

# 蔓花生 *PEPC* 基因家族的生物信息学分析

涂嘉琦, 甘璐, 冯兰兰, 袁良兵, 黎茵\*

(广东省热带亚热带植物资源重点实验室, 中山大学生命科学学院, 广州 510275)

**摘要:** 为了解花生中磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)的功能, 对二倍体祖先种野生蔓花生(*Arachis duranensis*)基因组数据库进行分析, 发现存在 9 个 *AdPEPC* 基因家族成员, 这些基因的序列长度为 3 584~12 956 bp, 开放阅读框(ORF)长度为 702~3 168 bp, 分布在 3、5、7、8、9、10 号染色体上。蔓花生 *AdPEPC* 家族蛋白的氨基酸序列中均含有  $\text{HCO}_3^-$  结合位点和 PEP 结合位点等保守结构域, 根据序列特征可分为植物型、细菌型和序列较短的 *PEPC* 等 3 类, 同类蛋白序列的同源性较高, 基因结构中的内含子与外显子的数目也较相似。基因表达分析表明, 多数成员在花或茎中的表达量较高, *AdPEPC1;2* 和 *AdPEPC4;2* 在茎中的表达量最高, 其他家族成员尤其是 *AdPEPC2*、*AdPEPC1;5* 和 *AdPEPC1;3* 在花中的表达量明显高于其他组织, *AdPEPC1;5* 基因在叶中不表达。*AdPEPC3* 在根、茎、叶和花中均不表达, 推测该基因为假基因。这为深入研究 *AdPEPC* 家族基因的功能奠定了基础。

**关键词:** 花生; 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶; 基因家族; 生物信息

doi: 10.11926/jtsb.3804

## Bioinformatics Analysis of *PEPC* Gene Family in *Arachis duranensis*

TU Jia-qi, GAN Lu, FENG Lan-lan, YUAN Liang-bing, LI Yin\*

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Resources, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** To understand the function of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) in peanut, *PEPC* sequences of the diploid progenitor *Arachis duranensis* genome database were analyzed. Nine gene family members were found, and their sequence lengths ranged from 3 584 to 12 956 bp with 702–3 168 bp open reading frame (ORF), distributed in the 3, 5, 7, 8, 9, and 10th chromosomes. In the amino acid sequences of *AdPEPC* proteins, there were conserved domains, such as  $\text{HCO}_3^-$  binding sites and PEP binding sites, et al. According to the sequence characteristics, *AdPEPC* proteins could be divided into 3 groups as plant type, bacterium type and short sequence type. Protein homologies of the same type were high, and the number of intron and exon in gene structures was similar. Gene expression analysis showed that the expressions of most members were high in flowers or stems. *AdPEPC1;2* and *AdPEPC4;2* had the highest expression in stem. Other family members, especially *AdPEPC2*, *AdPEPC1;5* and *AdPEPC1;3*, expressions were significantly higher in flower than other tissues. *AdPEPC1;5* expression was not detected in leaf. No expression of *AdPEPC3* was detected in root, stem, leaf and flower, and it was presumed to be pseudogenes based on its gene structure. These would lay a foundation for further study on the functions of *AdPEPC* family genes.

**Key words:** *Arachis duranensis*; Phosphoenolpyruvate carboxylase; Gene family; Bioinformation

收稿日期: 2017-08-16

接受日期: 2017-11-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171625); 广东省自然科学基金项目(10151027501000058); 广州市科技计划项目(201510010270)资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31171625), the Natural Science Foundation of Guangdong Province (Grant No. 10151027501000058), and the Science and Technology Program of Guangzhou (Grant No. 201510010270).

作者简介: 涂嘉琦(1992~), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物生理与分子生物学。E-mail: 1335490963@qq.com

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: liyin@mail.sysu.edu.cn

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC, EC 4.1.1.31)是一种变构调节酶,它的主要功能是在  $Mg^{2+}$  和  $HCO_3^-$  存在的情况下,催化磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP)的  $\beta$ -C 羧基化并生成草酰乙酸(oxaloacetate, OAA)和无机磷酸(inorganic phosphate, Pi)<sup>[1-4]</sup>。除动物和真菌外, PEPC 广泛存在于植物、藻类、蓝细菌、光合细菌及一些非光合细菌中<sup>[5]</sup>。目前已有多个植物 PEPC 得到鉴定,在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中有 *Atppc1*、*Atppc2*、*Atppc3* 和 *Atppc4* 等 4 个编码基因<sup>[6]</sup>,在玉米(*Zea mays*)<sup>[7]</sup>、甘蔗(*Saccharum spp.*)<sup>[8]</sup>、大豆(*Glycine max*)<sup>[9]</sup>、水稻(*Oryza sativa*)<sup>[5]</sup>等植物中也报道了多个 PEPC 基因。早期报道了大豆 PEPC 基因家族的 *GmPEPC1*、*GmPEPC4*、*GmPEPC7*、*GmPEPC16* 和 *GmPEPC17* 等 5 个成员,后续报道了 10 个 *GmPEPC* 家族成员,并对这些基因进行了重命名<sup>[4,9]</sup>。在栽培花生(*Arachis hypogaea*)品种‘E11’中也克隆得到 *AhPEPC1-5* 等 5 个成员<sup>[10]</sup>。植物 PEPC 参与多种重要代谢途径,不仅作为光合作用的关键酶参与  $CO_2$  的固定<sup>[11]</sup>,还参与氨基酸代谢中碳骨架的回补<sup>[12-13]</sup>、氮元素的积累<sup>[13-14]</sup>、油脂的合成与积累<sup>[15-18]</sup>等过程,起到调控植物种子的形成与萌发、果实成熟、植物叶片气孔开闭,维持细胞酸碱平衡以及提高植物抗逆性等作用<sup>[12,19]</sup>。

花生是重要的油料作物之一,种子含油量高达 45%~56%,蛋白质含量达到 24%<sup>[20-21]</sup>。四倍体的栽培品种花生基因组庞大而复杂,目前已经测序完成注释并公布的是 2 个二倍体花生祖先种野生蔓花生(*Arachis duranensis*)和 *A. ipaënsis* (即花生属 A 基因组和 B 基因组)的全基因组序列<sup>[21-23]</sup>。本研究通过分析蔓花生的数据库信息,找到 *AdPEPC* 家族基因,并分析其结构、序列特征及进化关系,同时通过检测其不同成员在各种组织中的表达,为进一步探讨 *AdPEPC* 基因参与花生生长过程中物质积累和代谢调控的功能机制奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

本研究所用二倍体祖先种蔓花生(*Arachis duranensis*)新鲜根、茎、叶、花等材料,于 2016 年 5 月上旬采自广东省农业科学院白云区钟落潭种植基地,采集后立即用液氮速冻,  $-80^{\circ}C$  冰箱保存备

用。*AdPEPC* 基因序列信息从花生基因组数据库 PeanutBase (<http://peanutbase.org/>)<sup>[23]</sup>获得。

### 1.2 *AdPEPC* 基因的查询和确认

以拟南芥 *AtPPC1* (AT1G53310)、*AtPPC2* (AT2G42600)、*AtPPC3* (AT3G14940)、*AtPPC4* (AT1G68750)等 4 个 PEPC 蛋白序列<sup>[6]</sup>对花生基因组数据库 PeanutBase (<http://peanutbase.org/>)进行搜索,在蔓花生基因组中查找同源蛋白的相应基因序列作为候选基因。将候选基因编码的蛋白序列在 PFAM (<http://pfam.xfam.org/>)和 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)蛋白结构域在线分析预测网站上分析候选蛋白结构域,存在 PEPcase (PF00311)结构域的确认为 PEPC 蛋白家族成员,将下载得到的所有核苷酸序列和氨基酸序列以 FASTA 格式保存。

### 1.3 *AdPEPC* 基因家族的染色体定位和结构分析

用 Gene Structure Display Server (GSDS)在线网站(<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)<sup>[24]</sup>进行基因外显子、内含子结构分析。使用 MapInspect 软件进行染色体定位分析。

### 1.4 *AdPEPC* 蛋白的生物信息学分析

使用 DNAMAN 软件进行多序列比对分析;用 MEGA6.0 软件对蔓花生的 PEPC 与不同物种的 PEPC 氨基酸序列进行同源比对后,使用 N-J 法(邻接法)构建系统进化树。使用在线工具 ExPASy (<http://www.expasy.ch/tools/protparam.html>)中的 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>)进行理化性质预测。

### 1.5 总 RNA 提取与基因表达分析

取蔓花生生长旺盛期的根、茎、叶、花等组织材料,采用 OMEGA 公司的 Plant RNA Kit 试剂盒提取总 RNA。提取的 RNA 用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,并用核酸仪测定浓度及纯度。使用 TIANGEN 公司的 Fast Quant RT Kit (with gDNase)试剂盒进行反转录得到 cDNA。荧光定量反应体系及程序参照天根公司的 Fast Quant RT Kit (with gDNase)试剂盒说明书,在 LightCycler480 II (Roche)仪器上进行。反应体系总体积为 20  $\mu$ L,包含 10  $\mu$ L 的 PCR Mix (SYBR Green),正反向引物各 0.8  $\mu$ L, cDNA 模板 2  $\mu$ L,  $H_2O$  6.4  $\mu$ L。反应程序为  $95^{\circ}C$  预

表1 荧光定量 PCR 引物

Table 1 Primers for fluorescent quantitative PCR

引物 Primer	序列 Sequence (5'~3')	引物 Primer	序列 Sequence (5'~3')
AdPEPC1;1	F: CCACCTTAGAGCACGGTATGA R: ACTCCTCTGTGGCAATGACG	AdPEPC4;2	F: AACAAATGACAGACACCACAGATG R: ACATCGTTGAAGAGATTGGCA
AdPEPC1;2	F: TCCAAGCTGCCTTCCGTAC R: CTGTATCCAGCCGACGTAGAA	AdPEPC3	F: TAACACTGCCCGCTACTGG R: GGTATTCTTTCCAGGCGTTG
AdPEPC1;3	F: ACCGCTAAGGGTCGTGCC R: CCAAGCCGCAGAAAGACG	AdPEPC1;5	F: TGCGGTCTTTATCCCTGTATCT R: GGCTGTCCTTTTCGCTTG
AdPEPC1;4	F: TGC GGCAAGTTTCCACCT R: GTTCCTCGGACATTCTCG	AdPEPC2	F: CAACTTTTGTGCTGTGTCAGAGAA R: CAACTTTGCCCAAATAACCAT
AdPEPC4;1	F: ATTCCCCGTGCCATTCA R: AGTGGTGAAAGAGTTGTGAGGG	18S rRNA	F: ATTCTAGTAAGCGCGAGTCATCAG R: CAATGATCCTTCCGCAGGTTAC

变性 3 min; 然后 95°C 变性 10 s, 60°C 退火 15 s, 72°C 延伸 20 s, 共 45 个循环。AdPEPC 基因特异引物及 18S rRNA 内参引物见表 1。

## 2 结果和分析

### 2.1 蔓花生 *PEPC* 同源基因的鉴定

利用拟南芥 *PEPC* 蛋白序列搜索蔓花生基因组数据库, 共获得 9 个 *AdPEPC* 基因序列, 基因座位号分别为 Aradu.TPI8X、Aradu.H5W76、Aradu.A52DW、Aradu.H2SP1、Aradu.3E0D8、Aradu.5IN8U、Aradu.2E0TL、Aradu.HLF4L 和 Aradu.D77KI, 根据基因组数据库中的注释分别命名(表 2)。这 9 个 *AdPEPC* 分别分布在第 3、5、7、8、9、10 号染色体上(图 1: A)。基因结构分析显示, 这些基因的序列长度差异较大, 总长度为 3 584~1 2956 bp, 包含多个外显子和内含子, ORF 长度为 702~3 168 bp (图 1: B)。

### 2.2 *AdPEPC* 基因家族的进化分析

对 9 个蔓花生 *AdPEPC* 基因、4 个拟南芥 *AtPEPC*

基因、10 个大豆 *GmPEPC* 基因和来自大肠杆菌的 *PEPC* 编码的氨基酸序列构建进化树(图 2)。结果表明, *AdPEPC* 基因可以分为 3 类, 第一类基因(*AdPEPC1;1*、*AdPEPC1;2*、*AdPEPC1;3* 和 *AdPEPC1;4*) 编码的氨基酸序列同源性较高, 达 60.91%~91.53%, 进化关系上与拟南芥和大豆中的植物型 *PEPC* 聚为一支, 属于植物型 *PEPC*; 第二类的 *AdPEPC4;1* 和 *AdPEPC4;2* 基因编码的氨基酸序列间的同源性为 78.41%, 进化关系上与拟南芥和大豆中的细菌型 *PEPC* 以及大肠杆菌中的 *PEPC* 聚为一支, 属于细菌型 *PEPC*; 第三类基因(*AdPEPC3*、*AdPEPC1;5* 和 *AdPEPC2*) 编码的氨基酸序列与上述两个分支进化距离较远, 与植物型和细菌型 *PEPC* 的氨基酸序列同源性不足 20%, 这类基因编码的蛋白明显比前两类小很多, 因此将其归为序列较短的 *PEPC* 类型。

### 2.3 *AdPEPC* 蛋白家族的保守结构域分析

对不同物种 *PEPC* 的氨基酸序列分析表明这些蛋白有多个保守的功能结构域<sup>[4,6,25-26]</sup>, 包括 N-末端磷酸化位点、PEP 结合位点、葡萄糖-6-磷酸结合位点、Mg<sup>2+</sup>结合位点、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>结合位点和天冬氨酸结

表2 蔓花生 *AdPEPC* 基因结构Table 2 Structure of *AdPEPC* genes in *Arachis duranensis*

基因 Gene	类群 Group	基因座位 Locus	序列长度 Sequence length (bp)	转录长度 Transcription length (bp)	编码序列长度 CDS length (bp)	内含子数量 Number of intron
<i>AdPEPC1;1</i>	I	<i>Aradu.TPI8X</i>	5 550	3 487	2 061	6
<i>AdPEPC1;2</i>	I	<i>Aradu.H5W76</i>	7 425	3 531	2 943	9
<i>AdPEPC1;3</i>	I	<i>Aradu.A52DW</i>	5 509	3 320	2 907	9
<i>AdPEPC1;4</i>	I	<i>Aradu.H2SP1</i>	6 309	3 290	2 901	9
<i>AdPEPC4;1</i>	II	<i>Aradu.3E0D8</i>	7 174	3 893	3 168	20
<i>AdPEPC4;2</i>	II	<i>Aradu.5IN8U</i>	12 956	3 596	3 141	19
<i>AdPEPC3</i>	III	<i>Aradu.2E0TL</i>	4 570	702	702	9
<i>AdPEPC1;5</i>	III	<i>Aradu.HLF4L</i>	3 619	1 627	1 341	9
<i>AdPEPC2</i>	III	<i>Aradu.D77KI</i>	3 584	1 714	1 428	10

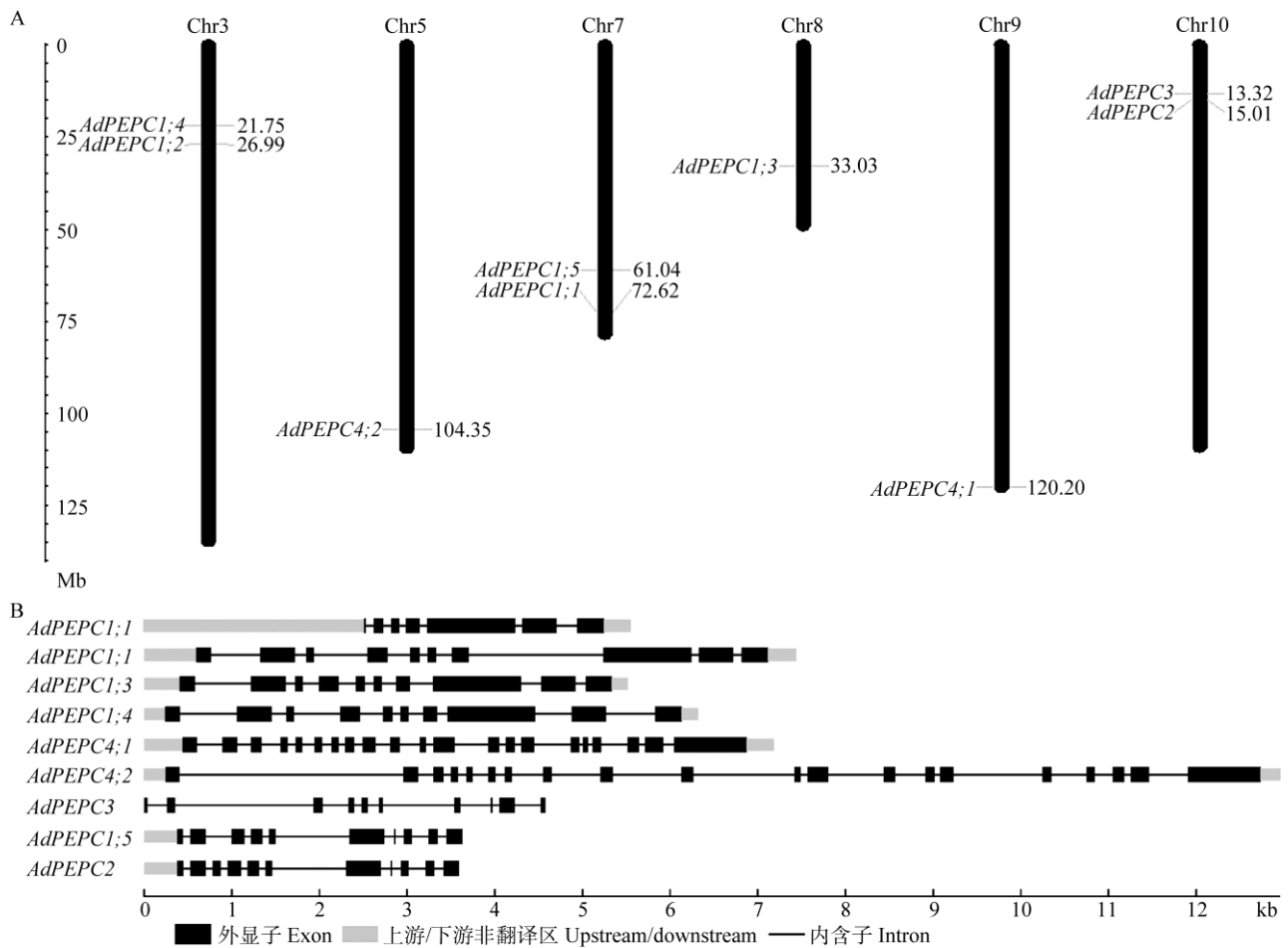


图 1 蔓花生 *AdPEPC* 家族基因的染色体分布(A)和基因结构(B)

Fig. 1 Chromosome distribution (A) and structure (B) of *AdPEPC* family genes in *Arachis duranensis*

合位点等。分析表明,蔓花生的第一类 *AdPEPC* 蛋白 C-末端具有 QNTG 序列,其中大部分在 N-端有 1 个反向磷酸化位点(-SIDAQL-),符合植物型 PEPC 的序列特征<sup>[4,25-26]</sup>;第二类 *AdPEPC* 蛋白 C-末端为 R/KNTG 序列,属于细菌型 PEPC<sup>[3,25]</sup>,这两种类型 *AdPEPC* 都含有主要的保守结构域(图 3)。而序列较短的第三类 *AdPEPC* 蛋白无反向磷酸化位点以及 C-末端保守域,既不属于细菌型 PEPC,也不属于植物型 PEPC,只含有  $\text{HCO}_3^-$  结合位点和部分 PEP 结合位点,多个关键保守序列缺失。其中 *AdPEPC1;5* 和 *AdPEPC2* 的 C-末端 3 个氨基酸序列中含有不带 N 的 LG 同源序列,可能属于古细菌型 PEPC<sup>[26]</sup>。

#### 2.4 *AdPEPC* 蛋白的理化性质

对 9 个 *AdPEPC* 的理化性质进行预测分析,结果表明(表 3),植物型 *AdPEPC* 分子量为 78.4~112.29 kD,细菌型 *AdPEPC* 分子量为 117.32~

118.48 kD,序列较短类型 *AdPEPC* 的分子量为 25.25~54.66 kD。大部分 *AdPEPC* 蛋白的等电点为 4.94~6.85,为带负电荷蛋白,只有细菌型的 *AdPEPC4;2* 等电点为 8.2,带正电荷。大部分 *AdPEPC* 蛋白的不稳定系数小于 40,预测为稳定蛋白,只有植物型的 *AdPEPC1;1* 和序列较短的 *AdPEPC3* 预测为不稳定蛋白。对蛋白进行亲/疏水性预测,9 个 *AdPEPC* 的 GEAVY 值均为负值,说明这些蛋白均为亲水性蛋白。

#### 2.5 *AdPEPC* 基因家族的表达特征

对蔓花生根、茎、叶、花等组织中 *AdPEPC* 基因进行实时荧光定量 PCR 分析,结果表明(图 4),除 *AdPEPC1;2* 和 *AdPEPC4;2* 在茎中的表达量较高外,其他基因尤其是 *AdPEPC2*、*AdPEPC1;5* 和 *AdPEPC1;3* 在花中的表达量明显高于其他组织;除 *AdPEPC1;1*、*AdPEPC1;2*、*AdPEPC4;1* 和 *AdPEPC1;3*

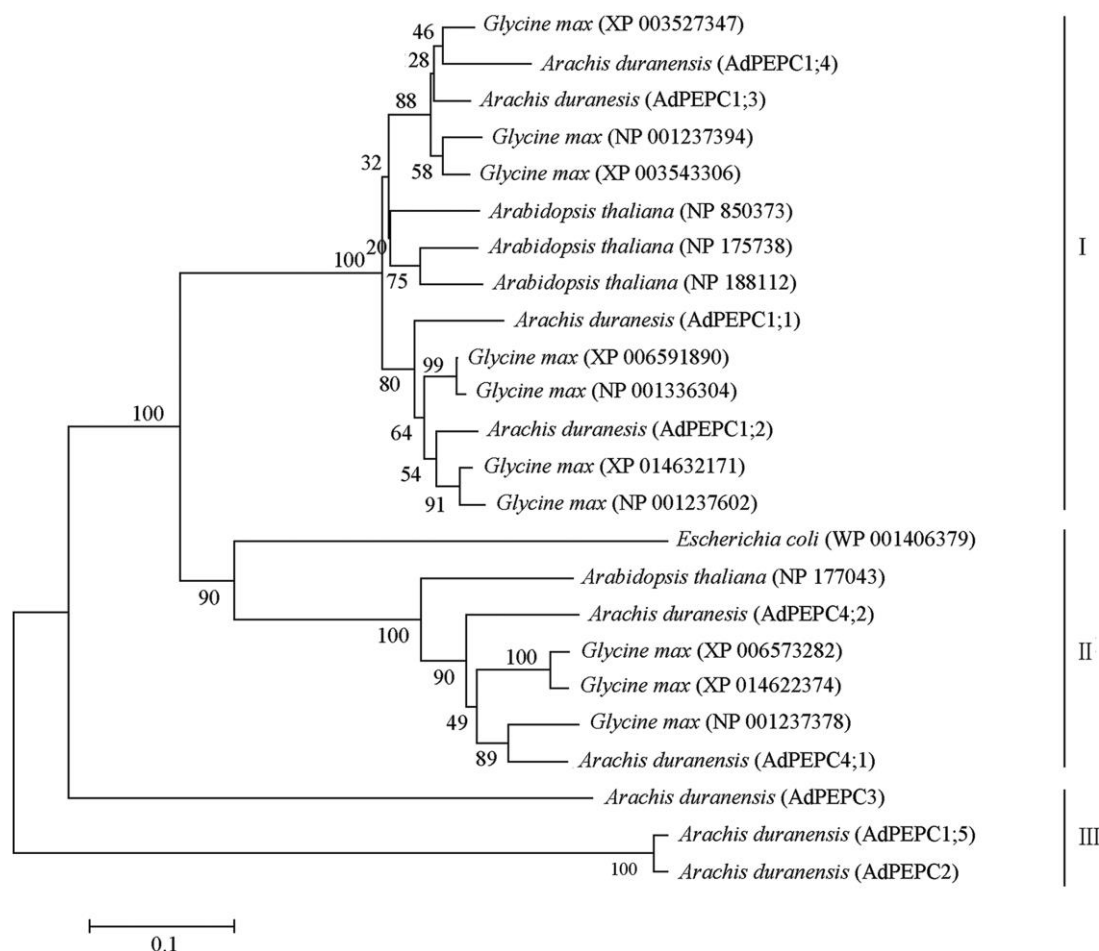


图 2 蔓花生和其它物种 24 个 PEPC 蛋白的进化树。分支上的数字为自展值。

Fig. 2 Phylogenetic tree of 24 PEPC proteins in *Arachis duranensis* and other species. Numbers on branches present bootstrap values.

在叶中的表达量略高于根之外, 其他基因在根中的表达量高于叶片; *AdPEPC1;5* 基因在叶中未检测到表达; *AdPEPC3* 在根、茎、叶、花中均检测不到表达。

### 3 讨论

植物 PEPC 的保守功能结构域是影响 PEPC 活性的关键区域, 本研究结果表明, 大部分 AdPEPC 具有与大肠杆菌、拟南芥、水稻、甘蔗和大豆等物种 PEPC 相似的 N-末端、C-末端和 Box I ~ V 等典型保守序列特征<sup>[4,6-8,25]</sup>, 大部分 AdPEPC 含有在大豆 PEPC 中经实验验证的功能结合位点<sup>[4]</sup>(图 3)。除植物型和细菌型 AdPEPC 外, 在蔓花生中存在 3 个序列较短的 AdPEPC, 由于大段序列的缺失, 与植物型和细菌型 AdPEPC 的氨基酸序列同源性很低。这些差异可预示不同的家族成员可能具有不同的功能和作用模式。

有研究比较了栽培花生品种中 5 个 *AhPEPC* 基因在组织中的表达情况, 不同基因在不同的花生品种中表达模式存在较大差异, 部分成员在根、叶或种子发育部分时期表达量较高, 但未对花中的表达进行检测<sup>[10,27]</sup>。本研究结果表明, *AdPEPC* 家族基因大部分成员在花和茎中的表达量较高, 这可能与蔓花生生长缓慢、叶片细小而蔓生茎较发达等生长特点有关, 同时盛花期的花组织也处于代谢相关基因表达活跃的发育阶段。值得注意的是, *AdPEPC1;5* 和 *AdPEPC2* 在花中的表达量远高于其他组织, 这两个基因编码的氨基酸序列特征与进化上较保守的古细菌型 PEPC 相似<sup>[26,28]</sup>。古细菌型 PEPC 通常分子量较小, 具有不同于其他 PEPC 的变构调节特征<sup>[28]</sup>, 但催化机制与其他 PEPC 相同<sup>[28]</sup>。有研究表明, 一些细菌型 PEPC 基因在高等植物花粉等组织中有明显高于根、茎、叶等组织的表达模式, 推测这些基因的功能对于花粉发育具有重要意义<sup>[29]</sup>, 蔓花生中在



图 3 AdPEPC 蛋白家族成员的多序列比对及保守结构域分析。保守结构域：VLTAAHTP (Box I); DXRQE (Box II); GYSDSG/AKDAG (Box III); FHGRGGXXGRGG (Box IV); GSRPXXR (Box V)。

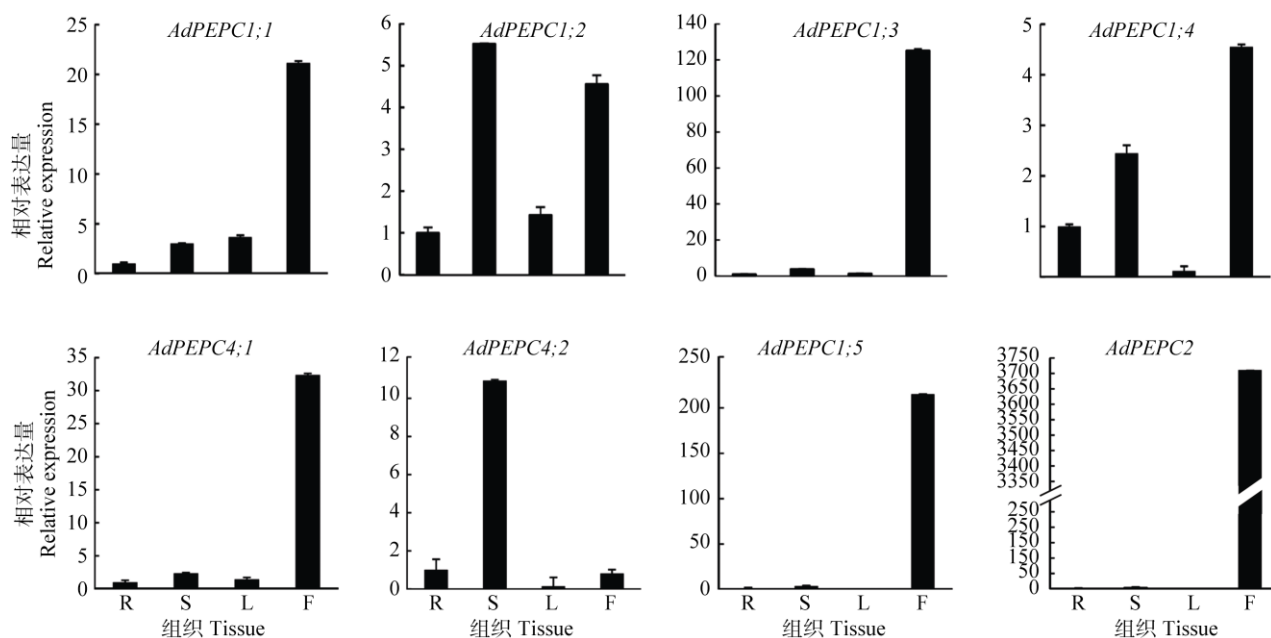
Fig. 3 Multiple alignment and conserved domain analysis of AdPEPC in *Arachis duranensis*. Conserved domains: VLTAAHTP (Box I); DXRQE (Box II); GYSDSG/AKDAG (Box III); FHGRGGXXGRGG (Box IV); GSRPXXR (Box V).



表3 蔓花生9个PEPC家族成员蛋白的理化性质

Table 3 Physical and chemical properties of 9 PEPCs in *Arachis duranensis*

蛋白 Protein	氨基酸数量 Number of amino acid	分子量 MW (kD)	等电点 pI	带负电荷残基数目 Number of negative charged residues (Asp+Glu)	带正电荷残基数目 Number of positive charged residues (Arg+Lys)	稳定性 Stability	总平均亲水性 Average of hydrophobicity (GRAVY)	脂溶指数 Aliphatic index
AdPEPC1;1	686	78.40	6.33	95	90	稳定 Stable	-0.355	88.44
AdPEPC1;2	980	112.29	5.92	145	127	不稳定 Unstable	-0.386	91.46
AdPEPC1;3	968	110.74	5.91	144	128	不稳定 Unstable	-0.399	89.29
AdPEPC1;4	966	110.30	5.65	144	122	不稳定 Unstable	-0.387	89.15
AdPEPC4;1	1 055	118.48	6.25	144	132	不稳定 Unstable	-0.384	92.26
AdPEPC4;2	1 046	117.32	8.30	128	133	不稳定 Unstable	-0.405	97.93
AdPEPC3	233	26.53	6.85	27	27	稳定 Stable	-0.485	77.81
AdPEPC1;5	446	51.08	4.94	67	47	不稳定 Unstable	-0.135	95.54
AdPEPC2	475	54.60	5.29	70	56	不稳定 Unstable	-0.150	100.15

图4 *AdPEPC* 基因家族在蔓花生不同组织中的表达。18S rRNA 为内参基因; R: 根; S: 茎; L: 叶; F: 花。Fig. 4 Expression of family genes in different tissues of *Arachis duranensis*. 18S rRNA was used as reference gene; R: Root; S: Stem; L: Leaf; F: Flower.

花组织高表达的 *AdPEPC* 也可能在花发育过程具有较专一的特殊功能。序列最短的 *AdPEPC3* 在4种组织中均检测不到表达, 该基因编码的氨基酸序列中多个保守序列及末端特征序列缺失, 基因组数据注释中无上游5'非翻译区(5' UTR)起始调控序列, 推测该基因为假基因。关于这些基因的功能需要在后续的研究中进行更为深入的分析。

## 参考文献

- [1] O'LEARY B, RAO S K, PLAXTON W C. Phosphorylation of bacterial-type phosphoenolpyruvate carboxylase at Ser<sup>425</sup> provides a further tier of enzyme control in developing castor oil seeds [J]. *Biochem J*, 2011, 433(1): 65-74. doi: 10.1042/BJ20101361.
- [2] IZUI K, MATSUMURA H, FURUMOTO T, et al. Phosphoenolpyruvate carboxylase: A new era of structural biology [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 69-84. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141619.
- [3] GUAN J J, CHEN J Q, WANG X F. Bioinformatic analysis on bacterial-type phosphoenolpyruvate carboxylase in plants [J]. *Acta Agric Zhejiang*, 2011, 23(2): 203-208. doi: 10.3969/j.issn.1004-1524.2011.02.002.  
关晶晶, 陈锦清, 汪小福. 植物细菌型磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶基因的生物信息学分析 [J]. *浙江农业学报*, 2011, 23(2): 203-208. doi: 10.3969/j.issn.1004-1524.2011.02.002.
- [4] WANG N, ZHONG X J, CONG Y H, et al. Genome-wide analysis of phosphoenolpyruvate carboxylase gene family and their response to

- abiotic stresses in soybean [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38448. doi: 10.1038/srep38448.
- [5] MURAMATSU M, SUZUKI R, YAMAZAKI T, et al. Comparison of plant-type phosphoenolpyruvate carboxylases from rice: Identification of two plant-specific regulatory regions of the allosteric enzyme [J]. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56(3): 468–480. doi: 10.1093/pcp/pcu189.
- [6] SÁNCHEZ R, CEJUDO F J. Identification and expression analysis of a gene encoding a bacterial-type phosphoenolpyruvate carboxylase from *Arabidopsis* and rice [J]. *Plant Physiol*, 2003, 132(2): 949–957. doi: 10.1104/pp.102.019653.
- [7] DONG L Y, MASUDA T, KAWAMURA T, et al. Cloning, expression, and characterization of a root-form phosphoenolpyruvate carboxylase from *Zea mays*: Comparison with the C<sub>4</sub>-form enzyme [J]. *Plant Cell Physiol*, 1998, 39(8): 865–873. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a029446.
- [8] BESNARD G, PINÇON G, D'HONT A, et al. Characterisation of the phosphoenolpyruvate carboxylase gene family in sugarcane (*Saccharum* spp.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107(3): 470–478. doi: 10.1007/s00122-003-1268-2.
- [9] SULLIVAN S, JENKINS G I, NIMMO H G. Roots, cycles and leaves: Expression of the phosphoenolpyruvate carboxylase kinase gene family in soybean [J]. *Plant Physiol*, 2004, 135(4): 2078–2087. doi: 10.1104/pp.104.042762.
- [10] YU S L, PAN L J, YANG Q L, et al. Identification and expression analysis of the phosphoenolpyruvate carboxylase gene family in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Agric Sci China*, 2010, 9(4): 477–487. doi: 10.1016/S1671-2927(09)60120-6.
- [11] KANDOI D, MOHANTY S, GOVINDJEE, et al. Towards efficient photosynthesis: Overexpression of *Zea mays* phosphoenolpyruvate carboxylase in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Photosynth Res*, 2016, 130(1/2/3): 47–72. doi: 10.1007/s11120-016-0224-3.
- [12] ZHANG X J, WANG G C, HE L W, et al. Cloning and analysis of the phosphoenolpyruvate carboxylase gene of *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) [J]. *Mar Sci*, 2011, 35(4): 70–76.
- 张晓娟, 王广策, 何林文, 等. 坛紫菜磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶基因的克隆与序列分析 [J]. *海洋科学*, 2011, 35(4): 70–76.
- [13] MASUMOTO C, MIYAZAWA S I, OHKAWA H, et al. Phosphoenolpyruvate carboxylase intrinsically located in the chloroplast of rice plays a crucial role in ammonium assimilation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(11): 5226–5231. doi: 10.1073/pnas.0913127107.
- [14] SUGIHARTO B, SUGIYAMA T. Effects of nitrate and ammonium on gene expression of phosphoenolpyruvate carboxylase and nitrogen metabolism in maize leaf tissue during recovery from nitrogen stress [J]. *Plant Physiol*, 1992, 98(4): 1403–1408. doi: 10.1104/pp.98.4.1403.
- [15] ZHANG Z Q, WANG J M, WANG X J, et al. The characteristics of PEPCase activity and accumulation of oil, protein and major protein subunits during seed development of rape (*Brassica napus*) [J]. *Chin J Oil Crop Sci*, 2009, 31(1): 14–18. doi: 10.3321/j.issn:1007-9084.2009.01.003.
- 张占琴, 王金梅, 王学军, 等. 油菜籽粒发育过程中 PEPCase 活性与油脂、蛋白及亚基积累的特点 [J]. *中国油料作物学报*, 2009, 31(1): 14–18. doi: 10.3321/j.issn:1007-9084.2009.01.003.
- [16] SEBEI K, OUERGHI Z, KALLEL H, et al. Evolution of phosphoenolpyruvate carboxylase activity and lipid content during seed maturation of two spring rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.) [J]. *Compts Rendus Biol*, 2006, 329(9): 719–725. doi: 10.1016/j.crv.2006.06.002.
- [17] GENNIDAKIS S, RAO S, GREENHAM K, et al. Bacterial- and plant-type phosphoenolpyruvate carboxylase polypeptides interact in the hetero-oligomeric Class-2 PEPC complex of developing castor oil seeds [J]. *Plant J*, 2007, 52(5): 839–849. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03274.x.
- [18] PAN L J, YANG Q L, CHI X Y, et al. Functional analysis of the phosphoenolpyruvate carboxylase on the lipid accumulation of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seeds [J]. *J Integr Agric*, 2013, 12(1): 36–44. doi: 10.1016/S2095-3119(13)60203-8.
- [19] ZHANG Y H, MENG Q L, JI C L, et al. Effects of aluminum stress on photosynthesis and active oxygen metabolism in C<sub>4</sub> Ppc transgenic rice [J]. *Biotechnol Bull*, 2014(7): 81–85. doi: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2014.07.024.
- 张云华, 孟庆玲, 计成林, 等. 铝胁迫对转 C<sub>4</sub> 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶基因水稻光合作用和活性氧代谢的影响 [J]. *生物技术通报*, 2014(7): 81–85. doi: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2014.07.024.
- [20] LIAO B S. Simple analysis of Chinese peanut oil industry competitiveness [J]. *J Peanut Sci*, 2003, 32(S1): 11–15. doi: 10.14001/j.issn.1002-4093.2003.s1.003.
- 廖伯寿. 中国花生油脂产业竞争力浅析 [J]. *花生学报*, 2003, 32(S1): 11–15. doi: 10.14001/j.issn.1002-4093.2003.s1.003.
- [21] CHEN X P, LI H J, PANDEY M K, et al. Draft genome of the peanut A-genome progenitor (*Arachis duranensis*) provides insights into geocarpy, oil biosynthesis, and allergens [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(24): 6785–6790. doi: 10.1073/pnas.1600899113.
- [22] SONG H, ZHAO S Z, HOU L, et al. Bioinformatics analysis on *LOX* genes related to disease resistance in whole genome of *Arachis duranensis* and *Arachis ipaënsis* [J]. *Shandong Agric Sci*, 2015, 47(10): 1–7. doi: 10.14083/j.issn.1001-4942.2015.10.001.
- 宋辉, 赵术珍, 侯蕾, 等. 野生花生全基因组抗病相关 *LOX* 基因的



- 生物信息学分析 [J]. 山东农业科学, 2015, 47(10): 1–7. doi: 10.14083/j.issn.1001-4942.2015.10.001.
- [23] DASH S, CANNON E K S, KALBERER S R, et al. Peanut base and other bioinformatic resources for peanut [M]// STALKER H T, WILSON R F. Peanuts Genetics, Processing, and Utilization. Boulder, Urbana: AOCS Press, 2016: 241–252. doi: 10.1016/B978-1-63067-038-2.00008-3.
- [24] GUO A Y, ZHU Q H, CHEN X, et al. GSDS: A gene structure display server [J]. Hereditas (Beijing), 2007, 29(8): 1023–1026. doi: 10.16288/j.ycz.2007.08.004.
- 郭安源, 朱其慧, 陈新, 等. GSDS: 基因结构显示系统 [J]. 遗传, 2007, 29(8): 1023–1026. doi: 10.16288/j.ycz.2007.08.004.
- [25] WANG Z H, TONG C B, YUAN W Z, et al. Bacterial-type *PEPC* genes identification and expression in developing seeds from four oil crops [J]. Chin J Oil Crop Sci, 2013, 35(1): 8–16,23. doi: 10.7505/j.issn.1007-9084.2013.01.002.
- 王志慧, 童超波, 袁午舟, 等. 四种油料作物中的细菌型 *PEPC* 基因的鉴定及在发育种子中的表达 [J]. 中国油料作物学报, 2013, 35(1): 8–16,23. doi: 10.7505/j.issn.1007-9084.2013.01.002.
- [26] XU W X, AHMED S, MORIYAMA H, et al. The importance of the strictly conserved, C-terminal glycine residue in phosphoenolpyruvate carboxylase for overall catalysis: Mutagenesis and truncation of GLY-961 in the sorghum C<sub>4</sub> leaf isoform [J]. J Biol Chem, 2006, 281(25): 17238–17245. doi: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M602299200>.
- [27] PAN L J, LIU F Z, WAN Y S, et al. Expression comparison of the phosphoenolpyruvate carboxylase gene in high oil-content peanut varieties Jihua 4 and its parent [J]. J Peanut Sci, 2015, 44(4): 37–41. doi: 10.14001/j.issn.1002-4093.2015.04.007.
- 潘丽娟, 刘凤珍, 万勇善, 等. *PEPC* 基因在高油品种吉花 4 号及其亲本中的表达比较 [J]. 花生学报, 2015, 44(4): 37–41. doi: 10.14001/j.issn.1002-4093.2015.04.007.
- [28] MATSUMURA H, IZUI K, MIZUGUCHI K. A novel mechanism of allosteric regulation of archaeal phosphoenolpyruvate carboxylase: A combined approach to structure-based alignment and model assessment [J]. Protein Eng Des Sel, 2006, 19(9): 409–419. doi: 10.1093/protein/gz1025.
- [29] IGAWA T, FUJIWARA M, TANAKA I, et al. Characterization of bacterial-type phosphoenolpyruvate carboxylase expressed in male gametophyte of higher plants [J]. BMC Plant Biol, 2010, 10: 200. doi: 10.1186/1471-2229-10-200.