

# 基于RNA-Seq分析杨梅果实成熟后期品质变化机制

冯超, 徐昌杰, 李鲜, 陈昆松\*

(浙江大学果实品质生物学实验室, 农业部园艺植物生长发育与品质改良重点开放实验室, 杭州 310058)

杨梅果实成熟后期(即转色期到完熟期)在颜色、口感等方面发生显著变化, 然而现有研究大多停留在生理分析层面, 序列信息的匮乏严重限制了分子机制的探讨。本研究应用高通量RNA-Seq技术, 结合运用生物信息学手段, 探究果实成熟品质变化的相关分子机制, 为果实品质调控提供理论依据。

‘荸荠’杨梅茎、叶、芽、花和果实等组织采自浙江余姚。果实品质指标采用常规方法分析, 可溶性糖和有机酸应用HPLC分析。各组织RNA提取后经DNase处理, 用于4个文库构建。MR1为茎、叶、芽、花和幼果等的不同组织混合库, MR2~MR4分别为不同成熟度果实库(花后75 d, 转色期; 花后80 d, 红熟期; 花后85 d, 完熟期), 文库后续处理及测序工作委托深圳华大基因研究院进行。UniGenes的表达量注释采用RPKM方法, 进而将3个果实文库中差异表达的基因分为3大类(上调、下调和波动变化), 并对上调基因和下调基因进行GO分类比较分析。基于Ipath对杨梅果实成熟后期整体代谢基因表达情况进行宏观分析, 同时对色泽、糖酸相关品质代谢途径展开深入研究。

RNA-Seq获得了41 239条平均长度为531 bp的UniGenes, 基于公共数据库, 80% UniGenes得到注释。确定了31 665条编码序列的区段和方向, 其中14 172条成功注释到KEGG的125个代谢图上, 发现了S/W途径是杨梅果实维生素C生物合成的最主要或唯一途径。9 509条UniGenes在COG中找到了同源序列, 其中15.3%与信号转导或转录调控相关, 高于番茄中的对应比例, 揭示杨梅果实成熟后期经历了更为复杂的调控过程。超过3 600条UniGenes在果实成熟后期差异表达, 其中826、1 407条UniGenes分别呈上调及下调模式。GO统计分析表明在果实成熟过程中能量相关代谢强化, 催化活性增强。Ipath网络分析显示了杨梅果实成熟后期的动态变化, 发现磷酸戊糖途径等能量代谢相关途径基因表达量增加。综合Ipath整体代谢网络及色泽、糖、酸品质代谢途径UniGenes表达量情况, 结合生理指标变化, 发现花青苷代谢途径基因均呈上调模式, 与成熟后期颜色变化相一致; 蔗糖磷酸合成酶(SPS)、谷氨酸脱羧酶(GAD)可能在果实糖分积累和有机酸降解过程中起重要作用。

**关键词:** 杨梅; 深度测序; 维生素C; 代谢网络; 花青苷; 糖; 有机酸

**中图分类号:** S 667.6

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) S-2509-01

**收稿日期:** 2011-09-14

**基金项目:** 浙江省科技厅重大项目(2009C14023); 国家公益性行业(农业)科研专项(200903044); ‘948’项目(2010-S18); 高等学校博士点基金项目(20090101110099)

\* 通信作者 (E-mail: akun@zju.edu.cn; Tel: 0571-88982931)