

利用RNA-Seq分析柱型和普通型苹果转录水平差异

张玉刚, 祝 军, 梁美霞, 戴洪义*

(青岛农业大学园林园艺学院, 山东青岛 266109)

柱型苹果具有的“独干、节间极短、高萌芽率、极短枝、极紧凑”的树型, 特别适合密植栽培和机械化管理, 是苹果紧凑树型遗传改良的宝贵资源。因此, 挖掘柱型苹果株型形成的相关基因, 对于研究苹果株型形成的分子机理, 以及通过基因工程改良苹果树型具有重要意义。

供试材料取自青岛农业大学试验站的‘富士’(Fuji) × ‘特拉蒙’(Telamon)苹果杂交后代群体中柱型和普通型实生树, 4年生。两种树型各选5株, 于2010年5—7月分3次采取植株1.5 m高处南向枝条的1~2 cm顶端新梢, 用冰盒带回实验室后立即用液氮冷冻, 存于-80℃备用。用CTAB法提取RNA, 反转录成cDNA后构建测序文库, 然后用Illumina GA IIx进行测序。将获得的raw reads, 使用短reads组装软件SOAPdenovo做转录组从头组装, 得到含N最少、两端不能再延长的序列Unigene。使用BLAST程序将Unigene与核酸、蛋白质数据库SwissProt、KEGG和GenBank非冗余蛋白数据库Nr进行比对, 并进行蛋白功能注释、Pathway注释、COG功能注释和Gene Ontology (GO)功能注释, 分析柱型和普通型苹果差异表达基因。

通过新一代高通量测序手段——转录组测序(RNA-Seq)技术, 对苹果株型形成的相关基因进行分析。转录组测序结果与Nr、Swiss-Prot、KEGG和COG数据库比对(BLAST)后, 共获得注释Unigene总数为69 558个, 非冗余柱型和普通型Unigene分别为56 440和57 695, 80%的Unigene长度在500 nt以下, 其次分布在500~1 000 nt之间, 大于等于2 000 nt的占0.2%左右, 柱型和普通型样品的N50值分别为426和424。根据测序结果中基因RPKM (Reads Per kb per Million reads)值, 得到柱型和普通型苹果间表达差异倍数在2倍以上($|\log_2(\text{Ratio})| \geq 1$), 且FDR ≤ 0.001 的Unigene 5 237个, 其中上调表达基因2 704个, 下调表达基因2 533个。通过GO功能注释获得了2 233个差异表达Unigene, 其中富集在分子功能(molecular_function)的差异基因数为566个, 细胞组分(cellular_component)的差异基因为1 006个, 生物学过程(biological process)的差异基因为661个。根据KEGG数据库注释, 获得1 359个差异表达Unigene, 显著富集到232个代谢途径(Pathway)中。综合以上的分析结果初步获得287个与苹果株型形成相关的Unigene。

关键词: 苹果; 柱型苹果; Co基因; 转录组; RNA-Seq

中图分类号: S 661.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2454-01

收稿日期: 2011-07-11

基金项目: 国家现代苹果产业技术体系项目(CARS-28-01-07); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目(BS2009NY023); 山东省良种产业化工程项目; 青岛农业大学高层次人才启动基金项目

* 通信作者(E-mail: hydai@qau.edu.cn, zyg4458@163.com; Tel: 0532-86080752)