ZmFH6*、*ZmFH8*、*ZmFH9*、*ZmFH11*、*ZmFH12*、*ZmFH13*、*ZmFH14*、*ZmFH16*、*ZmFH19*和*ZmFH22*具有与分生组织表达相关的调控元件,*ZmFH10*具有与分生组织特异性激活相关的调控元件,表明这些基因可能参与玉米的生长调控。

1.4 玉米成蛋白家族的组织表达分析

用BAR网站获得玉米成蛋白基因在根的不同部位、玉米叶片的不同区域的表达情况。用qTeller网站获得在6~7节间、7~8节间的表达情况,综合数据后得到结果(图6)。

分析可知,玉米成蛋白基因在根组织均有一定的表达。*ZmFH12*、*ZmFH20*在主根、分生区、生长

区、根毛均有较高的表达水平,可能在根的发上起主要作用。*ZmFH11*、*ZmFH12*、*ZmFH13*和*ZmFH20*在主根上表达水平相对较高,*ZmFH3*、*ZmFH11*、*ZmFH12*、*ZmFH19*和*ZmFH20*在分生区表达水平相对较高,*ZmFH11*、*ZmFH12*和*ZmFH20*在伸长区表达水平相对较高,*ZmFH2*、*ZmFH7*和*ZmFH20*在根毛表达水平相对较高,它们可能在这些部位上的调控作用更强。在6~7节间、7~8节间上,除去*ZmFH22*几乎完全不表达外,其余基因在这两个部位上均有一定的表达。*ZmFH8*、*ZmFH11*、*ZmFH12*、*ZmFH16*和*ZmFH19*在这两个部位的表达水平相对更高。在玉米叶片的不同区域上,从叶轴部位到叶尖部位,所有玉米成蛋白基因的表达水平都逐渐降低,说明玉米成蛋白家族基因可能在叶片的生长初期起作用。*ZmFH11*、*ZmFH12*和*ZmFH13*这3个基因在整个叶片的表达水平相比其他成蛋白基因明显更高。

1.5 玉米成蛋白家族的互作蛋白网络分析以及亚细胞定位预测

大部分蛋白都不是只靠其自身就对细胞生长、信息调控等生理过程起作用,而是与其蛋白通过相互作用构成蛋白质互作网络,参与生物信号传递、基

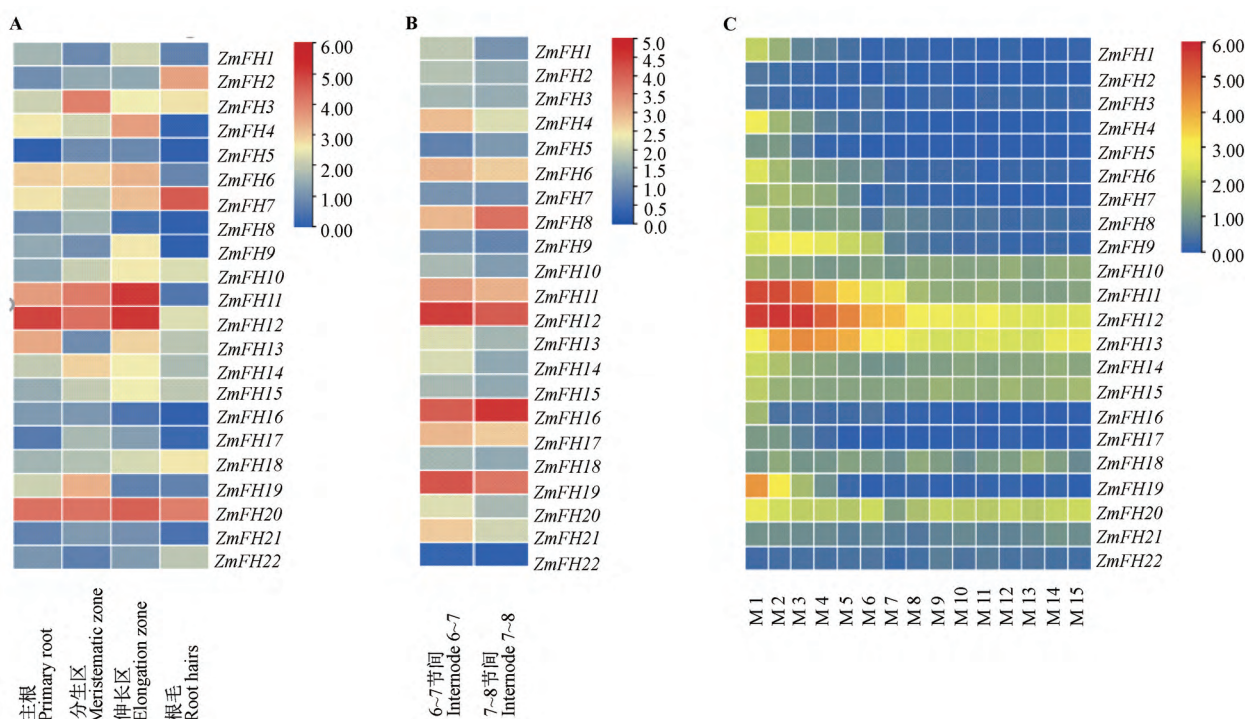


图6 玉米成蛋白基因在不同组织的表达量分析

注: A: 根组织; B: 玉米6~7节间, 7~8节间; C: 叶片的不同区域, M1~M15: 从叶轴到叶尖部位

Figure 6 Expression analysis of Formin genes of *Zea mays* in different tissues

Note: A: Root tissue; B: Internode 6~7, internode 7~8 of maize; C: Leaf gradient; M1~M15: Leaf axis to leaf tip

因表达调节、能量和物质代谢及细胞周期调控等生命周期的各个环节。因而系统地分析某一蛋白或某一蛋白家族在生物系统中与其他蛋白的互作网络有助于了解其作用及功能。通过蛋白的标识名,从STRING网站获得玉米成蛋白家族的蛋白互作网络关系(图7)。

分析可知,与玉米成蛋白家族蛋白互作关系最密切的4种蛋白是肌动蛋白抑制蛋白(profilin)、ROP家族蛋白(rho-related GTPases from plants)、肌动蛋白(actin)以及肌动蛋白解聚因子(actin-depolymerizing factor)。除去ZmFH5、ZmFH14、ZmFH17、ZmFH18、ZmFH19、ZmFH21和ZmFH22这7个蛋白外,其余15个玉米成蛋白家族成员均与profilin互作,很有可能参与肌动蛋白的调控以及细胞骨架的构成。除去ZmFH1、ZmFH2、ZmFH7、ZmFH19、ZmFH20和ZmFH21这6个蛋白,其余成员均与ROP蛋白互作,这表示大部分玉米成蛋白与ROP蛋白之间存在某种关系而共同调控细胞形态等。ZmFH5和ZmFH19这2个蛋白还与肌动蛋白互作,可能参与组装肌动蛋白等过程。ZmFH20与肌动蛋白解聚因子互作,可能参与切断肌动蛋白丝并结合肌动蛋白单体。而ZmFH21蛋白与这四种蛋白都不存在互作关

系,可能具有其他功能。

根据蛋白网络的GO功能富集可知(图8),该蛋白网络的功能主要富集在细胞骨架的组成和肌动蛋白结合。另外,该蛋白网络还参与细胞质、细胞皮层的组成,具有与富含脯氨酸区域、肌动蛋白单体等结合的功能,以及参与细胞成分组织、肌动蛋白单体的整合、核迁移过程,进一步说明了成蛋白可能通过调控肌动蛋白的聚合、解离,在细胞的形态变化、细胞的生长发育等过程具有重要作用。

通过玉米成蛋白家族的亚细胞定位的预测,分析蛋白定位在细胞内的具体位置,可以判断目标基因行使与细胞器相关功能。根据真核成蛋白的相关研究,通过蛋白的标识名从CropPAL网站获得亚细胞定位数据(表2)。

通过分析可知,ZmFH1、ZmFH2、ZmFH4、ZmFH6、ZmFH7、ZmFH9、ZmFH10、ZmFH11、ZmFH12、ZmFH13、ZmFH15、ZmFH16、ZmFH19和ZmFH20这14个蛋白定位于细胞质膜以及细胞膜,与大部分真核成蛋白定位于细胞膜或者细胞器膜行使相关功能相符合。ZmFH14、ZmFH17、ZmFH18、ZmFH20、ZmFH21和ZmFH22这6个蛋白定位于细胞质基质。巧合的是,这6个蛋白恰好都属于植物II类亚家族

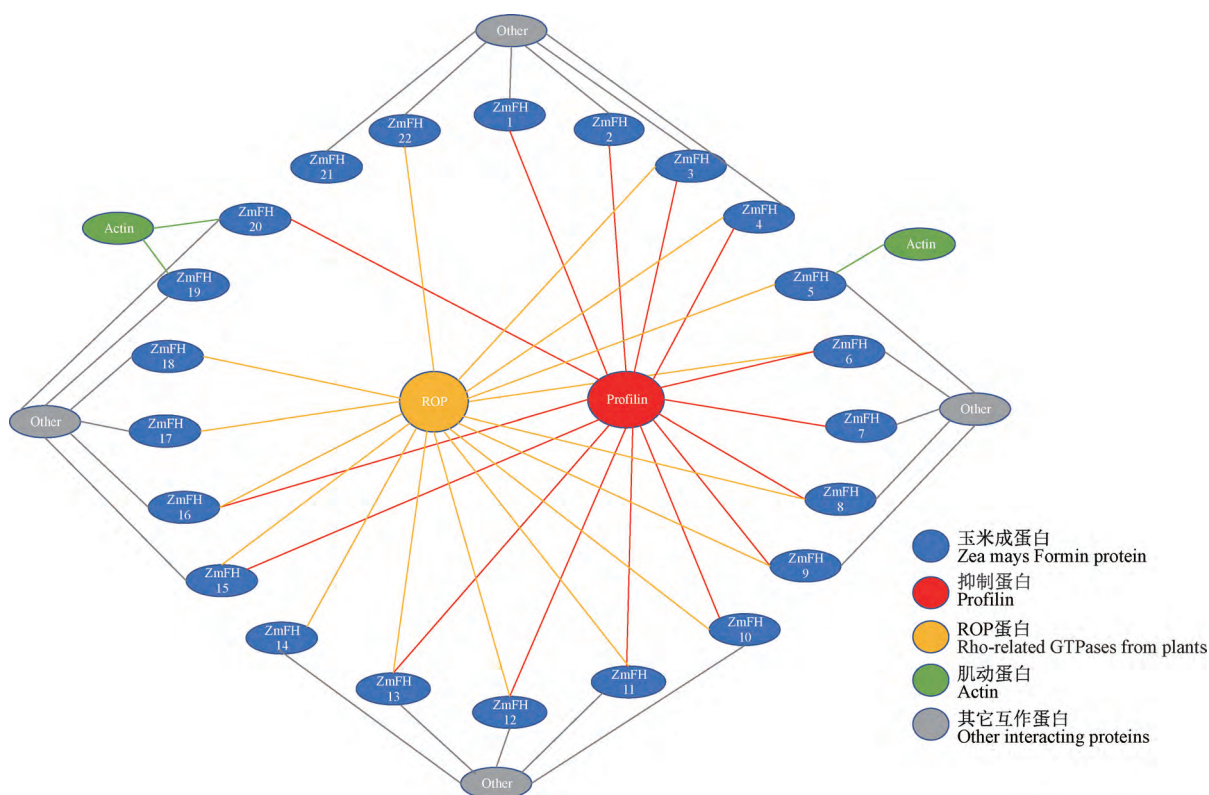


图7 玉米成蛋白家族的蛋白互作网络

Figure 7 Protein-protein interaction network of Formin family of *Zea mays*

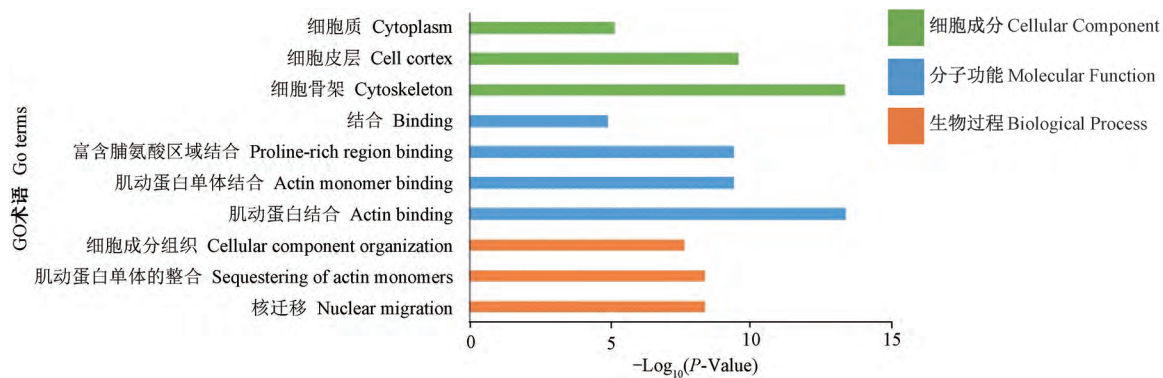


图8 互作蛋白网络的GO功能富集

注: $-\log_{10} P$ 值: 互作蛋白网络在该功能富集的可信度

Figure 8 Go functional enrichment of the protein-protein interaction network

Note: $-\log_{10} P$ -Value: The credibility of the protein-protein interaction network enrichment in this function

表2 玉米成蛋白亚细胞定位分析

Table 2 Subcellular localization of Formins of *Zea mays*

蛋白名称 Protein name	蛋白亚细胞定位 Protein subcellular localization	蛋白名称 Protein name	蛋白亚细胞定位 Protein subcellular localization
ZmFH1	质膜 Plasma membrane	ZmFH12	质膜, 胞外 Plasma membrane, extracellular
ZmFH2	质膜, 内质网, 液泡 Plasma membrane, endoplasmic reticulum, vacuole	ZmFH13	质膜 Plasma membrane
ZmFH3	质体, 线粒体 Plastid, Mitochondrion	ZmFH14	胞质 Cytosol
ZmFH4	质膜, 胞外 Plasma membrane, extracellular	ZmFH15	质膜 Plasma membrane
ZmFH5	高尔基体 Golgi	ZmFH16	质膜 Plasma membrane
ZmFH6	质膜 Plasma membrane	ZmFH17	胞质 Cytosol
ZmFH7	质膜 Plasma membrane	ZmFH18	胞质 Cytosol
ZmFH8	质体, 线粒体, 高尔基体 Plastid, mitochondrion, golgi	ZmFH19	质膜 Plasma membrane
ZmFH9	质膜 Plasma membrane	ZmFH20	细胞核, 质膜, 线粒体, 胞质 Nucleus, plasma membrane mitochondrion, cytosol
ZmFH10	质膜 Plasma membrane	ZmFH21	胞质 Cytosol
ZmFH11	质膜, 胞外 Plasma membrane, extracellular	ZmFH22	胞质 Cytosol

成蛋白,这很可能与它们的FH2结构域行使的功能有关。同时,还有部分蛋白定位于细胞器,如ZmFH2蛋白可能还定位于内质网、液泡;ZmFH3定位于质体、线粒体;ZmFH5定位于高尔基体;ZmFH8定位于质体、线粒体、高尔基体;ZmFH19定位于线粒体,同时还定位于细胞核。

通过结合亚细胞定位分析及互作蛋白分析推测玉米成蛋白可能具有的作用。如ZmFH5与GDSL脂肪酶家族蛋白互作而又作用于高尔基体,很有可能参与物质代谢的生理过程;ZmFH8与葡甘聚糖4- β -甘露糖基转移酶及含有钾通道四聚结构域的蛋白互作,并且定位于质体、线粒体、高尔基体,因此,其极

有可能参与蛋白磷酸化以及细胞间物质运输、信号传递等功能;ZmFH11 和 ZmFH12 与生长素应答蛋白互作且定位于细胞膜外,极有可能作为靶细胞接受生长素信息。还有部分蛋白的互作蛋白分析难以与亚细胞定位分析相吻合。如 ZmFH3 可能定位于质体、线粒体,但 STRING 网站得到的互作蛋白分析仅指出其参与肌动蛋白的聚合以及细胞骨架的构成,这一蛋白的功能还有待进一步考究。

1.6 玉米与水稻的成蛋白基因共线性分析

随着植物从低级进化到高级,同一家族成员数量增多,结构发生改变,功能愈加多样,但不同进化阶段的物种中同一家族成员仍可能存在共线性关系,即一个物种的基因组中相互连锁的基因,在另一物种的基因组中也是连锁关系,这意味着这些基因在不同物种中的功能可能相似。而根据之前玉米、水稻和拟南芥的 FH2 进化树分析能够得出玉米与水稻的亲缘关系更近,因此研究玉米与水稻的共线性分析能让我们根据水稻上已知的成蛋白基因的功能来预测与其共线性相关的玉米上的成蛋白基因的功能。根据 TBtools 对玉米和水稻进行共线性分析,得到如下结果(图 9)。

由图可知,玉米内成蛋白家族共有 10 个基因成员与水稻中成蛋白家族基因成员对应,分别是 *ZmFH3*、*ZmFH5*、*ZmFH8*、*ZmFH9*、*ZmFH11*、*ZmFH12*、*ZmFH16*、*ZmFH18*、*ZmFH19* 和 *ZmFH20*,其中 *ZmFH5* 和 *ZmFH9* 对应多个水稻中成蛋白成员,而水稻中 *OsFH1*、*OsFH2* 和 *OsFH15* 皆对应多个玉米成蛋白成员。但它们之间大部分基因的共线性较差,这说明玉米成蛋白家族与水稻成蛋白家族发生分化的时间较早,其结构和行使的功能或许已经有些许差别。令人意外的是,*ZmFH18* 与水稻中 *Os06t0184400* (RAP-DB 数据库中暂无命名) 基因存在共线性,*Os06t0184400* 与水稻中的成蛋白基因及玉米成蛋白基因之间的关系有待进一步研究。同时,通过如今

已有的对水稻成蛋白基因功能的研究,我们也能据此推测与之对应的玉米成蛋白基因的功能。

2 讨论

通过对玉米基因组进行保守结构域分析,以及与玉米数据库进行比对,我们已经确定玉米的 22 个玉米成蛋白家族成员。将玉米与水稻、拟南芥的 FH2 结构域构建进化树,并对成蛋白的亚家族进行分类。其中 6 个成蛋白家族成员属于 II 类,另外 16 个成蛋白家族成员属于 I 类亚家族。研究表明, I 类亚家族的成蛋白通过 C 端跨膜结构进行定位。但 II 类亚家族的成蛋白定位更为复杂,如拟南芥 II 类亚家族可能通过其特有的 PTEN 类似结构进行定位,而 *AtFH16* 不具有 PTEN 结构域,但其在烟草 (*Nicotiana tabacum*) 表皮中仍定位于类似内质网的胞内结构并参与调控微丝微管的组成 (Cvrcková et al., 2004; Van Gisbergen et al., 2012; Wang et al., 2013)。结合本研究分析的结果,即 II 类亚家族 *ZmFH14*、*ZmFH17*、*ZmFH18* 和 *ZmFH20* 具有 PTEN 结构域,而 *ZmFH21* 和 *ZmFH22* 不具有 PTEN 结构域,表明 II 类亚家族成蛋白定位的复杂性。

在小立碗蕨中对 I 类和 II 类成蛋白的作用进行研究,发现 I 类和 II 类成蛋白之间的功能差异,抑制所有 I 类成蛋白的作用可导致植物整体尺寸减小,抑制所有 II 类成蛋白的作用可导致植物细胞极性显著缺陷 (Vidali et al., 2009)。已有证据证明 I 类成蛋白参与细胞分裂和建立肌动蛋白阵列 (Favery et al., 2004; Ingouff et al., 2005; Ye et al., 2009; Xue et al., 2011),是控制顶端肌动蛋白聚合的主要肌动蛋白成核因子 (Cheung et al., 2010)。II 类成蛋白对细胞极化生长至关重要 (Vidali et al., 2009; 2010),其特有的 PTEN 结构域通过结合磷酸肌醇-3,5-二磷酸 PI(3,5)P2 靶向细胞皮层促进细胞极化生长。*OsFH3* 可能通过影响肌动蛋白丝的交叉点来调节细胞骨架组织,表明 II 类成蛋白可能还参与植物形态

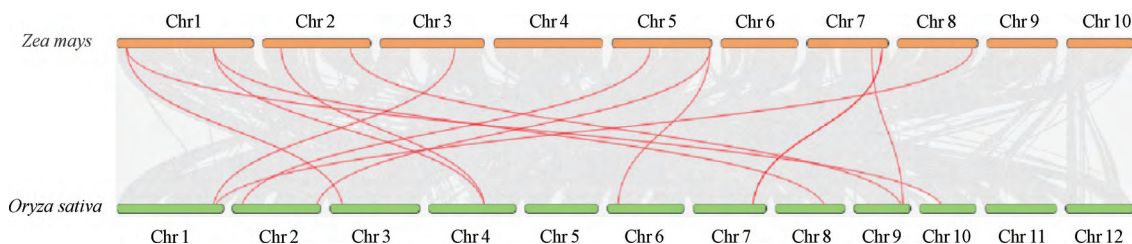


图9 玉米与水稻成蛋白家族的共线性分析

Figure 9 Analysis of collinearity between *Zea mays* and *Oryza sativa* Formin families

的变化(Chang et al., 2021)。此外,Ⅱ类成蛋白 AtFH13 和 AtFH14 可通过其 FH2 结构域介导形成异二聚体,表明Ⅱ类成蛋白功能的复杂性(Kollárová et al., 2020)。由于结构类似的蛋白功能可能也类似,因此玉米Ⅱ类成蛋白可能参与玉米细胞的极性生长与玉米形态变化等过程。

根据顺式作用元件分析得出玉米成蛋白基因受到生长素、赤霉素等激素、光、昼夜节律、温度等因素调控,与拟南芥以及水稻的成蛋白基因所受的调控相同。但玉米的每一个成蛋白基因都存在厌氧诱导所必需的顺式调节元件,表明玉米成蛋白家族成员可能广泛参与调控厌氧诱导的植物正常生长,其机理还有待进一步研究。一半以上的玉米成蛋白基因还具有玉米醇溶蛋白(zein)代谢调控的顺式调控元件,说明玉米成蛋白家族可能还参与调控玉米种子内醇溶蛋白含量。此外,ZmFH1 以及 ZmFH10 基因还分别存在对种子与根特异调节的元件,暗示其可能参与玉米根系生长发育的调控。

蛋白网络分析表明玉米成蛋白家族成员大部分都与 profilin 结合参与调节微丝、微管的组成以及肌动蛋白成核等过程。ZmFH5 和 ZmFH19 这 2 个蛋白与肌动蛋白互作,ZmFH20 与肌动蛋白解聚因子互作,可能直接参与肌动蛋白丝的组装与解聚等过程,这也与植物成蛋白的作用功能的相关研究相符合。

此外,ROP 家族蛋白也与大部分玉米成蛋白互相作用。在动物和真菌中,Rho GTPase 基因在上游调控成蛋白基因。含有 RBD (receptor-binding domain) 结构域和 DAD 结构域的成蛋白原本处于不活跃的状态,但能与 Rho 类小 G 蛋白结合而减轻由 C 端自抑制域介导的自抑制(Wang et al., 2008),从而参与微丝的组装。而在植物中,ROP 蛋白(Zheng and Yang, 2000; Brembu et al., 2006)取代了 Rho 类小 G 蛋白。ROP 蛋白参与调控细胞极性生长(Bloch and Yalovsky, 2013; Cheng et al., 2020),参与花粉管、根毛等组织的生长(Feiguelman et al., 2018),以及参与信号转导(Wu et al., 2011)等,其功能与成蛋白相似。已有实验证明,ROP 蛋白定位到细胞顶点取决于刚刚完成细胞分裂的细胞中的肌动蛋白和微管(Cheng et al., 2020),且其也具有调节花粉管尖端的生长及细胞分裂的作用,调节肌动蛋白的组织 and 动力学(Feiguelman et al., 2018; Nakamura et al., 2018),但还没有直接证据表明 ROP 蛋白与成蛋白具有相互作用。在本文确定的 22 个玉米成蛋白家

族成员中,根据蛋白网络分析以及顺式作用元件分析可知 ROP 家族成员与玉米成蛋白家族成员有相似的作用,还存在互作关系,可能共同参与调控细胞肌动蛋白骨架以及细胞的生长发育,但玉米中 ROP 家族与玉米成蛋白家族之间是否具有类似于动物和真菌中的关系还没有结论。

而玉米成蛋白除去与这几种主要的蛋白互作外,部分蛋白还与其他蛋白互作。例如,ZmFH5 与酯键水解酶互作,ZmFH7 与多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase)互作,ZmFH19 与这两种酶都互作,这说明这 3 个 ZmFH 蛋白在功能上具有一定的联系。ZmFH11 和 ZmFH12 都与扩展蛋白(expansin)互作,互作蛋白相同,两种成蛋白在功能上可能有一定的相似性。ZmFH18 与富含亮氨酸重复结构域的双葡萄糖结合蛋白(di-glucose binding protein)互作。而 ZmFH21 是最为特别的玉米成蛋白,它既不与 profilin 互作,也不与 ROP 蛋白、肌动蛋白互作,而是同富含羟脯氨酸的糖蛋白(hydroxyproline-rich glycoprotein)家族蛋白、富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat)家族蛋白、组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase)、赤霉素调节蛋白和蛋白质结合蛋白等多种蛋白互作,说明 ZmFH21 的功能很可能已经发生了显著改变以及具有复杂性。值得注意的是,tds-gR34C09、GRMZM2G049641、GRMZM2G109586 这 3 个非特征或未注释蛋白与玉米成蛋白家族蛋白普遍存在互作关系,可能对玉米成蛋白行使功能有很大作用。

根据蛋白的 GO 功能富集分析可知,玉米成蛋白家族可能在细胞骨架、细胞皮层的组成以及肌动蛋白的结合等过程具有一定作用,这也与成蛋白在水稻、拟南芥等植物的功能分析相符合。而蛋白网络在与富含脯氨酸的区域结合的分子功能中有一定的作用,很可能是因为成蛋白中富含脯氨酸的 FH1 结构域可以结合 profilin 及肌动蛋白单体,构成三元复合物,将肌动蛋白单体快速输送至与 FH2 结构域结合的肌动蛋白丝倒刺末端,促使肌动蛋白丝快速延伸相关(Pernier et al., 2016)。

亚细胞定位分析和互作蛋白分析表明,玉米成蛋白在细胞质膜、细胞质、细胞器以及细胞核均有定位,大部分成员定位在细胞质膜上,它们可能参与物质运输或者极性生长等。同时,大部分玉米成蛋白家族成员与 profilin 以及肌动蛋白解聚因子互作,暗示它们可能在细胞内同微丝,微管作用,参与构建细胞骨架。而 ZmFH20 同时在细胞核、细胞膜与线粒

体也有定位,表明其可能在构建细胞骨架以及细胞器的过程中起信号传导的作用。

通过将顺式作用元件分析与互作蛋白和亚细胞定位预测比较,发现部分基因的这几个数据存在一定的联系。例如,*ZmFH8* 具有与低温、缺氧胁迫有关的元件以及与分生组织表达相关的元件,其翻译的蛋白又定位于线粒体和高尔基体,且可能同参与胞间信号传递的蛋白互作,因而其功能可能与预测大致相符。但更多的基因的顺式作用元件分析与其他分析并不能很好地联系,因此玉米成蛋白家族的功能还有待进一步的实验分析。

相比于在叶片和节间的表达水平,玉米成蛋白基因在根的总表达水平更高,结合植物成蛋白在细胞内主要行使与微丝微管结合,构建细胞骨架以及参与细胞极性生长等功能,而植物的根系往往要根据外界温度、水分、养分、盐分、渗透压等条件做出迅速的反应。因此,成蛋白很可能在玉米根部的生长发育及对外界的反应过程中发挥着重要的作用。*ZmFH11*、*ZmFH12*、*ZmFH16* 和 *ZmFH19* 在 6~7 节间、7~8 节间有较高的表达水平,*ZmFH11*、*ZmFH12* 和 *ZmFH13* 在叶片上也有较高的表达水平,这几个基因可能参与玉米植株的生长发育过程。*ZmFH22* 是唯一一个在节间和叶片的表达水平都较低的基因,且仅在根毛部位表达水平较高,根据其具有分生组织表达相关的调控元件,它可能在其他部位的分生组织特异性表达。

在水稻与玉米的共线性分析中,我们发现水稻中 *Os06t0184400* 这一基因与 *ZmFH18* 相对应。为了解其是否属于水稻成蛋白家族成员,通过 Pfam 数据库对其编码的氨基酸序列进行结构域分析,发现其仅拥有 PTEN_C2 结构域而不具有 FH2 结构域,并不属于水稻成蛋白家族,其与 *ZmFH18* 存在共线关系是否是因为具有 PTEN 结构域,以及为何其他编码具有 PTEN 结构域成蛋白的基因与该基因没有共线性,目前还没有定论。

综上所述,本文基于生物信息学分析研究发现玉米成蛋白家族可能存在此前植物成蛋白研究尚未发现的功能,这为进一步了解植物成蛋白的功能及作用机制提出了新的方向。此外,本研究还发现玉米成蛋白家族与玉米的细胞生长等生理过程息息相关,因此通过调控玉米成蛋白基因的表达,有望为未来培育特殊需求的玉米提供帮助,进而应用于工业、新能源等领域。本文鉴定得到玉米成蛋白家族的成员并大致分析出其可能具有的功能,但仍需在将来

进一步开展对玉米成蛋白家族的功能验证等研究。

3 材料与方法

3.1 数据来源

玉米 (*Zea mays*) 的基因组序列以及玉米 gff3 注释文件均下载自 EnsemblPlant 数据库 (<http://plants.ensembl.org/index.html>)。水稻 (*Oryza sativa*) 成蛋白序列下载自 Rice Genome Annotation Project (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>), 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 成蛋白序列下载自 TAIR (<http://www.arabidopsis.org/>)。

3.2 玉米成蛋白家族成员的鉴定

从 EnsemblPlant 数据库 (<http://plants.ensembl.org/index.html>) 获得玉米的整个基因组以及 gff3 注释文件,使用 TBtools 软件将整个基因组翻译为氨基酸序列 (Chen et al., 2020)。并且通过序列比对功能与水稻成蛋白家族成员以及拟南芥成蛋白家族成员的氨基酸序列进行比对,筛选出可能具有 FH2 结构域的玉米蛋白。在 Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) 网站上获得 FH2 结构域的 HMM 模型 (PF02181),使用 HMMER 3.0 软件对玉米氨基酸序列进行搜索,将结果与 TBtools 的结果结合,初步确定可能为玉米成蛋白家族的成员。同时在 Pfam 网站 (<http://pfam.xfam.org/>) 对筛选的蛋白进行批量搜索,参数值为 1.0。通过 NCBI 网站的 Web CD-Search Tool 功能 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>) 对蛋白序列进行结构域分析,排除属于成蛋白亚家族的蛋白,最终得到 22 个玉米成蛋白成员,通过 ExPasy 网站 (https://web.expasy.org/compute_pi/) 得到 22 个成蛋白分子量和理论等电点。利用 Clustalw 网站 (<https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>) 进行氨基酸序列比对,并用 Esprict3.0 (<https://esprict.ibcp.fr/ESPrict/cgi-bin/ESPrict.cgi>) 修饰保守氨基酸序列结果 (图 1)。

3.3 玉米成蛋白家族的系统进化分析

使用 Mega 7.0 软件得到玉米成蛋白家族的进化树与水稻和拟南芥的 FH2 结构域进化树,通过 TBtools 软件得到基因结构、染色体定位结果,用 Microsoft Office PowerPoint 制作得到系统进化分析图 (图 2, 图 3) 和染色体定位图 (图 4)。

3.4 玉米成蛋白家族的功能预测与分析

通过 TBtools 软件提取玉米成蛋白基因的 CDS

上游 2 000 bp 碱基序列,上传至 PlantCARE 数据库 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)对顺式作用元件功能进行预测。将玉米成蛋白家族成员的 ID 转换并上传至 STRING 网站 (<https://string-db.org/>),选择最相似的蛋白进行蛋白互作分析,每一个玉米成蛋白获得可信心度最高的 10 个互作蛋白。从中筛选出与玉米成蛋白家族蛋白互作关系最密切的蛋白构成蛋白互作网络,并得到网络的 GO 功能富集结果(选取 GO 注释 P 值 <0.001)。在 Crop-pal 网站 (<https://crop-pal.org/>) 查询基因 ID 获得亚细胞定位信息。上传玉米基因编号至 BAR 网站 (<http://bar.utoronto.ca/>) 和 qTeller 网站 (<https://qteller.maizgedb.org/>) 获得玉米成蛋白家族成员的表达数据,表达量经 \log_2 均一化处理。使用 Excel 软件整理获得的信息,用 TBtools 软件进行可视化。

作者贡献

李斌是本研究的实验设计者和实验研究的执行人;杜志辉完成数据分析、论文初稿的写作;石杨和姜南参与实验设计和试验结果分析;陈稷和黄进是项目的构思者及负责人,指导实验设计、数据分析和论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

参考文献

- Aydin F., Courtemanche N., Pollard T.D., and Voth G.A., 2018, Gating mechanisms during actin filament elongation by formins, *eLife*, 7: e37342.
- Blanchoin L., and Staiger C.J., 2010, Plant formins: diverse isoforms and unique molecular mechanism, *Biochim. Biophys. Acta*, 1803(2): 201-206.
- Bloch D., and Yalovsky S., 2013, Cell polarity signaling, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 16(6): 734-742.
- Brembu T., Winge P., Bones A.M., and Yang Z., 2006, A RHOse by any other name: a comparative analysis of animal and plant Rho GTPases, *Cell Res.*, 16: 435-445.
- Chang F., Drubin D., and Nurse P., 1997, Cdc12p, a protein required for cytokinesis in fission yeast, is a component of the cell division ring and interacts with profilin, *J. Cell Biol.*, 137(1): 169-182.
- Chang S.W., Ren Z.H., Liu C., Du P.Z., Li J.B., Liu Z.Y., Zhang F.L., Hou H.L., Shi J.X., Liang W.Q., Yang L.T., Ren H.Y., and Zhang D.B., 2021, Os-FH3 encodes a Type II formin required for rice morphogenesis, *Int. J. Mol. Sci.*, 22(24): 13250.
- Chen C.J., Chen H., Zhang Y., Thomas H.R., Frank M.H., He Y.H., and Xia R., 2020, TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data, *Mol. Plant*, 13(8): 1194-1202.
- Cheng X.H., Mwaura B.W., Chang Stauffer S.R., and Bezanilla M., 2020, A fully functional ROP fluorescent fusion protein reveals roles for this GTPase in subcellular and tissue-level patterning, *Plant Cell*, 32(11): 3436-3451.
- Cheung A.Y., Niroomand S., Zou Y.J., and Wu H.M., 2010, A transmembrane formin nucleates subapical actin assembly and controls tip-focused growth in pollen tubes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(37): 16390-16395.
- Courtemanche N., 2018, Mechanisms of formin-mediated actin assembly and dynamics, *Biophys. Rev.*, 10(6): 1553-1569.
- Cvrcková F., Novotný M., Pícková D., and Zárský V., 2004, Formin homology 2 domains occur in multiple contexts in angiosperms, *BMC Genom.*, 5(1): 44.
- Deeks M.J., Fendrych M., Smertenko A., Bell K.S., Oparaka K., Cvrcková F., Zárský V., and Hussey P.J., 2010, The plant formin AtFH4 interacts with both actin and microtubules, and contains a newly identified microtubule-binding domain, *J. Cell Sci.*, 123(8): 1209-1215.
- Deeks M.J., Hussey P., and Davies B., 2002, Formins: intermediates in signal transduction cascades that affect cytoskeletal reorganization, *Trends Plant Sci.*, 7(11): 492-498.
- Diao M., Ren S.L., Wang Q.N., Qian L.C., Shen J.F., Liu Y.L., and Huang S.J., 2018, Arabidopsis formin 2 regulates cell-to-cell trafficking by capping and stabilizing actin filaments at plasmodesmat, *eLife*, 7: e36316.
- Favery B., Chelysheva L., Lebris M., Jammes F., Marmague A., Almeida-Engler J.D., Lecomte P., Vaury C., Arkowitz R., and Abad P., 2004, Arabidopsis formin AtFH6 is a plasma membrane-associated protein up-regulated in giant cells induced by parasitic nematodes, *Plant Cell*, 16(9): 2529-2540.
- Feiguelman G., Fu Y., and Yalovsky S., 2018, ROP GTPases structure-function and signaling pathways,

Plant Physiol., 176(1): 57-79.

- Funk J., Merino F., Venkova L., Heydenreich L., Kierfeld J., Vargas P., Raunser S., Piel M., and Bieling P., 2019, Profilin and formin constitute a pacemaker system for robust actin filament growth, *eLife*, 8: e50963.
- Grunt M., Zárský V., and Cvrčková F., 2008, Roots of angiosperm formins: the evolutionary history of plant FH2 domain-containing proteins, *BMC Evol. Biol.*, 8: 115.
- Huang J., Liu J.M., and Han C.D., 2013, Formin homology 1 (OsFH1) regulates submergence-dependent root hair development in rice plants, *Plant Signal Behav.*, 8(8): e24970.
- Ingouff M., Fitz Gerald J.N., Guérin C., Robert H., Sørensen M.B., Van Damme D., Geelen D., Blanchoin L., and Berger F., 2005, Plant formin AtFH5 is an evolutionarily conserved actin nucleator involved in cytokinesis, *Nat. Cell Biol.*, 7(4): 374-380.
- Kollárová E., Baquero Forero A., and Cvrčková F., 2021, The *Arabidopsis thaliana* class II formin FH13 modulates pollen tube growth, *Front. Plant Sci.*, 12: 599961.
- Kollárová E., Baquero Forero A., Stillerová L., Přerostová S., and Cvrčková F., 2020, Arabidopsis class II formins AtFH13 and AtFH14 can form heterodimers but exhibit distinct patterns of cellular localization, *Int. J. Mol. Sci.*, 21(1): 348.
- Kovar D.R., 2006, Molecular details of formin-mediated actin assembly, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 18(1): 11-17.
- Lan Y.X., Liu X.N., Fu Y., and Huang S.J., 2018, Arabidopsis class I formins control membrane-originated actin polymerization at pollen tube tips, *PLoS. Genet.*, 14(11): e1007789.
- Li Y.H., Shen Y., Cai C., Zhong C.C., Zhu L., Yuan M., and Ren H.Y., 2010, The type II Arabidopsis formin 14 interacts with microtubules and microfilaments to regulate cell division, *Plant Cell*, 22(8): 2710-2726.
- Nakamura M., Claes A.R., Grebe T., Hermkes R., Viotti C., Ikeda Y., and Grebe M., 2018, Auxin and ROP GTPase signaling of polar nuclear migration in root epidermal hair cells, *Plant Physiol.*, 176(1): 378-391.
- Otomo T., Tomchick D.R., Otomo C., Panchal S.C., Machius M., and Rosen M.K., 2005, Structural basis of actin filament nucleation and processive capping by a formin homology 2 domain, *Nature*, 433: 488-494.
- Pernier J., Shekhar S., Jegou A., Guichard B., and Carlier M.F., 2016, Profilin interaction with actin filament barbed end controls dynamic instability, capping, branching, and motility, *Dev. Cell*, 36(2): 201-14.
- Pruyne D., Evangelista M., Yang C., Bi E., Zigmond S., Bretscher A., and Boone C., 2002, Role of formins in actin assembly: nucleation and barbed-end association, *Science*, 297(5581): 612-615.
- Rosero A., Žárský V., and Cvrčková F., 2013, AtFH1 formin mutation affects actin filament and microtubule dynamics in *Arabidopsis thaliana*, *J. Exp. Bot.*, 64(2): 585-597.
- Sun T.T., Li S.W., and Ren H.Y., 2017, OsFH15, a class I formin, interacts with microfilaments and microtubules to regulate grain size *via* affecting cell expansion in rice, *Sci. Rep.*, 7(1): 6538.
- Van Gisbergen P.A.C., and Bezanilla M., 2013, Plant formins: membrane anchors for actin polymerization, *Trends Cell Biol.*, 23(5): 227-233.
- Van Gisbergen P.A.C., Li M., Wu S.Z., and Bezanilla M., 2012, Class II formin targeting to the cell cortex by binding PI(3,5)P₂ is essential for polarized growth, *J. Cell Biol.*, 198(2): 235-250.
- Vidali L., Burkart G.M., Augustine R.C., Kerdauid E., Tüzel E., and Bezanilla M., 2010, Myosin XI is essential for tip growth in *Physcomitrella patens*, *Plant Cell*, 22(6): 1868-1882.
- Vidali L., Van Gisbergen P.A.C., Guérin C., Franco P., Li M., Burkart G.M., Augustine R.C., Blanchoin L., and Bezanilla M., 2009, Rapid formin-mediated actin-filament elongation is essential for polarized plant cell growth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(32): 13341-13346.
- Waller B.J., and Alberts A.S., 2003, The formins: active scaffolds that remodel the cytoskeleton, *Trends Cell Biol.*, 13(8): 435-446.
- Wang J.J., Zhang Y., Wu J., Meng L., and Ren H.Y., 2013, AtFH16, an Arabidopsis type II formin, binds and bundles both microfilaments and microtubules, and preferentially binds to microtubules, *J. Integr. Plant Biol.*, 55(11): 1002-1015.
- Wang Y., Zhang W.Z., Song L.F., Zou J.J., Su Z., and

- Wu W.H., 2008, Transcriptome analyses show changes in gene expression to accompany pollen germination and tube growth in Arabidopsis, *Plant Physiol.* 148(3): 1201-1211.
- Wu H.M., Hazak O., Cheung A.Y., and Yalovsky S., 2011, RAC/ROP GTPases and auxin signaling, *Plant Cell*, 23(4): 1208-1218.
- Xu Y.W., Moseley J.B., Sagot I., Poy F., Pellman D., Goode B.L., and Eck M.J., 2004, Crystal structures of a formin homology-2 domain reveal a tethered dimer architecture, *Cell*, 116(5): 711-723.
- Xue X.H., Guo C.Q., Du F., Lu Q.L., Zhang C.M., and Ren H.Y., 2011, AtFH8 is involved in root development under effect of low-dose latrunculin b in dividing cells, *Mol. Plant*, 4(2): 264-278.
- Yang W.B., Ren S.L., Zhang X.M., Gao M.J., Ye S.H., Qi Y.B., Zheng Y.Y., Wang J., Zeng L.J., Li Q., Huang S.J., and He Z.H., 2011, Bent uppermost internode1 encodes the class II formin FH5 crucial for actin organization and rice development, *Plant Cell*, 23(2): 661-680.
- Ye J.R., Zheng Y.Y., Yan A., Chen N.Z., Wang Z.K., Huang S.J., and Yang Z.B., 2009, Arabidopsis formin 3 directs the formation of actin cables and polarized growth in pollen tubes, *Plant Cell*, 21(12): 3868-3884.
- Zhang S., Liu C., Wang J.J., Ren Z.H., Staiger C.J., and Ren H.Y., 2016, A processive Arabidopsis formin modulates actin filament dynamics in association with profilin, *Mol. Plant*, 9(6): 900-910.
- Zhang Z., Zhang Y., Tan H.X., Wang Y., Li G., Liang W.Q., Zheng Y., Hu J.P., Ren H.Y., and Zhang D.B., 2011, Rice morphology determinant encodes the Type II formin FH5 and regulates rice morphogenesis, *Plant Cell*, 23(2): 681-700.
- Zheng Z.L., and Yang Z., 2000, The Rop GTPase: an emerging signaling switch in plants, *Plant Mol. Biol.*, 44(1): 1-9.
- Zigmond S.H., 2004, Formin-induced nucleation of actin filaments, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 16(1): 99-105.

(责任编辑 甘凤琼)

(实习编辑 李金妮)