

小麦硫氧还蛋白 TaTrxh10 的特征及活性鉴定

焦中发¹, 王晓腾¹, 丁帅静¹, 吴玉杰¹, 景姝涵¹, 张莉¹, 孟晓丹¹, 孟凡荣², 李永春¹

(1. 河南农业大学农学院/国家小麦工程技术研究中心, 河南郑州 450046; 2. 河南农业大学生命科学学院, 河南郑州 450046)

摘要: 硫氧还蛋白是一类在植物中普遍存在的氧化还原调控蛋白, 在植物生长发育过程中发挥重要调控功能。为了探讨小麦硫氧还蛋白 TaTrxh10 的生物学功能, 系统分析了该蛋白的序列特征、三维结构及其基因表达模式, 并将该蛋白原核表达后进行了其对二硫键还原活性的体外鉴定。蛋白序列特征分析显示, 小麦 TaTrxh10 包含 3 个成员, 分别由 3 个同源基因 *TaTrxh10-A*、*TaTrxh10-B* 和 *TaTrxh10-D* 编码; 3 个成员均包含 143 个氨基酸, 序列一致性为 94.4%, 且具有经典的硫氧还蛋白保守结构域和催化活性中心 (WCGPC)。蛋白高级结构分析显示, TaTrxh10 可形成由 5 个 β -折叠和 4 个 α -螺旋组成的三明治型特定空间结构。基因表达特性分析发现, *TaTrxh10* 的 3 个同源基因在小麦根、茎和叶中的表达量极低, 在子房和成熟种子中有较低水平的表达, 而在成熟花粉中高表达。利用 DTNB 进行的硫氧还蛋白还原活性鉴定表明, TaTrxh10 的 3 个成员均具有催化二硫键还原的功能, 不过其还原活性在 3 个成员间存在一定差异; 在较低浓度硫氧还蛋白的反应体系中, TaTrxh10-D 的催化活性最高, TaTrxh10-B 次之。以上结果表明, 小麦 TaTrxh10 是一类在花粉中特异表达的有活性的氧化还原调控蛋白, 这为进一步探讨小麦中依赖于氧化还原的发育调控机制提供了重要信息。

关键词: 小麦; 硫氧还蛋白; 序列特征; 原核表达; 还原活性

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2025)10-1324-07

Characterization and Activity Identification of Thioredoxin TaTrxh 10 in Wheat

JIAO Zhongfa¹, WANG Xiaoteng¹, DING Shuaijing¹, WU Yujie¹, JING Shuhan¹,
ZHANG Li¹, MENG Xiaodan¹, MENG Fanrong², LI Yongchun¹

(1. College of Agronomy/National Engineering Research Center for Wheat, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450046, China; 2. College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450046, China)

Abstract: Thioredoxins are a class of redox regulatory proteins widely present in plants, which play crucial roles in plant growth and development. To investigate the biological functions of the wheat thioredoxin TaTrxh10, we systematically analyzed its sequence characteristics, three-dimensional structure, and gene expression patterns. The protein was expressed in a prokaryotic system, and its disulfide bond reduction activity was validated *in vitro*. Sequence analysis revealed that wheat TaTrxh10 comprises three family members encoded by three homoeologous genes: *TaTrxh10-A*, *TaTrxh10-B*, and *TaTrxh10-D*. All three TaTrxh10 family members consist of 143 amino acids, with a sequence identity of 94.4%, and contain the classic thioredoxin conserved domain and catalytic active center (WCGPC). Protein structural analysis demonstrated that TaTrxh10 can fold into a sandwich-like spatial structure composed of five β -sheets and four α -helices. Gene expression analysis indicated that the three homoeologous genes of *TaTrxh10* are expressed at very low levels in roots, stems, and leaves, and at relatively lower levels in the ovary and mature seeds; however, they are highly expressed in

mature pollens. The thioredoxin reduction activity assay using DTNB demonstrated that all three family members of TaTrxh10 possess the ability to catalyze disulfide bond reduction, but their reduction activities varied among the members. In reaction systems with lower thioredoxin concentrations, TaTrxh10-D exhibited the highest catalytic activity, followed by TaTrxh10-B. These results indicate that wheat TaTrxh10 represents a class of active redox regulatory proteins specifically expressed in pollen, which provides important insights for further exploration of redox-dependent developmental regulatory mechanisms in wheat.

Keywords: Wheat; Thioredoxin; Sequence characterization; Prokaryotic expression; Reduction activity

硫氧还蛋白 (thioredoxin, Trx) 是一类生物界普遍存在的小分子调控蛋白, 在氧化还原、信号转导、抗氧化防御、生长发育等诸多方面发挥重要调控功能^[1]。植物的 Trx 家族包含多个成员, 依据其亚细胞定位和功能可分为 f、m、x、y、h 和 o 几种类型^[2]。其中, h 类硫氧还蛋白 (Trxh) 的成员最多, 在细胞内的分布也最广泛 (包括细胞质^[3]、细胞核^[4]、内质网^[5]、质膜^[6]和线粒体^[7]中均有分布), 参与了代谢调控、逆境胁迫响应、细胞间信号传导和种子萌发调控等多个生理生化过程的分子调控^[8]。在模式植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中, 包含 11 个 h 类硫氧还蛋白家族成员 (AtTrxh1 ~ AtTrxh11)^[9]。研究发现, AtTrxh1 和 AtTrxh4 在细胞周期的调控过程中发挥重要功能^[10]; AtTrxh2 在冷胁迫条件下可从细胞质转移到细胞核内, 通过其二硫键还原作用激活响应低温的 C 重复结合因子 CBF, 进而诱导下游冷胁迫响应基因的表达和增强植物对冷害的耐受性^[11]; AtTrxh3 在热胁迫条件下会形成多聚体, 并通过其分子伴侣的功能保护植物细胞免受热胁迫的伤害^[12]; AtTrxh5 可诱导细胞活性氧 (ROS) 的生成, 进而产生抑制真菌生长的效应^[13]; AtTrxh9 参与了细胞间的信号交流, 该蛋白缺失后拟南芥表现出植株矮化、根系变短和叶片黄化的表型^[6]。在模式作物水稻 (*Oryza sativa*) 中, Trxh 包含 10 个家族成员, 其中 OsTrxh1 的编码基因受低温和高盐胁迫的诱导而上调表达, 初步研究结果显示该蛋白参与了水稻发育调控和胁迫响应的调控过程^[14]。小麦中包含 21 个编码 Trxh 的基因^[15], 其中 *TaTrxh1*、*TaTrxh2* 和 *TaTrxh3* 与种子萌发调控密切相关^[16-17], *TaTrxh1* 通过水杨酸介导的信号通路参与了小麦对条锈病的响应过程^[18]。目前, 关于小麦中 h 类硫氧还蛋白功能鉴定的研究报道较少。课题组前期鉴定了一个小麦的 h 类硫氧还蛋白基因

TaTrxh9^[19], 初步研究显示其编码蛋白具有二硫键还原活性, 该基因敲除后小麦的发育进程加快, 抽穗期提前; 小麦 h 类硫氧还蛋白家族成员的聚类分析显示, 与 TaTrxh9 亲缘关系最接近的成员为 TaTrxh10, 二者在硫氧还蛋白保守域的氨基酸序列一致性为 47.4%^[15]。为了进一步证实 TaTrxh10 的生物学功能, 本研究拟分析该蛋白的序列特征、基因表达模式和催化活性, 以期探讨小麦 Trxh 家族的生物学功能提供参考。

1 材料与方法

1.1 生物信息学分析

小麦 *TaTrxh10* 基因及其编码蛋白的序列信息从 EnsemblPlants 小麦基因组数据库 (https://plants.ensembl.org/Triticum_aestivum/Info/Index) 下载, 利用 SnapGene 软件进行氨基酸序列比较分析; 通过 NCBI Conserved Domains (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 进行蛋白保守域分析, 并采用 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>) 进行蛋白三维结构预测。

1.2 基因的克隆和表达分析

采用 TRIzol 法提取小麦 (*Triticum aestivum* L.) 品种 Fielder 萌发处理 3 h 种子的总 RNA, 利用试剂盒 HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (诺唯赞) 进行 RNA 反转录获得 cDNA。利用引物 YP2748 (5'-ACATCCTGACGGATTGCTCG-3') 和 YP2749 (5'-TCAGGTTTTGTCCTCGAAAGACTGTT-TAC-3') 组合, 以上述 cDNA 为模板, 通过 PCR 扩增获得小麦 *TaTrxh10* 基因, 将其连接到 pMD19-T 载体并转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞; 在含氨苄青霉素的筛选平板上挑选 15 个克隆, 利用引物 YP0085 (5'-ATCGGTGCGGGCCTCTT-3') 和 YP0086 (5'-GGCACCCCAGGCTTTACAC-3') 进行 PCR 鉴定筛选阳性重组克隆; 然后, 随机挑选 8 个重组克隆,

用小麦 *TaTrxh 10-A*、*TaTrxh 10-B* 和 *TaTrxh 10-D* 的特异引物 YP2750 (5'-GCTTCAAAGAGAGTTCGGAGTATGC-3')、YP2751 (5'-CCTCGAAAGACTGTTTA CT-CATGTCG-3') 和 YP2752 (5'-CGTGGCACGTACCTCGAAATC-3') 分别与通用引物 YP2748 组合, 通过 PCR 鉴定筛选分别含有 *TaTrxh10-A*、*TaTrxh10-B* 和 *TaTrxh10-D* 基因片段的重组克隆, 提取质粒后进一步通过测序验证克隆片段的正确性, 并用于下一步原核表达实验。小麦 *TaTrxh10* 基因的表达谱分析利用 Wheat eFP Browser 数据库进行^[20-21]。

1.3 小麦 *TaTrxh10* 蛋白的原核表达及纯化

利用引物 YP2911 (5'-CGCg_{gatcc}GGATGCTGCGGCAGCAAC-3') 和 YP2912 (5'-GCg_{tcgac}TCAGGTTTTGTCCTCGAAAGACTGT-3'), 小写斜体字母为酶切位点) 分别以含 *TaTrxh10-A*、*TaTrxh10-B* 和 *TaTrxh10-D* 基因片段的 T 载体为模板, 通过 PCR 扩增获得 *TaTrxh 10* 的 3 个同源基因段。将 3 个扩增片段利用 *Bam*H I 和 *Sal*I 双酶切后分别插入原核表达载体 pGEX-4T-2 的多克隆位点, 获得 *TaTrxh 10* 同源基因的表达载体 pGEX-A、pGEX-B 和 pGEX-D。将表达载体导入大肠杆菌 BL21 (DE3) 感受态细胞, 利用含有 1 mmol · L⁻¹ 的 IPTG 培养基在 28 °C 条件下诱导培养 8 h, 并通过 SDS-PAGE 检测大肠杆菌中目标蛋白的表达效果。提取诱导培养后大肠杆菌的总蛋白, 并通过 GST 亲和层析法纯化 GST-*TaTrxh 10* 的融合蛋白, 经 SDS-PAGE 检测和定量后用于蛋白活性鉴定。

1.4 小麦 *TaTrxh10* 蛋白的活性鉴定

小麦 *TaTrxh10* 蛋白还原活性的测定采用 DTNB 法进行^[22]。首先, 利用凝血酶(索莱宝)将 GST-*TaTrxh10* 融合蛋白的 GST 标签切除; 然后, 在含 DTNB 的反应体系中加入不同量的 *TaTrxh10* 蛋白, 每 15 s 测定一次反应液在 412 nm 处的吸光度。上述反应体系主要成分如下: 1 mmol · L⁻¹ 的 EDTA, 0.1 mol · L⁻¹ 的磷酸钾缓冲液 (pH 7.0), 5% 的无水乙醇, 0.4 mmol · L⁻¹ 的 NADPH, 0.1 mg · mL⁻¹ 的 BSA, 1 mmol · L⁻¹ 的 DTNB; 用于活性鉴定的 *TaTrxh10* 蛋白设置 4 个浓度, 分别为 0、8、16 和 30 μmol · L⁻¹。设 3 次生物学重复, 数据采用 Excel 进行分析。

2 结果与分析

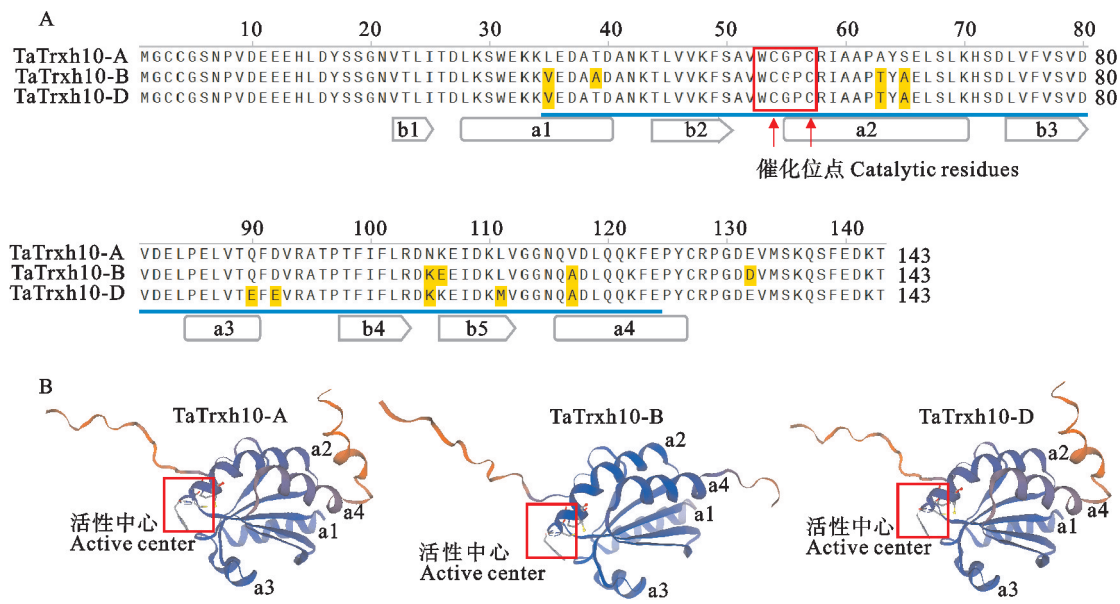
2.1 小麦 *TaTrxh10* 蛋白的序列特征

前期研究表明, 硫氧还蛋白 *TaTrxh 9* 在小麦发育

过程中发挥重要调控功能, 聚类分析显示与 *TaTrxh 9* 亲缘关系最近小麦硫氧还蛋白家族成员的基因位点为 TraesCS1A02G301500、TraesCS1B02G311300 和 TraesCS1D02G301200^[15], 由于其编码蛋白与拟南芥 *AtTrxh10* (AT3G56420) 高度相似, 将这 3 个基因编码的蛋白分别命名为 *TaTrxh 10-A*、*TaTrxh 10-B* 和 *TaTrxh 10-D*。序列分析显示, *TaTrxh 10* 蛋白的 3 个成员均包含 143 个氨基酸, 序列一致性为 94.4%, 且具有典型的硫氧还蛋白保守结构域(第 35~第 124 位氨基酸)和氧化还原活性区域(WCGPC); *TaTrxh10* 的 3 个成员在保守域两侧的序列基本一致(仅 *TaTrxh10-B* 存在一个位点差异), 而在保守结构域内存在一定差异, 其中 *TaTrxh10-B* 和 *TaTrxh10-D* 分别有 7 个和 8 个变异位点(图 1A)。蛋白高级结构分析(图 1B)显示, *TaTrxh10* 的 3 个成员均可形成由 5 个 β-折叠(b1~b5)和 4 个 α-螺旋(a1~a4)构成的三明治型蛋白空间结构, 其中催化活性中心位于三维结构外侧(第 2 个 α-螺旋的前端), 这是经典的硫氧还蛋白空间结构; 从空间折叠结构来看, *TaTrxh 10-A* 和 *TaTrxh10-D* 更为相似, 二者与大麦硫氧还蛋白(Swiss-Model ID: F2EBQ4.1.A)的序列一致性分别为 88.8% 和 87.4%, 且序列覆盖度为 100%; *TaTrxh10-B* 的三维结构与水稻的硫氧还蛋白(Swiss-Model ID: Q75GM1.1.A)更为相似, 序列一致性和覆盖度分别为 70.7% 和 93.0%。可见, 虽然 *TaTrxh 10* 的 3 个成员具有非常相似的三维结构, 但保守域少数氨基酸位点的变化也可导致蛋白空间结构的细微差异, 这可能会影响到硫氧还蛋白与其靶蛋白的互作特性及调控效应。

2.2 小麦 *TaTrxh10* 基因的表达模式

对小麦不同组织中 *TaTrxh10* 的表达水平分析显示, 在根、茎和叶等营养器官中, 3 个同源基因的表达水平均很低, 而在生殖器官中整体表达水平较高; 有趣的是, *TaTrxh10* 在成熟花药中的整体表达量是柱头和子房的 98.5 倍(图 2A)。进一步分析 *TaTrxh10* 在花粉发育过程中的表达模式发现, 该基因仅在成熟花粉中特异高表达(表达水平是未开裂花药中的 751.5 倍), 而在花粉发育过程中表达量很低(除 *TaTrxh 10-B* 在偶线期出现了表达上调外)(图 2B)。整体来看, 小麦 *TaTrxh 10* 基因在生殖器官(特别是成熟花粉)中特异表达, 推测该基因在小麦生殖调控过程中发挥重要功能。

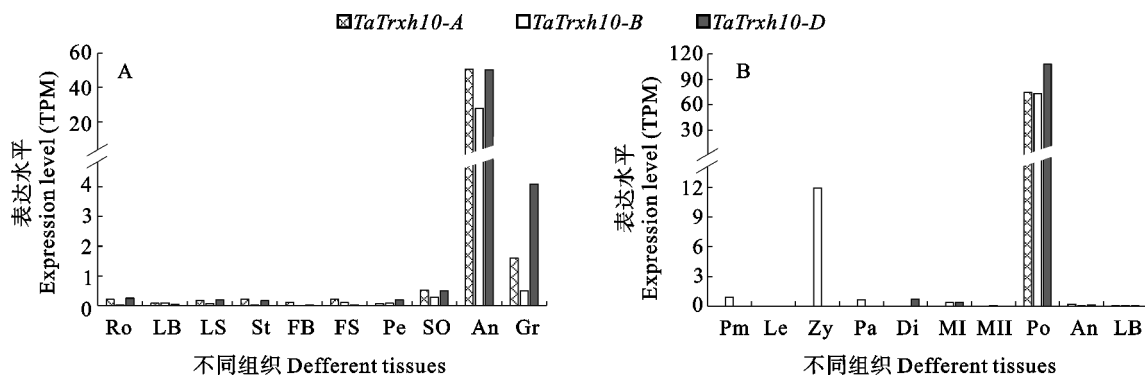


A: 小麦 TaTrxh10 的序列比对及保守域分析; a1~a4: 代表 4 个 α -螺旋区域; b1~b5: 代表 5 个 β 折叠区域; 活性中心用红色框标注, 催化活性位点用箭头标注。B: 小麦 TaTrxh10 的三维结构预测。

A: Sequence alignment and conserved domain analysis of wheat TaTrxh10; a1-a4: four α -helix regions; b1-b5: five β -sheet regions. The active center is highlighted with a red box, and the catalytic residues are marked with an arrow. B: 3-D structure prediction of TaTrxh10 in wheat.

图 1 小麦硫氧还蛋白 TaTrxh10 的序列特征

Fig. 1 Sequence characterization of thioredoxin TaTrxh10 in wheat



A: 不同组织中 TaTrxh10 基因的表达; Ro: 根系; LB: 三叶期叶片; LS: 三叶期叶鞘; St: 挑旗期茎秆; FB: 旗叶的叶片; FS: 旗叶的叶鞘; Pe: 穗下节; SO: 子房和柱头; An: 花药(开花期); Gr: 成熟种子。B: 花粉及其发育过程中 TaTrxh10 基因的表达; Pm: 减数分裂前 G2 期; Le: 细线期; Zy: 偶线期; Pa: 粗线期; Di: 双线期; MI: 中期 I; MII: 中期 II; Po: 成熟花粉粒; An: 未开裂花药; LB: 叶片(倒二叶)。

A: Expression of TaTrxh10 genes in different wheat tissues; Ro: Root; LB: Third leaf blade; LS: Third leaf sheath; St: Stem at the flag leaf stage; FB: Flag leaf blade; FS: Flag leaf sheath; Pe: Peduncle; SO: Stigma and ovary; An: Anther at the anthesis stage; Gr: Maturing grain. B: Expression of TaTrxh10 genes in developing and mature pollens; Pm: Pre-meiotic G2 stage; Le: Leptotene; Zy: Zygotene; Pa: Pachytene; Di: Diplotene; MI: Metaphase-I; MII: Metaphase-II; Po: Mature pollen; An: Indehiscent anther; LB: Leaf blade of the penultimate leaf.

图 2 小麦 TaTrxh10 基因的表达模式

Fig. 2 Expression patterns of TaTrxh10 genes in wheat

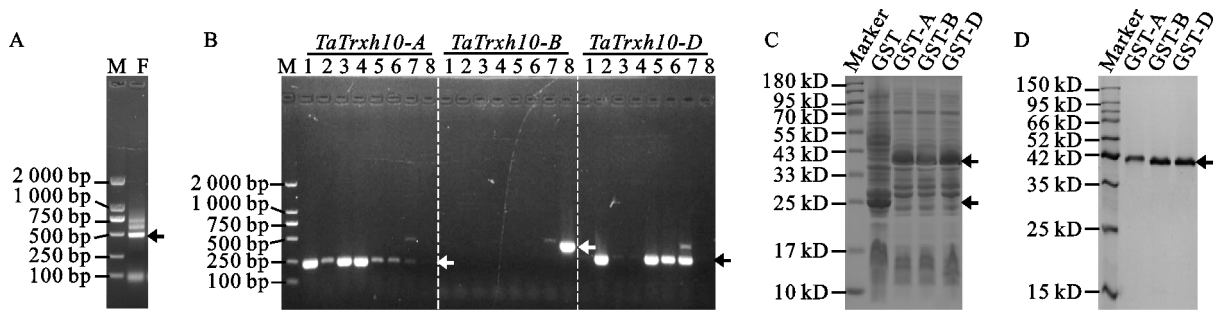
2.3 小麦 TaTrxh10 蛋白的原核表达

为验证小麦硫氧还蛋白 TaTrxh10 是否具有催化活性,将该蛋白进行了原核表达和纯化。利用特异引物 YP2748/YP2749 进行 PCR 扩增得

到大小约 460 bp 的 TaTrxh10 基因片段(图 3A), 将其连接到 T-载体并转化大肠杆菌获得重组克隆;采用 A、B 和 D 基因组特异引物进行的 PCR 鉴定显示,第 1、第 3 和第 4 泳道对应克隆含有

TaTrxh10-A 基因片段,第 8 泳道对应克隆含有 *TaTrxh10-B*,第 2、第 5、第 6 和第 7 泳道对应克隆含有 *TaTrxh10-D*;挑选第 1、第 8 和第 2 泳道对应克隆经测序验证后提取质粒,获得分别包含 3 个 *TaTrxh10* 同源基因的重组质粒(图 3B)。利用引物 YP2911/YP2912 以上述重组质粒为模板进行 PCR 扩增,获得 *TaTrxh10-A*、*TaTrxh10-B* 和 *TaTrxh10-D* 基因片段,经双酶切后定向插入 pGEX-4T-2 载体获得 3 个同源基因的表达载体 pGEX-A、pGEX-B 和 pGEX-D。利用大肠杆菌 BL21(DE3)进行蛋白表达分析显示,含有空载体

pGEX-4T-2 的对照组(GST)表达出 1 条分子量约为 26 kDa 的条带,而含有 pGEX-A(GST-A)、pGEX-B(GST-B)和 pGEX-D(GST-D)载体的三个处理组均检测到分子量约为 42 kDa 的目标条带(图 3C),这与 *TaTrxh10* 蛋白约 16 kDa 的分子量一致,说明 GST-*TaTrxh10* 融合蛋白被成功诱导表达。利用 GST 亲和层析法分别对重组蛋白进行纯化,通过 SDS-PAGE 检测,纯化后的 GST-A、GST-B 和 GST-D 融合蛋白条带清晰,背景干净无杂带(图 3D),可用于蛋白催化活性的鉴定分析。



A: *TaTrxh10* 基因片段的克隆;M: DL2000; F: PCR 扩增产物。B: 重组克隆的 PCR 鉴定;1-8: 重组克隆。C: 诱导表达蛋白的检测;Marker: 蛋白分子量标准;GST: 载体 pGEX-4T-2 的诱导表达蛋白;GST-A、GST-B 和 GST-D 分别为 pGEX-A、pGEX-B 和 pGEX-D 重组载体的诱导表达蛋白。D: 纯化后融合蛋白的检测。所有目标条带对应位置用箭头标注。

A: Cloning of *TaTrxh10* gene fragment; M: DL2000; F: PCR products. B: PCR identification of recombinant clones; 1-8: Recombinant clones. C: Detection of induced proteins; Marker: Protein marker; GST: Induced proteins of pGEX-4T-2 vector; GST-A, GST-B, and GST-D represent the induced proteins of pGEX-A, pGEX-B, and pGEX-D recombinant vectors, respectively. D: Detection of the purified recombinant proteins. The target bands are indicated by arrows.

图 3 小麦 *TaTrxh10* 基因的克隆和原核表达

Fig. 3 Cloning and prokaryotic expression of the wheat *TaTrxh10* genes

2.4 小麦 *TaTrxh10* 蛋白的催化活性鉴定

为了鉴定 *TaTrxh10* 蛋白的催化活性,将 GST-*TaTrxh10* 融合蛋白切除 GST 标签后进行了基于 DTNB 的蛋白还原活性测定。结果显示,还原反应体系中加入 *TaTrxh10-A* 后,412 nm 波长的吸光度随反应时间的延长而逐渐增加(图 4);随着 *TaTrxh10-A* 浓度的提高,吸光度的增加速度也明显上调,说明 *TaTrxh10-A* 具有打开 DTNB 二硫键并将其还原为 TNB 的作用。进一步分析发现,*TaTrxh10-B* 和 *TaTrxh10-D* 也具有对 DTNB 的还原作用(图 4)。不过,DTNB 还原活性曲线在 *TaTrxh10* 的 3 个成员间存在一定的差异。在低浓度($8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)条件下,*TaTrxh10-A* 的还原活性略高于另外两个成员;在较低浓度(16

$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)条件下,*TaTrxh10-D* 的催化活性最高,*TaTrxh10-B* 次之;而在较高浓度($30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的反应体系中,*TaTrxh10* 的 3 个成员间还原活性差异不大(2 min 时 *TaTrxh10-A* 催化产生 TNB 的总量略高于另外两个蛋白成员),且 *TaTrxh10-A* 和 *TaTrxh10-D* 具有相似的吸光度变化曲线,说明高浓度条件下二者具有类似的还原作用模式。整体来看,*TaTrxh10* 的 3 个成员在 DTNB 还原活性方面存在一定差异,且这种差异在较低浓度反应条件下最为明显,而在高浓度条件下差异不大。由此推测,*TaTrxh10* 的 3 个成员间还原活性的差异不仅与其序列及三维结构的差异有关,还可能受到蛋白自身浓度或聚集状态的影响。

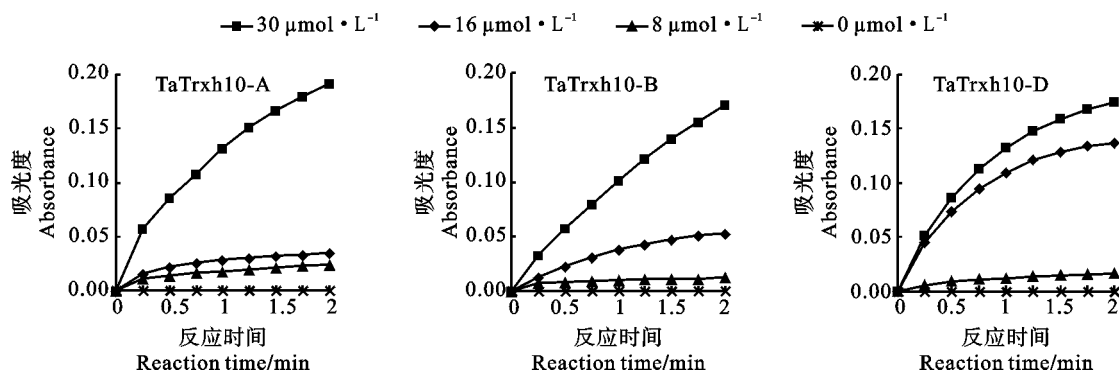


图 4 小麦硫氧还蛋白 TaTrxh10 的催化活性分析

Fig. 4 Catalytic activity analysis of wheat thioredoxin TaTrxh10

3 讨论

维持细胞内的氧化还原稳态对于保障植物正常生长发育至关重要,在长期的进化过程中植物形成了特有的氧化还原调控系统^[23]。其中,依赖于硫氧还蛋白的氧化还原调控在维持植物氧化还原平衡方面发挥重要功能^[24]。硫氧还蛋白可以通过其保守的 CXXC 活性中心对靶蛋白的二硫键还原,从而参与了细胞内氧化还原稳态的维持和对靶蛋白功能的调控^[2]。本研究中鉴定了一个典型的 h 类小麦硫氧还蛋白 TaTrxh10,序列分析显示其具有经典的 WCGPC 催化中心,催化活性鉴定证实该蛋白具有二硫键的还原活性,推测其在小麦中参与了氧化还原的调控过程。不过,在低浓度条件下 TaTrxh10 的 3 个成员间还原活性存在一定差异,这应该与成员间蛋白序列及三维结构的差异有关。有趣的是,在高浓度条件下 TaTrxh10 的 3 个成员间二硫键还原活性较为接近,说明 TaTrxh10 的蛋白浓度会对其催化活性有一定影响,这可能与不同浓度条件下 TaTrxh10 的聚集状态发生改变有关。已有研究显示,在非还原条件下小麦硫氧还蛋白 TaTrxh1 和 TaTrxh2 会出现二聚体形式,而 TaTrxh3 却仅以单体形式存在^[17]。从蛋白序列来看,TaTrxh2 和 TaTrxh3 分别由 2 个部分同源基因 TraesCS1B02G338800 和 TraesCS1A02G325600 编码,二者的氨基酸序列非常相似;可见,细微的氨基酸序列差异也可能导致硫氧还蛋白形成不同的聚集状态。那么,高浓度条件下是否会影响 TaTrxh10 的聚集状态及其二硫键还原活性仍需要进一步证实。

基因的时空表达模式是植物生长发育调控的核心机制之一,功能基因在不同发育阶段和不同

组织中的差异性表达对于植物细胞分化、器官形成及环境响应的精细调控至关重要^[25]。本研究发现,TaTrxh10 基因在小麦成熟花粉中特异高表达,预示着该基因在维持花粉活性或授粉调控过程中发挥重要功能。有研究结果显示,硫氧还蛋白等抗氧化因子在维持花粉细胞内氧化还原稳态及调控花粉正常发育等方面发挥重要功能^[26],有些 h 类硫氧还蛋白还参与了花粉与柱头的互作及识别等生殖调控过程^[27];不过,关于小麦中 h 类硫氧还蛋白在花粉发育及活性调控方面的研究还未见报道,有关 TaTrxh10 蛋白在小麦中的生物学功能仍有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] CUI X Y, GU J M, LIU P K, *et al.* Genome-wide identification and characterization of the thioredoxin (TRX) gene family in tomato (*Solanum lycopersicum*) and a functional analysis of SlTRX2 under salt stress [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2025, 220: 109478.
- [2] ZHOU J F, SONG T Q, ZHOU H W, *et al.* Genome-wide identification, characterization, evolution, and expression pattern analyses of the typical thioredoxin gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 1020584.
- [3] GELHAYE E, ROUHIER N, JACQUOT J P. The thioredoxin h system of higher plants [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004, 42(4): 265.
- [4] SERRATO A J, CEJUDO F J. Type-h thioredoxins accumulate in the nucleus of developing wheat seed tissues suffering oxidative stress [J]. *Planta*, 2003, 217(3): 392.
- [5] MARCUS F, CHAMBERLAIN S H, CHU C, *et al.* Plant thioredoxin h: An animal-like thioredoxin occurring in multiple cell compartments [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1991, 287(1): 195.
- [6] MENG L, WONG J H, FELDMAN L J, *et al.* A membrane-associated thioredoxin required for plant growth moves from

- cell to cell, suggestive of a role in intercellular communication [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(8):3900.
- [7] GELHAYE E, ROUHIER N, GÉRARD J, *et al.* A specific form of thioredoxin h occurs in plant mitochondria and regulates the alternative oxidase [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(40):14545.
- [8] BEN SAAD R, BEN ROMDHANE W, BAAZAOUI N, *et al.* Functional characterization of *Lobularia maritima* *LmTrxh2* gene involved in cold tolerance in tobacco through alleviation of ROS damage to the plasma membrane [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(3):3030.
- [9] CHIBANI K, PUCKER B, DIETZ K J, *et al.* Genome-wide analysis and transcriptional regulation of the typical and atypical thioredoxins in *Arabidopsis thaliana* [J]. *FEBS Letters*, 2021, 595(21):2715.
- [10] MENGES M, HENNIG L, GRUISSEM W, *et al.* Cell cycle-regulated gene expression in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(44):41987.
- [11] LEE E S, PARK J H, WI S D, *et al.* Redox-dependent structural switch and CBF activation confer freezing tolerance in plants [J]. *Nature Plants*, 2021, 7(7):914.
- [12] PARK S K, JUNG Y J, LEE J R, *et al.* Heat-shock and redox-dependent functional switching of an h-type *Arabidopsis* thioredoxin from a disulfide reductase to a molecular chaperone [J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(2):552.
- [13] PARK S C, JUNG Y J, KIM I R, *et al.* Functional characterization of thioredoxin h type 5 with antimicrobial activity from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2017, 22(2):129.
- [14] ZHANG C J, ZHAO B C, GE W N, *et al.* An apoplastic h-type thioredoxin is involved in the stress response through regulation of the apoplastic reactive oxygen species in rice [J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(4):1884.
- [15] FAN Y D, LI M Y, WU Y J, *et al.* Characterization of thioredoxin gene *TaTrxh9* associated with heading-time regulation in wheat [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 201:107903.
- [16] SERRATO A J, CRESPO J L, FLORENCIO F J, *et al.* Characterization of two thioredoxins h with predominant localization in the nucleus of aleurone and *Scutellum* cells of germinating wheat seeds [J]. *Plant Molecular Biology*, 2001, 46(3):361.
- [17] CAZALIS R, PULIDO P, AUSSÉNAC T, *et al.* Cloning and characterization of three thioredoxin h isoforms from wheat showing differential expression in seeds [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(10):2165.
- [18] SHI B B, ZHAO X B, LI M, *et al.* Wheat thioredoxin (*TaTrxh1*) associates with RD19-like cysteine protease *TaCPI* to defend against stripe rust fungus through modulation of programmed cell death [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2021, 34(4):426.
- [19] 李梦园, 樊亚栋, 张新宁, 等. 小麦 *TaTrxh9* 基因的序列特征及其对渗透胁迫的响应 [J]. *西北植物学报*, 2019, 39(5):896.
- LI M Y, FAN Y D, ZHANG X N, *et al.* Sequence characteristics of *TaTrxh9* gene and its response to osmotic stresses in wheat [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39(5):896.
- [20] RAMÍREZ-GONZÁLEZ R H, BORRILL P, LANG D, *et al.* The transcriptional landscape of polyploid wheat [J]. *Science*, 2018, 361(6403):eaar6089.
- [21] JIANG Y F, N'DIAYE A, KOH C S, *et al.* The coordinated regulation of early meiotic stages is dominated by non-coding RNAs and stage-specific transcription in wheat [J]. *Plant Journal*, 2023, 114(1):209.
- [22] DYSON H J, JENG M F, TENNANT L L, *et al.* Effects of buried charged groups on cysteine thiol ionization and reactivity in *Escherichia coli* thioredoxin: Structural and functional characterization of mutants of Asp 26 and Lys 57 [J]. *Biochemistry*, 1997, 36(9):2622.
- [23] PENG Y X, LIANG Z, CAI M H, *et al.* ZmPTOX1, a plastid terminal oxidase, contributes to redox homeostasis during seed development and germination [J]. *Plant Journal*, 2024, 119(1):460.
- [24] ZAHID A, AFOULOUS S, CAZALIS R. Thioredoxin h system and wheat seed quality [J]. *Cereal Chemistry*, 2008, 85(6):799.
- [25] GARCIA-GUILLEN J, EL-SHERIF E. From genes to patterns: A framework for modeling the emergence of embryonic development from transcriptional regulation [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2025, 13:1522725.
- [26] XIE D L, ZHENG X L, ZHOU C Y, *et al.* Functions of redox signaling in pollen development and stress response [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(2):287.
- [27] TRAVERSO J A, PULIDO A, RODRÍGUEZ-GARCÍA M I, *et al.* Thiol-based redox regulation in sexual plant reproduction: New insights and perspectives [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4:465.