

文冠果 HDAC 和 HAT 基因家族鉴定及表达模式分析

程萌萌^{1,2,3} 葛彬^{1,2,3} 寇培森^{1,2,3} 关文彬⁴
陆海^{1,2,3} 郭惠红^{1,2,3} 李慧^{1,2,3*}

(1. 林木遗传育种全国重点实验室, 北京 100083; 2. 树木花卉育种生物工程国家林业和草原局重点实验室, 北京 100083; 3. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083; 4. 北京林业大学生态与自然保护学院, 北京 100083)

摘要 组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)和组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HAT)是一组催化组蛋白乙酰化/去乙酰化的可逆酶,在植物生长发育中发挥重要作用。该研究旨在探究文冠果(*Xanthoceras sorbifolium*)组蛋白去乙酰化酶(XsHDAC)和组蛋白乙酰转移酶(XsHAT)家族成员基因和蛋白特征,重点关注其在种胚发育中的表达模式。对文冠果 XsHDACs 和 XsHATs 家族成员进行全基因组鉴定,通过生物信息学方法分析其理化性质、基因结构、保守基序、染色体定位、共线性和顺式作用元件;通过实时荧光定量 PCR 分析 XsHDACs 和 XsHATs 基因在不同组织及种胚发育时期的表达模式。从文冠果基因组中鉴定出 15 个 XsHDACs 基因(分属 RPD3/HDA1、HD2、SIR2 亚家族)和 8 个 XsHATs 基因(分属 GNAT、MYST、CBP、TAF_{II}250 亚家族)。这些基因分散定位于文冠果 9 条不同染色体上。对 XsHDACs 和 XsHATs 蛋白家族成员理化特征分析显示,2 个家族多数成员为亲水性蛋白质,呈酸性;亚细胞定位预测显示,XsHDACs 和 XsHATs 蛋白家族成员主要定位于细胞核;系统进化树结果显示,文冠果与同为无患子科(Sapindaceae)的荔枝(*Litchi chinensis*)亲缘关系较近;蛋白结构预测结果显示,XsHDACs 和 XsHATs 家族成员富含不规则卷曲和 α -螺旋。顺式作用元件预测结果显示,XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员的启动子中包含与种子发育、光响应、激素应答及胁迫响应相关元件。实时荧光定量 PCR 显示,大多数 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员在种胚中高表达,且在种胚发育晚期表达量上升。XsHDACs 和 XsHATs 基因家族在进化中兼具保守性与特异性,其表达模式揭示其家族可能在文冠果种胚发育和油脂合成过程中发挥重要作用。

关键词 文冠果;组蛋白去乙酰化酶;组蛋白乙酰转移酶;基因家族;基因表达分析

中图分类号: Q786 文献标志码: A doi: 10. 7525/j. issn. 1673-5102. 2026. 01. 005

Identification and Expression Analysis of HDAC and HAT gene families in *Xanthoceras sorbifolium*

CHENG Mengmeng^{1,2,3} GE Bin^{1,2,3} KOU Beisen^{1,2,3} GUAN Wenbin⁴ LU Hai^{1,2,3} GUO Huihong^{1,2,3} LI Hui^{1,2,3}

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Beijing 100083; 2. The Tree and Ornamental Plant Breeding and Biotechnology Laboratory of National Forestry and Grassland Administration, Beijing 100083; 3. School of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083; 4. School of Ecology and Nature Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

Abstract Histone deacetylases (HDACs) and histone acetyltransferases (HATs) are a group of reversible enzymes that catalyze histone acetylation/deacetylation, playing crucial roles in plant growth and development. This study aimed to investigate the characteristics of histone deacetylase (XsHDAC) and histone acetyltransferase (XsHAT) family member genes and proteins in *Xanthoceras sorbifolium*, with a focus on their expression patterns during seed embryo development. Genome-wide identification of XsHDACs and XsHATs family members in *X. sorbifolium* was conducted. Bioinformatics analyses were performed to examine their physicochemical properties, gene structure, conserved motifs, chromosomal localization, synteny, and cis-

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32371833)。

第一作者简介:程萌萌(2001—),女,硕士研究生,主要从事树木分子生物学研究。

* 通信作者: E-mail: lihui830@bjfu.edu.cn。

收稿日期:2025年8月12日。

acting elements. The expression patterns of *XsHDACs* and *XsHATs* genes in different tissues and during seed embryo development were analyzed using quantitative real-time PCR. A total of 15 *XsHDACs* genes (belonging to the RPD3/HDA1, HD2, and SIR2 subfamilies) and eight *XsHATs* genes (belonging to the GNAT, MYST, CBP, and TAF_{II}250 subfamilies) were identified from the *X. sorbifolium* genome. These genes were distributed across nine different chromosomes. Physicochemical analysis of *XsHDACs* and *XsHATs* family members revealed that most proteins in both families were hydrophilic and acidic. Subcellular localization predictions indicated that *XsHDACs* and *XsHATs* family proteins were primarily localized in the nucleus. Phylogenetic analysis showed a close evolutionary relationship between *X. sorbifolium* and *Litchi chinensis*, both belonging to the Sapindaceae family. Protein structure predictions demonstrated that *XsHDACs* and *XsHATs* family members were rich in random coils and α -helices. *Cis*-acting element analysis revealed that the promoters of *XsHDACs* and *XsHATs* genes contain elements related to seed development, light response, hormone signaling, and stress responses. Quantitative real-time PCR revealed that most *XsHDACs* and *XsHATs* members were highly expressed in the embryo of seed, with increased expression levels during late-stage embryogenesis. The *XsHDACs* and *XsHATs* gene families exhibited both evolutionary conservation and specificity. The expression results suggested their potential crucial roles in the embryonic development and oil biosynthesis in *X. sorbifolium*.

Key words *Xanthoceras sorbifolium*; histone deacetylase; histone acetyltransferase; gene family; gene expression analysis

文冠果 (*Xanthoceras sorbifolium*) 属于无患子科 (Sapindaceae) 文冠果属 (*Xanthoceras*) 落叶灌木或小乔木, 是我国特有的木本油料树种, 主要分布在我国北方地区, 具有耐寒、抗旱、耐盐碱等优点^[1], 种子富含油脂、蛋白质和皂苷等多种活性成分, 种胚含油量高达 60%, 除油酸 (30.6%) 和亚油酸 (41.6%) 等不饱和脂肪酸外^[2], 还含有神经酸, 可以保护神经细胞, 促进神经细胞生长和发育, 具备治疗阿尔茨海默病的潜力^[3]。

近年来, 表观遗传调控被证明在植物生长发育及逆境胁迫响应中扮演关键角色。其中, 组蛋白乙酰化修饰作为一种可逆的、动态的核心表观遗传方式, 与基因转录关系密切。由组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 和组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 共同催化, HAT 将乙酰基转移到组蛋白的 N 端赖氨酸残基上, 使 DNA 与组蛋白之间的相互作用减弱, 从而激活转录, 相反, HDAC 通过组蛋白 N 端的去乙酰化, 使其与 DNA 紧密结合, 从而抑制转录^[4]。

植物 HDAC 可分为 3 个亚家族: RPD3/HDA1、HD2 和 SIR2^[5]。HDAC 在调控植物生长发育过程中发挥重要作用。RPD3/HDA1 亚家族成员含有一个典型的组蛋白去乙酰化酶结构域, 发挥其酶活性需要 Zn^{2+} 的存在^[6]。在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中, HDA6 与 FVE 和 FLD 形成复合体调控开花时间^[7-8]; HDA6 和 HDA19 在调控种子胚胎发生和萌发过程中存在功能冗余, HDA6 和 HDA19 直接抑制胚胎发生相关基因 *LEAFY COTYLEDON1*

(*LEC1*) 和 *FUSCA3* (*FUS3*) 表达^[9], 在种子萌发阶段, 成熟相关基因的转录活性受到负调控抑制^[10]; 在苹果 (*Malus domestica*) 中, MdHDA19 与 MdERF4-MdTPL4 形成抑制复合体, 直接抑制乙烯合成关键基因 *MdACS1* 表达, 调节苹果果实成熟过程^[11]。HD2 家族蛋白是植物体内特有的一类组蛋白去乙酰化酶。HD2A 和 HD2B 在种子休眠中发挥作用, *hd2a/hd2b* 突变促进种子休眠, HSI2 和 HSL1 将 AtHD2A 和 AtHD2B 募集到种子休眠关键调节因子 DELAY OF GERMINATION 1 (DOG1) 位点上, 从而负调节 *DOG1* 表达并减少种子休眠, 影响种子萌发过程^[12]。SIR2 家族蛋白需要核心结构域 SIR2 与 NAD 辅助因子作用来发挥功能, *SRT1* 基因在植物叶片及花器官的发育早期阶段呈现特异性表达, 而 *SRT2* 基因表达则集中于配子体发育进程及果实成熟阶段^[13-14]。

植物 HAT 可以分为 4 个亚家族: GNAT、MYST、CBP、TAF_{II}250^[15]。GNAT 和 MYST 含有乙酰辅酶 A 同源序列, 使组蛋白 H3 上的赖氨酸位点乙酰化; 而 MYST 亚家族则作用于 H4 上赖氨酸位点乙酰化。在拟南芥中, AtHAG1 抑制花分生组织相关基因包括 *WUS*、*AGAMOUS* 和 *LEAFY* 的表达来调控花发育^[16]; AtHAM1 和 AtHAM2 通过调节 *FLC* 和 *MAF3/4* 基因表达来影响开花时间^[17]。作为转录共活化因子, CBP 家族成员与多种转录因子相互作用, 特异性增强靶基因启动子区域的转录活性^[18], 拟南芥 *AtHAC1* 基因突变引起植株开花推迟、育性降低^[19]。拟南芥 TAF_{II}250 蛋白包含

TAF_{II}250 型-HAT 结构域、泛素结构域、C2HC 锌指结构和 bromodomain 结构域^[20],其中,泛素结构域在植物中特有^[21],AtHAF2 作为转录共活化因子可活化光诱导基因的转录^[22]。

文冠果作为重要的木本油料作物,组蛋白乙酰化修饰在种胚发育和油脂合成代谢的调控机制尚未被完全阐明。目前,文冠果的基因组测序工作已经完成,文冠果含有 15 条染色体,其基因组大小约为 490 Mb,编码基因约 21 059 个^[23],为筛选和鉴定 XsHDACs 和 XsHATs 家族成员提供了数据支持。鉴于文冠果种子具有高油脂含量和合成特殊脂肪酸的独特价值,解析 XsHDACs 和 XsHATs 家族成员,并探究它们在种胚发育过程中的表达模式,对于从表观遗传层面理解文冠果油脂合成调控网络至关重要。因此,本研究对文冠果 XsHDACs 和 XsHATs 家族成员进行鉴定,并对其蛋白质理化性质、系统进化、染色体定位、基因和蛋白质结构、启动子顺式作用元件和表达模式进行了分析,并着重探究其在种胚发育过程中的表达特性,旨在为揭示组蛋白乙酰化修饰调控文冠果种子发育和油脂合成的分子机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用文冠果植物材料采自北京林业大学,在 2024 年 4 月采集叶片和花序,于 4 月 15 日至 20 日,分别采集授粉后 35、45、65、75 d(DAF)4 个不同生长时期的果实和种子,每个生长时期的果实与种子样本均设置 3 个生物学重复。从相同种质收集的所有时间点的种子样品用于 RNA 测序分析。所有样品均在液氮中快速冷冻,随后在超低温冰箱中-80 °C 保存。

1.2 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员鉴定

文冠果基因组数据来自文冠果基因数据库(<https://yellowhorn.plantgenie.org>)^[24],以拟南芥 HAT 和 HDAC 蛋白序列作为查询,使用 BlastP 方法搜索 HAT 和 HDAC 同源蛋白^[25]。将候选基因的蛋白序列提交至 Pfam (<http://pfam.xfam.org>)^[26]、CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)^[27]、SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de>)蛋白数据库分析其保守结构域^[28],确定文冠果 XsHATs 和 XsHDACs 基因家族成员。

1.3 XsHDACs 和 XsHATs 基因编码蛋白家族成员理化性质分析

利用软件 ExPASy (<https://web.expasy.org/prot-param>)预测 HDAC 和 HAT 蛋白的理化性质,包括基因长度、氨基酸数量、蛋白分子质量和等电点等;使用 WoLF PSORT 软件 (<https://wolfpsort.hgc.jp>)在线预测蛋白家族成员的亚细胞定位信息。

1.4 XsHDACs 和 XsHATs 系统发育树构建

从植物 ChromDB 数据库中检索来自 4 种不同植物(拟南芥、水稻(*Oryza sativa*)、荔枝(*Litchi chinensis*)和茄子(*Solanum melongena*))共 59 个 HDAC 和 46 个 HAT 蛋白序列,与文冠果蛋白序列进行 ClustalW 氨基酸多重比对^[29],然后使用 MEGA 5 程序构建全部物种的系统发育树^[30],采用遗传距离建树法的相邻连接法(neighbor-joining, NJ)建树^[31],对该树进行 1 000 次的 Bootstrap 校正,利用在线工具 iTOL (<https://itol.embl.de/upload.cgi>)进行美化。

1.5 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员染色体定位及共线性分析

利用文冠果基因组中的 gff3 文件在 TBtools 软件中获得 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员的染色体定位信息,并绘制分布图。将 gff 文件提交到 TBtools 中处理,获得文冠果的基因密度文件、共线性文件、collinearity 文件及 XsHDACs 和 XsHATs 基因定位文件后共同提交到 Advanced Circos 工具中进行可视化。

1.6 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员结构及其编码蛋白保守基序分析

利用 MEME^[32](<http://meme-suite.org/tools/meme>)分析基因保守基序,使用默认参数。NCBI 在线网站 WebCD-SearchTools (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cg>)进行保守结构域分析,利用 TBtools 软件对 Motif 和保守结构域进行可视化处理^[33]。

1.7 XsHDACs 和 XsHATs 蛋白家族成员二级和三级结构分析及预测

利用 Prabi (<https://npsa-prabi.ibcp.fr>)和 SWISS MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>)对 XsHDACs 和 XsHATs 蛋白的二、三级结构进行预测。

1.8 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员启动子区顺式作用元件分析

在文冠果基因数据库 (

plantgenie.org)网站下载 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族起始密码子上游 2 000 bp 启动子序列,利用 PlantCare^[34] (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html>) 预测分析顺式作用元件,利用 TBtools 软件对其位置进行可视化。

1.9 RNA 提取和实时荧光定量

利用 RT-qPCR 定量分析 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因在文冠果的叶、花、果皮及不同发育时期种胚的表达情况。使用 TIANGEN RNA prep Pure 植物

总 RNA 提取试剂盒 (RNA prep Pure Plant Plus Kit), 分别提取文冠果不同发育时期的种胚及叶片、花、果皮的总 RNA, 然后使用 FastKing cDNA 合成试剂盒 (FastKing RT Kit) 合成 cDNA, RT-qPCR 检测采用 SYBR Green Supermix 试剂盒, 在 Bio CFX96 仪器上完成 (表 1)。以文冠果 *GAPDH* 基因作为内参, 通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析各基因的相对表达量, 进行 3 次生物学重复。用 Graphpad Pism 9.5 软件对数据进行整理和绘图。

表 1 引物序列信息

Table 1 Information of primers' sequences used

基因名称 Gene name	正向引物 (5'→3') Forward primer (5'→3')	反向引物 (5'→3') Reverse primer (5'→3')
<i>XsGAPDH</i>	GCCAAGACTATCCAACCT	GCAACCACATCAACATCAT
<i>XsHDA5</i>	ACGCTGCCATTCCTCAAAGA	ATGCAGACTCCGATGAACCC
<i>XsHDA6</i>	AGATCAACCGTCCCTCCCT	AGAAGCCGAAAAGCCCATCA
<i>XsHDA8</i>	CCGGGCTTCTTGACGTCT	CCCGCTTTGTCTGCTTCAAC
<i>XsHDA9</i>	GTCTACTTTGGGCCAACCA	GTCAGCTGAGTGGAATTGCG
<i>XsHDA14</i>	AGTCACTTGTTGACGCTGGA	AGCCCATGTACACGTTGAGT
<i>XsHDA15</i>	TGCTGGGTGAAAATCCTGGA	GCCCGCCGTACCTTCTTAAT
<i>XsHDA19a</i>	GCACTTGGTATGGACGTGGA	TGGACACTAGGTGCATGCTG
<i>XsHDA19b</i>	ACCTGGTGCTGTGGTTCTTC	TCCACGTCCATACCAAGTGC
<i>XsSRT2</i>	ACGATATTGGGCAAGGAGCT	ACAGTCCCATGCAACTCAAGT
<i>XsSRT4</i>	TGTCGGATCTCAGTTCCTGG	GGGCTTTCACCTTGGTCCTGA
<i>XsSRT6a</i>	TGCACCTGTAAACGCCACTA	TGTCGGATCTCAGTTCCTGG
<i>XsSRT6b</i>	AGGCTACGCAGAGAAGCTCT	ATACCTGCACCCGTGAACAC
<i>XsHDT1a</i>	AGTCGTGAGGTTGAAAGTGACA	AGCCTTCTTATCAGGAACCCGG
<i>XsHDT1b</i>	AAAGCAGGCACTCCTCAGAC	TAGAGCACCATCAGACCCGA
<i>XsHDT3</i>	GCCCAGAACATAAGCCAGGA	ACTTTTCTCCTCTGCCAGCT
<i>XsHAG1</i>	GCCACCTCTCCATCCACAA	AGTCCTCAGCATCAGAGTCG
<i>XsHAG2</i>	ATTTGTCCCTCCTGCCAGTG	GCTTCCCAGCAGTTCCTGAA
<i>XsHAG3</i>	TTGATGGAAGAGGCAGAGCG	TCGGGTTGGTTGAGGCATTT
<i>XsHAM1</i>	TTGGCATGCATCCTCACCTT	ACTCAACAGCCCAAGGTCAG
<i>XsHAM2</i>	AGGAGGCTTGATGAATGGGTG	GTTACAGTAAACTGGCAGCA
<i>XsHAC1</i>	GAGTAATGCCGGTGATGGA	GATGGAGGCTTTACATGCGC
<i>XsHAF1</i>	CGTGGGAAGCAGGAGAAGCTT	TCAGCAAGCATTCTCGCTC
<i>XsHAF2</i>	GGTGAGTGTGGCAGTTCT	TGGAAGCGGTGTGGAAAGCTT

2 结果与分析

2.1 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族成员鉴定及编码蛋白理化特征

通过序列比对, 在文冠果基因组数据库中筛选出 15 个 *XsHDACs* 基因和 8 个 *XsHATs* 基因。*XsHDACs* 蛋白家族可分为 3 个亚家族, 其中 RPD3/HDA1 亚家族有 8 个成员, HD2 亚家族有 3 个

成员, SIR2 亚家族有 4 个成员。*XsHATs* 蛋白家族可分为 4 个亚家族, 其中 GNAT 亚家族有 3 个成员, MYST 亚家族有 2 个成员, CBP 亚家族有 1 个成员, TAF_{II}250 亚家族有 2 个成员 (表 2)。

蛋白质的理化性质和细胞器定位与其功能密切相关, 分析文冠果 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 蛋白家族成员等电点发现, *XsHDACs* 中 RPD3/HDA1 亚家族和 HD2 亚家族蛋白家族成员均为酸性, 仅

表2 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员编码蛋白理化特征

Table2 Physicochemical properties of proteins encoded by XsHDACs and XsHATs gene family members

亚家族 Subfamily	基因名称 Gene name	基因编号 Gene ID	基因序列长度 Gene sequence length/bp	氨基酸数目 Amino acids number	染色体 Chromosome			等电点 pI	疏水性 Hydrophobicity	亚细胞定位 Subcellular localization
					编号 No.	起始位置 Starting	结束位置 Ending			
RPD3/ HDA1	<i>XsHDA5</i>	XS13G0000300.1	31 469	1 346	13	42 083	73 551	7.04	-0.231	细胞核
	<i>XsHDA6</i>	XS13G0205600.1	6 511	715	13	18 440 192	18 446 702	5.88	-0.281	叶绿体
	<i>XsHDA8</i>	XS10G0208600.1	4 094	378	10	27 324 779	27 328 872	5.38	-0.181	细胞骨架
	<i>XsHDA9</i>	XS10G0189900.1	9 672	459	10	25 563 436	25 573 107	5.16	-0.343	细胞质
	<i>XsHDA14</i>	XS08G0082900.1	1 687	175	8	10 694 904	10 696 590	5.28	0.054	细胞质
	<i>XsHDA15</i>	XS13G0012000.1	110 820	581	13	999 640	1 010 459	6.09	-0.423	细胞核
	<i>XsHDA19a</i>	XS06G0265200.1	6 258	499	6	31 591 565	31 597 822	5.11	-0.567	细胞核
	<i>XsHDA19b</i>	XS06G0266100.1	11 068	467	6	31 988 618	31 999 685	5.79	-0.397	细胞质
SIR	<i>XsSRT2</i>	XS01G0117000.1	11 080	447	1	13 708 191	13 719 270	8.17	-0.159	细胞核
	<i>XsSRT4</i>	XS08G0254700.1	6 286	372	8	29 422 597	29 428 882	8.72	-0.219	无
	<i>XsSRT6a</i>	XS01G0117200.1	7 465	472	1	1 374 249	13 749 961	7.88	0.107	细胞质膜
	<i>XsSRT6b</i>	XS15G0181700.1	6 828	448	15	18 691 280	18 698 107	9.11	-0.260	细胞核
HD2	<i>XsHDT1a</i>	XS12G0010700.1	4 221	326	12	1 014 407	1 018 627	4.87	-1.055	细胞核
	<i>XsHDT1b</i>	XS10G0185900.1	3 539	274	10	25 235 716	25 239 254	5.3	-0.821	细胞核
	<i>XsHDT3</i>	XS13G0226100.1	4 773	608	13	21 330 954	21 335 726	5.14	-0.977	细胞核
GNAT	<i>XsHAG1</i>	XS01G0275100.1	9 344	616	1	28 219 065	28 228 408	5.99	-0.603	细胞核
	<i>XsHAG2</i>	XS04G0216600.1	3 258	466	4	27 534 203	27 537 460	5.55	-0.246	细胞骨架
	<i>XsHAG3</i>	XS13G0078200.1	5 775	1 005	13	7 261 674	7 267 448	7.13	-0.255	细胞骨架
MYST	<i>XsHAM1</i>	XS07G0161100.1	1 674	456	7	14 445 643	14 453 353	6.99	-0.613	细胞核
	<i>XsHAM2</i>	XS07G0161400.1	5 973	456	7	14 513 828	14 521 582	8.23	-0.436	细胞核
CBP	<i>XsHAC1</i>	XS13G0220600.1	2 360	1 793	13	20 139 040	20 151 359	8.36	-0.678	细胞核
TAF _{II} 250	<i>XsHAF1</i>	XS13G0224500.1	9 596	1 101	13	20 139 040	20 151 359	9.17	-0.734	无
	<i>XsHAF2</i>	XS12G0000500.1	5 412	1 803	12	20 139 040	20 151 359	5.81	-0.675	无

注:总平均疏水性指蛋白质序列所有氨基酸残基疏水性的平均值,说明蛋白质溶解性,正值代表疏水性,负值代表亲水性。

Note: The total average hydrophobicity referred to the mean hydrophobicity value of all amino acid residues in a protein sequence, indicating the solubility of the protein. A positive value represented hydrophobicity, while a negative value represented hydrophilicity.

XsHDA5 例外,呈中性;而 SIR2 亚家族 4 个成员均呈碱性。XsHATs 中除了 XsHAM2、XsHAC1、XsHAF1 呈碱性,XsHAG3 呈中性,其他均呈酸性。分析其疏水性特点发现,除 XsHDA14 和 XsSRT6a 外,XsHDACs 和 XsHATs 蛋白均属于亲水性蛋白(表 2)。亚细胞定位分析结果表明,XsHDACs 蛋白家族和 XsHATs 蛋白家族成员主要定位于细胞核,其次是细胞质,少量定位在叶绿体、细胞骨架等部位(表 2)。

2.2 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员染色体定位及共线性关系

文冠果一共有 15 条染色体^[35],对文冠果 XsHDACs 和 XsHATs 基因进行染色体定位分析,结果显示:15 个 XsHDACs 基因分别定位于文冠果 7 条染

色体上,分别为第 1、6、8、10、12、13、15 号染色体。其中,在 10 号染色体上有 3 个基因(*XsHDT1b*、*XsHDA9*、*XsHDA8*);在 13 号染色体上有 4 个基因(*XsHDA5*、*XsHDA15*、*XsHDA6*、*XsHDT3*),其他每条染色体上仅有 1~2 个基因(图 1A)。8 个 XsHATs 基因分别定位于文冠果 5 条染色体上,包括第 1、4、7、12、13 号染色体,其中,7 号染色体上有 2 个基因(*XsHAM1* 和 *XsHAM2*),13 号染色体上有 3 个基因,包括 *XsHAG3*、*XsHAC1* 和 *XsHAF1*(图 1B)。结果说明,XsHDACs 和 XsHATs 基因在染色体组中呈分散分布状态。在 XsHDACs 和 XsHATs 共线性分析之后,发现有 1 对节段重复事件(图 1C),*XsHDT1a* 和 *XsHDT1b* 可能由片段复制产生,所以基因的串联和节段复制事件主要发生 XsHDACs 家族中。

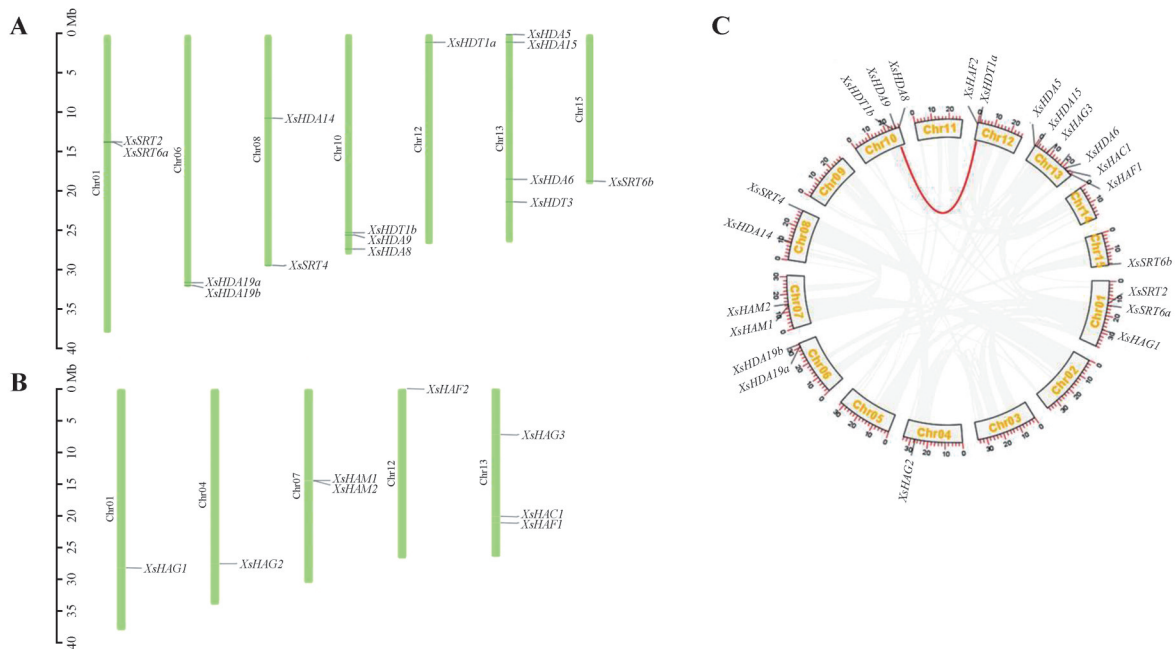


图 1C 中 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因的染色体位置由圆圈上的短红线表示。灰线表示文冠果基因组中的所有共线块, 红线表示 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 中基因对的重复。

In Fig. 1C, the chromosomal positions of *XsHDACs* and *XsHATs* genes were indicated by short red lines on the circles. Gray lines represented all syntenic blocks in the *Xanthoceras sorbifolium* genome, while red lines indicated the duplicated gene pairs in *XsHDACs* and *XsHATs*.

图 1 文冠果 *XsHDACs* (A) 和 *XsHATs* (B) 基因家族成员在染色体定位分析和共线性分析 (C)

Fig.1 Chromosomal localization and synteny analysis (C) of the *XsHDACs* (A) and *XsHATs* (B) gene families of *Xanthoceras sorbifolium*

2.3 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 蛋白家族成员系统进化树、基因结构和保守基序

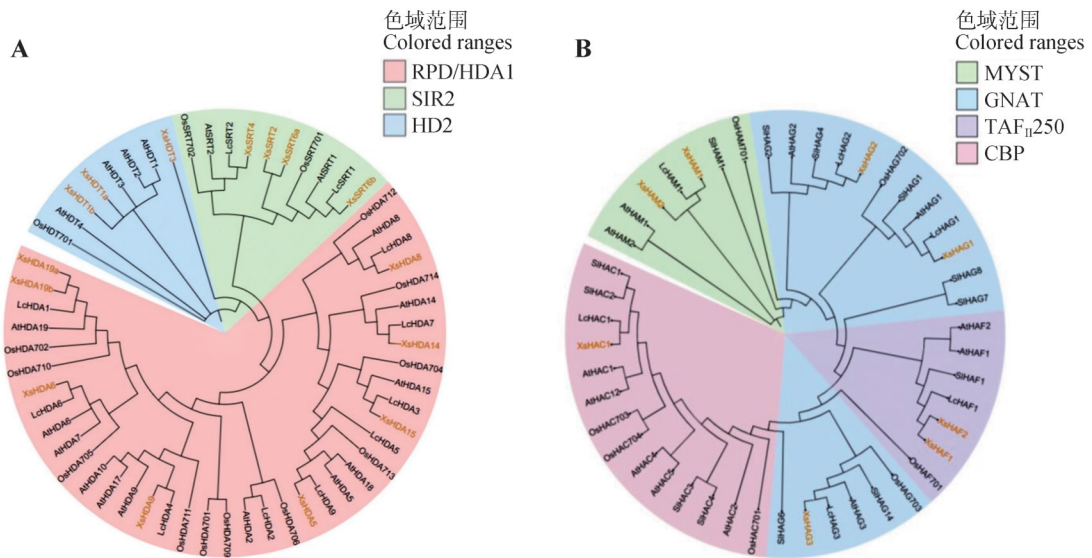
为了研究文冠果 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 蛋白家族成员在多物种间的进化关系, 将其与拟南芥、水稻、荔枝和茄子的 HDAC 和 HAT 蛋白序列分别构建系统进化树 (图 2A、2B)。结果表明, 文冠果 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 与木本植物荔枝的亲缘关系最近, 而与单子叶植物水稻的亲缘关系最远, 可能因为文冠果与荔枝同属于无患子科, 从植物分类学和进化关系上亲缘关系近。

为了了解 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因结构, 进一步分析 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族成员内含子和外显子数量和分布情况 (图 3A、3B)。结果显示, *XsHDACs* 基因家族成员中 RPD3/HDA1 亚家族成员的基因结构存在较大差异, 而 HD2 和 SIR2 亚家族内部成员基因结构较相似, 多数成员含有 5~15 个外显子, 而 *XsHDA5* 基因含有 29 个外显子, *XsHDA14* 和 *XsHDA8* 基因仅含有 3 个外显子; *XsHATs* 基因家族成员中亚家族成员内部基因结构较相似, 外显子数目为 9~19 个。

蛋白结构中保守基序通常与蛋白质的功能相

关, 利用 MEME 软件预测了 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 蛋白家族成员保守基序, 结果显示 (图 3A、3B), 在 RPD3/HDA1 亚家族所有成员中均含 motif 1、motif 6 和 motif 8, 这些基序为该亚家族成员特有的保守基序, 推测共同构成组蛋白去乙酰化酶催化功能的核心结构。而为 SIR2 亚家族特有的 motif 7 通常包含与 NAD^+ 辅因子结合相关的关键氨基酸残基, 视为该类酶独特催化机制的基础。在 *XsHATs* 蛋白家族中, TAF_{11250} 和 MYST 2 个亚家族显示较高的保守性: TAF_{11250} 亚家族的 2 个成员均含有 motif 2、motif 4、motif 5 和 motif 6, 这些基序可能共同组装成 HAT 催化活性中心; MYST 亚家族的 2 个成员则均含有 motif 1、motif 2、motif 3、motif 7 和 motif 8, 其结构特征表明, 这些区域可能负责乙酰辅酶 A 的结合及催化过程。

进一步对 *XsHDACs* (图 4A) 和 *XsHATs* (图 4B) 蛋白家族成员结构域进行预测, 结果显示, 各亚家族内部结构较为保守。在 *XsHDACs* 蛋白家族中, RPD3/HDA1 亚家族的 9 个成员均含有保守的组蛋白去乙酰化酶结构域, 该结构域是其催化活性及 Zn^{2+} 结合的关键; HD2 亚家族的 3 个成员均

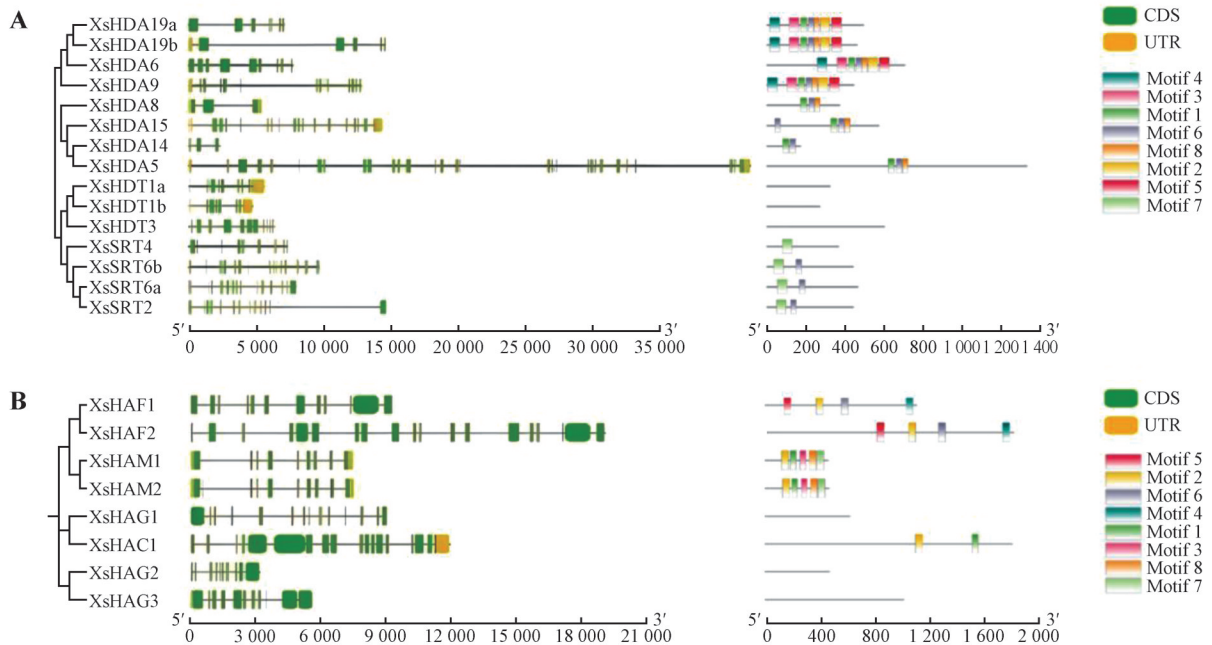


At. 拟南芥; Os. 水稻; Lc. 荔枝; Sl. 茄子; Xs. 文冠果。

At. *Arabidopsis thaliana*; Os. *Oryza sativa*; Lc. *Litchi chinensis*; Sl. *Solanum melongena*; Xs. *Xanthoceras sorbifolium*.

图2 XsHDACs(A)和XsHATs(B)蛋白家族成员系统发育分析

Fig.2 Phylogenetic analysis of XsHDACs(A) and XsHATs(B) protein family members



横坐标为基因序列长度,单位是碱基对(bp)。

The abscissa represented the gene sequence length with the unit of base pair (bp).

图3 XsHDACs(A)和XsHATs(B)基因结构及其编码蛋白保守基序分析

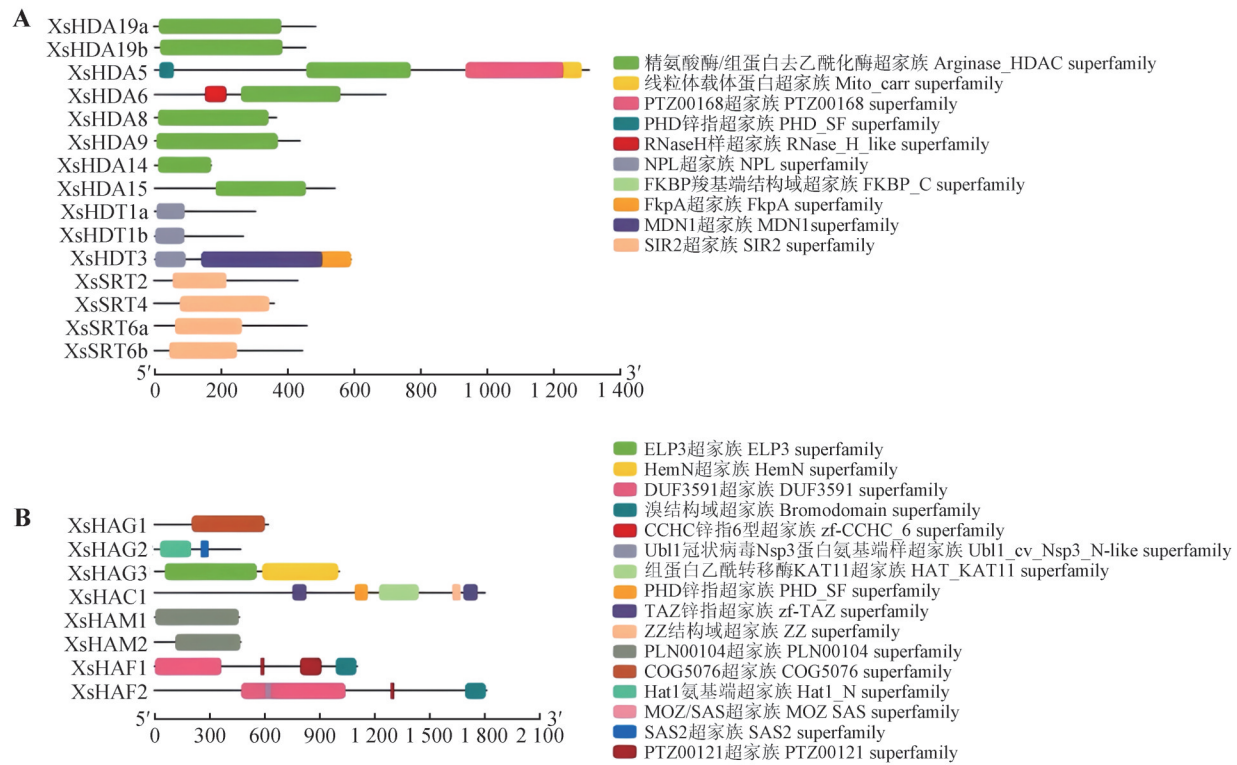
Fig.3 Gene structure and protein conserved motif analysis of XsHDACs(A) and XsHATs(B)

含有 Nucleoplasm 结构域(PF03066),主要介导蛋白与核仁的靶向及蛋白寡聚化;SIR2 亚家族的 4 个成员则均含有 SIR2 结构域(PF02146),该结构域定义其 NAD⁺依赖性的去乙酰化机制。在 XsHATs 蛋白家族中,GNAT 亚家族含有的结构域

差异较大:XsHAG2 蛋白 N 端含有保守的 HAT 结构域,负责乙酰转移酶活性;XsHAG3 蛋白含有延伸因子亚基 ELP3 结构域;CBP/p300 亚家族成员 XsHAC1 蛋白含有 2 个 TAZ 类型的锌指结构域(介导与多种转录因子的相互作用)和 1 个 HAT 结构

域(执行乙酰化催化功能);TAF_n250亚家族2个成员 XsHAF1和 XsHAF2蛋白均含有保守的TFIID转录因子亚基 DUF3591, C端均含有1个 Bromodomain 结构域,该结构域作为“阅读器”特异性识别

并结合乙酰化的组蛋白尾巴,从而将复合物锚定于特定染色质区域;MYST亚家族2个成员均含有 MYST-like 组蛋白乙酰转移酶结构域(PLN00104),该结构域定义该类酶特有的催化机制。



横坐标表示基因序列长度(单位:bp),不同颜色方框代表各类蛋白超家族结构域。

The abscissa of represented the gene sequence length (unit: bp), and the boxes of different colors represented various protein superfamily domains.

图4 XsHDACs(A)和XsHATs(B)蛋白结构域分析

Fig.4 Domain analysis of XsHDACs(A) and XsHATs(B) proteins

2.4 XsHDACs和XsHATs蛋白二级和三级结构

二级结构预测显示, XsHDACs和 XsHATs蛋白家族所有成员主要由无规卷曲和 α -螺旋组成,还有少量延伸链(表3)。利用SWISS-MODEL解析 XsHDACs和 XsHATs蛋白家族成员三维结构(图5),发现2个蛋白家族成员三级结构模型预测 XsHDACs和 XsHATs家族富含不规则卷曲和 α -螺旋,还有少量延伸链,与二级结构预测相符,其中 XsHDA19a和 XsHDA19b、XsHDT1a和 XsHDT1b、XsHAM1和 XsHAM2蛋白三级结构相似度较高。预测的模型全局质量评估值为0.69~0.85,准确性较高。

2.5 XsHDACs和XsHATs基因家族成员启动子顺式作用元件

利用PlantCARE分析 XsHDACs和 XsHATs基因

家族成员启动子顺式作用元件,结果显示(图6),这2个基因家族成员启动子序列含有大量生长发育、光响应、激素响应、防御胁迫等顺式作用元件。其中, XsHDA8和 XsHDA15基因含有种子特异性元件, XsHDA5、 XsHDA15、 XsHDA19a、 XsHDA19b、 XsHAG1、 XsHAM1、 XsHAC1、 XsHAF1基因含有参与胚乳表达顺式调控元件,由此推测,这些 XsHDACs和 XsHATs基因可能在文冠果的种子发育中发挥作用。同时,多数 XsHDACs和 XsHATs基因家族成员含有脱落酸、茉莉酸甲酯和防御反应相关元件,说明 XsHDACs和 XsHATs基因家族成员可能在生物胁迫响应方面发挥作用。

2.6 XsHDACs和XsHATs基因家族成员在文冠果不同组织中的表达模式

为了探究 XsHDACs和 XsHATs基因家族成员

表3 XsHDACs和XsHATs蛋白家族成员二级结构分析
Table 3 Secondary structure analysis of XsHDACs和XsHATs protein family members

蛋白名称 Protein name	α -螺旋 α -helix/%	延伸链 Extended strand/%	β -转角 β -sheet/%	不规则卷曲 Random coil/%
XsHDA5	34.18	10.25	0	55.57
XsHDA6	36.22	13.43	0	50.35
XsHDA8	37.83	15.87	0	46.30
XsHDA9	34.89	11.56	0	53.56
XsHDA14	30.29	21.14	0	48.57
XsHDA15	37.52	11.19	0	51.29
XsHDA19a	37.68	11.02	0	51.30
XsHDA19b	34.69	11.19	0	53.75
XsSRT2	30.65	11.02	0	58.17
XsSRT4	29.84	11.56	0	59.14
XsSRT6a	28.18	13.35	0	58.47
XsSRT6b	29.24	9.38	0	61.38
XsHDT1a	11.04	12.58	0	76.38
XsHDT1b	8.76	16.79	0	74.45
XsHDT3	9.54	13.98	0	76.48
XsHAG1	29.71	7.63	0	62.66
XsHAG2	44.42	13.09	0	42.49
XsHAG3	46.67	12.04	0	41.29
XsHAM1	32.24	13.16	0	54.61
XsHAM2	38.28	15.91	0	45.81
XsHAC1	26.49	5.13	0	68.38
XsHAF1	47.23	4.09	0	48.68
XsHAF2	40.82	4.83	0	54.35

可能在文冠果生长发育中的功能,利用荧光定量PCR分析 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因在叶、花、果皮和授粉 75 d 后的成熟种胚 4 种不同组织中的表达模式。结果显示(图 7),除 *XsHDA19a*、*XsHDT1b*、*XsHDT3*、*XsHAG2*、*XsHAG3* 基因以外,其他 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族成员均在种胚中高表达,而且其水平高于其他组织,说明这些基因在文冠果种胚发育过程中发挥重要作用。此外,*XsHDA14*、*XsSRT4*、*XsSRT6b*、*XsHAF1* 基因在花中表达量较高,而 *XsHAM1* 和 *XsHAC1* 基因在果皮中表达量较

高,说明这些基因可能在文冠果果实或花发育方面起作用。

2.7 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族成员在文冠果种胚发育过程中的表达模式

文冠果通常由 3~4 个心皮组成,果实呈球形或近球形。共采集花后发育 4 个阶段:DAF 35、DAF 45、DAF 65、和 DAF 75。由图 8A 可看出,随着果实发育成熟,果实和种胚在大小和颜色发生明显变化。果皮由嫩绿色逐渐成熟变为褐色;种皮由白色逐渐变黑,种胚在 DAF 35 为子叶胚期,

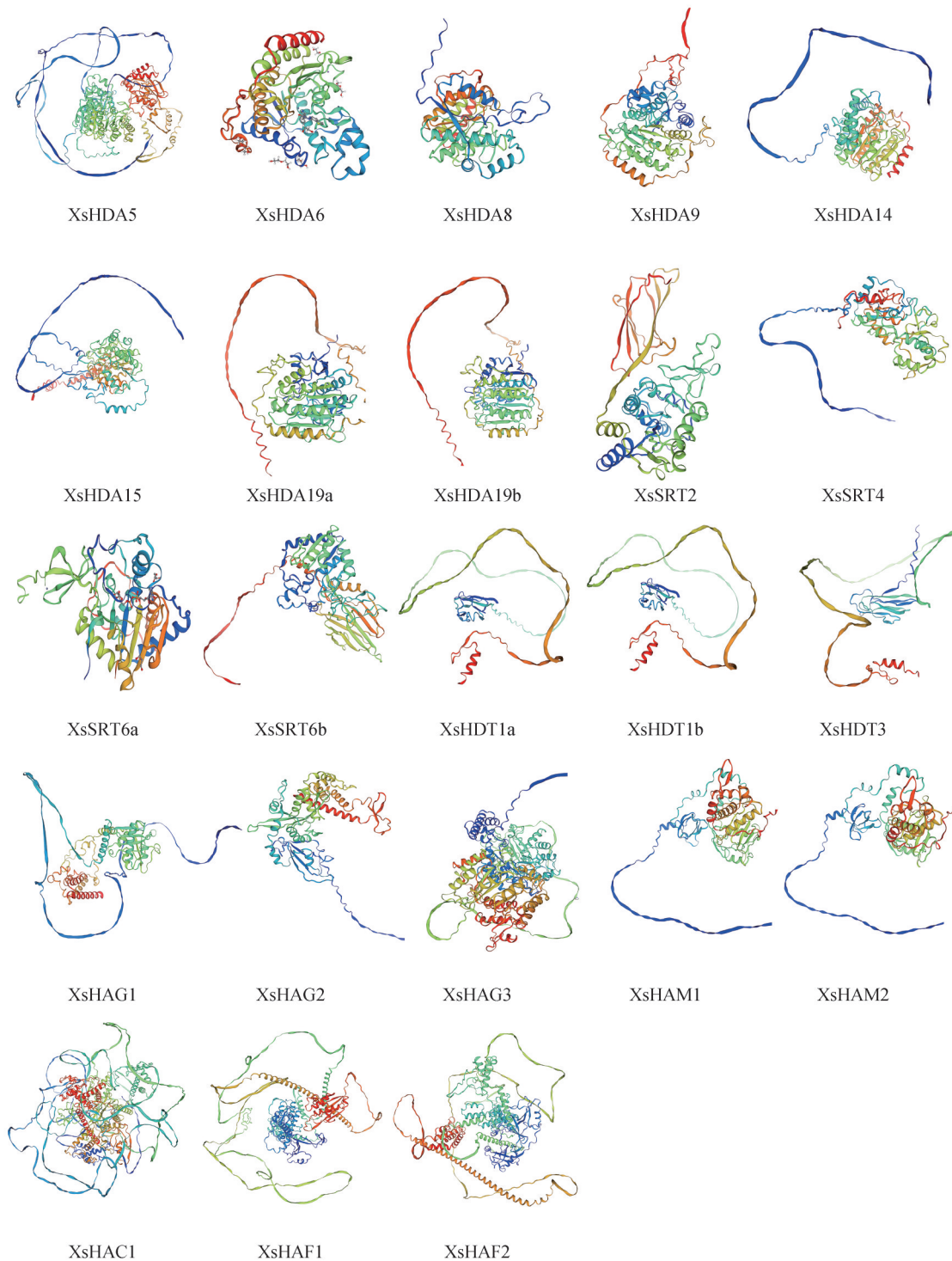


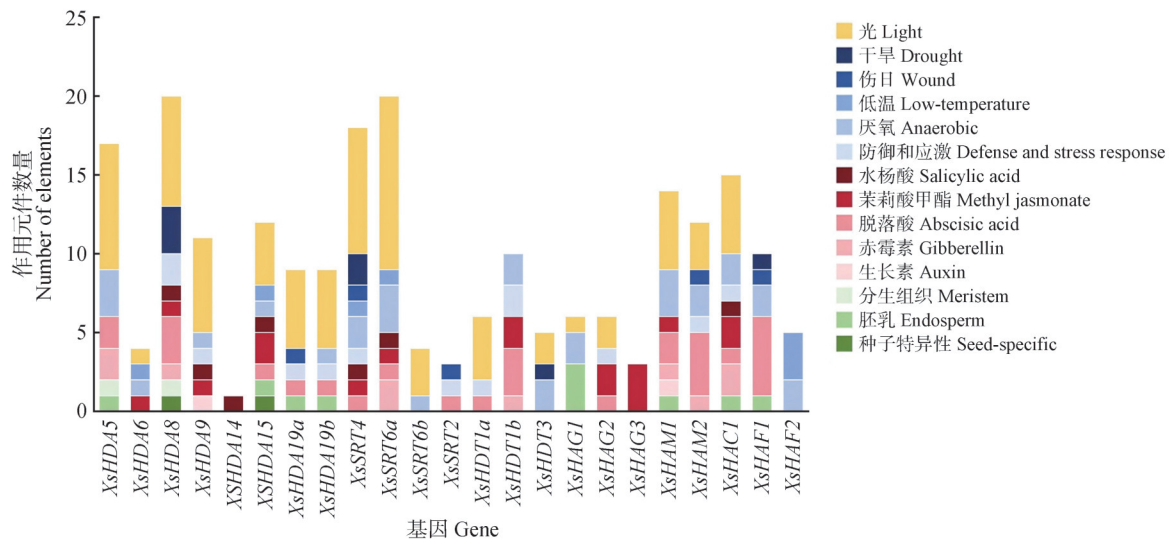
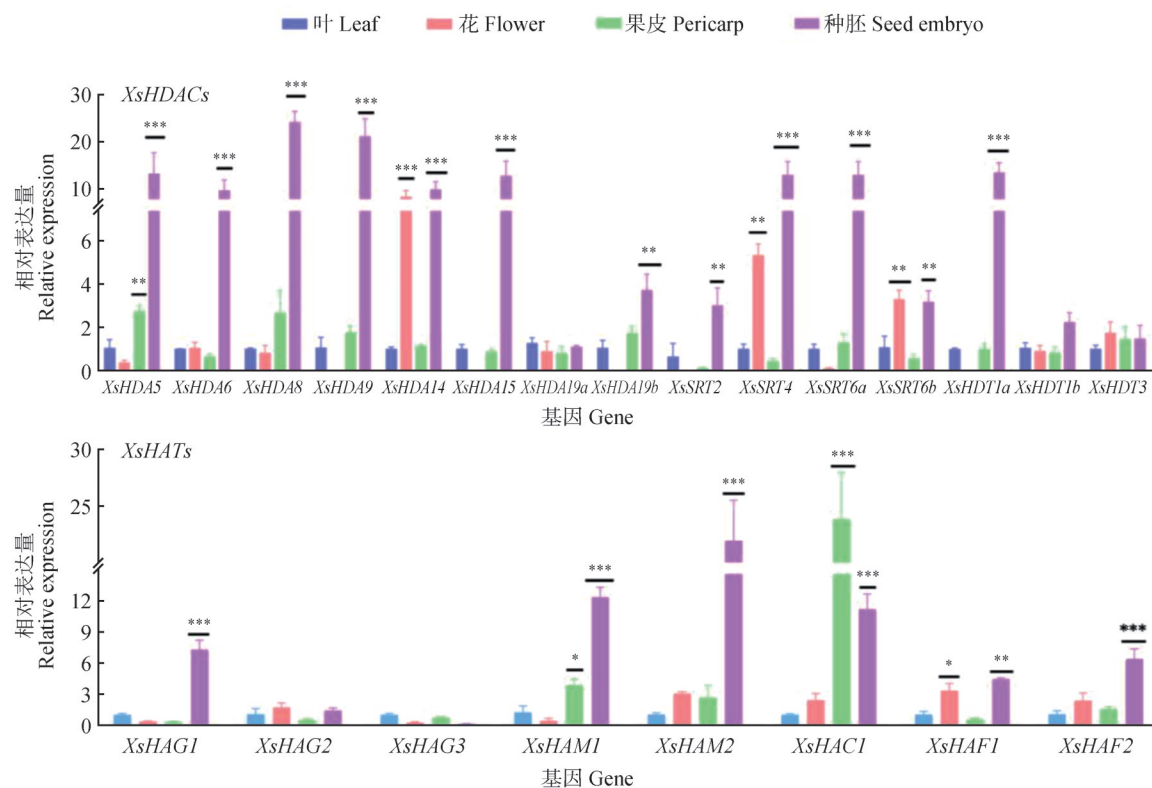
图5 XsHDACs和XsHATs蛋白三维结构预测

Fig.5 Three-dimensional structure prediction of XsHDACs and XsHATs proteins

呈淡黄色,随着种子成熟,子叶胚不断膨大,直至充满整个种子。

为了探究 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族成员在文冠果种胚生长发育中的功能,利用荧光定量PCR分析其在DAF 35、DAF 45、DAF 65、和DAF 75

的种胚中的动态表达模式。结果显示(图8B), *XsHDACs* 基因家族成员的总体表达趋势随种胚发育进程逐渐升高。其中, *XsSRT2*、*XsSRT6b*、*XsHDT1a*、*XsHDT1b* 和 *XsHDT3* 基因在DAF 65时达到峰值, *XsHDA5*、*XsHDA6*、*XsHDA8*、*XsHDA9*、*XsH-*

图6 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族成员启动子顺式作用元件分析Fig.6 Analysis of *cis*-elements of *XsHDACs* and *XsHATs* gene family promoters

各组织基因相对表达量均与叶片组织的表达量进行 *t* 检验比较 (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$)。

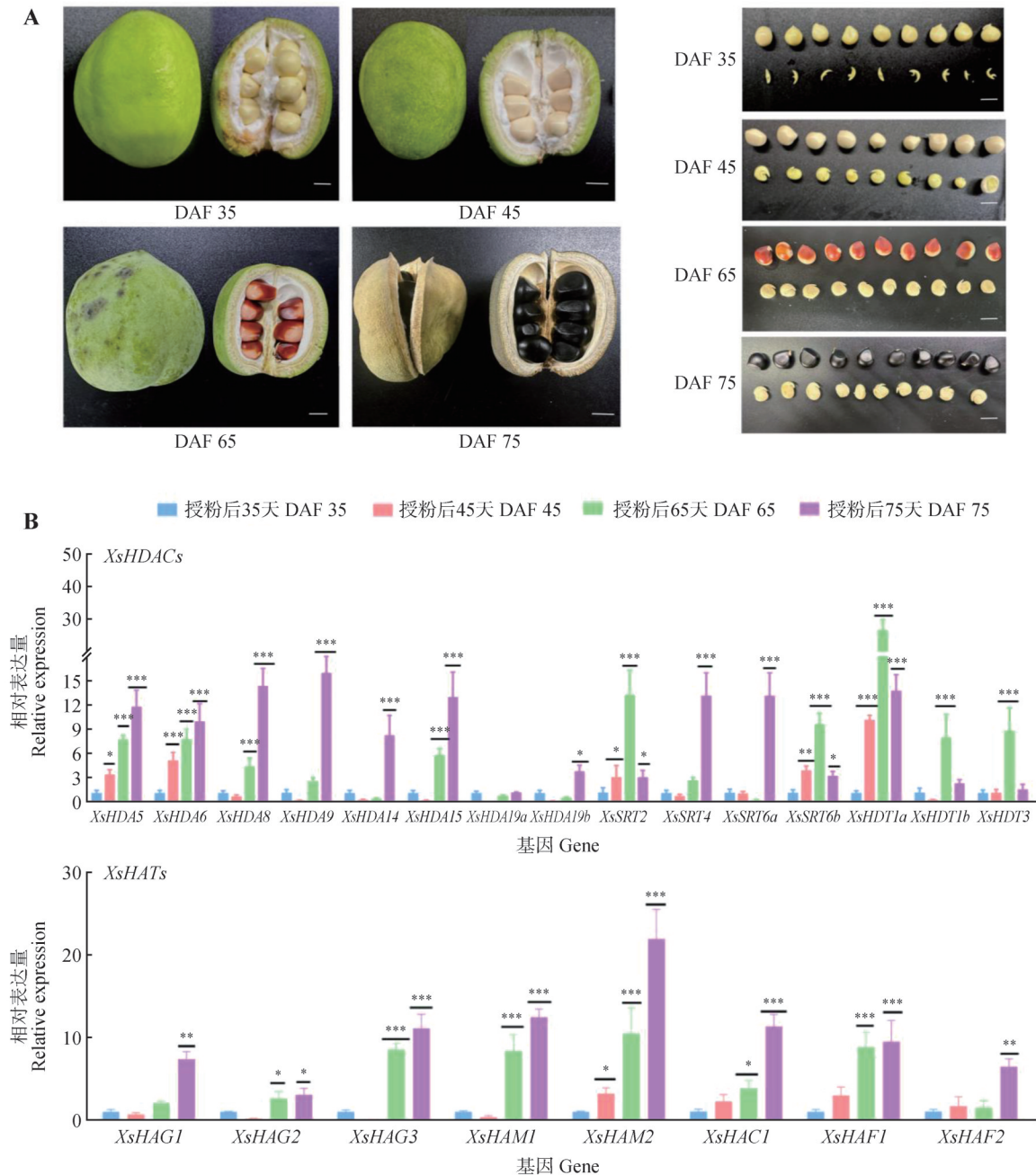
Gene relative expression of each tissue was compared with that of the leaf tissue using Student's *t*-test (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

图7 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族成员在不同组织表达模式Fig.7 Expression patterns of *XsHDACs* and *XsHATs* gene family members in different tissues

DA14、*XsHDA15*、*XsHDA19b*、*XsSRT4*、*XsSRT6a* 基因在 DAF 75 时达到峰值。*XsHATs* 基因家族成员表达均在发育过程中逐渐增加,并于 DAF 75 达到峰值。

3 讨论

本研究通过生物信息学方法分析文冠果 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族的编码蛋白理化性质、基



各阶段基因相对表达量与DAF35组的表达量比较采用 t 检验(* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$)。

Gene relative expression of each stage was compared with that of the DAF35 group using Student's t -test (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$).

图8 在不同发育阶段文冠果果实、种子形态(A)和*XsHDACs*和*XsHATs*基因家族成员表达模式分析(B)

Fig.8 Characteristics of *Xanthoceras sorbifolium* fruits, seeds (A) and expression pattern analysis of *XsHDACs* and *XsHATs* gene family members during development (B)

因结构、保守基序、染色体定位、共线性和顺式作用元件,并利用实时荧光定量PCR解析*XsHDACs*和*XsHATs*基因家族成员在不同组织及种胚发育时期的表达模式。系统性揭示文冠果*XsHDACs*和*XsHATs*基因家族成员特征和表达规律,为阐明其在文冠果种胚发育中表观遗传调控机制提供新

视角。

3.1 文冠果*XsHDACs*和*XsHATs*基因家族进化保守性与特异性

本研究共鉴定出文冠果15个*XsHDACs*基因和8个*XsHATs*基因,系统进化分析显示,*XsHDACs*和*XsHATs*蛋白家族成员与同为无患子科的荔枝

亲缘关系最近,体现物种间进化保守性。多数 XsHDACs 和 XsHATs 蛋白家族成员为亲水性蛋白质,呈酸性,主要定位于细胞核,与同科属的龙眼 (*Dimocarpus longan*) 研究结果一致^[36-37]。保守基序和基因结构分析显示,同一亚家族内 motif 组成和内含子/外显子结构高度保守;三级结构显示,各亚家族内部结构高度保守,表明其功能相似;但不同亚家族间的结构存在一定差异,这可能导致它们具有功能特异性。

3.2 XsHDACs 基因家族成员在文冠果种胚发育过程中的调控作用

组蛋白去乙酰化酶通过去除组蛋白乙酰化修饰,在染色质紧缩和基因沉默中发挥关键作用,参与植物种子发育过程,影响胚胎发生、胚乳发育、成熟及萌发等关键阶段。已有报道,组蛋白去乙酰化酶在玉米 (*Zea mays*) 中 *ZmHDA101*、*ZmHDA102* 和 *ZmHDA108* 基因具有相似的表达谱,在早期胚乳中积累较高,影响籽粒大小与形态建成^[38-39];在水稻中,*HDA716* 基因在胚乳和发芽的种子中表达水平较高;而 *HDA710* 和 *HDA703* 基因在吸水和发芽的种子中表达水平较高,表明其在种子发育和发芽过程中发挥作用^[40]。作为油料种子,文冠果种子中油脂积累是从花后 33 d 开始,花后 40~68 d 是种胚油脂积累的快速期,直至种胚成熟^[41]。文冠果种胚发育后期特异性上调且表达量较高的 XsHDACs (包括 *XsHDA5*、*XsHDA6*、*XsHDA8*、*XsHDA9*、*XsHDA15* 等) 基因,在种胚发育晚期 (DAF 65~75) 表达峰值与文冠果油脂快速积累期高度吻合,推测 *XsHDA5*、*XsHDA6* 和 *XsHDA15* 基因可能通过去乙酰化作用,参与胚胎发生早期活跃而后期需要关闭的基因程序,从而使代谢流转向油脂合成途径。这一机制与在拟南芥中的研究^[7,9] 发现一致,*HDA6* 和 *HDA19* 蛋白通过抑制 *LEC1*、*FUS3* 和 *ABI3* 等胚胎相关基因的表达,促进种子成熟和维持幼苗正常发育。

3.3 XsHATs 基因家族成员在文冠果种胚发育过程中的调控作用

在拟南芥中,GCN5 激活 *FAD3* 等脂肪酸去饱和酶基因的表达,促进 α -亚麻酸合成,表明 GCN5 通过表观调控影响种子油脂合成^[42]。本研究中,文冠果 GNAT 亚家族成员 *XsHAG1*、*XsHAG2* 和 *XsHAG3* 基因在种胚发育后期同样高表达 (图 8),这说明它们可能执行与 *AtGCN5* 相似的功能,即通

过乙酰化修饰打开油脂合成通路关键基因的染色质结构,从而促进文冠果种子中不饱和脂肪酸(包括神经酸)的合成与积累。此外,拟南芥 *AtHAC1* 与 *MED8/MED25* 互作,激活糖响应基因 *GPT2*、*CHS* 表达,协调碳源分配至储存物质合成路径,确保储存物质积累与能量供应平衡^[43]。文冠果中 *XsHAC1*、*XsHATs* 基因在成熟后期高表达,是否通过类似机制调控油脂合成,仍需进一步研究。

3.4 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员在文冠果不同组织中的表达模式分析

启动子顺式作用元件分析结果表明,*XsHDA8* 和 *XsHDA15* 基因含有种子特异性调控元件,由此推测,这些 XsHDACs 和 XsHATs 基因家族成员可能在文冠果种子发育中发挥作用。文冠果为无胚乳种子,其胚乳在发育过程中被子叶完全吸收,但本研究发现多个 XsHDACs 与 XsHATs 基因家族成员启动子中仍保留“胚乳相关”作用元件。这一现象可能有 2 个原因:第一,进化上的保守性。禾本科 (Poaceae) 等有胚乳植物的胚乳是主要的营养储存组织,而豆科 (Fabaceae)、无患子科等无胚乳植物的子叶则承担这一功能,尽管最终形态不同,但调控营养物质合成、积累与储存遗传程序在进化上具有同源性^[44-45],这些“胚乳相关”作用元件在文冠果中或被招募以调控子叶中油脂和蛋白的积累。其二,为功能的关联性。许多胚乳特异性表达的基因同样编码油脂和贮藏蛋白合成的关键酶^[46],因此,这些顺式作用元件在文冠果中可能直接与调控油脂合成相关转录因子结合。本研究发现在种胚发育后期,*XsHDACs* 与 *XsHATs* 基因表达显著上调并与油脂积累趋势一致,提示其可能通过调控染色质开放性,影响下游油脂合成基因 (如 *FAD3*、*DGAT* 等) 表达,从而促进文冠果子叶中油脂高效积累。

本研究发现, XsHDACs 和 XsHATs 蛋白家族成员的表达呈现显著的组织特异性。绝大多数基因在种胚中的表达水平远高于叶、花和果皮等其他组织 (图 7),这表明它们的功能主要集中于种子发育过程,尤其是与胚胎发生、油脂合成与积累等关键事件密切相关。这一表达模式与同属无患子科的龙眼 HDAC 蛋白家族特征相似^[35],在龙眼中,多个 HDAC 基因 (如 *DIHDA6*、*DIHDA9*、*DIHDA19* 等) 也在胚性组织和种子中优势表达,进一步支持 HDAC 和 HAT 在木本植物种子发育中的功能保守

性。此外,部分基因在其他组织中表现出特异性表达模式,例如, *XsHDA14*、*XsSRT4*、*XsSRT6b* 和 *XsHAF1* 基因在花中表达量较高,提示它们可能参与花的发育或开花调控;而 *XsHAM1* 和 *XsHAC1* 基因在果皮中高表达,暗示其可能在果实发育中发挥作用。这些发现揭示了 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族功能的多样性,表明其在协调文冠果整个生长发育过程中均扮演着重要角色,而非仅限于种胚发育。

4 结 论

本研究系统地研究了文冠果 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族成员的基因和蛋白结构、理化性质、系统发育、蛋白质的二级和三级结构及启动子顺式元件等关键特征,这些关键基因和蛋白特征能够为文冠果 *XsHDACs* 和 *XsHATs* 基因家族进化和功能解析提供理论参考。此外,还探究了这些基因家族成员在不同组织和种胚发育时期的动态表达,为理解文冠果种胚发育及油脂合成的表观遗传调控机制提供了重要视角。

参 考 文 献

- [1] 顾玉红.文冠果体细胞胚胎发生及形态建成机理的研究[D].北京:北京林业大学,2005.
- GU Y H.Mechanisms of somatic embryogenesis and morphogenesis of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2005.
- [2] ZHAO N, ZHANG Y, LI Q Q, *et al.* Identification and expression of a stearyl-ACP desaturase gene responsible for oleic acid accumulation in *Xanthoceras sorbifolia* seeds[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2015, 87: 9-16.
- [3] XIAO W, WANG Y, ZHANG P, *et al.* Bioactive barrigenol type triterpenoids from the leaves of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, 60: 263-270.
- [4] BANNISTER A J, KOUZARIDES T. Regulation of chromatin by histone modifications [J]. *Cell Research*, 2011, 21(3): 381-395.
- [5] PANDEY R, MÜLLER A, NAPOLI C A, *et al.* Analysis of histone acetyltransferase and histone deacetylase families of *Arabidopsis thaliana* suggests functional diversification of chromatin modification among multicellular eukaryotes [J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30(23): 5036-5055.
- [6] 韩召奋,王秋苹,罗鑫娟.植物组蛋白去乙酰化酶的特性及功能[J].中国生物化学与分子生物学报, 2017, 33(10): 1008-1013.
- HAN Z F, WANG Q P, LUO X J.Characteristic and function of histone deacetylases in plants [J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 33(10): 1008-1013.
- [7] YU C W, LIU X C, LUO M, *et al.* HISTONE DEACETYLASE6 interacts with FLOWERING LOCUS D and regulates flowering in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2011, 156(1): 173-184.
- [8] YU C W, CHANG K Y, WU K Q.Genome-wide analysis of gene regulatory networks of the FVE-HDA6-FLD complex in *Arabidopsis* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 555.
- [9] TANAKA M, KIKUCHI A, KAMADA H, *et al.* The *Arabidopsis* histone deacetylases HDA6 and HDA19 contribute to the repression of embryonic properties after germination [J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(1): 149-161.
- [10] ZHOU Y, TAN B, LUO M, *et al.* HISTONE DEACETYLASE19 interacts with HSL1 and participates in the repression of seed maturation genes in *Arabidopsis* seedlings [J]. *The Plant Cell*, 2013, 25(1): 134-148.
- [11] HU Y N, HAN Z Y, WANG T, *et al.* Ethylene response factor MdERF4 and histone deacetylase MdHDA19 suppress apple fruit ripening through histone deacetylation of ripening-related genes [J]. *Plant Physiology*, 2022, 188(4): 2166-2181.
- [12] HAN Y T, GEORGII E, PRIEGO-CUBERO S, *et al.* *Arabidopsis* histone deacetylase HD2A and HD2B regulate seed dormancy by repressing DELAY OF GERMINATION 1 [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1124899.
- [13] VALL-LLAURA N, TORRES R, LINDO-GARCÍA V, *et al.* *PbSRT1* and *PbSRT2* regulate pear growth and ripening yet displaying a species-specific regulation in comparison to other Rosaceae spp. [J]. *Plant Science*, 2021, 308: 110925.
- [14] ZHAO L M, LU J X, ZHANG J X, *et al.* Identification and characterization of histone deacetylases in tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 5: 760.
- [15] LEE C Y, GRANT P A.Chapter 1-1-role of histone acetylation and acetyltransferases in gene regulation [M]//MC-CULLOUGH S D, DOLINOY D C. Toxicopigenetics. London: Academic Press, 2019: 3-30.
- [16] BERTRAND C, BERGOUNIOUX C, DOMENICHINI S, *et al.* *Arabidopsis* histone acetyltransferase AtGCN5 regu-

- lates the floral meristem activity through the WUSCHEL/AGAMOUS pathway[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(30):28246-28251.
- [17] XIAO J, ZHANG H, XING L J, *et al.* Requirement of histone acetyltransferases HAM1 and HAM2 for epigenetic modification of FLC in regulating flowering in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2013, 170(4):444-451.
- [18] HAN S K, SONG J D, NOH Y S, *et al.* Role of plant *CBP/p300-like* genes in the regulation of flowering time [J]. *The Plant Journal*, 2007, 49(1):103-114.
- [19] DENG W W, LIU C Y, PEI Y X, *et al.* Involvement of the histone acetyltransferase AtHAC1 in the regulation of flowering time via repression of *FLOWERING LOCUS C* in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(4):1660-1668.
- [20] LIU X, LUO M, ZHANG W, *et al.* Histone acetyltransferases in rice (*Oryza sativa* L.): phylogenetic analysis, subcellular localization and expression [J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12(1):145.
- [21] PAPAETHIMIOU D, LIKOTRAFITI E, KAPAZOGLOU A, *et al.* Epigenetic chromatin modifiers in barley: III. Isolation and characterization of the barley GNAT-MYST family of histone acetyltransferases and responses to exogenous ABA [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48(2/3):98-107.
- [22] BERTRAND C, BENHAMED M, LI Y F, *et al.* *Arabidopsis* HAF2 gene encoding TATA-binding protein (TBP)-associated factor TAF1, is required to integrate light signals to regulate gene expression and growth [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(2):1465-1473.
- [23] LIANG Q, LIU J N, FANG H C, *et al.* Genomic and transcriptomic analyses provide insights into valuable fatty acid biosynthesis and environmental adaptation of yellowhorn [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13:991197.
- [24] LIU H, YAN X M, WANG X R, *et al.* Centromere-specific retrotransposons and very-long-chain fatty acid biosynthesis in the genome of yellowhorn (*Xanthoceras sorbifolium*, Sapindaceae), an oil-producing tree with significant drought resistance [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12:766389.
- [25] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHÄFFER A A, *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(17):3389-3402.
- [26] EL-GEBALI S, MISTRY J, BATEMAN A, *et al.* The Pfam protein families database in 2019 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1):D427-D432.
- [27] LU S N, WANG J Y, CHITSAZ F, *et al.* CDD/SPARCLE: the conserved domain database in 2020 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(D1):D265-D268.
- [28] LETUNIC I, KHEDKAR S, BORK P. SMART: recent updates, new developments and status in 2020 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(D1):D458-D460.
- [29] LI K B. ClustalW-MPI: ClustalW analysis using distributed and parallel computing [J]. *Bioinformatics*, 2003, 19(12):1585-1586.
- [30] KUMAR S, STECHER G, LI M, *et al.* MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6):1547-1549.
- [31] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, *et al.* MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(10):2731-2739.
- [32] BAILEY T L, JOHNSON J, GRANT C E, *et al.* The MEME Suite [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(W1):W39-W49.
- [33] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, *et al.* TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8):1194-1202.
- [34] LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, *et al.* PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30(1):325-327.
- [35] LIANG Q, LI H Y, LI S K, *et al.* The genome assembly and annotation of yellowhorn (*Xanthoceras sorbifolium* Bunge) [J]. *GigaScience*, 2019, 8(6):giz071.
- [36] 李晓斐, 张舒婷, 陈晓慧, 等. 龙眼 HDAC 家族成员的全基因组鉴定及表达分析 [J]. *果树学报*, 2020, 37(6):793-807.
LI X F, ZHANG S T, CHEN X H, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of HDAC gene family in *Dimocarpus longan* Lour [J]. *Journal of Fruit Science*, 2020, 37(6):793-807.
- [37] 李晓斐, 张舒婷, 申序, 等. 龙眼 HAT 家族的全基因组鉴定及表达模式 [J]. *应用与环境生物学报*, 2021, 27(5):1354-1363.
LI X F, ZHANG S T, SHEN X, *et al.* Genome-wide iden-

- tification and expression analysis of *HAT* gene family in longan[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2021, 27(5):1354-1363.
- [38] ROSSI V, LOCATELLI S, VAROTTO S, *et al.* Maize histone deacetylase hda101 is involved in plant development, gene transcription, and sequence-specific modulation of histone modification of genes and repeats[J]. The Plant Cell, 2007, 19(4):1145-1162.
- [39] VAROTTO S, LOCATELLI S, CANOVA S, *et al.* Expression profile and cellular localization of maize Rpd3-type histone deacetylases during plant development[J]. Plant Physiology, 2003, 133(2):606-617.
- [40] HU Y F, QIN F J, HUANG L M, *et al.* Rice histone deacetylase genes display specific expression patterns and developmental functions [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 388 (2) : 266-271.
- [41] 赵娜, 张媛, 王静, 等. 文冠果种子发育及油脂累积与糖类、蛋白质累积之间的关系研究[J]. 植物研究, 2015, 35(1):133-140.
- ZHAO N, ZHANG Y, WANG J, *et al.* Seed development, lipid accumulation and its relationship with carbohydrates and protein in *Xanthoceras sorbifolia* Bunge [J]. Bulletin of Botanical Research, 2015, 35(1):133-140.
- [42] HE M, QIN C X, WANG X, *et al.* Plant unsaturated fatty acids: biosynthesis and regulation [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11:390.
- [43] CHEN Q S, ZHANG J, LI G. Dynamic epigenetic modifications in plant sugar signal transduction [J]. Trends in Plant Science, 2022, 27(4):379-390.
- [44] WEBER H, BORISJUK L, WOBUS U. Molecular physiology of legume seed development [J]. Annual Review of Plant Biology, 2005, 56:253-279.
- [45] LI G S, WANG D F, YANG R L, *et al.* Temporal patterns of gene expression in developing maize endosperm identified through transcriptome sequencing [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(21):7582-7587.
- [46] VERDIER J, THOMPSON R D. Transcriptional regulation of storage protein synthesis during dicotyledon seed filling [J]. Plant and Cell Physiology, 2008, 49(9):1263-1271.