

文章编号:1000-8551(2019)03-0482-08

基于转录组信息的黑果枸杞 WD40 蛋白质家族分析

严莉^{1,2} 陈建伟² 王翠平^{2,*} 仝倩¹ 王晨¹ 乔改霞² 李健²

(¹宁夏大学生命科学学院,宁夏 银川 750021;²宁夏林业研究院种苗生物工程国家重点实验室,宁夏 银川 750004)

摘要:WD40 蛋白质为真核生物中一种常见蛋白质,广泛参与植物生长发育的多种生物过程,在蛋白质-蛋白质及蛋白质-DNA 的相互作用中发挥重要作用。为系统分析黑果枸杞 WD40 蛋白质家族成员,本研究以黑果枸杞青色期、转色期和成熟期 3 个发育时期的果实转录组测序数据为基础,结合 Nr、Nt、Pfam、KOG/COG、Swiss-prot、KEGG 及 GO 7 个数据库和 NCBI 网站,对黑果枸杞 WD40 蛋白质编码基因进行筛选注释。结果表明,共得到 77 个黑果枸杞 WD40 蛋白质家族成员,黑果枸杞 WD40 蛋白质结构域组成多样,且在不同物种间高度保守;亚细胞定位预测分析表明,黑果枸杞 WD40 蛋白质家族成员多位于细胞核及细胞质中;黑果枸杞和拟南芥 WD40 蛋白质共建的系统进化树可分为五个亚家族;WD40 蛋白质家族成员编码基因随果实发育的表达模式表明,黑果枸杞 WD40 蛋白质家族成员可能参与了其果实花青素的变化调控。本研究结果为枸杞 WD40 蛋白质的分离及功能研究奠定了一定的理论基础。

关键词:黑果枸杞;转录组测序;WD40 蛋白;分层聚类分析;表达模式

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2019.03.0482

WD40 蛋白质又称 WD40 重复体,广泛存在于真核生物中,在原核生物中极少见^[1]。WD40 蛋白质中的 WD40 基序高度保守,通常约含 40~60 个氨基酸残基,在其 N 末端含有甘氨酸-组氨酸(GH)二肽,C 末端含有色氨酸-天冬氨酸(WD)二肽,中间被可变区域隔开^[2-5]。WD40 基序可作为蛋白质-蛋白质及蛋白质-核酸相互作用的支架^[6],多数 WD40 蛋白质包含至少由 4 个 WD40 基序折叠形成的 β 螺旋桨结构,并通过该结构发挥作用^[7]。

研究表明,WD40 蛋白质广泛存在于细胞质和核质中,参与多种重要的细胞过程^[8],包括信号转导^[9]、基因转录调控^[10]、细胞骨架动力学^[11]、膜泡运输^[12]、DNA 损伤及修复^[13]、细胞死亡和细胞周期调控^[14]等。目前对植物 WD40 蛋白质的研究主要集中于模式植物拟南芥,如 Lee 等^[15]通过酵母双杂交实验分离得到拟南芥 WD40 蛋白质 AtSeh1,分析其结构发现 AtSeh1 含有 4 个 WD40 基序,为 COP II 囊泡的重要组成部分,可通过控制动力蛋白 AtDRP2A(控制从反面高尔基网络到中央液泡的蛋白运输)来调控膜泡运输;Gachomo

等^[16]通过反向遗传和蛋白质建模分离出拟南芥 WD40 蛋白质家族成员 GIGANTUS1(GTS1),并发现其可通过调控细胞中核糖体的结构、活动和生物遗传来调节植物的生长发育;Cheng 等^[17]研究发现拟南芥 GSK3 样激酶可直接调控 MYB-bHLH-WD40 转录因子复合体的表达来调控植物体内油菜素内酯的含量进而调控植物根毛区细胞的发育;Beris 等^[18]通过 RNA 干扰介导基因沉默表达的方法分离出拟南芥 WD40 蛋白质 AtULCS1,发现其通过与植物泛素环连接酶亚基 DDB1 α 相互作用导致某种特异酶的降解,来抑制花药细胞次生壁的形成。

诸多研究学者对其他生物 WD40 蛋白质也进行了相关研究,如 Ge 等^[19]发现烟草 NtTTG1 和 NtTTG2 可分别与诱导蛋白 ParA1、参与生长素信号转导途径的 3 种蛋白质(NtARF8、NtARF17 和 NtARF19)共同作用来调控烟草的生长发育及对抵御病原菌的浸入,说明 WD40 蛋白质可与多种蛋白质相互作用促进植物的生长发育;Lee 等^[20]分离出一种欧洲油菜 WD40 蛋白质 BnSWD1,发现其在盐胁迫、脱落酸、茉莉酸甲酯及水

收稿日期:2017-11-13 接受日期:2018-02-02

基金项目:国家自然科学基金(31701878、31660045),国际合作专项项目(2015DFA90900),宁夏林业科技重大公益枸杞专项(2016-328)

作者简介:严莉,女,主要从事逆境植物生理生态学研究。E-mail:18295085526@163.com

* 通讯作者:王翠平,女,助理研究员,主要从事枸杞遗传育种研究。E-mail:wangcuipingcas@163.com

杨酸处理下的表达水平较对照显著升高,推测该基因可能依赖脱落酸或其他信号来响应盐胁迫,为研究 WD40 蛋白质响应非生物胁迫提供一种新思路; Guerriero 等^[21]在子囊菌中分离出 WD40 蛋白质编码基因 *WDR*, 分析后发现其是真菌几丁质生物合成基因簇中的保守成员,并参与了细胞壁的形成调控, Beris 等^[18]在拟南芥中也得出类似结果,说明在植物和真菌中 WD40 蛋白质功能具有保守性。

黑果枸杞 (*Lycium ruthenicum* Murr.) 为西北干旱半干旱地区特色灌木树种,其果实中花青素含量丰富,经济价值较高^[22-23]。目前关于黑果枸杞的研究报道主要集中于对其活性成分、代谢途径、耐盐性及遗传转化研究 4 个方面,对黑果枸杞类黄酮及花青素合成途径关键基因的研究尚不常见。本研究通过对黑果枸杞青色期、转色期和成熟期 3 个发育时期的果实进行转录组测序,根据测序结果筛选黑果枸杞 WD40 蛋白质家族成员,对其进行结构域组成、亚细胞定位、进化关系分析,并对 WD40 蛋白质编码基因成员在果实生长发育 3 个时期的表达变化进行分析,以期在黑果枸杞中 WD40 蛋白质的功能研究奠定一定的基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

2016 年 7 月 12 日在宁夏林业研究院枸杞资源试验田选取生长健康、长势良好的黑果枸杞植株(组培苗扦插繁育)并标记,开花后 25 d 开始采摘青果期果实,40 d 后采摘转色期果实,58 d 后采摘成熟期果实(各生育期取样果实大小、饱满度一致)。以 3 株黑果枸杞的果实为一个重复,设 3 次生物学重复,取样后立即用液氮速冻, -80℃ 保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 果实总 RNA 提取、文库构建及转录组测序

利用天根生化科技(北京)有限公司提供的植物总 RNA 提取试剂盒(RNA Prep Pure Plant Kit)分别提取黑果枸杞青色期(G1~G3)、转色期(C1~C3)和成熟期(B1~B3)果实的总 RNA,采用 NanoDrop-2000 核酸检测仪(上海 Thermo Scientific 有限公司)检测 RNA 纯度(OD₂₆₀/OD₂₈₀),通过 Qubit[®] 1.0 荧光仪(上海恒斐生物科技有限公司)对 RNA 浓度进行精确定量,然后用 Agilent 2100 生物分析仪(安捷伦,美国)精确检测 RNA 的完整性,最后以 1% 的琼脂糖凝胶电泳。样品检测合格后送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行转录组测序,后续分析基于此测序结果数据。

1.2.2 黑果枸杞和拟南芥 WD40 蛋白质编码基因的筛选 基于转录组测序数据,在 Nr、Nt、Pfam、KOG/COG、Swiss-prot、KEGG 及 GO 7 个数据库进行注释,初步注释到 136 个 WD40 基因,将这些基因编码的蛋白质逐个进行 NCBI Blastp 和 SMART 预测,去除重复序列或短序列后,最终得到 77 个 WD40 基因。拟南芥 WD40 蛋白质序列从 TAIR (<http://www.arabidopsis.org/>) 数据库中下载获得。

1.2.3 黑果枸杞 WD40 蛋白质家族结构域、亚细胞定位及进化关系分析 对初步注释得到的 136 个黑果枸杞 WD40 蛋白质逐个进行 NCBI Blastp 和 SMART 预测,得到每个 WD40 蛋白质的结构域组成,根据其所含结构域分析其结构特征;利用在线软件 Prot Comp 9.0 (<http://linux.softberry.com>) 对 77 个候选 WD40 基因家族各成员的氨基酸序列进行亚细胞定位预测分析;利用 MEGA6.0 软件对 77 个黑果枸杞 WD40 蛋白质和部分功能明确的拟南芥 WD40 蛋白质(共 34 个,包括仅含 WD40 基序的 WD40 蛋白质 13 个,同时包含 WD40 基序和其他结构域的 WD40 蛋白质 21 个)进行序列比对,并用邻接(Neighbor-Joining)法构建系统进化树,进行 Bootstrap 测试,重复设置为 1 000,其他参数为默认设置。

1.2.4 黑果枸杞 WD40 基因的表达模式分析 黑果枸杞果实转录组测序文库中各基因片段表达量的计算采用 RPKM (reads per kb per million) 法^[24]。采用 Heml 软件对 77 个黑果枸杞 WD40 基因在果实发育各生育期的表达数据进行分层聚类分析,得到黑果枸杞 WD40 基因家族成员随果实发育的表达模式。

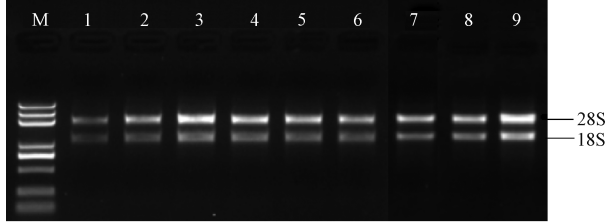
2 结果与分析

2.1 黑果枸杞果实总 RNA 提取、文库构建及转录组测序结果分析

由图 1 可知,9 种 RNA 样品(G1、G2、G3、C1、C2、C3、B1、B2 和 B3)的 28S 和 18S 条带清晰明亮,且 28S 和 18S 条带的亮度比接近 2:1,各条带均没有拖尾现象,各 RNA 样品无 DNA 和蛋白污染,说明 9 个样品 RNA 的质量和完整性较好,可用于后续研究。

转录组测序结果表明,共得到 194 385 条基因序列,其中有 138 322 个基因被注释到 Nr、Nt、Pfam、KOG/COG、Swiss-prot、KEGG 和 GO 功能数据库中,占基因总数的 71.15%,被同时注释到 7 大数据库的基因序列有 18 088 条。基因进行 KO 注释后对参与的 KEGG 代谢通路进行分类分析,发现这些基因参与的

KEGG 代谢通路共分为 5 个分支,即细胞过程 (cellular process)、环境信息处理 (environmental information processing)、遗传信息处理 (genetic information processing)、代谢 (metabolism) 和有机系统 (organismal system)。



注:1~3:青色果实 (G1~G3); 4~6:转色期果实 (C1~C3); 7~9:成熟期果实 (B1~B3)。

Note:1-3: Green fruits (G1- G3). 4-6: Colouring fruits (C1- C3). 7-9: Black fruits (B1-B3).

图 1 黑果枸杞果实发育各时期总 RNA 的电泳图
Fig.1 The gel electrophoresis diagram of the total RNA in different development periods of *L. ruthenicum* Murr.

2.2 黑果枸杞 WD40 蛋白质编码基因的筛选与蛋白质序列的分类分析

对所得 77 条黑果枸杞 WD40 蛋白质序列进行批量 SMART 预测,根据其所包含的结构域类型将其分为仅含 WD40 基序的 WD40 蛋白质和同时含有其他结构域的 WD40 蛋白质,最终鉴定出仅含 WD40 基序的

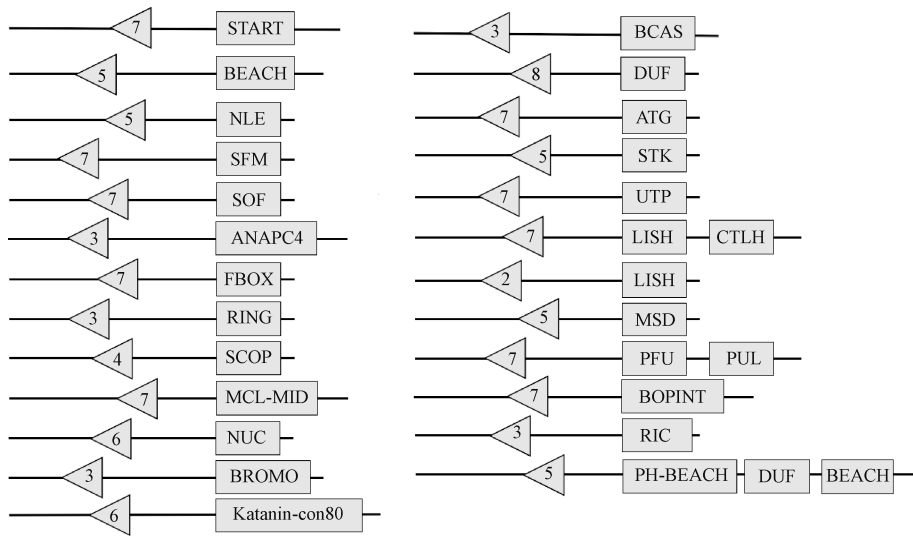
黑果枸杞 WD40 蛋白质有 38 个,包括含 1 个 WD40 基序的蛋白质 1 个,含 2 个 WD40 基序的蛋白质有 3 个,含 3 个 WD40 基序的蛋白质 2 个,含 4 个 WD40 基序的蛋白质 6 个,含 5 个 WD40 基序的蛋白质 3 个,含 6 个 WD40 基序的蛋白质 7 个,含 7 个 WD40 基序的蛋白质 11 个,含 8 个 WD40 基序的蛋白质 2 个,含 11 个 WD40 基序的蛋白质 2 个,含 13 个 WD40 基序的蛋白质 1 个。鉴定出同时含有 WD40 基序和其他结构域的 WD40 蛋白质共 39 个,这些蛋白质共包含 25 种结构域类型 (图 2)。

2.3 黑果枸杞 WD40 蛋白质的亚细胞定位分析

由图 3 可知,共有 42 个 WD40 蛋白质定位于细胞质中,占鉴定出的 WD40 蛋白质总数的 54.55%;24 个蛋白质定位于细胞核中,占鉴定出的 WD40 蛋白质总数的 31.17%;2 个蛋白质定位于细胞膜上,1 个蛋白质定位于细胞壁上,3 个蛋白质定位于线粒体上,5 个蛋白质定位于内质网上。其中,定位于细胞核及细胞质上的 WD40 蛋白质占鉴定出的总 WD40 蛋白质的 85.71%,说明 WD40 蛋白质主要位于细胞核及细胞质中。此外,还有 11 个 WD40 蛋白质分别定位于细胞膜、细胞壁、内质网及线粒体上,说明 WD40 蛋白质在黑果枸杞中分布范围广,有利于其行使多种功能。

2.4 黑果枸杞与拟南芥 WD40 蛋白质家族的比较分析

利用 MEGA5.0 软件构建黑果枸杞和拟南芥 WD40 蛋白家族的系统进化树,根据进化树 (图 4) 的



注:三角形代表 WD40 基序,数字代表其所含 WD40 基序的数目。

Note: The triangle represents the WD40 motif, and the number represent the number of WD40 motifs.

图 2 黑果枸杞 WD40 蛋白质的分子结构类型

Fig.2 The molecular structure of WD40 proteins in *L. ruthenicum* Murr.

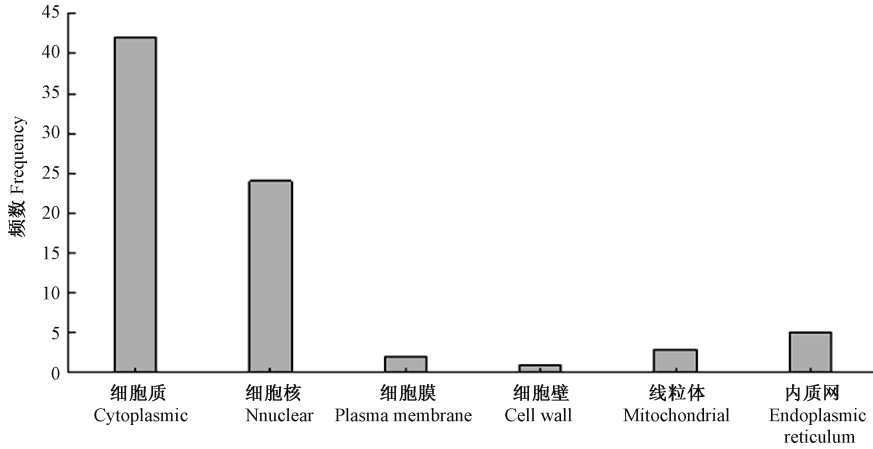
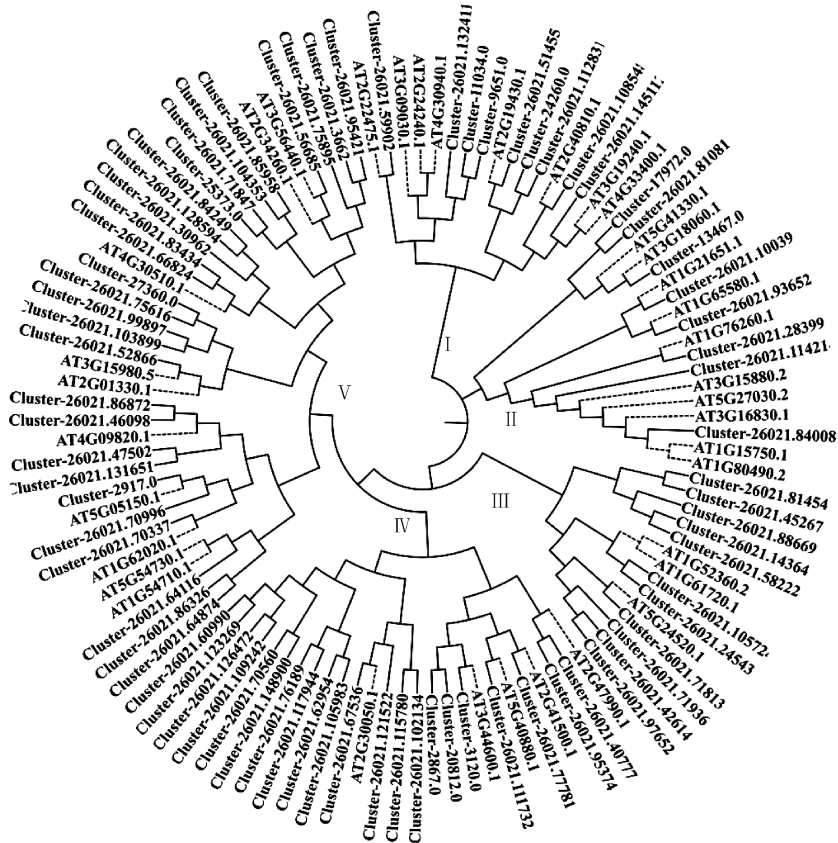


图3 黑果枸杞 WD40 蛋白质家族的亚细胞定位预测

Fig.3 Sub-cellular localization of WD40 protein family in *L. ruthenicum* Murr.

拓扑结构对两个物种的 WD40 蛋白进行聚类分析,共分为五个亚家族,第 I 个亚家族包含 17 个 WD40 蛋白质,其中黑果枸杞 WD40 蛋白质 Cluster-26021.51455 和拟南芥 WD40 蛋白质 AT2G19430.1 处于同一进化

亚枝;第 II 亚家族包含 18 个 WD40 蛋白质,其中黑果枸杞 WD40 蛋白质 Cluster-26021.93652 与拟南芥 WD40 蛋白质 AT1G65580.1 处于同一进化亚枝上;第 III 亚家族包含 14 个 WD40 蛋白质,其中黑果枸杞



注:实线代表黑果枸杞;虚线代表拟南芥。

Note: The full lines represents *L. ruthenicum* Murr.. The dotted lines represents *Arabidopsis thaliana*.

图4 黑果枸杞和拟南芥 WD40 蛋白质家族的进化分析

Fig.4 Phylogenetic analysis of WD40 protein family in *L. ruthenicum* Murr. and *Arabidopsis thaliana*

WD40 蛋白质 Cluster - 26021. 10572、Cluster - 26021. 24543 和 Cluster-26021. 71813 分别与拟南芥 WD40 蛋白质 AT1G61720. 1 和 AT5G24520. 1 位于同一进化亚枝;第IV亚家族包含 26 个 WD40 蛋白质,其中黑果枸杞 WD40 蛋白质 Cluster-26021. 77781 与拟南芥 WD40 蛋白质 AT2G41500. 1 位于同一进化亚枝;第V亚家族包含 38 个 WD40 蛋白质,为进化树中 WD40 成员最多的亚家族,其中黑果枸杞 WD40 蛋白质 Cluster-26021. 46098 和 Cluster-26021. 86872 均与拟南芥 AT4G09820. 1 位于同一进化亚枝。根据拟南芥数据库 (TAIR: <http://www.arabidopsis.org/>) 中 WD40 蛋白质的功能注释,拟南芥 WD40 蛋白质 AT1G61720. 1、AT5G24520. 1 和 AT4G09820. 1 均参与了类黄酮及花青素的代谢调控,而黑果枸杞 WD40 蛋白质 Cluster - 26021. 105724、Cluster - 26021. 24543、Cluster-26021. 46098 和 Cluster-26021. 86872 与其进化关系较近,可能参与了黑果枸杞中花青素的代谢调控。

2.5 黑果枸杞 WD40 蛋白质编码基因在果实不同发育期的表达模式分析

由图 5 可知,随着果实的发育成熟,黑果枸杞各 WD40 蛋白质编码基因的表达模式存在差异,共有 17 个 WD40 蛋白质编码基因随果实的发育成熟表达上调,其中 Cluster-2917. 0、Cluster-26021. 67536、Cluster-11034. 0、Cluster-20812. 0 和 Cluster-24260. 0 基因的上调表达较明显;共有 21 个 WD40 蛋白质编码基因在果实发育的青色期到转色期表达上调,而在果实发育的转色期到成熟期表达下调;共有 13 个 WD40 编码基因随果实的发育成熟表达下调,其中 Cluster-17972. 0 和 Cluster-26021. 148900 基因的表达下调较明显;共有 26 个 WD40 蛋白质编码基因的表达在果实发育的青色期到转色期、转色期到成熟期均呈先降低后增加的趋势。

3 讨论

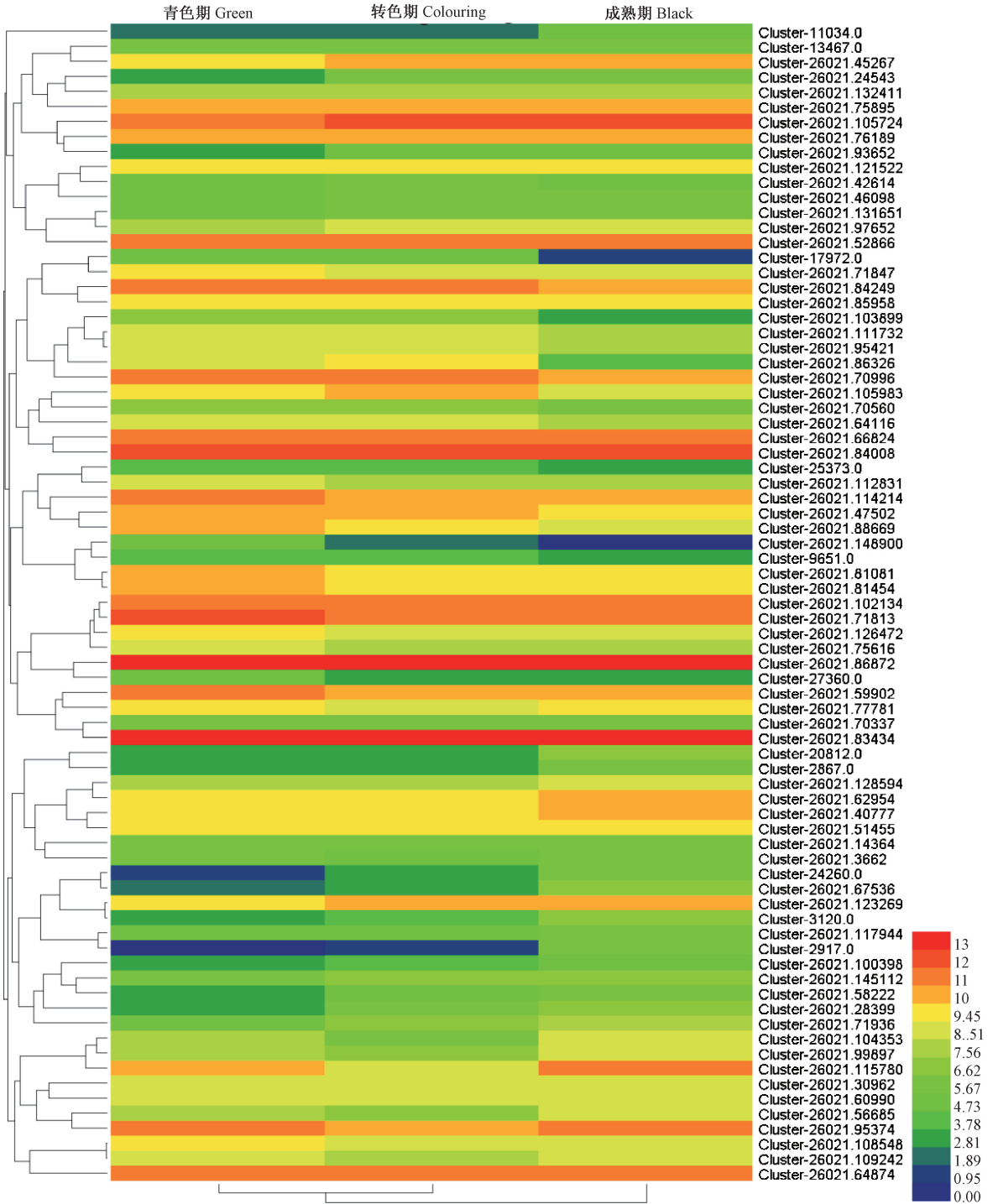
由于不同 WD40 蛋白质所含 WD40 基序数目不同,且部分蛋白质同时含有其他重要结构域,导致 WD40 蛋白质结构和功能的多样化。Ouyang 等^[25]对水稻 *O_sWD40* 基因进行系统鉴定与共表达分析,根据水稻 WD40 蛋白质所含结构域将水稻 WD40 蛋白质分为 11 类,包括仅含 WD40 基序的 WD40 蛋白质 145 个,同时包含 LisH 结构域、Utp12、Utp13、Utp15 和 Utp21 结构域、WDAD 或 COPI 结构域、NLE 结构域、热

激蛋白重复体、BEACH 结构域及 BCAS3 结构域及 F-BOX/U-BOX 结构域的 WD40 蛋白质 55 个;Mishra 等^[9]在谷子全基因组中鉴定得到 225 个 *SiWD40* 基因,根据谷子 WD40 蛋白质所含结构域将谷子 WD40 蛋白质分为 12 类,包括仅含 WD40 基序的 WD40 蛋白质 146 个,同时包含其他结构域的 WD40 蛋白质 79 个。本研究结果表明,黑果枸杞 WD40 蛋白质包括仅含 WD40 基序的 WD40 蛋白质有 38 个,同时含其他结构域的 WD40 蛋白质 39 个,这与前人研究结果一致,说明 WD40 蛋白质的结构在物种间具有高度保守性。

大量研究表明,基因表达模式与基因功能密切相关,如 An 等^[26]通过检测苹果 WD40 蛋白质编码基因 *MdTTG1* 在其根、叶、花及果皮中的表达,发现其在苹果红色果皮中表达最高,将苹果的 WD40 蛋白质编码基因 *MdTTG1* 在拟南芥中异位表达,发现其可提高拟南芥花青素的积累;而 Zhu 等^[27]发现烟草 WD40 蛋白质编码基因 *NiTTG2* 表达沉默后,烟草花中的花青素含量显著降低。本研究通过对黑果枸杞 WD40 蛋白质编码基因在果实发育青色期、转色期、成熟期的表达作分层聚类分析发现,黑果枸杞 WD40 蛋白质编码基因 Cluster-2917. 0 和 Cluster-20812. 0 的表达随着果实发育不断升高,且在成熟期较转色期分别提高 33 倍和 10 倍以上,推测这 2 个 WD40 蛋白质编码基因可能正向调控黑果枸杞果实的颜色变化及花青素积累;由黑果枸杞与拟南芥 WD40 蛋白质共建的进化树得出,黑果枸杞 WD40 蛋白质 Cluster-26021. 105724、Cluster-26021. 24543、Cluster-26021. 46098 和 Cluster-26021. 86872 与拟南芥中参与花青素调控的 WD40 蛋白质进化关系接近,同时结合黑果枸杞 WD40 基因随果实发育的表达模式中这些基因的表达趋势,进一步证实了这些基因可能为花青素合成调控的候选基因。本试验结果为枸杞中 WD40 蛋白质编码基因的分离和研究提供了一定的理论基础。

4 结论

本研究基于黑果枸杞不同发育时期果实转录组测序结果,筛选注释出 77 个黑果枸杞 WD40 蛋白质编码基因;分析其结构域和结构组成得出黑果枸杞 WD40 蛋白质家族成员结构保守;亚细胞预测结果显示,黑果枸杞 WD40 蛋白质主要分布于细胞核及细胞质中,其家族成员随果实发育呈现不同的表达模式。本研究结果为枸杞中 WD40 蛋白质编码基因的研究提供了一定的理论依据。下一步将通过实时荧光定量 PCR 对



注:不同颜色代表相应表达量的数值,数值越大,表达量越高。

Note: Each kind of color represents the value of the corresponding relative expression.

The higher the value, the higher the expression.

图 5 黑果枸杞 WD40 基因在果实发育不同时期的表达模式

Fig.5 The pattern of expression of WD40 gene in the development period of fruit in *L. ruthenicum* Murr.

WD40 蛋白质编码基因的表达进行验证,并挑选随果实颜色变化表达差异显著的 WD40 蛋白质编码基因,并对其功能进行研究。

参考文献:

[1] Migliori V, Mapelli M, Guccione E. On WD40 proteins: propelling

- our knowledge of transcriptional control[J]. *Epigenetics*, 2012, 7(8): 815-822
- [2] Stirnimann C U, Petsalaki E, Russell R B, Müller C W. WD40 proteins propel cellular networks [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2010, 35(10): 565-574
- [3] Wang Y, Jiang F, Zhuo Z, Wu X H, Wu Y D. A method for WD40 repeat detection and secondary structure prediction[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e65705
- [4] Wang C, Dong X, Han L, Su X D, Zhang Z. Identification of WD40 repeats by secondary structure-aided profile-profile alignment [J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2016, 398: 122-129
- [5] 严莉, 陈建伟, 王翠平, 乔改霞, 李健. 黑果枸杞 WD40 编码基因 *LrAN11* 的克隆及表达分析[J]. *核农学报*, 2017, 31(11): 2103-2112
- [6] Xu C, Min J. Structure and function of WD40 domain proteins[J]. *Protein & Cell*, 2011, 2(3): 202-214
- [7] Yan S, Willis J. WD40-repeat protein WDR18 collaborates with TopBP1 to facilitate DNA damage checkpoint signaling [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2013, 431(3): 466-71
- [8] Mishra A K, Puranik S, Prasad M. Structure and regulatory networks of WD40 protein in plants [J]. *Journal of Plant Biochemistry & Biotechnology*, 2012, 21(1): 32-39
- [9] Mishra A K, Muthamilarasan M, Khan Y, Parida S K, Prasad M. Genome-wide investigation and expression analyses of WD40 protein family in the model plant foxtail millet (*Setaria italica* L.) [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e86852
- [10] Hua Z, Vierstra R D. The cullin-RING ubiquitin-protein ligases[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2011, 62(1): 299-334
- [11] Appleton B, Wu P C. The crystal structure of murine coronin-1: A regulator of actin cytoskeletal dynamics in lymphocytes [J]. *Structure*, 2006, 14(1): 87-96
- [12] Lim N R, Yeap Y C, Ang C S, Williamson N A, Bogoyevitch M A. Aurora A phosphorylation of WD40-repeat protein 62 in mitotic spindle regulation[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(3): 413-424
- [13] Han Z, Guo L, Wang H, Shen Y, Deng X W. Structural basis for the specific recognition of methylated histone H3 lysine 4 by the WD-40 protein WDR5[J]. *Molecular Cell*, 2006, 22(1): 137-144
- [14] Zhang C, Zhang F. The multifunctions of WD40 proteins in genome integrity and cell cycle progression[J]. *Journal of Genomics*, 2015, 10(3): 40-50
- [15] Lee M H, Lee S H, Kim H, Jin J B, Kim D H, Hwang I. A WD40 repeat protein, *Arabidopsis* Sec13 homolog 1, may play a role in vacuolar trafficking by controlling the membrane association of AtDRP2A[J]. *Molecules & Cells*, 2006, 22(2): 210-219
- [16] Gachomo E W, Jimenez-Lopez J C, Baptiste L J, Kotchoni S O. GIGANTUS1 (GTS1), a member of transducin/WD40 protein superfamily, controls seed germination, growth and biomass accumulation through ribosome-biogenesis protein interactions in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14(1): 37-54
- [17] Cheng Y, Zhu W, Chen Y, Ito S S, Asami T, Wang X L. Brassinosteroids control root epidermal cell fate via direct regulation of a MYB-bHLH-WD40 complex by GSK3-like kinases [J]. *Elife*, 2014, 3(3): 69-76
- [18] Beris D, Kapolas G, Livanos P, Roussis A, Milioni D, Haralampidis K. RNAi-mediated silencing of the *Arabidopsis thaliana* *ULCS1* gene, encoding a WDR protein, results in cell wall modification impairment and plant infertility [J]. *Plant Science An International Journal of Experimental Plant Biology*, 2016, 245(2): 71-83
- [19] Ge J, Li B, Dan S, Xie J Y, Long J Y, Dong H S. Tobacco *TTG2* regulates vegetative growth and seed production via the predominant role of ARF8 in cooperation with ARF17 and ARF19 [J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16(1): 126-143
- [20] Lee S, Lee J, Paek K H, Kwon S Y, Cho H S, Kim S J, Park J M. A novel WD40 protein, BnSWD1, is involved in salt stress in *Brassica napus* [J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2010, 4(2): 165-172
- [21] Guerriero G, Silvestrini L, Obersriebnig M, Hausman J F, Strauss J, Ezcurra I. A WDR gene is a conserved member of a chitin synthase gene cluster and influences the cell wall in *Aspergillus nidulans* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(7): 1031-1045
- [22] 赵秀玲. 黑果枸杞生理活性成分研究进展[J]. *食品与生物技术学报*, 2016, 35(6): 561-568
- [23] 林丽, 张裴斯, 晋玲, 贺正阳, 高素芳. 黑果枸杞的研究进展[J]. *中国药房*, 2013, 24(47): 4493-4497
- [24] Feng C, Chen M, Xu C J, Bai L, Yin X R, Li X, Allan A C, Ferguson L B, Chen K S. Transcriptomic analysis of Chinese bayberry (*Myrica rubra*) fruit development and ripening using RNA-Seq [J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(1): 13-19
- [25] Ouyang Y, Huang X, Lu Z, Yao J L. Genomic survey, expression profile and co-expression network analysis of OsWD40 family in rice [J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(1): 100-115
- [26] An X H, Tian Y, Chen K Q, Wang X F, Hao Y J. The apple WD40 protein MdTTG1 interacts with bHLH but not MYB proteins to regulate anthocyanin accumulation [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2012, 169(7): 710-717
- [27] Zhu Q, Li B, Mu S, Han B, Cui R. *TTG2*-regulated development is related to expression of putative auxin response factor genes in tobacco [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 806-821

Analysis of WD40 Protein Family Based on Transcriptome Sequencing in *Lycium ruthenicum* Murr.

YAN Li^{1,2} CHEN Jianwei² WANG Cuiping^{2,*} TONG Qian¹ WANG Chen¹ QIAO Gaixia² LI Jian²

(¹ College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021;

² Ningxia Forestry Institute Key Laboratory of the Seedling Bioengineering, Yinchuan, Ningxia 750004)

Abstract: WD40 protein is one of the most common transcription factor families in eukaryotes. It is widely involved in many biological processes and plays an important role in protein-protein and protein-DNA interactions. In order to systematically analyze the WD40 protein family members of *Lycium ruthenicum* Murr., the transcriptome sequencing data of the fruit in the green, colouring, black periods of *L. ruthenicum* Murr. was analyzed with the Nr, Nt, Pfam, KOG/COG, Swiss-prot, KEGG and GO database and NCBI website to screen and annotate the encoding genes of WD40 protein in *L. ruthenicum* Murr. We have screened 77 members of WD40 protein family in *L. ruthenicum* Murr.. The structural domain of WD40 protein in *L. ruthenicum* Murr. is diverse, and which is highly conserved among different species. The results of the subcellular localization demonstrated WD40 protein family in *L. ruthenicum* Murr. was mostly located in the nucleus and cytoplasm. The phylogenetic trees of WD40 protein family of *L. ruthenicum* Murr. and *Arabidopsis thaliana* showed that WD40 protein family of *L. ruthenicum* Murr. contained five subfamilies. The expression WD40 genes of *L. ruthenicum* Murr. dependent fruit development indicated that WD40 protein family members of *L. ruthenicum* Murr. may be involved in the regulation of anthocyanin in their fruit. This study systematically analyzed the members of WD40 protein family of *L. ruthenicum* Murr., which provide the basis for the study on the function and isolation of WD40 protein from *Lycium barbarum* Murr..

Keywords: *Lycium ruthenicum* Murr., transcriptome sequencing, WD40 protein, hierarchical clustering analysis, expression pattern