



江转转, 潘俊, 吴娟. 水稻免疫亲和素基因家族的克隆及对非生物逆境胁迫的响应分析[J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(05): 15-27.
JIANG Zhuanzhuan, PAN Jun, WU Juan. Cloning of the immunophilins gene family and analysis of its expression pattern under abiotic stress conditions[J].
Journal of China Agricultural University, 2024, 29(05): 15-27.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.05.02

水稻免疫亲和素基因家族的克隆及对非生物逆境胁迫的响应分析

江转转 潘俊 吴娟

(安庆师范大学 生命科学院/皖西南生物多样性研究与生态保护安徽省重点实验室, 安徽 安庆 246133)

摘要 为探究在非生物逆境胁迫条件下免疫亲和素(immunophilins)基因家族在水稻(*Oryza sativa* L. japonica Nipponbare)中的功能, 利用生物信息学技术鉴定水稻中免疫亲和素基因家族成员, 并进行克隆及组织特异性、非生物逆境胁迫下的表达分析。结果表明, 水稻基因组中存在30个*OsFKBPs*及29个*OsCYPs*免疫亲和素家族基因。30个*OsFKBPs*主要聚类为3个大的亚群, 29个*OsCYPs*主要聚类为4个大的亚群。通过PCR扩增得到完整的*OsFKBPs*与*OsCYPs*基因编码序列, 且序列信息与预测一致。*OsFKBPs*与*OsCYPs*基因在水稻的各个组织、各个发育时期均有不同程度的表达。*OsFKBP19*在各组织各发育时间表达量较为一致;*OsCYP29*在叶鞘中表达量最高而*OsCYP57*在根中表达量最高。定量PCR结果显示, 在高光强胁迫处理4h后水稻叶片中*OsCYP37*基因被诱导持续上升表达, 而在渗透胁迫及盐胁迫处理中无显著变化; 高光强及渗透胁迫处理4h后水稻叶片中*OsFKBP19*持续上升表达, 而在盐胁迫处理中波动上升表达。综上, *OsFKBPs*及*OsCYPs*参与水稻的高光强、渗透胁迫及盐胁迫应答过程。

关键词 水稻; 免疫亲和素; 基因家族; 非生物胁迫; 表达谱

中图分类号 S184

文章编号 1007-4333(2024)05-0015-13

文献标志码 A

Cloning of the immunophilins gene family and analysis of its expression pattern under abiotic stress conditions

JIANG Zhuanzhuan, PAN Jun, WU Juan

(College of Life Sciences/Provincial Key laboratory of the Biodiversity Study and Ecology Conservation in Southwest Anhui,
Anqing Normal University, Anqing 246133, China)

Abstract To explore the function of the immunophilins gene family in rice (*Oryza sativa* L. japonica Nipponbare) under abiotic stress conditions, the immunophilins gene family members in rice were identified by bioinformatics techniques, followed by cloning, tissue and abiotic stress expression analysis. The results showed that there are 30 *OsFKBPs* and 29 *OsCYPs* immunophilins family genes in rice genome. The 30 *OsFKBPs* were mainly clustered into three large subgroups. The 29 *OsCYPs* were mainly clustered into four large subgroups. The coding sequences of *OsFKBPs* and *OsCYPs* genes were obtained through PCR amplification, and the sequence information was consistent with the predicted in the database. Expression analysis revealed that *OsFKBPs* and *OsCYPs* genes exhibited distinct expression patterns in various tissues and developmental stages of rice, with certain genes showing tissue-specific expression. The expression of *OsFKBP19* remained consistent across different tissues and developmental stages. *OsCYP29* exhibited the highest expression in leaf sheath, while *OsCYP57* showed the highest expression in roots. Quantitative PCR

收稿日期: 2023-10-27

基金项目: 杂交水稻国家重点实验室开放课题(KF202204); 安徽省高等学校科学研究项目(2022AH051034, 2022AH051048); 安徽省优秀人才项目(GXFX2023015)

第一作者: 江转转(ORCID: 0000-0001-6618-5819), 讲师, 主要从事植物分子遗传学研究, E-mail: zzjiang1117@163.com

results revealed that the expression of the *OsCYP37* gene in rice leaves was induced and continuously increased after 4 h of high light intensity stress, but displayed no significant changes under osmotic stress and salt stress. The expression of *OsFKBP19* in rice leaves continued to increase after 4 h of high light intensity and osmotic stress, but fluctuated under salt stress. Taken together, *OsFKBPs* and *OsCYPs* play important roles in the regulation of high light intensity, osmotic stress and salt stress responses in rice.

Keywords rice; immunophilins; gene family; abiotic stress; expression profile

免疫亲和素(Immunophilins)基因家族是一类具有肽基-脯氨酰-(顺/反)-异构酶(Peptidyl prolyl cis-trans isomerase, PPIase)活性蛋白的总称,包含3个亚家族:FK-506结合蛋白(FK-506-binding proteins, FKBP),亲环素(Cyclophilins, CYP),小颗粒样蛋白(Parvulin-like proteins)^[1-3]。这3种基因家族之间结构上缺乏相似性,但是都具有PPIase催化活性位点,能催化肽键从顺式旋转到反式,也能将反式催化为顺式,这是蛋白质折叠中的限速步骤^[3]。免疫亲和素蛋白利用其PPIase活性位点,在蛋白质折叠、RNA加工、剪接体装配、受体复合物稳定、信号传导以及细胞周期调节过程中发挥重要作用^[4-12]。但也有研究表明,并不是所有的免疫亲和素基因家族成员都具有较强的PPIase活性,这说明免疫亲和素蛋白在不具备PPIase活性的情况下也能以其他方式完成其生理功能^[13]。目前对于免疫亲和素基因家族中的FKBPs、CYPs家族成员研究较多,而对于小颗粒样蛋白研究的还不是很多,可能是由于小颗粒蛋白家族成员较少^[2]。

免疫亲和素蛋白在细菌、植物和动物中都高度保守,但在光合自养植物中其家族成员数量明显增多,如在拟南芥中有23个FKBPs和29个CYPs,衣藻中有23个FKBPs和26个CYPs,棉花不同品种中存在38~75个CYPs^[14-18]。在维管植物中扩张的免疫亲和素家族基因部分定位于叶绿体或者类囊体中,如拟南芥中的CYP20-2(Cyclophilin 20-2)^[19-20]及CYP38(Cyclophilin 38)^[21],菠菜中的TLP40(Thylakoid lumen PPIase 40)^[22]。在这些蛋白功能丧失的突变株中,其光合效率下降,光系统超级复合体不能正常组装,核心蛋白的拆卸与组装也不能正常进行,说明免疫亲和素家族在蛋白质复合物的组装和维持中起核心作用^[19-22]。在水稻中,也有关于免疫亲和素家族基因功能的研究报道。*OsCYP2*(Cyclophilins 2)通过与*OsSGT1*(Salicylic acid glucosyltransferase 1)相互作用参与生长素信号转导来影响水稻侧根发育^[23];*OsCYP2*在水稻盐胁迫

下也显著上调表达,且超表达使得转基因植物的耐盐胁迫能力显著增强^[24]。*OsCYP20-2*转录水平在高光强及渗透胁迫条件下表达量均显著上调^[19]。水稻免疫亲和素基因家族成员功能很广泛,但目前水稻中大部分免疫亲和素家族成员在非生物逆境胁迫应答过程中的明确功能尚未见报道。本研究通过生物信息学的方法鉴定水稻中免疫亲和素(FKBPs与CYPs)基因家族成员,并克隆部分FKBPs及CYPs,利用半定量及荧光定量PCR确定其组织及发育表达特异性,分析FKBPs及CYPs在不同胁迫环境下的表达特性,以期为揭示水稻免疫亲和素家族成员在水稻对非生物逆境胁迫响应中的功能提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以水稻品种‘日本晴’(*Oryza sativa* L. *Japonica* Nipponbare)为试验材料,设置温度为30℃的发芽条件。待种子发芽后,挑选生长一致的幼苗至Hoagland营养液中培养,设置光周期为16 h/8 h,光照强度为400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,温度为30℃,相对湿度为60%。2周后进行非生物逆境胁迫处理。

1.2 方法

1.2.1 水稻免疫亲和素基因家族的鉴定

以拟南芥FKBP13蛋白及CYP18-1序列为种子序列,通过Pfam(<http://pfam.xfam.org/>)数据库搜索Pfam Id,得到FKBP结构域Pfam Id(PF00254)及CYP结构域Pfam Id(PF00160)。在水稻基因组数据库(<http://rice.uga.edu/>)中搜索Pfam Id号,得到靶蛋白信息,将得到的靶蛋白信息在NCBI数据库中进行序列比对找到匹配一致性最高的蛋白序列。同时,在拟南芥基因组数据库(<https://www.arabidopsis.org/>)中获取蛋白序列作为靶蛋白序列,在NCBI数据库中搜索水稻中的同源蛋白。将以上2种途径得到的备选蛋白进行逐一对

比分析,确认获取完整的免疫亲和素家族基因。

1.2.2 系统发育进化树的构建

在水稻基因组数据库(<http://rice.uga.edu/>)中获取所有蛋白序列,提交至MEGA11进行处理,构建最大简约树(Maximum Parsimony tree)。构建前进行设定,对所有选定的分类群,用非加权组平均分(UPGMA)辅助法进行系统发育测试,执行1 000次复制,将替代类型设定为氨基酸,借助泊松模型(Poisson model),位点速率相同,设置线程数为4,构建出系统发育树。

1.2.3 盐、渗透及高光强胁迫处理

选取2周龄生长一致的水稻幼苗进行处理。盐胁迫处理用200 mmol/L NaCl溶液处理,分别在处理0、2、4、6、8、10、24、48 h后收集叶片;用25 mmol/L PEG 8000溶液模拟渗透胁迫处理,分别在处理后0、2、4、6、8、10、24、48 h收集叶片,盐和渗透胁迫均以清水处理为对照。在高光强处理中,2周龄水稻置于光照强度为2 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 环境下培养,分别在培养后0、2、4、6、8、10、12、24 h收集叶片,同时收集处理后的水稻不同组织材料(6日龄幼苗、叶、茎、穗子)。以上收集的组织材料在液氮中冻存后转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中备存,用于RNA提取。

1.2.4 总RNA分离和qRT-PCR分析

使用Trizol试剂从冻存的植物组织中制备总RNA,通过NanoDrop 2000分光光度计(美国Thermo Scientific公司)测量RNA质量和纯度。使用EasyScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix(AE311-02, TransGen, 中国)从总RNA(1 μg)中反转录合成cDNA,作为qRT-PCR扩增模板。反应分别在42 $^{\circ}\text{C}$ 孵育5 min、50 $^{\circ}\text{C}$ 孵育15 min、85 $^{\circ}\text{C}$ 孵育5 s。使用CFX96(美国BIO-RAD公司)荧光定量PCR仪和荧光定量PCR Mix(日本TaKaRa公司)进行qRT-PCR扩增。每个cDNA样本进行3次生物学重复,每次反应的总体积为20 μL ,其中SYBR Green PCR Mix 10 μL 、正反向引物各1 μL 、稀释的cDNA模板4 μL 和 ddH_2O 4 μL 。以水稻*Actin*基因作为内参,基于 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算基因相对表达量,引物序列见表1。

1.2.5 RT-PCR分析

取1 μL 反转录后的cDNA原液为模板,反应体积为20 μL (PCR Mix 10 μL ,正反引物各1 μL , ddH_2O 7 μL),使用特异性引物进行PCR反应,用于

*OsFKBP*s和*OsCYP*s的基因特异性引物见表1。采用琼脂糖凝胶电泳分离10 μL 扩增后的PCR原液,Goldview染色观察。以水稻*Actin*基因的表达作为内参以测定不同反应的RT-PCR扩增效率。

2 结果与分析

2.1 水稻FKBP、CYPs的鉴定及序列分析

在去除冗余条目后,从水稻基因组数据库中鉴定出30个具有FKBP结构域的FKBP基因及29个具有CYP结构域的CYP基因。*OsFKBP*s的多肽序列为113~1 353 aa,平均长度为403个aa,相对分子质量在12.1(*OsFKBP12*)~146.3(*OsFKBP65f*) U, pI 4.79(*OsFKBP53c*)~10.42(*OsFKBP20-2*)(表2)。水稻中存在30个*OsFKBP*s蛋白,而拟南芥中存在20个*AtFKBP*s蛋白,同时*AtFKBP17-3*及*AtFKBP43*在水稻中无对应的相似基因,但*AtFKBP53*,*AtFKBP65*在水稻中存在多个相似基因。*OsCYP*s的多肽序列为140~1 090 aa,平均长度为358个aa,相对分子质量为16.2(*OsCYP19-1b*)~124.7(*OsCYP99*) U,为5.27(*OsCYP40-2*)~11.21(*OsCYP63*)U(表3)。

2.2 水稻FKBP、CYPs系统发育分析

由图1可知,30个*OsFKBP*s基因聚类为3个大类群,29个*OsCYP*s基因聚类为4个大类群。*OsFKBP*s的3个大类群分别包含20、7和3个基因。与拟南芥相比,*FKBP53*及*FKBP65*在水稻中存在多个相似基因,它们虽未完全聚类到同一类群中,但也存在于同1个三级分支中。而*OsCYP*s的4个大类群分别包含8、9、7和5个基因。在水稻中新鉴定到的*OsCYP29*与*OsCYP38*、*OsCYP99*与*OsCYP19-3*聚类到同一分支,说明两者功能可能存在一定的相关性。

2.3 水稻FKBP、CYPs基因克隆

在鉴定到的30个*OsFKBP*s中有12个基因预测有多个转录本,这些多转录本之间的差异或在编码区或在5'端非翻译区(表2和表3)。选取9个预测为编码区差异的多转录本*OsFKBP*s基因进行克隆。在29个*OsCYP*s中也有12个基因预测为多转录本,选取5个预测为编码区差异的多转录本的基因进行克隆。在正常的生长条件下,预测为多转录本的基因均只扩增到1个主要转录本。经测序比对后发现,扩增得到的转录本长度,序列信息均与预测的1号转录本一致(图2)。同时,新鉴定到的*OsCYP29*、*OsCYP99*其cDNA的长度也与预期长度较为一致(图2)。

表1 引物列表

Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence	引物序列(5'→3') Primer sequence	用途 Function
<i>OsFKBP19</i>	TGGGATGGCTACACAATTGGA	CCTTTGGTCTTGTTTCGAGCTT	qRT-PCR
<i>OsCYP57</i>	ACCCTGCAACTGGTAACACAGA	TGCTGTGCCACCCTGTGTA	
<i>OsCYP40-1</i>	CGAGAGCTAGCTGCTGCAAA	TGCCTTCGCTCCTGATTC	
<i>OsCYP38</i>	GATGGTGACAAAGCGCCTGTA	AGCCTTGTAGCGGCCAAGT	
<i>OsCYP19-3</i>	CAACGCAGGGCCAAACA	TACGCGTGGTGCAGATGAA	
<i>OsCYP23</i>	GGGAAGGCACTCTGATCCAA	GCATCTCCAAGAAGGATGGAAA	
<i>OsCYP29</i>	CTCTGTTGTTGCAAAGGGAGATG	GAATGGTCCCAAGGTTTGTTC	
<i>OsCYP99</i>	GGAAGCACGTAATGATCTGAAGC	TTCTTCTCTGCCTTGCTAAGAG	
<i>OsActin</i>	ACATCGCCCTGGACTATGAC	TGGAATGTGCTGAGAGATGC	
<i>OsCYP19-4</i>	CGAAGGCGGATTTGACTGAG	TTGAAGTGGAGTGCTTTGCC	RT-PCR
<i>OsCYP28</i>	TTGCACTTCTGCTGCATACC	TCGTCATCGTTCTGTCCAAG	
<i>OsCYP37</i>	CCAGTCCTTCGATGTCTGT	TGTACAAGCTTGGCAGAACG	
<i>OsCYP95</i>	CGTGACAGGAAGTCAAAGCA	GCGTTGCACTCTTTTGTGTA	
<i>OsFKBP65b</i>	CTGCTAGCATCCCGTCAAAC	CAGGCATGCGTCGTATTTCA	
<i>OsFKBP15-1</i>	TGCATTATCGTGGGTCACCTC	GAGCCTCTCTCCCCATAACC	
<i>OsFKBP16-1</i>	GAGAGTAAGCCGGTCACACT	TCAAACACCAGAGGCTCCTT	
<i>OsFKBP53a</i>	GGAAGAAGAACGTGGTGCAG	CCTCCCCATACACATCACCA	
<i>OsFKBP20-1a</i>	AAGGCACACTCGCTGAAAAT	AGTGTTGCATTGGGTGGAAT	
<i>OsFKBP13</i>	GCTCATCAAGGCGCATTACA	CCTCAGCGACCTCTTTCCA	CDS
<i>OsFKBP16-3</i>	TGCCCATGGTGACTACAGAG	TCACCTGTCCTGAACCAACA	
<i>OsFKBP15-2</i>	TTCAAGCTCACAAAGGCGAC	CTTGAGCACCATAACCGAGC	
<i>OsActin</i>	TGGCATCTCTCAGCACATTCC	TGCACAATGGATGGGTCAGA	
<i>OsCYP18-2</i>	ATGTGGGGCAGCGCCGACGGC	TCAATCTTTGACCACAGTCCG	
<i>OsCYP71</i>	ATGGCGACGGCGAGCGATGCG	TTATGTCTTTGGAACTGTAACG	
<i>OsFKBP62</i>	ATGGACGACGACTTCGAGA	TCAGAAGAAAACCGAATTAG	
<i>OsCYP29</i>	ATGCCTCCTTCCGCCGTGCCC	CTAAGGAACACCACTGCTGGT	
<i>OsCYP99</i>	ATGGTGAACGCCGAGCCCAAC	TCACCATAAAAGGGGGTTGCC	
<i>OsCYP19-4</i>	ATGGCGGGGAGCGGGTGG	TTACATCGGCAGTTCGCCGCT	
<i>OsCYP28</i>	ATGGTGTTGCCTTCATCAAAT	TTATGGCAGACTTGGAGGG	
<i>OsCYP37</i>	ATGGCGTCGCGAGCGGCGGCC	TCAGTCTCTGCGGCGCTTCT	
<i>OsFKBP65e</i>	ATGCCGATCTCGCATGAGCT	CTAAGTAGTAATTAGCTGCTT	
<i>OsFKBP15-1</i>	ATGGGGAAGCGTCAGCAGCAG	TTAGAGCTCACTATTGCTAGC	
<i>OsFKBP16-1</i>	ATGGCGCCCGCGTCGCTGAC	TCAGAGGACCTTGAGCAGCT	
<i>OsFKBP53a</i>	ATGTCGTCGTTTTGGGGCGC	TCACTTTACATTCACGAGTTC	
<i>OsFKBP20-1a</i>	ATGGCAGAGGTTGCAGATTTA	TTACTCTAGCCTGGCTTTCTCA	
<i>OsFKBP13</i>	ATGGCTCCCTCCGCCGCCGCCGC	TCAGTTCAGGCAGGGAGACG	
<i>OsFKBP16-3</i>	ATGGCTGCAACCGCTTCGTCC	TCAAGTGAGCACCTGGAAGC	
<i>OsFKBP15-2</i>	ATGGCGAAGCCGCAGCTTCTTC	CTAAAGCTCGCTGTCATCATC	

表 2 水稻中 30 种 *OsFKBP* 基因的鉴定

Table 2 Thirty *OsFKBP* genes identified in rice

编号 Accession No.	水稻 FKBP 名称 <i>O. sativa</i> FKBP name	拟南芥相似蛋白 <i>Arabidopsis</i> homologue protien	相似度/% Identity	核苷酸长度/bp Nucleotide length	氨基酸数 No. of amino acids	分子量/U MW	pI	转录本数量 No. of transcripts
PF00254. 21	OsFKBP12	AtFKBP12	74. 11	339	113	12 085. 82	8. 21	1
PF00254. 21	OsFKBP13	AtFKBP13	65. 61	657	219	21 995. 25	9. 59	3
PF00254. 21	OsFKBP15-1	AtFKBP15-1	80. 15	477	159	16 825. 36	10. 17	3
PF00254. 21	OsFKBP15-2	AtFKBP15-2	71. 14	465	155	16 290. 5	5. 01	2
PF00254. 21	OsFKBP16-1	AtFKBP16-1	74. 44	636	212	22 795. 36	9. 341	2
PF00254. 21	OsFKBP16-2	AtFKBP16-2	67. 07	693	231	23 445. 98	9. 05	1
PF00254. 21	OsFKBP16-3	AtFKBP16-3	73. 97	822	274	28 743. 13	8. 48	4
PF00254. 21	OsFKBP16-4	AtFKBP16-4	68. 51	1 659	553	60 067. 57	8. 10	1
PF00254. 21	OsFKBP17-1	AtFKBP17-1	29. 59	642	214	22 220. 19	7. 09	1
PF00254. 21	OsFKBP17-2	AtFKBP17-2	70. 97	759	253	26 624. 25	8. 19	1
PF00254. 21	OsFKBP18	AtFKBP18	68. 25	729	243	25 801. 81	9. 68	1
PF00254. 21	OsFKBP19	AtFKBP19	76. 12	714	238	25 927. 82	9. 83	2
PF00254. 21	OsFKBP20-1a	AtFKBP20-1	77. 71	561	187	19 894. 66	7. 41	3
PF00254. 21	OsFKBP20-1b		76. 57	558	186	20 132. 89	5. 93	1
PF00254. 21	OsFKBP20-2	AtFKBP20-2	68. 42	591	197	21 057. 84	10. 42	1
PF00254. 21	OsFKBP42a	AtFKBP42	70. 49	1 128	376	42 401. 39	6. 26	1
PF00254. 21	OsFKBP42b		70. 11	1 113	371	42 224. 14	5. 58	1
PF00254. 21	OsFKBP53a	AtFKBP53	36. 69	1 578	526	57 178. 12	5. 92	2
PF00254. 21	OsFKBP53b		53. 85	1 275	425	46 497. 62	5. 69	1
PF00254. 21	OsFKBP53c		44. 59	1 638	546	60 192. 69	4. 79	1
PF00254. 21	OsFKBP53d		43. 48	1 251	417	44 307. 46	5. 03	1
PF00254. 21	OsFKBP62	AtFKBP62	77. 30	1 776	592	65 736. 74	4. 94	2
PF00254. 21	OsFKBP65a	AtFKBP65	70. 82	1 758	586	65 569. 53	5. 12	2
PF00254. 21	OsFKBP65b		71. 69	2 049	683	74 810. 29	4. 92	1
PF00254. 21	OsFKBP65c		44. 83	1 269	423	45 613. 58	4. 98	2
PF00254. 21	OsFKBP65d		44. 44	1 554	518	57 399. 32	5. 24	1
PF00254. 21	OsFKBP65e		43. 36	1 962	654	73 444. 43	5. 08	4
PF00254. 21	OsFKBP65f		48. 98	4 056	1352	14 6295. 06	5. 71	1
PF00254. 21	OsFKBP72	AtFKBP72	66. 72	1 899	633	70 418. 45	5. 21	1
PF00254. 21	OsTTG	AtTTG	58. 26	1 614	538	59 930. 82	4. 94	1

表3 水稻中29种OsCYP基因的鉴定

Table 3 Twenty-nine OsCYP genes identified in rice

编号 Accession No.	水稻CYP名称 <i>O. sativa</i> CYP name	拟南芥相似蛋白 <i>Arabidopsis</i> homologue protien	相似度/% Identity	核苷酸长度/bp Nucleotide length	氨基酸数 No. of amino acids	分子量/U MW	pI	转录本数量 No. of transcripts
PF00160.14	OsCYP29		52.58	996	332	35 457.85	8.16	1
PF00160.14	OsCYP99		51.56	3 270	1090	12 4775.41	8.59	1
PF00160.14	OsCYP1	AtCYP1	63.22	546	182	18 920.47	9.39	1
PF00160.14	OsCYP18-1	AtCYP18-1	89.94	483	161	17 516.86	8.49	1
PF00160.14	OsCYP18-2	AtCYP18-2	82.89	537	179	19 782.61	9.85	3
PF00160.14	OsCYP19-1a	AtCYP19-1	78.36	519	173	18 360.98	8.49	1
PF00160.14	OsCYP19-1b		37.21	420	140	16 201.66	10.03	1
PF00160.14	OsCYP19-3	AtCYP19-3	79.53	540	180	19 198.72	7.89	2
PF00160.14	OsCYP19-4	AtCYP19-4	76.08	678	226	24 067.88	10.35	2
PF00160.14	OsCYP20-2	AtCYP20-2	86.05	753	251	26 590.35	9.84	1
PF00160.14	OsCYP20-3	AtCYP20-3	66.36	717	239	25 386.93	7.90	1
PF00160.14	OsCYP21-1	AtCYP21-1	69.95	648	216	23 406.75	8.61	1
PF00160.14	OsCYP21-2	AtCYP21-2	56.19	627	209	22 111.41	9.45	1
PF00160.14	OsCYP21-3	AtCYP21-3	54.08	708	236	26 405.31	8.92	3
PF00160.14	OsCYP22	AtCYP22	76.47	615	205	21 789.88	8.28	1
PF00160.14	OsCYP23	AtCYP23	76.00	708	236	25 813.24	7.25	3
PF00160.14	OsCYP26-2	AtCYP26-2	49.84	915	305	31 411.26	9.44	1
PF00160.14	OsCYP28	AtCYP28	63.49	984	328	35 887.76	7.58	4
PF00160.14	OsCYP37	AtCYP37	74.57	1 398	466	49 787.10	5.56	2
PF00160.14	OsCYP38	AtCYP38	72.08	1 284	428	46 610.03	4.59	2
PF00160.14	OsCYP40-1	AtCYP40	73.31	1 191	397	43 249.60	5.71	2
PF00160.14	OsCYP40-2		70.79	1 212	404	43 952.57	5.27	1
PF00160.14	OsCYP57	AtCYP57	58.14	1 500	500	56 848.44	6.18	2
PF00160.14	OsCYP59-1	AtCYP59	58.40	1 695	565	64 975.32	5.77	1
PF00160.14	OsCYP59-2		56.64	1 647	549	63 174.05	6.32	1
PF00160.14	OsCYP63	AtCYP63	67.93	1 899	633	69 991.13	11.21	1
PF00160.14	OsCYP65	AtCYP65	69.59	1 389	463	50 676.14	8.66	1
PF00160.14	OsCYP71	AtCYP71	81.86	1 956	652	72 946.03	6.93	2
PF00160.14	OsCYP95	AtCYP95	55.41	1 311	437	49 000.53	10.37	2

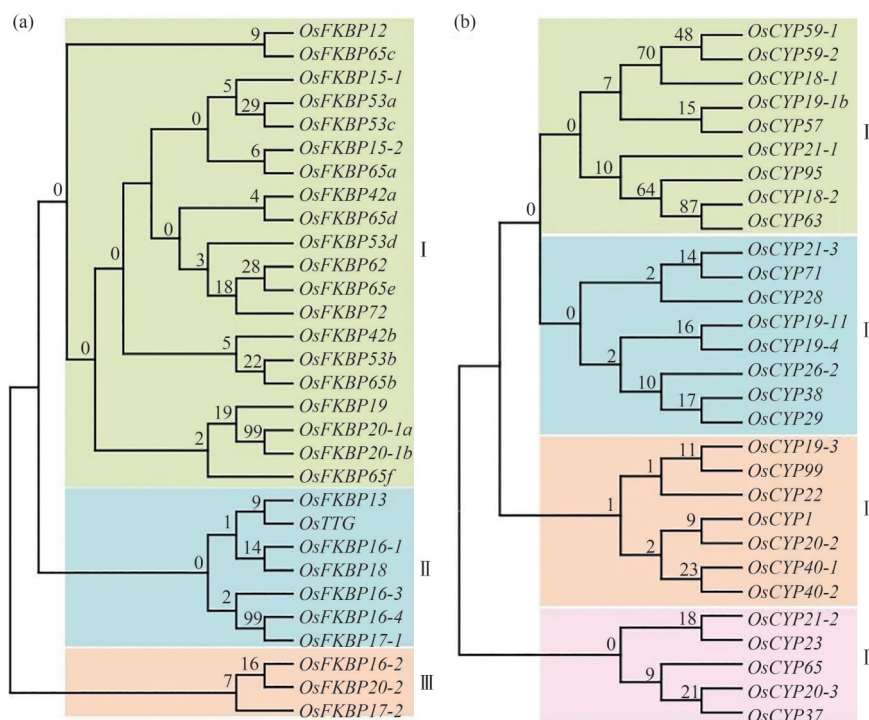


图 1 OsFKBPs(a)及OsCYPs(b)蛋白系统发育分析

Fig. 1 Phylogenetic analysis of OsFKBPs (a) and OsCYPs (b)

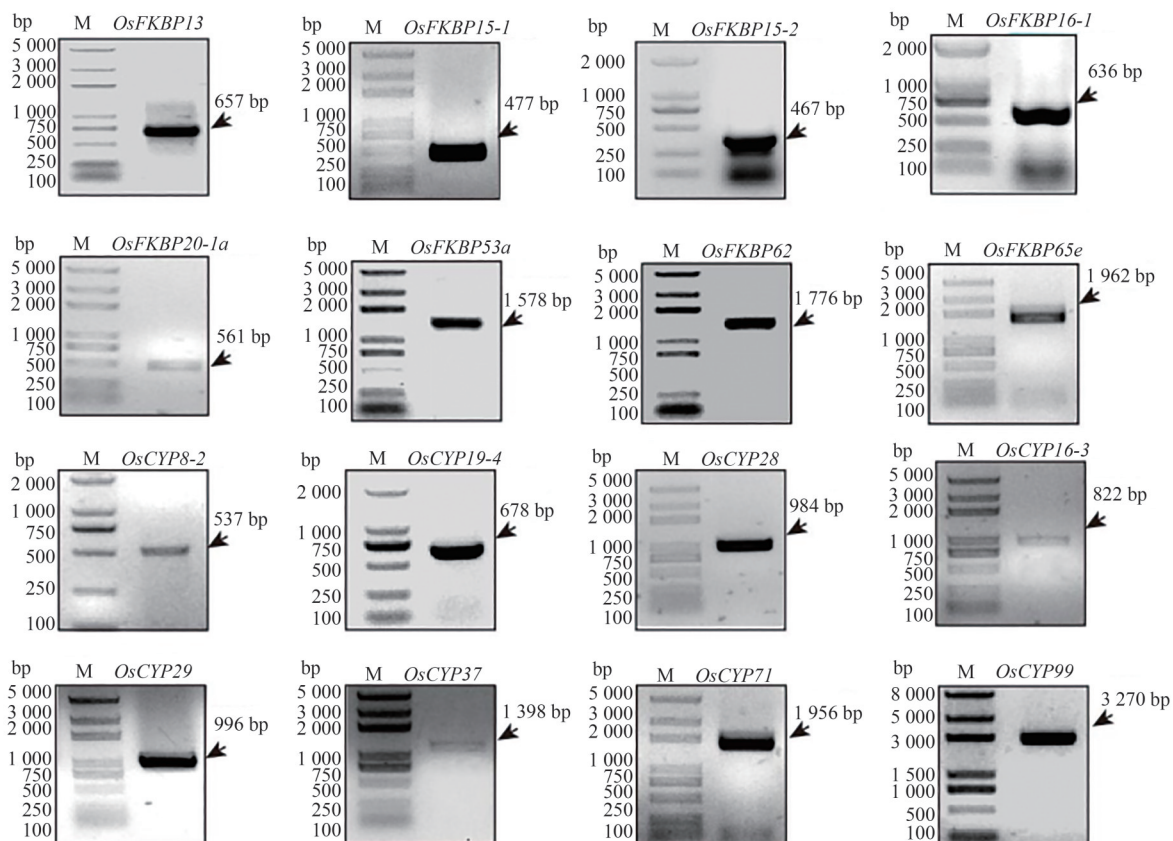


图 2 OsFKBPs 与 OsCYPs 基因的克隆

Fig. 2 Cloning of OsFKBPs and OsCYPs genes

2.4 水稻FKBPs、CYPs基因在水稻不同组织和发育阶段的表达模式

由图3可知, *OsFKBPs*和*OsCYPs*家族的14个基因在7 d水稻幼苗(三叶一心期)的叶、根、茎、叶

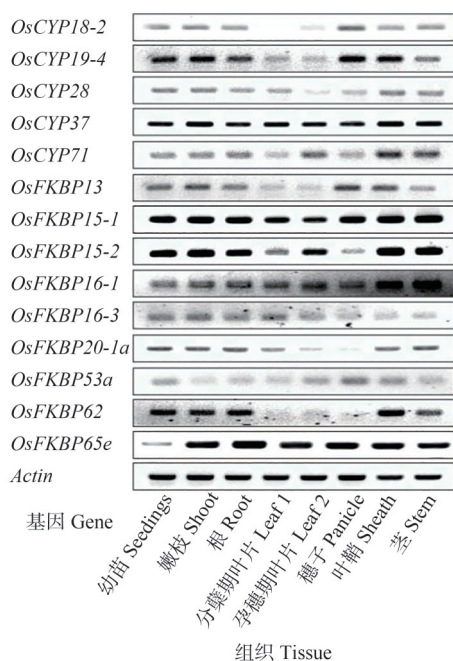
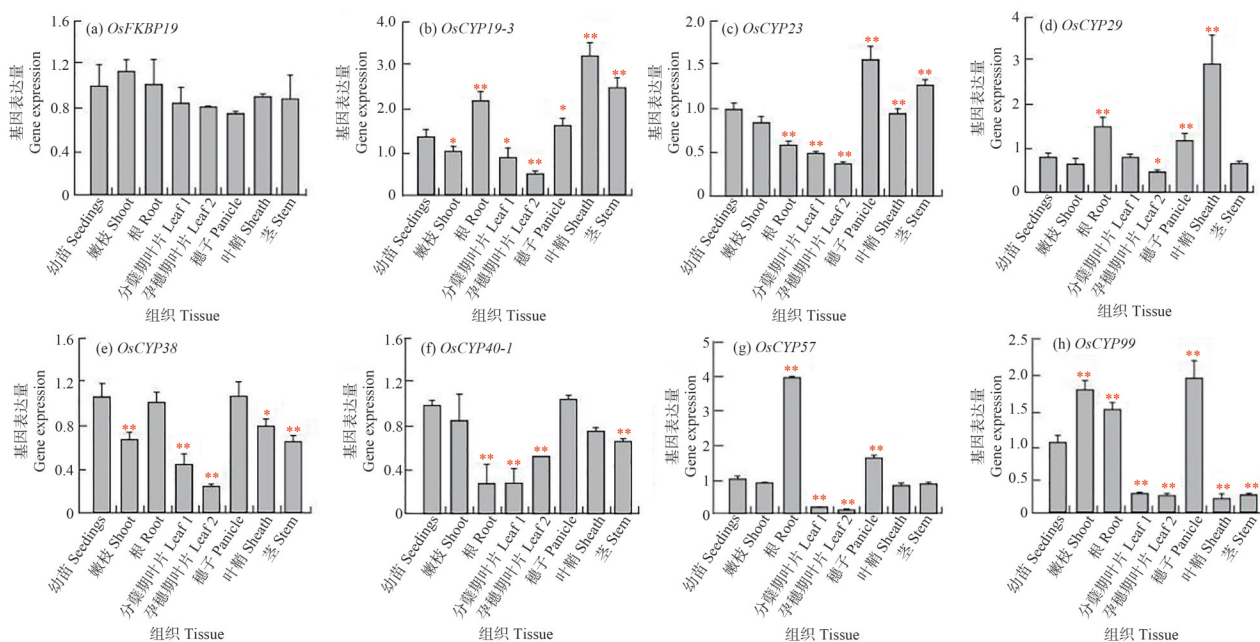


图3 *OsFKBPs*与*OsCYPs*组织表达谱半定量分析

Fig. 3 Expression patterns of *OsFKBPs* and *OsCYPs* in different tissue

片(Leaf 1,分蘖期叶片; Leaf 2,孕穗期叶片)、叶鞘及幼穗中均有不同程度的表达。*OsCYP18-2*、*OsCYP19-4*、*OsFKBP13*在叶片中表达量均较低而在穗中表达量最高;*OsCYP28*在孕穗期叶片中表达量稍低而在其他组织中表达量则较为接近;*OsCYP37*、*OsCYP71*、*OsFKBP15-1*及*OsFKBP16-3*、*OsFKBP53a*在水稻各个组织中表达量都相当;*OsFKBP15-2*在分蘖期叶片及穗中表达量稍低;*OsFKBP16-1*的表达量随着生长周期的增长而逐渐升高;*OsFKBP20-1a*在穗中表达量最低;*OsFKBP62*在叶片及穗中表达量较低而*OsFKBP65e*只在幼苗期表达量较低(图3)。

由图4可知,这6个被预测为5'端非翻译区存在差异的多转录本*OsFKBP*及*OsCYP*基因具有组织及时期表达特异性。*OsFKBP19*在水稻的不同组织,生长发育的不同时期表达量较为一致;与幼苗期相比,*OsCYP19-3*表达量在根、穗、叶鞘及茎中均显著上升,而在嫩枝、叶片中都显著下降;*OsCYP23*在穗中的表达量最高而在孕穗期叶片中的表达量最低;*OsCYP29*在孕穗期叶片中表达量最低;*OsCYP38*在孕穗期叶片中表达量最低;*OsCYP40-1*在根和分蘖期叶片中表达量稍低而*OsCYP57*则在根中表达量最高。*OsCYP29*、*OsCYP99*则在水稻的各个组织,各个时期中均有所



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

图4 *OsFKBPs*与*OsCYPs*组织表达谱QPCR分析

Fig. 4 Expression patterns of *OsFKBPs* and *OsCYPs* in different tissue

表达。*OsCYP29* 在叶鞘中具有较高的表达,*OsCYP99* 在水稻生长后期的叶片、叶鞘及茎秆中表达量相较于幼苗时期有所下降,而在新生的幼苗、根系、幼穗中表达量相较于幼苗时期均显著增加(图4)。

2.5 水稻FKBPs、CYPs对胁迫应答模式分析

由图5可知,在高光强胁迫下,*OsCYP18-2*、*OsCYP19-4*、*OsCYP28*、*OsFKBP15-1*、*OsFKBP15-2*、*OsFKBP16-3*、*OsFKBP20-1a*、*OsFKBP62* 及 *OsFKBP65e* 表达量均随处理时间的延长而持续下降;*OsCYP37*、*OsFKBP16-1* 及 *OsFKBP53a* 表达量却随处理时间的延长而均表现为持续升高;*OsCYP95* 不受高光强胁迫诱导而 *OsFKBP13* 则表现为波动上升表达。在渗透胁迫环境下,

OsCYP18-2、*OsCYP95*、*OsFKBP15-2*、*OsFKBP53a* 均表现为波动上升表达;*OsCYP19-4*、*OsCYP28*、*OsCYP37*、*OsFKBP15-1*、*OsFKBP20-1a* 和 *OsFKBP62* 表达量则变化不明显;*OsFKBP13*、*OsFKBP16-3* 表达量持续升高而 *OsFKBP16-1* 及 *OsFKBP65e* 表达量则均随着处理时间的增长而降低(图5(b))。在盐胁迫条件下,*OsCYP18-2*、*OsCYP28*、*OsFKBP13*、*OsFKBP15-1*、*OsFKBP15-2*、*OsFKBP20-1a*、*OsFKBP62*、*OsFKBP65e* 都表现为波动上升表达;*OsCYP19-4*、*OsCYP37*、*OsCYP95*、*OsFKBP16-3*、*OsFKBP53a* 表达量的变化均不明显而 *OsFKBP16-1* 则表现为持续上升表达(图5(c))。

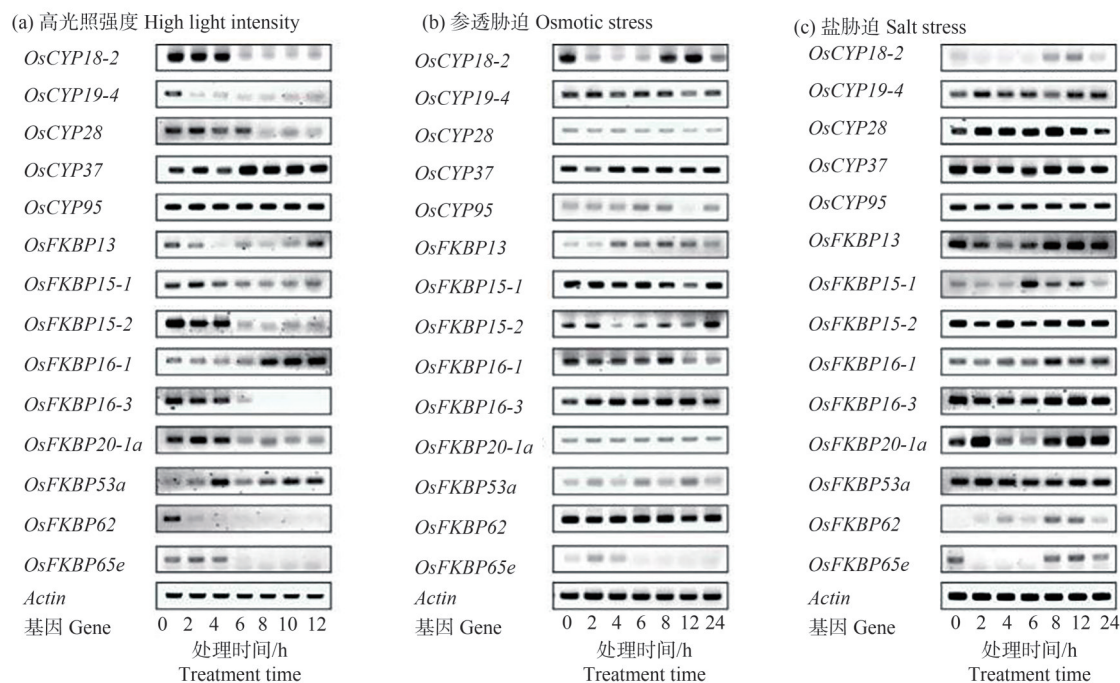
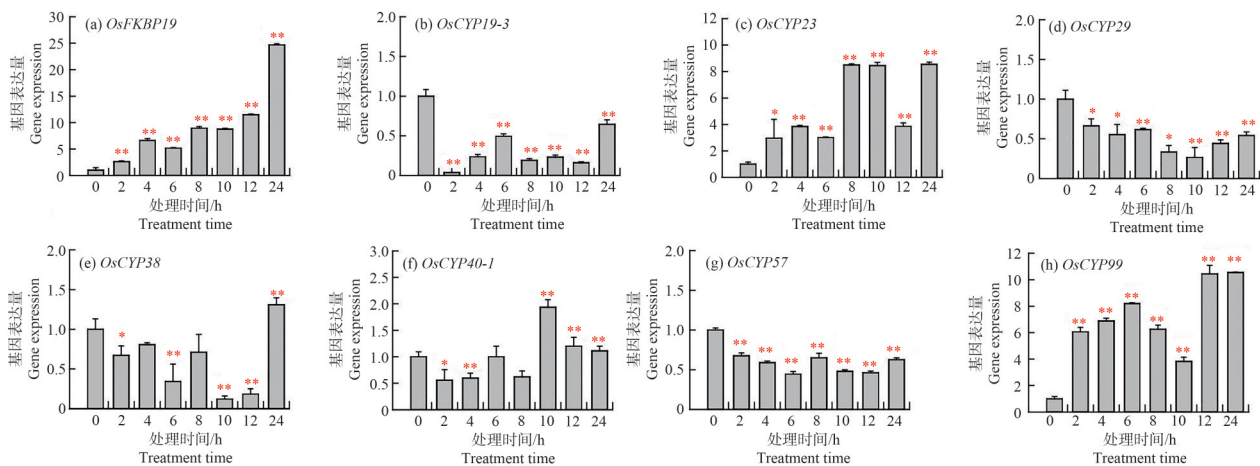
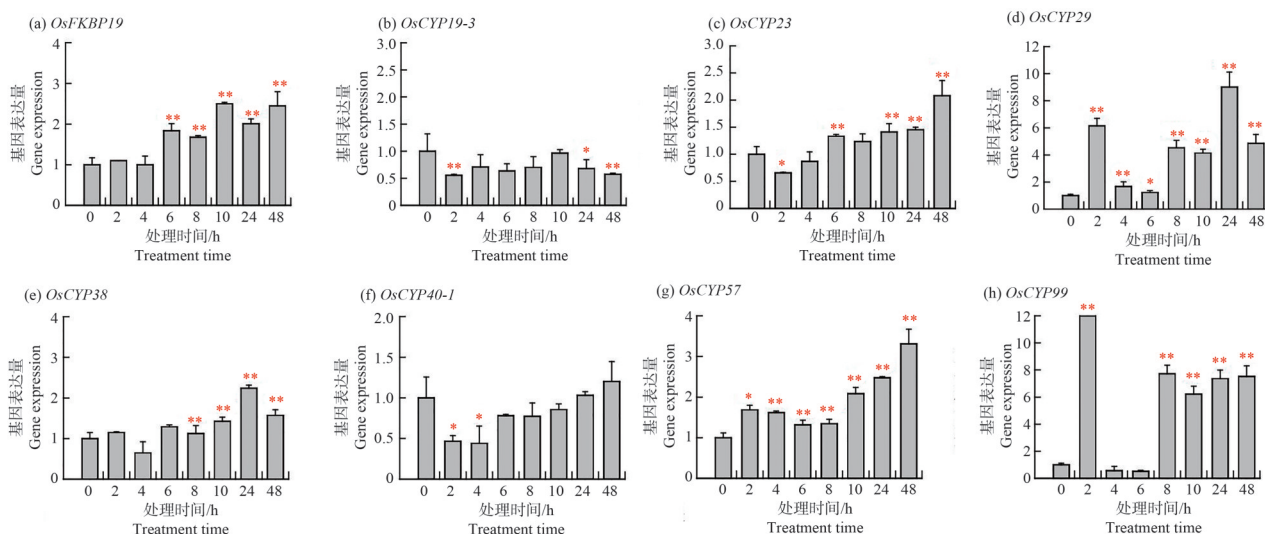
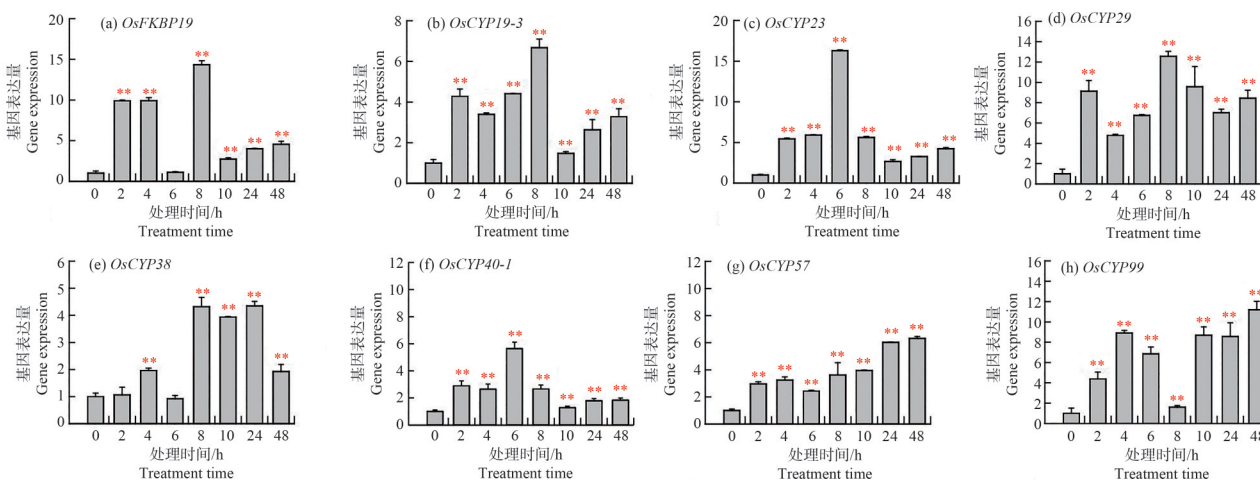


图5 不同胁迫条件下*OsFKBPs*与*OsCYPs*的表达半定量分析

Fig. 5 Expression patterns of *OsFKBPs* and *OsCYPs* under abiotic stress

由图6可知,在高光强胁迫条件下,*OsFKBP19*、*OsCYP23*及*OsCYP99*表现为波动上升表达,*OsCYP19-3*、*OsCYP29*及*OsCYP57*表现为波动下降;*OsCYP38*在处理24 h表达量达到最高,而*OsCYP40-1*在处理10 h表达量达到最高。在渗透胁迫下,*OsFKBP19*、*OsCYP23*、*OsCYP38*及*OsCYP57*表现为波动上升表达;*OsCYP19-3*与*OsCYP40-1*表达量变化不大;*OsCYP29*在处理

24 h表达量达到最高,而*OsCYP99*在处理2 h表达量陡增后趋于平衡(图7)。在盐胁迫下,*OsFKBP19*、*OsCYP19-3*表达量呈先上升而后下降;*OsCYP23*表达量在6 h达到最高而后下降;*OsCYP29*则在8 h达到最高而后下降;*OsCYP38*表达量在8 h达到最高,24 h后开始下降;*OsCYP40-1*则在6 h达到最高而后下降;*OsCYP57*及*OsCYP99*均表现为波动上升表达(图8)。

图6 高光胁迫下 *OsFKBPs* 与 *OsCYPs* 表达的荧光定量分析Fig. 6 Expression patterns of *OsFKBPs* and *OsCYPs* under high light intensity图7 渗透胁迫下 *OsFKBPs* 与 *OsCYPs* 表达的荧光定量分析Fig. 7 Expression patterns of *OsFKBPs* and *OsCYPs* under osmotic stress图8 盐胁迫下 *OsFKBPs* 与 *OsCYPs* 表达的荧光定量分析Fig. 8 Expression patterns of *OsFKBPs* and *OsCYPs* under salt stress

3 讨论

免疫亲和素在多个物种中存在重要功能^[4-10, 14-15]。本研究从水稻中鉴定到30个*OsFKBPs*基因家族成员,29个*OsCYPs*基因家族成员,相较于拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中的数量有所增加,但是不及棉花(*Gossypium barbadense*)、小麦(*Triticum aestivum*)中的数量。免疫亲和素基因家族成员在棉花与小麦中激增可能与棉花、小麦的多倍体特性相关。但是基因家族的蛋白分子量在3个物种之间没有很大的差异^[14, 25-26]。已有的研究在水稻中鉴定到29个*OsFKBPs*及27个*OsCYPs*基因家族成员^[27-28],本研究在此基础上进一步鉴定了1个新的*OsFKBPs*(*OsFKBP65f*)及2个新的*OsCYPs*(*OsCYP29*、*OsCYP99*)(表2和表3);通过PCR克隆了*OsCYP29*和*OsCYP99*,这2个基因均能完整地表达(图2)。30个*OsFKBPs*根据蛋白序列相似度可分为4个亚群,29个*OsCYPs*则也可分为4个亚群(图1)。与其他物种相似,结构域内关键基序的变异性是分类亚群的主要依据^[14-16]。这些亚群内基因成员的功能可能相似也可能不同,但都是参与蛋白质修饰或具有分子伴侣活性^[29-31]。

Toyomasu等^[32]研究表明,通过特异性剪接可以产生不同剪接形式的转录本,这些转录本可能存在于不同的亚细胞定位,甚至执行的功能都存在较大差异。免疫亲和素家族成员在某些胁迫条件下也会通过可变剪接分化出不同的蛋白质亚型。如*OsCYP19-4*在4℃冷胁迫下表达量显著上调,过表达*OsCYP19-4*能显著提高水稻的耐寒性。在4℃冷胁迫下,*OsCYP19-4*通过内含子保留和外显子可变剪接产生8种转录变体,从而产生4种不同的蛋白质亚型^[33]。PCR扩增及测序分析显示,在正常生长环境下,*OsFKBPs*与*OsCYPs*均只有1个蛋白亚型(图2),但不排除在某些应激环境下会分化出不同的蛋白亚型。组织表达谱的结果表明,*OsFKBPs*与*OsCYPs*在水稻的多个组织及发育时期均有所表达,但某些基因在水稻不同组织或不同时期存在表达量的差异,如*OsFKBP65e*及*OsCYP57*在根中的表达量较高(图3和图4),这表明它们可能在水稻根系中发挥重要功能。5'端非翻译区及3'端非翻译区对基因功能至关重要,可

以调节真核生物基因的表达,影响蛋白的调控,导致其生理作用不同^[34]。本研究结果表明,*OsFKBPs*与*OsCYPs*在盐、渗透及高光强胁迫下存在不同的诱导表达模式。*OsCYP37*在高光强条件下显著诱导表达,而在其他胁迫条件下表达量波动较小,说明其可能在高光强环境下发挥重要的生理功能(图5)。在拟南芥中的研究已经表明*CYP37*基因在高光强条件下可平衡2个光系统电子流的分布,在缺失*CYP37*基因的拟南芥突变体中花青素生物合成减少,叶绿素降解增加^[35]。*OsCYP38*在拟南芥中的相似基因功能已经研究得非常清楚^[21-22],而本研究结果也显示*OsCYP38*在高光强下有一定的响应,说明其也可能参与高光强下的一些生理生化反应。*OsCYP29*基因在拟南芥中的相似基因也未见报道,但依据预测该基因在氧化应激条件下发挥功能^[36]。本研究克隆的*OsCYP29*基因在水稻的各个组织中均有所表达也能被渗透胁迫及盐胁迫处理诱导表达,表明该基因在水稻响应渗透胁迫及盐胁迫途径中发挥重要功能。*CYP29*基因在水稻及拟南芥中的功能应进行深入试验研究。*OsCYP99*基因在水稻的新生组织中表达量更高,且能被3种不同的环境胁迫诱导表达,说明其在水稻响应逆境胁迫中也发挥重要功能,值得进一步深入研究。

4 结论

在水稻基因组中鉴定到30个*OsFKBPs*及29个*OsCYPs*免疫亲和素家族基因。30个*OsFKBPs*主要聚类为3个大的亚群,29个*OsCYPs*主要聚类为4个大的亚群。通过PCR扩增克隆得到的*OsFKBPs*与*OsCYPs*基因核苷酸长度与预测信息一致。*OsFKBPs*与*OsCYPs*基因的表达存在组织及发育时期特异性;*OsCYP37*在水稻各组织、各发育时期均有表达,且受高光强胁迫诱导上升表达,说明*OsCYP37*参与水稻响应高光强胁迫过程;*OsCYP57*在水稻根系中表达量最高,且在渗透胁迫及盐胁迫环境下表达量持续上升,说明*OsCYP57*是参与水稻响应渗透胁迫及盐胁迫的重要基因。

参考文献 References

- [1] Frazer K A, Pachter L, Poliakov A, Rubin E M, Dubchak I. VISTA: Computational tools for comparative genomics [J]. *Nucleic Acids*

- Research*, 2004, 32(2):273-279
- [2] Yadav S, Centola M, Glaesmann M, Pogoryelov D, Ladig R, Heilemann M, Rai L C, Yildiz Ö, Schleiff E. Cyclophilin anaCyp40 regulates photosystem assembly and phycobilisome association in a cyanobacterium [J/OL]. *Nature Communications*, (2022-03-30). DOI: 10.1038/s41467-022-29211-w
 - [3] Zgajnar N R, De Leo S A, Lotufo C M, Erlejan A G, Piwien-Pilipuk G, Galigniana M D. Biological actions of the Hsp90-binding immunophilins FKBP51 and FKBP52 [J/OL]. *Biomolecules*, (2019-02-01). DOI: 10.3390/biom9020052
 - [4] Brazin K N, Mallis R J, Fulton D B, Andreotti A H. Regulation of the tyrosine kinase Itk by the peptidyl-prolyl isomerase cyclophilin A [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(4):1899-1904
 - [5] Fox T, DeBruin J, Haug Collet K H, Trimmell M, Clapp J, Leonard A, Li B L, Scolaro E, Collinson S, Glassman K, Miller M, Schussler J, Dolan D, Liu L, Gho C, Albertsen M, Loussaert D, Shen B. A single point mutation in Ms44 results in dominant male sterility and improves nitrogen use efficiency in maize [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(8):942-952
 - [6] Cho K I, Patil H, Senda E, Wang J, Yi H Q, Qiu S, Yoon D, Yu M Z, Orry A, Peachey N S, Ferreira P A. Differential loss of prolyl isomerase or chaperone activity of Ran-binding protein 2 (Ranbp2) unveils distinct physiological roles of its cyclophilin domain in proteostasis [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(8):4600-4625
 - [7] Dawar F U, Wu J J, Zhao L J, Khattak M N K, Mei J, Lin L. Updates in understanding the role of cyclophilin A in leukocyte chemotaxis [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2017, 101(4):823-826
 - [8] Dimou M, Venieraki A, Katinakis P. Microbial cyclophilins: Specialized functions in virulence and beyond [J/OL]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, (2017-08-08). DOI:10.1007/s11274-017-2330-6
 - [9] Horowitz D S, Lee E J, Mabon S A, Misteli T. A cyclophilin functions in pre-mRNA splicing [J]. *EMBO Journal*, 2002, 21(3):470-480
 - [10] Maeda K, Habara M, Kawaguchi M, Matsumoto H, Hanaki S, Masaki T, Sato Y, Matsuyama H, Kunieda K, Nakagawa H, Shimada M. FKBP51 and FKBP52 regulate androgen receptor dimerization and proliferation in prostate cancer cells [J]. *Molecular Oncology*, 2022, 16(4):940-956
 - [11] Mi H F, Kops O, Zimmermann E, Jäschke A, Tropschug M. A nuclear RNA-binding cyclophilin in human T cells [J]. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 1996, 398(2-3):201-205
 - [12] Chang A Y, Castel S E, Ernst E, Kim H S, Martienssen R A. The conserved RNA binding cyclophilin, rct1, regulates small RNA biogenesis and splicing independent of heterochromatin assembly [J]. *Cell Reports*, 2017, 19(12):2477-2489
 - [13] Tong M M, Jiang Y. FK506-binding proteins and their diverse functions [J]. *Current Molecular Pharmacology*, 2015, 9(1):48-65
 - [14] Chen Q, Chen Q J, Sun G Q, Zheng K, Yao Z P, Han Y H, Wang L P, Duan Y J, Yu D Q, Qu Y Y. Genome-wide identification of cyclophilin gene family in cotton and expression analysis of the fibre development in *Gossypium barbadense* [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, (2019-01-16). DOI:10.3390/ijms20020349
 - [15] Vallon O. Chlamydomonas immunophilins and parvulins: Survey and critical assessment of gene models [J]. *Eukaryotic Cell*, 2005, 4(2):230-241
 - [16] Romano P G N, Horton P, Gray J E. The *Arabidopsis* cyclophilin gene family [J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(4):1268-1282
 - [17] Zhang Y, Fletcher K, Han R, Micheltore R, Yang R. Genome-wide analysis of cyclophilin proteins in 21 oomycetes [J/OL]. *Pathogens*, (2019-12-26). DOI:10.3390/pathogens9010024
 - [18] Singh H, Kaur K, Singh M, Kaur G, Singh P. Plant cyclophilins: Multifaceted proteins with versatile roles [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2020-10-22). DOI:10.3389/fpls.2020.585212
 - [19] Kim S K, You Y N, Park J C, Joung Y, Kim B G, Ahn J C, Cho H S. The rice thylakoid luminal cyclophilin OsCYP20-2 confers enhanced environmental stress tolerance in tobacco and *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Reports*, 2012, 31(2):417-426
 - [20] Romano P G N, Edvardsson A, Ruban A V, Andersson B, Vener A V, Gray J E, Horton P. *Arabidopsis* AtCYP20-2 is a light-regulated cyclophilin-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase associated with the photosynthetic membranes [J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(4):1244-1247
 - [21] Sirpiö S, Khrouchtchova A, Allahverdiyeva Y, Hansson M, Fristedt R, Vener A V, Scheller H V, Jensen P E, Haldrup A, Aro E M. AtCYP38 ensures early biogenesis, correct assembly and sustenance of photosystem II [J]. *Plant Journal*, 2008, 55(4):639-651
 - [22] Vasudevan D, Fu A G, Luan S, Swaminathan K. Crystal structure of *Arabidopsis* cyclophilin38 reveals a previously uncharacterized immunophilin fold and a possible autoinhibitory mechanism [J]. *Plant Cell*, 2012, 24(6):2666-2674
 - [23] Kang B, Zhang Z C, Wang L L, Zheng L B, Mao W H, Li M F, Wu Y R, Wu P, Mo X R. OsCYP2, a chaperone involved in degradation of auxin-responsive proteins, plays crucial roles in rice lateral root initiation [J]. *Plant Journal*, 2013, 74(1):86-97
 - [24] Ruan S L, Ma H S, Wang S H, Fu Y P, Xin Y, Liu W Z, Wang F, Tong J X, Wang S Z, Chen H Z. Proteomic identification of OsCYP2, a rice cyclophilin that confers salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings when overexpressed [J]. *BMC Plant Biology*, 2011, 11(4):34-49
 - [25] Ge Q, Peng P P P, Cheng M Y, Meng Y J, Cao Y, Zhang S Y, Long Y, Li G Z, Kang G Z. Genome-wide identification and analysis of FKBP gene family in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(23):14501-14526
 - [26] He Z Y, Li L G, Luan S. Immunophilins and parvulins. Superfamily of peptidyl prolyl isomerases in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(4):1248-1267
 - [27] Ahn J C, Kim D W, You Y N, Seok M S, Park J M, Hwang H, Kim B G, Luan S, Park H S, Cho H S. Classification of rice (*Oryza sativa* L. *Japonica* Nipponbare) immunophilins (FKBPs, CYPs) and expression patterns under water stress [J]. *BMC Plant Biology*, 2010, 10(1):253-275
 - [28] Gollan P J, Bhawe M. Genome-wide analysis of genes encoding FK506-binding proteins in rice [J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 72(1-2):1-16
 - [29] Gullerova M, Barta A, Lorkovic Z J. AtCyp59 is a multidomain cyclophilin from *Arabidopsis thaliana* that interacts with SR proteins and the C-terminal domain of the RNA polymerase II [J]. *RNA*, 2006, 12(4):631-643
 - [30] Jing H W, Yang X L, Zhang J, Liu X H, Zheng H K, Dong G J, Nian J Q, Feng J, Xia B, Qian Q, Li J Y, Zuo J R. Peptidyl-prolyl isomerization targets rice Aux/IAAs for proteasomal degradation during auxin signaling [J]. *Nature Communications*, 2015, 6(3):7395-7405
 - [31] Singh A K, Datta A, Jobichen C, Luan S, Vasudevan D. AtFKBP53: A chimeric histone chaperone with functional nucleoplasm in and PPIase domains [J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(3):1531-1550
 - [32] Toyomasu T, Usui M, Sugawara C, Kanno Y, Sakai A, Takahashi H, Nakazono M, Kuroda M, Miyamoto K, Morimoto Y, Mitsuhashi W, Okada K, Yamaguchi S, Yamane H. Transcripts of two ent-copalyl diphosphate synthase genes differentially localize in rice plants according to their distinct biological roles [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(1):369-376
 - [33] Lee A, Lee S S, Jung W Y, Park H J, Lim B R, Kim H S, Ahn J C, Cho H S. The OsCYP19-4 gene is expressed as multiple alternatively spliced transcripts encoding isoforms with distinct cellular localizations and PPIase activities under cold stress [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, (2016-07-19). DOI:10.3390/ijms17071154
 - [34] Szostak E, Gebauer F. Translational control by 3'-UTR-binding proteins [J]. *Briefings in Functional Genomics*, 2013, 12(1):58-65
 - [35] Yang X X, Che Y F, Garcia V J, Shen J Q, Zheng Y T, Su Z Z, Zhu L,

Luan S, Hou X. Cyclophilin 37 maintains electron transport via the cytochrome b6/f complex under high light in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2023, 192(4):2803-2821

tolerance to oxidative stress in transgenic *Arabidopsis* plants expressing proteins of unknown function [J]. *Plant Physiology*, 2008, 148 (1) : 280-292

[36] Song L H, Ciftci-Yilmaz S, Harper J, Cushman J, Mittler R. Enhanced

责任编辑: 吕晓梅



第一作者简介: 江转转, 博士, 硕士生导师, 安庆师范大学生命科学学院讲师。主要从事植物抗逆相关基因功能挖掘及解析基因互作网络的研究。主持和参与杂交水稻国家重点实验室(武汉大学)开放课题(KF202204)、安徽省高校科研项目(2022AH051034, 2022AH051048)和安徽省优秀人才项目(GXFX2023015)等项目 6 项。以第一作者发表在国内外期刊发表学术论文 4 篇, 获授权国家发明专利 1 项。