

王晓琼, 王杨铭, 郑贝贝. 玉米 VLN 基因家族的全基因组鉴定与胁迫响应表达特征[J]. 江苏农业科学, 2026, 54(8): 80–91.

doi: 10.15889/j.issn.1002-1302.2026.08.010

玉米 VLN 基因家族的全基因组鉴定与胁迫响应表达特征

王晓琼, 王杨铭, 郑贝贝

(河南农业职业学院现代种业学院 河南中牟 451450)

摘要: 植物肌动蛋白细胞骨架的动态调控在多种生物学过程中起关键作用, 其中绒毛蛋白(Villin, 简称 VLN) 作为肌动蛋白结合蛋白, 参与细胞骨架重塑及胁迫响应。利用生物信息学的方法, 从玉米全基因组鉴定 VLN 基因并系统分析其理化性质、染色体定位、序列特征、系统进化关系、基因扩张、启动子元件、表达和蛋白互作网络等。结果表明, 玉米共有 9 个 VLN 基因(*ZmVLN1* ~ *ZmVLN9*), 其编码蛋白均含 6 个保守的 GEL 结构域, 除 *ZmVLN5* 外均具有 C 端 VHP 结构域。系统进化分析表明, 玉米 VLN 基因与水稻同源基因共线性较高, 家族扩张主要由片段复制驱动($K_a/K_s < 1$)。启动子分析揭示玉米 VLN 基因含丰富的胁迫响应元件(如干旱、盐、热和损伤等)以及激素响应元件(茉莉酸、生长素、水杨酸等)。组织表达分析显示 *ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN7* 在根、叶及生殖组织中广泛表达, 而 *ZmVLN2*、*ZmVLN9* 特异性表达于花粉。非生物胁迫下, *ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN7* 在根和叶中显著诱导表达, 暗示其核心调控作用。蛋白互作网络提示 VLN 蛋白可能通过高尔基体复合体参与细胞运输。

关键词: 玉米; VLN 基因; 全基因组鉴定; 系统进化; 胁迫响应; 组织表达

中图分类号: S188; S513.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2026)08-0080-12

植物肌动蛋白细胞骨架(actin cytoskeleton)是由动态变化的微丝网络构成的重要结构基础, 参与多种关键生物学过程, 包括信号转导、囊泡运输、细胞伸长、细胞分裂、细胞器运动、气孔开放和根毛发育等^[1-4]。绒毛蛋白(villin, 简称 VLN)属于 Villin/gelsolin 超家族的肌动蛋白结合蛋白(ABP)^[5-7], 通常由 6 个保守的 gelsolin 结构域(G1 ~ G6)和 1 个 headpiece 结构域(VHP)^[8-9]组成。VLN 是肌动蛋白细胞骨架动态调控的重要调节因子^[8], 其中结构域 VHP 对 F-actin 高度亲和^[10], 赋予 VLN 对微丝切割、加帽、成核及聚集成束的多种功能^[11-12]。在植物中, 研究人员首次从百合中克隆了功能明确的 VLN 同源基因 *lil5-ABP* 和 *lil3-ABP*^[13-15]。VLN 可以独立或以依赖 Ca^{2+} /钙调蛋白的方式与 F-actin 结合改变肌动蛋白丝的动态和组织结构, 参与各种细胞生理过程^[16-17]。研究表明, 拟南芥 VLN1 对 Ca^{2+} 不敏感, 是细胞中肌动蛋白丝束形成和稳定

性的主要调节因子^[18]。渗透胁迫下, 拟南芥转录因子 GLABRA2-VLN1 调控模块在根毛生长过程中发挥重要作用^[19]。拟南芥 VLN1 和 VLN3 在肌动蛋白束的形成和周转中具有功能重叠但活性不同的特征^[20]。拟南芥 *vlm2/vlm3* 双突变体植株的叶、茎、荚果和根均发生扭曲, 细肌动蛋白丝束更加丰富, 而粗肌动蛋白丝束几乎不存在^[21]。拟南芥 VLN2 和 VLN3 调控肌动蛋白纤维成束在厚壁组织发育中冗余地发挥作用^[22]。生长素转运抑制剂通过靶向拟南芥 VLN4 介导的肌动蛋白动力学影响生长素的极性转运^[23]。拟南芥 VLN4 通过依赖 Ca^{2+} 的方式调节肌动蛋白微丝聚集成束, 促进在干旱下根毛的生长^[24-26]。AtVLN1 与 AtVLN4 通过调控根毛细胞微丝的动态变化增强拟南芥对低钾胁迫的耐受力^[27]。NaCl 胁迫下 VLN1 和 VLN5 表达量升高并 12 h 达到顶峰, 而突变体 *vlm1* 和 *vlm5* 中的微丝变稀疏和不同程度断裂^[28]。拟南芥 *vlm2/vlm5* 双突变体花粉管中肌动蛋白丝束能力减弱导致束状肌动蛋白数量减少^[29]。在 *Verticillium dahliae* 侵染后, 棉花 *GhVLN2* 在根细胞中下调表达, 根细胞中肌动蛋白丝束的数量增加和细胞骨架动态重塑提前, 增强了棉花植株的抗病性^[30]。过表达 *GhVLN4* 显著增强了拟南芥对 *Verticillium dahliae*、盐和干旱胁迫的耐受性^[31]。棉花 *GhVLN4* 促进肌动蛋白丝束成束和丰

收稿日期: 2025-04-21

基金项目: 河南省职业教育学会职业教育教学研究课题(编号: 2022-ZJXH-042); 河南省高等教育教学改革研究与实践项目(编号: 2024SJGLX0896); 河南农业职业学院创新人才项目(编号: ZZ2405TD04)。

作者简介: 王晓琼(1988—), 女, 河南三门峡人, 硕士, 讲师, 从事农作物分子生物学研究。E-mail: wangxiaojiong2025@163.com。

度增加,并导致更长的细胞表型^[32]。水稻 OsVLN2 通过调控微丝、PIN2 和生长素极性运输影响植株形态^[33]。烟草中 VLN 相关蛋白与过敏原有相关性^[34]。目前,VLN 基因家族已在拟南芥^[35]、水稻^[36]、棉花^[37-38]和大豆^[39]等植物中被鉴定出。但重要的粮食作物玉米 VLN 基因家族尚未被鉴定且分子特征和系统进化关系尚不清楚,特别是玉米 VLN 基因与胁迫响应之间的研究少之又少。因此,从全基因组鉴定玉米 VLN 基因家族,并着重对 VLN 基因开展特征和进化分析,探索 VLN 基因在玉米的不同空间和组织中的表达特异性,利用干旱、盐和热胁迫下玉米 RNA-Seq 研究其在响应逆境胁迫中的潜在功能,以期研究玉米 VLN 家族基因的分子特征、系统进化和功能提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间与地点

试验于 2025 年 3 月在河南农业职业学院现代种业学院完成。

1.2 玉米 VLN 基因家族成员鉴定

玉米参考基因组 Zm-B73-REFERENCE-NAM-5.0 下载于在线数据库 MaizeMine v1.6 (<https://soybase.org/>),拟南芥、水稻、棉花和大豆参考基因组从 Ensembl Plants 数据库 (<https://plants.ensembl.org/index.html>) 获得。从 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 获得植物 VLN 蛋白特有结构域 GEL (PF00626) 和 VHP (PF02209) 的隐马尔可夫模型序列。以 GEL 和 VHP 的隐马尔可夫模型序列为探针检索玉米基因组,获得候选 VLN 蛋白。利用在线数据库 NCBI-CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 和 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 鉴定候选玉米 VLN 蛋白结构域,最终确定玉米 VLN 蛋白。

1.3 玉米 VLN 蛋白理化性质预测

通过在线网站 ExPASy (https://web.expasy.org/compute_pi/) 统计玉米 VLN 蛋白的分子量、等电点、不稳定系数、亲水指数。利用在线网站 Plant-mPLoc 2.0 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) 预测玉米 VLN 蛋白的亚细胞定位。

1.4 玉米 VLN 基因序列特征和启动子分析

利用 TBtools 软件包^[40]绘制玉米 VLN 基因的染色体定位图和基因结构图。利用网站 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 分析玉米

VLN 蛋白的保守基序。利用网站 PlantCARE (http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/search_CARE.html) 分析玉米 VLN 基因上游 1 500 bp 的启动子序列。

1.5 玉米 VLN 蛋白系统进化和共线性分析

利用 MEGA 11 软件^[41]构建玉米、拟南芥、大豆、棉花和水稻 5 个物种的 VLN 蛋白系统进化树。利用 TBtools 软件包分析玉米与拟南芥、大豆、棉花和水稻 VLN 基因的共线性,计算玉米 VLN 旁系同源基因对的 K_a/K_s 值。

1.6 玉米 VLN 基因的表达模式和互作网络

通过 ZEAMAP 数据库 (<https://db.cngb.org/zeamap/>) 获取玉米 VLN 基因在不同组织的表达数据。通过 PlantExp 数据库 (<https://biotec.njau.edu.cn/plantExp/>) 获取玉米 VLN 基因在干旱 (PRJNA385354)、盐 (PRJNA647980) 和热 (PRJNA520822) 处理下的表达数据并利用 TBtools 软件包绘制表达热图。利用 STRING 11.5 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 构建玉米 VLN 蛋白的互作网络。

2 结果与分析

2.1 玉米 VLN 基因家族成员的鉴定

通过对候选蛋白序列结构域进行鉴定,从玉米基因组中鉴定出 9 个 VLN 基因,依据基因 ID 编号将 9 个玉米 VLN 基因依次命名为 *ZmVLN1* ~ *ZmVLN9*,它们的蛋白结构域如图 1 所示。除 *ZmVLN5* 仅具有 6 个 GEL 结构域以外 8 个 VLN 蛋白均同时具有 6 个 N 末端重复的 GEL 结构域和 1 个 C 末端 VHP 结构域。9 个玉米 VLN 基因均未发现有信号肽、跨膜结构域等。

2.2 玉米 VLN 蛋白的理化性质

由表 1 可知,玉米 VLN 家族蛋白的长度在 759 个 (*ZmVLN5*) 和 1 000 个 (*ZmVLN7*) 氨基酸之间,分子量范围为 85.06 (*ZmVLN5*) ku 到 112.11 (*ZmVLN7*) ku。等电点 (pI) 值范围为 5.74 (*ZmVLN3*) 到 8.49 (*ZmVLN7*)。6 个 *ZmVLN* 蛋白 (*ZmVLN1*、*ZmVLN3*、*ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN8*、*ZmVLN9*) 的等电点均在酸性范围内 (pI < 7.00)。6 个 *ZmVLN* 蛋白 (*ZmVLN1*、*ZmVLN2*、*ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN8*、*ZmVLN9*) 的不稳定系数小于 40,预示它们的蛋白稳定性较差。9 个玉米 VLN 蛋白的亲水指数小于 0,表明它们都属于亲水蛋白。CELLO v. 2.5 亚细胞定位

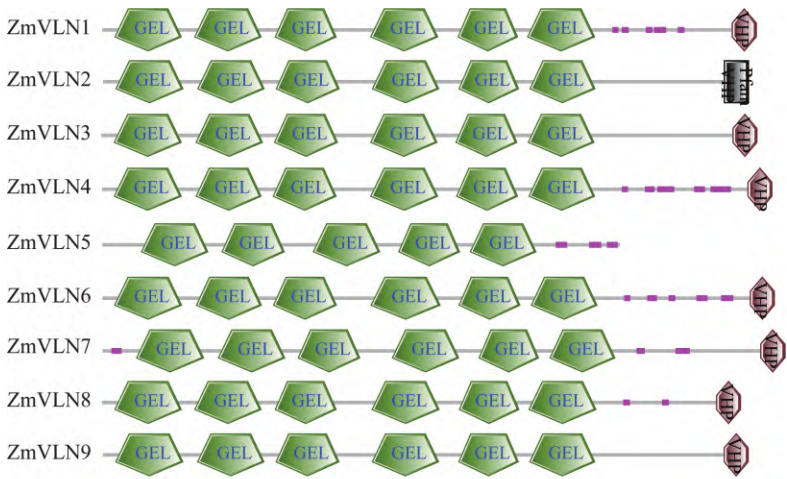


图1 玉米 VLN 家族蛋白功能结构域

表 1 玉米 VLN 家族蛋白理化性质

基因名称	基因 ID	蛋白长度 (aa)	分子量 (ku)	等电点	不稳定系数	亲水指数	亚细胞定位
<i>ZmVLN1</i>	Zm00001eb017330	959	105.80	5.77	36.27	-0.466	细胞质
<i>ZmVLN2</i>	Zm00001eb071670	946	106.50	7.55	37.43	-0.471	细胞质
<i>ZmVLN3</i>	Zm00001eb106360	961	107.70	5.74	40.68	-0.490	细胞质
<i>ZmVLN4</i>	Zm00001eb140890	982	108.23	5.86	36.14	-0.478	细胞质
<i>ZmVLN5</i>	Zm00001eb281890	759	85.06	7.34	47.77	-0.387	细胞质
<i>ZmVLN6</i>	Zm00001eb362860	985	108.30	5.83	38.02	-0.468	细胞质
<i>ZmVLN7</i>	Zm00001eb389350	1 000	112.11	8.49	41.41	-0.518	细胞质
<i>ZmVLN8</i>	Zm00001eb394440	936	103.57	5.84	38.39	-0.456	细胞质
<i>ZmVLN9</i>	Zm00001eb430400	946	106.23	6.91	39.50	-0.459	细胞质

分析显示,所有 9 个玉米 VLN 蛋白均位于细胞质。

2.3 玉米 VLN 基因的染色体定位

9 个玉米 VLN 基因不均匀分布于 7 条染色体(图 2)。*ZmVLN1* ~ *ZmVLN9* 分别定位于 1 号染色体(*ZmVLN1*)、2 号染色体(*ZmVLN2* 和 *ZmVLN3*)、3 号染色体(*ZmVLN4*)、6 号染色体(*ZmVLN5*)、8 号染色

体(*ZmVLN6*)、9 号染色体(*ZmVLN7* 和 *ZmVLN8*) 和 10 号染色体(*ZmVLN9*)。

2.4 玉米 VLN 基因的基因结构

由图 3 可知,玉米 VLN 基因的基因序列均大于 6 000 bp,其中 *ZmVLN5* 最短,*ZmVLN7* 最长(接近 27 000 bp)。外显子数量方面,玉米 VLN 基因平均

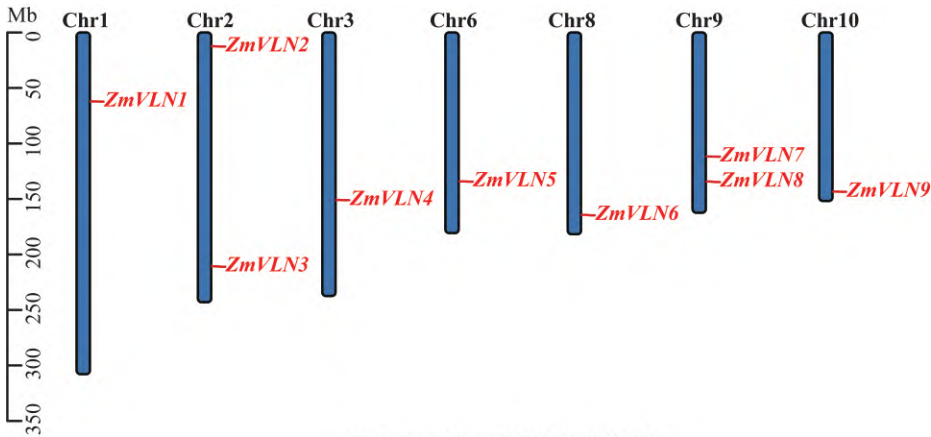


图2 玉米 VLN 基因的染色体定位

外显子数量 20 多个,位于进化树末端分支的 *ZmVLN2* 和 *ZmVLN9* 具有高度相似的外显子和非编码区结构特征。

2.5 玉米 VLN 蛋白的保守基序

9 个玉米 VLN 蛋白的保守基序分析结果如图 4 所示。由图 4 - A 可知,玉米 VLN 蛋白共发现 7 个

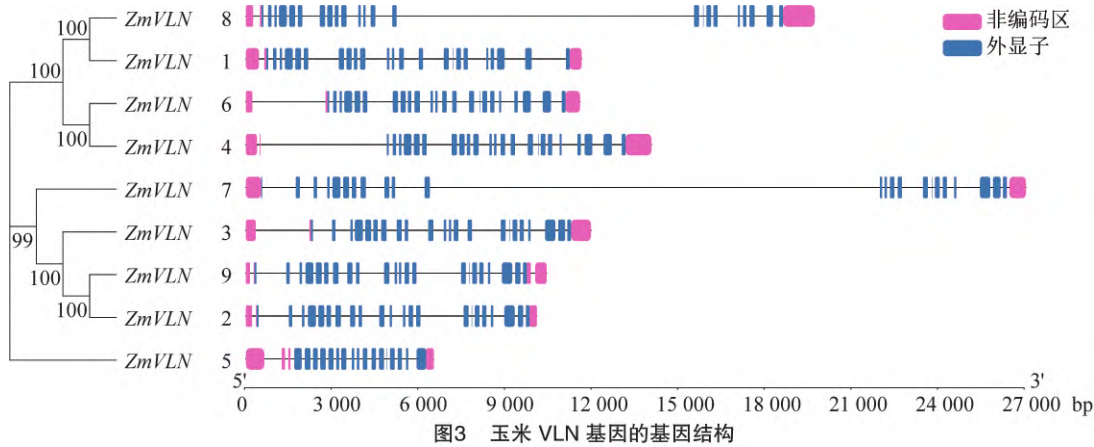


图3 玉米 VLN 基因的基因结构

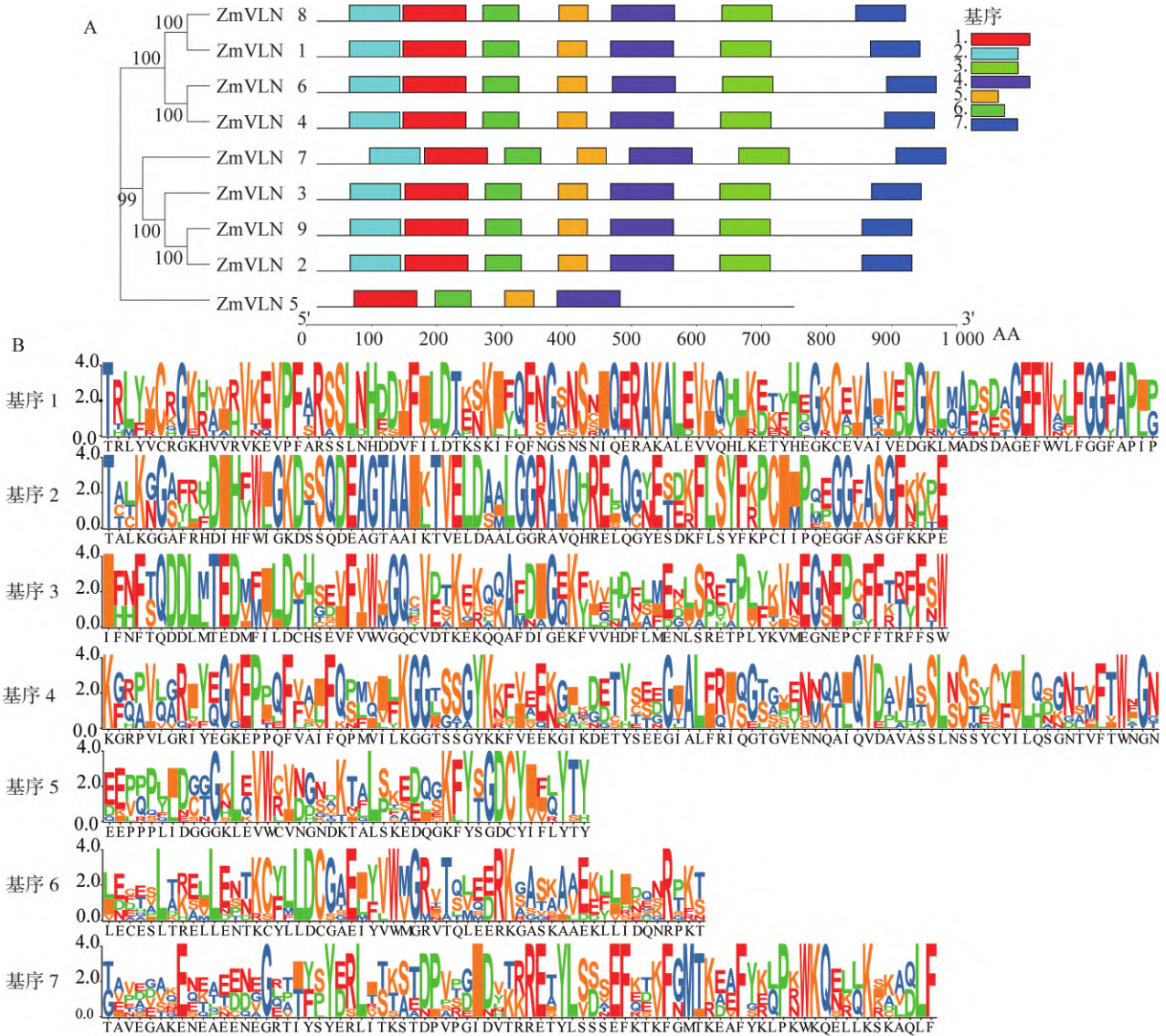


图4 玉米 VLN 蛋白的保守基序

不同的保守基序,其中除 ZmVLN5 仅具有基序 2、基序 3、基序 4、基序 5 外,8 个玉米 VLN 蛋白 (ZmVLN1、ZmVLN2、ZmVLN3、ZmVLN4、ZmVLN6、ZmVLN7、ZmVLN8、ZmVLN9) 均同时具有 7 个基序 (基序 1~7)。此外还发现,从基序分布位置来看,基序 7 位于蛋白的 C 端与 VHP 结构域重合,基序 1 与基序 2 的分布位置较近,进化树相近分支的 VLN 蛋白具有相似的基序分布位置。由图 4-B 可知,基序 1 和基序 4 的序列较长,基序 2、基序 3 和基序 7 的长度相近,而基序 5 的序列最短。每个保守基序 Seqlogo 图中每个位置的氨基酸类型偏好性不同,该位置上碱基字母越大表明其出现频率越高。

2.6 玉米与其他物种 VLN 蛋白系统进化树

使用 MEGA 11 软件构建了 9 个玉米 VLN 蛋白、5 个拟南芥 VLN 蛋白、8 个大豆 VLN 蛋白、14 个棉花 VLN 和 5 个水稻 VLN 蛋白的系统发育树 (图 5)。分析结果表明,系统进化树 41 个 VLN 蛋白被划分为 5 个不同的组,分别标记为 I、II、III、IV、V,各组包含植物 VLN 蛋白的数量有所不同,其中 I 组包含 2 个 VLN 蛋白 (水稻 1 个、玉米 1 个),II 组包含 5 个 VLN 蛋白 (拟南芥 1 个、棉花 2 个、大豆 2 个),III 组包含 15 个 VLN 蛋白 (拟南芥 2 个、水稻 3 个、玉米 4 个、棉花 4 个、大豆 2 个),IV 组包含 5 个 VLN 蛋白 (玉米 4 个、水稻 1 个),V 组包含 14 个 VLN 蛋白 (拟南芥 2 个、棉花 8 个、大豆 4 个)。玉米 VLN 蛋白在不同亚组中分布数量不同,其中 I 组包含 1 个 (ZmVLN5),II 组包含 0 个,III 组包含 4 个 (ZmVLN2、ZmVLN3、ZmVLN7、ZmVLN9),IV 组包含 4 个 (ZmVLN1、ZmVLN4、ZmVLN6、ZmVLN8),V 组包含 0 个。

2.7 玉米 VLN 基因复制事件和共线性

玉米物种内 VLN 基因共线性分析结果如图 6-A 所示,玉米 VLN 旁系同源基因对的 K_a/K_s 值见表 2。玉米 VLN 基因家族共有 3 对旁系同源基因,包括 ZmVLN1/ZmVLN8、ZmVLN2/ZmVLN9、ZmVLN4/ZmVLN6, K_a/K_s 值分别为 0.11、0.25、0.15,蛋白序列相似度分别为 94.59%、94.29%、96.75%。3 个 VLN 旁系同源基因对的 K_a/K_s 值均小于 1,表明玉米 VLN 基因受纯化选择压力影响,基因家族成员数量扩张以片段复制为主。

玉米与水稻、拟南芥、棉花和大豆的物种间 VLN 直系同源基因共线性分析结果如图 6-C 所示。玉米与拟南芥之间未检测到直系同源 VLN 基

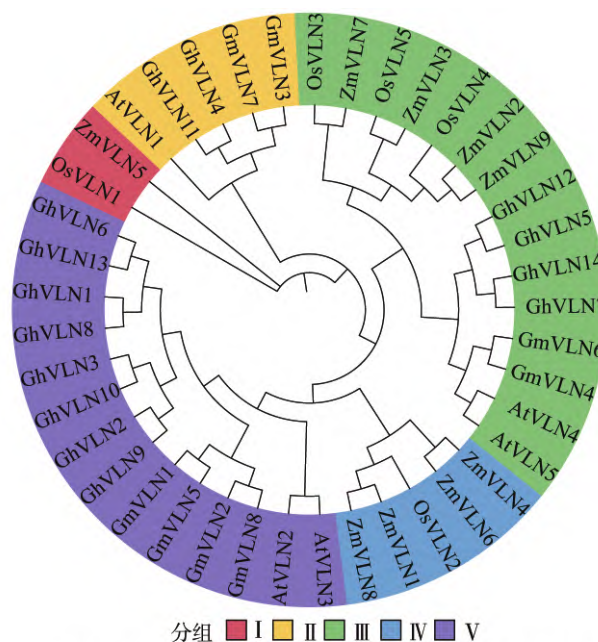
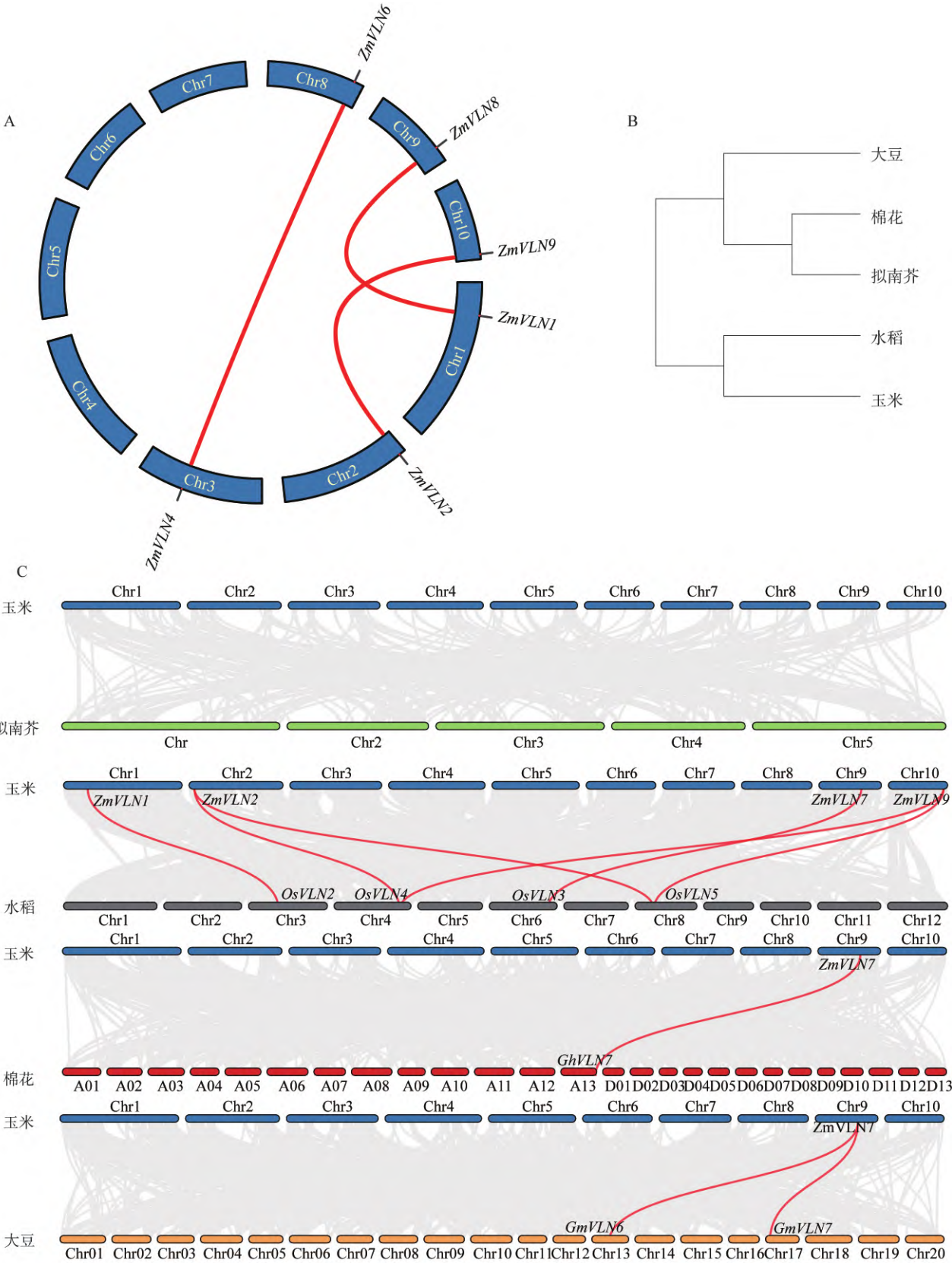


图5 玉米 VLN 蛋白与其他物种 VLN 蛋白的系统发育树

因对,玉米与水稻之间检测到 6 个直系同源 VLN 基因对 (ZmVLN1/OsVLN2、ZmVLN2/OsVLN4、ZmVLN2/OsVLN5、ZmVLN7/OsVLN3、ZmVLN9/OsVLN4、ZmVLN9/OsVLN5),而玉米与棉花之间检测到 1 个直系同源 VLN 基因对 (ZmVLN7/GhVLN7),玉米与大豆之间检测到 2 个直系同源 VLN 基因对 (ZmVLN7/GmVLN6、ZmVLN7/GmVLN7)。由此可见,玉米与水稻之间的 VLN 基因具有较高的共线性。

2.8 玉米 VLN 基因启动子元件

玉米 VLN 基因启动子元件数量和类型如图 7 所示。玉米 VLN 基因除含有基因表达必须的 CAAT-box 和 TATA-box 元件以外,还具有生长发育相关元件、光响应元件、胁迫响应元件、机械损伤响应元件、激素响应元件等。激素响应元件主要有茉莉酸响应元件 (14 个 CGTCA-motif、14 个 TGACG-motif)、生长素响应元件 (3 个 AuxRR-core、7 个 TGA-element)、水杨酸响应元件 (5 个 TCA-element)、脱落酸响应元件 (10 个 AAGAA-motif、21 个 ABRE)、乙烯响应元件 (4 个 ERE)、赤霉素响应元件 (2 个 GARE-motif、4 个 P-box、2 个 TATC-box)。非生物胁迫响应元件主要有低温响应元件 (7 个 LTR) 与低温、脱水和盐混合胁迫响应元件 (5 个 DRE core)、干旱响应元件 (8 个 MBS、58 个 Myb、1 个 MYB recognition site、15 个 Myb-binding site、10 个 MYB-like sequence、26 个 MYC)、机械损伤响应



A—玉米基因组内部 VLN 基因家族共线性；B—物种间系统进化树；C—玉米与其他物种间 VLN 基因共线性

图6 玉米 VLN 基因共线性

表 2 玉米 VLN 旁系同源基因对 K_a/K_s 值

旁系同源基因对	K_a	K_s	K_a/K_s	复制类型	蛋白序列 相似度 (%)
ZmVLN1/ZmVLN8	0.03	0.27	0.11	片段复制	94.59
ZmVLN2/ZmVLN9	0.05	0.20	0.25	片段复制	94.29
ZmVLN4/ZmVLN6	0.02	0.13	0.15	片段复制	96.75

元件(5 个 WUN - motif)、缺氧特异性诱导响应元件(4 个 GC - motif)、厌氧诱导响应元件(28 个 ARE)、防御和胁迫响应元件(4 个 TC - rich repeats)、病原响应元件(7 个 W box)。光响应元件类型有 3 - AF1 binding site、AE - box、ATCT - motif、Box 4、CAG - motif、chs - CMA1a、GA - motif、GATA - motif、G - box、GT1 - motif、I - box、LS7、MRE、Sp1、TCCC -

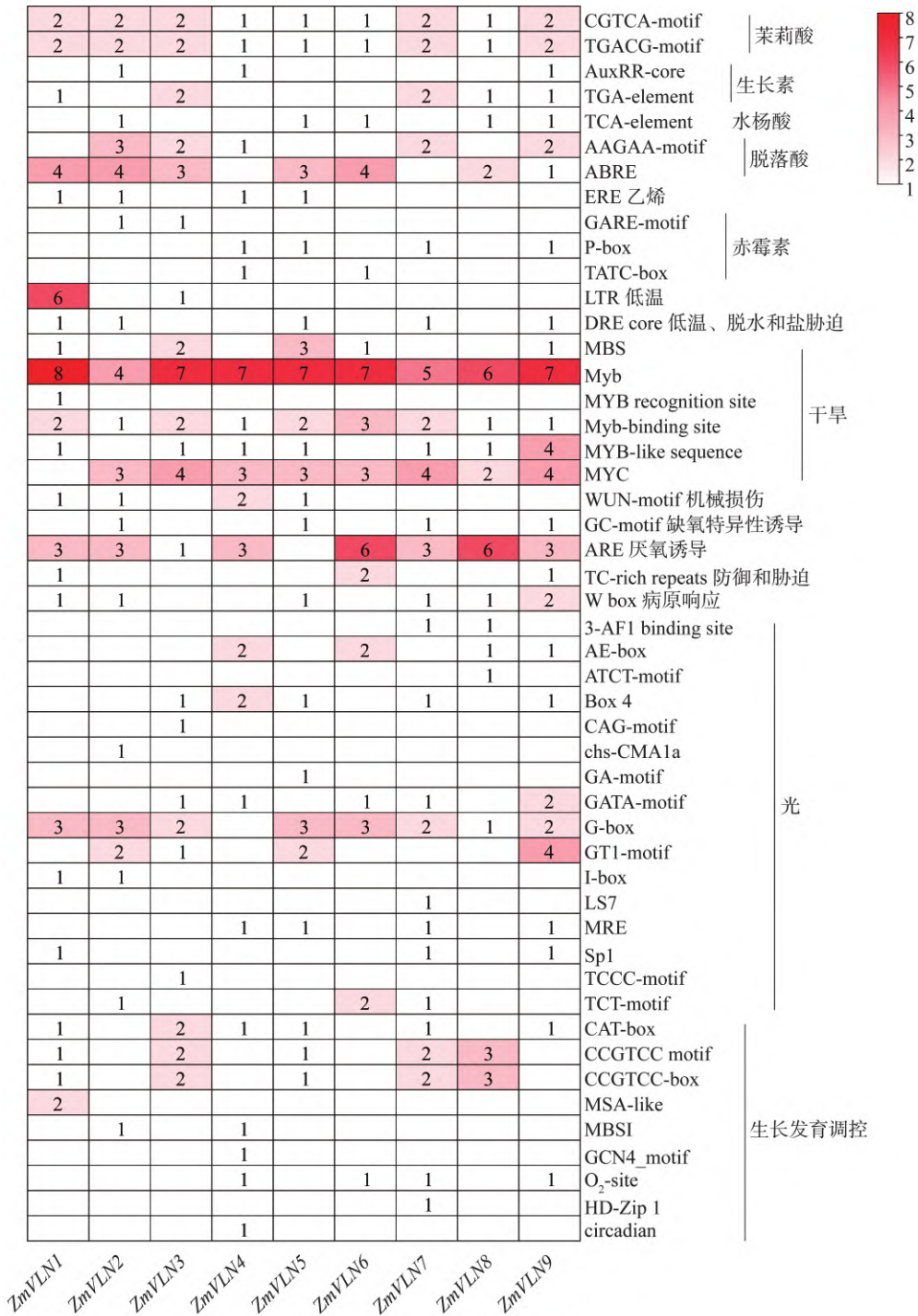


图 7 玉米 VLN 基因启动子元件的数量和类型

motif、TCT - motif 等 16 种,累计数量为 67 个。此外,还有与生长发育及代谢调控相关调控元件,如分生组织特异性激活调控元件(CAT - box、CCGTCC motif、CCGTCC - box)、细胞周期调控响应元件 MSA - like、类黄酮生物合成调控响应元件 MBSI、胚乳表达调控响应元件 GCN4_motif、玉米醇溶蛋白代谢调节响应元件 O_2 - site、栅栏叶肉细胞分化调控响应元件 HD - Zip 1、昼夜节律调控响应元件 circadian 等。

2.9 玉米 VLN 基因家族组织表达模式

为初步探究玉米 VLN 基因的组织表达特征和潜在功能,利用玉米品种 B73 不同生育时期和不同组织中的表达数据构建了 9 个 VLN 基因的组织表达热图。由图 8 可知,玉米 VLN 基因具有时空表达和组织表达特异性,在花粉中优势表达的基因有 *ZmVLN1*、*ZmVLN4*、*ZmVLN8*,在节间部优势表达的基因有 *ZmVLN1*、*ZmVLN4*、*ZmVLN6*,在胚中优势表达的基因有 *ZmVLN4*、*ZmVLN6*,在幼叶中优势表达的基因有 *ZmVLN3*、*ZmVLN4*、*ZmVLN5*、*ZmVLN6*、*ZmVLN7*,在根中优势表达的基因有 *ZmVLN4*、*ZmVLN6*,在玉米须和穗中优势表达的基因有 *ZmVLN4*、*ZmVLN6*。组织特异性表达基因方面,*ZmVLN2*、*ZmVLN9* 仅在花粉中特异性表达。

2.10 玉米 VLN 基因胁迫响应表达分析

分析玉米 VLN 基因在干旱、盐和热胁迫下的转录组数据并绘制表达热图。由图 9 - A 可知,在干旱胁迫下 *ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN7* 在叶中的表达量较高,其中 *ZmVLN4* 和 *ZmVLN7* 在 24 h 表达量达到峰值,随后逐渐降低;*ZmVLN6* 在 48 h 表达量达到峰值,随后逐渐降低;此外,*ZmVLN1* 在干旱诱导 48 h 内表达量持续升高,72 h 表达量降到较低水平。由图 9 - B 可知,在盐胁迫下 *ZmVLN3*、*ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN7* 在根中的表达量较高。由图 9 - C 可知,热胁迫下,*ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN1*、*ZmVLN5*、*ZmVLN3*、*ZmVLN7* 在 48 h 内叶片中的表达量呈不断上升的趋势,其中 *ZmVLN4*、*ZmVLN6* 表达量较高且变化较大。由图 9 - D 可知,*ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN7* 在受热胁迫诱导的根中高表达,其中 *ZmVLN4* 在 2 h 表达量达到顶峰随后降低,*ZmVLN6*、*ZmVLN7* 受热胁迫诱导 48 h 内持续上调表达。

2.11 玉米 VLN 蛋白互作网络

利用 STRING 网站预测并构建了玉米 VLN 蛋白互作网络。由图 10 可知,玉米 VLN 蛋白主要与 3

个玉米蛋白存在互作关系,*Zm00001eb009310*、*Zm00001eb040740*、*Zm00001eb399610* 在 UniProt 数据库均被注释为 Conserved oligomeric Golgi complex subunit(COG)高尔基体复合体亚基类蛋白,该蛋白对于维持高尔基体的正常结构和功能至关重要。

3 讨论

玉米是全球重要的粮食、饲料和工业原料来源。高温、干旱和盐等胁迫影响玉米的生长、发育和产量,对玉米的可持续生产提出了重大挑战^[42-44]。VLN 基因已在多种植物中被鉴定和功能表征,其作为微丝结合蛋白有助于在不利条件下维持细胞稳态,在植物应对各种生物和非生物胁迫的耐受性中起着至关重要的作用^[35-36,39]。本研究首次对玉米 VLN 基因家族进行了全基因组鉴定及系统性生物信息学分析,玉米共有 9 个 VLN 基因,多于拟南芥^[35](5 个)、水稻^[36](5 个)和大豆^[39](8 个),少于棉花^[37](14 个),物种间家族成员数量的差异可能与基因组大小和成员扩张有关。玉米 VLN 基因长度不等,从 759 到 1 000 个氨基酸不等,分子量 85.06 ~ 112.11 ku,亚细胞定位分析表明它们存在于细胞质中,这与前人对拟南芥 VLN 基因家族、水稻 VLN 基因家族的研究结果^[35-36]一致。

通过结构域分析发现,*ZmVLN5* 作为家族中的特殊成员缺失 VHP 结构域,暗示其可能通过结构变异获得了与其他成员不同的功能特性,研究表明,水稻 *OsVLN2*、*OsVLN5* 成员也缺失 VHP 结构域^[36]。物种间系统进化和共线性分析显示,玉米与水稻之间 VLN 基因的系统进化树关系较近,玉米与水稻间检测到 6 个直系同源基因对,显著多于与其他物种的共线性基因,这可能与单子叶植物特有的进化轨迹相关,也暗示着玉米与水稻同源的 VLN 基因可能具有相似的功能特征。研究表明,在水稻中 *VLN2* 基因通过调节肌动蛋白参与根毛的生长^[33]。玉米 VLN 家族共有 3 对旁系同源基因,它们的 K_a/K_s 值均小于 1,表明该基因家族在进化过程中受到强烈的纯化选择压力,基因复制事件分析揭示了片段复制是家族扩张的主要机制,其中 *ZmVLN4*/*ZmVLN6* 基因对高达 96.75% 的序列相似性,提示这些复制基因可能在功能上存在冗余。

启动子分析揭示了玉米 VLN 基因具有丰富的调控元件,特别是大量光响应、胁迫响应元件(低温、干旱、脱水、机械损伤等)和激素响应元件(茉莉

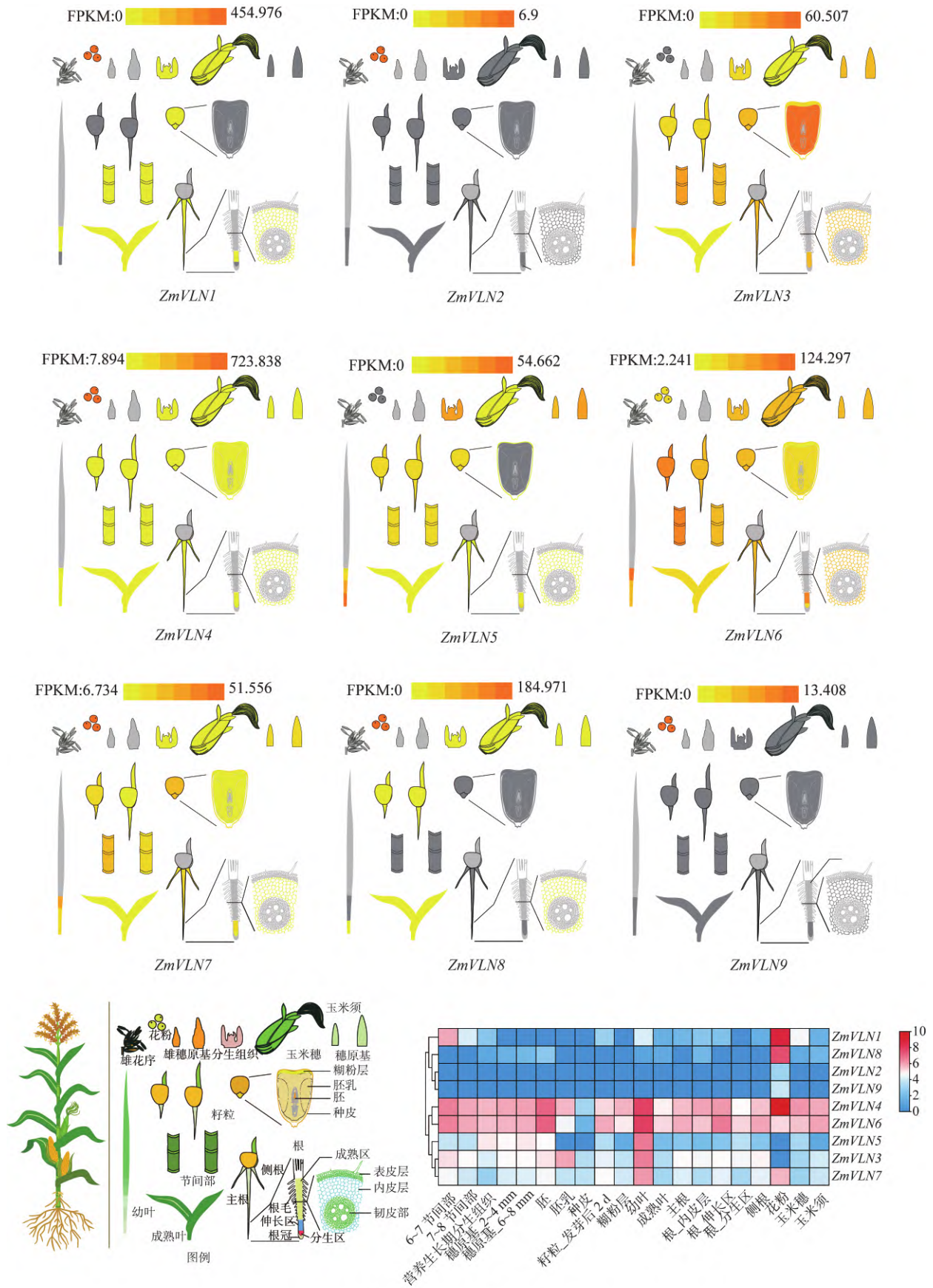


图8 玉米 VLN 基因组织表达热图

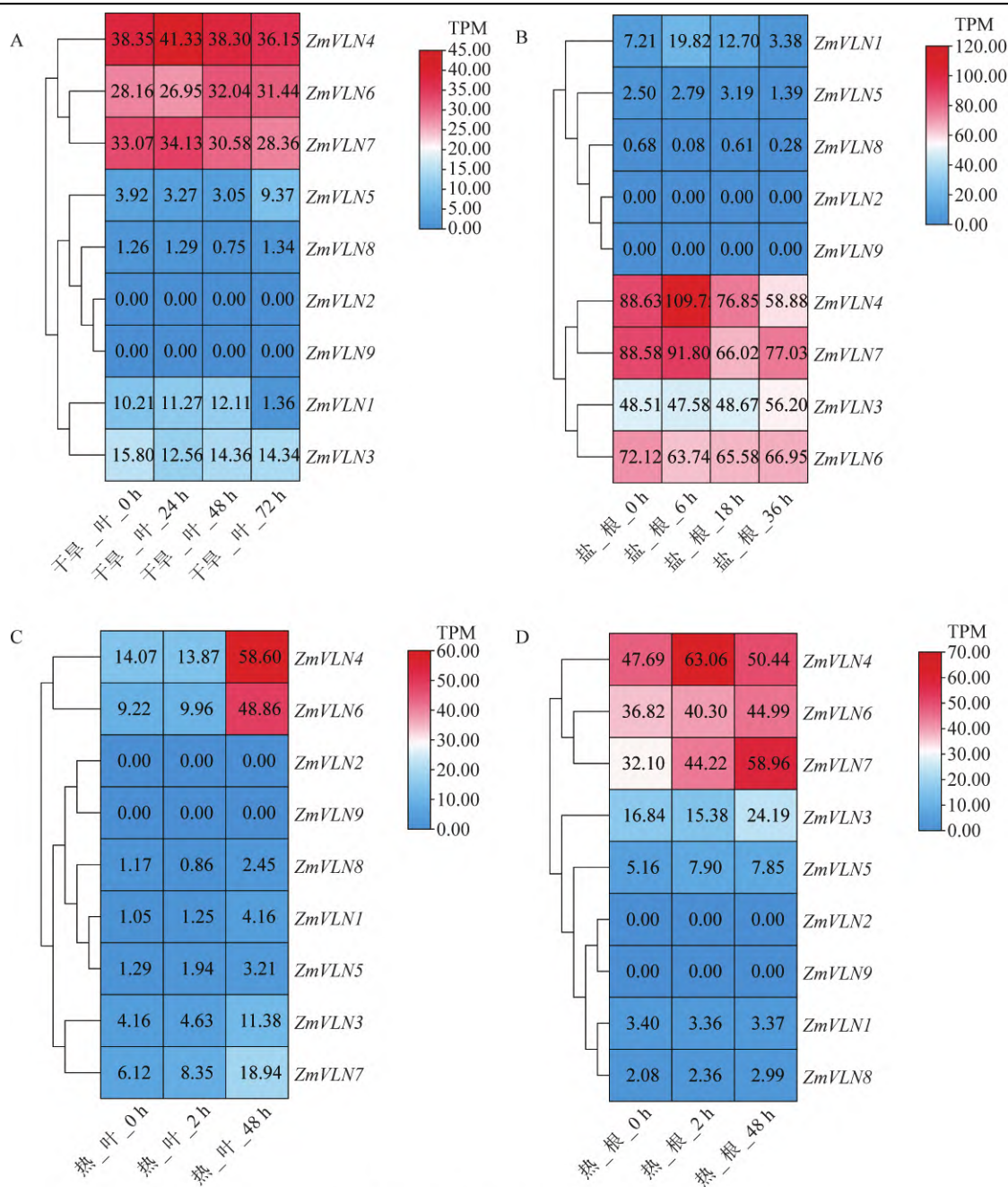


图9 玉米 VLN 基因组织表达热图

酸、赤霉素、水杨酸、生长素、脱落酸等), 暗示 VLN 基因可能通过整合多种信号通路参与胁迫应答, 这与其他物种中的类似发现^[39, 45]一致。这一推测在表达分析中得到验证: *ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN7* 在干旱、盐和热胁迫下均呈现显著诱导表达, 提示其核心调控地位。值得注意的是, 这些基因在根中的快速响应模式(如 *ZmVLN4* 在热胁迫 2 h 即达峰值)可能与其调控根系适应性生长密切相关。*ZmVLN4*/*ZmVLN6* 基因对的序列和表达模式高度相似, 暗示了它们功能的相似性和冗余性。组织特异

性表达特征揭示玉米 VLN 基因功能分化: 花粉特异性表达的 *ZmVLN2*、*ZmVLN9* 可能参与生殖发育中的细胞极性建立。类似研究表明, 拟南芥 *VLN5* 在花粉中优势高表达, 与花粉中 Ca^{2+} 协同调节肌动蛋白丝稳定性和周转, 在花粉萌发和花粉管生长中发挥着不可或缺的作用^[46]。而广泛表达的 *ZmVLN4*、*ZmVLN6*、*ZmVLN7* 可能承担基础性细胞骨架调控及胁迫响应的功能, 前人研究表明, 棉花 *GhVLN3* 和 *GhVLN10* 在盐、PEG、低温、热和 *Verticillium dahliae* 胁迫下显著上调^[38]。蛋白互作网络中的 COG 复合

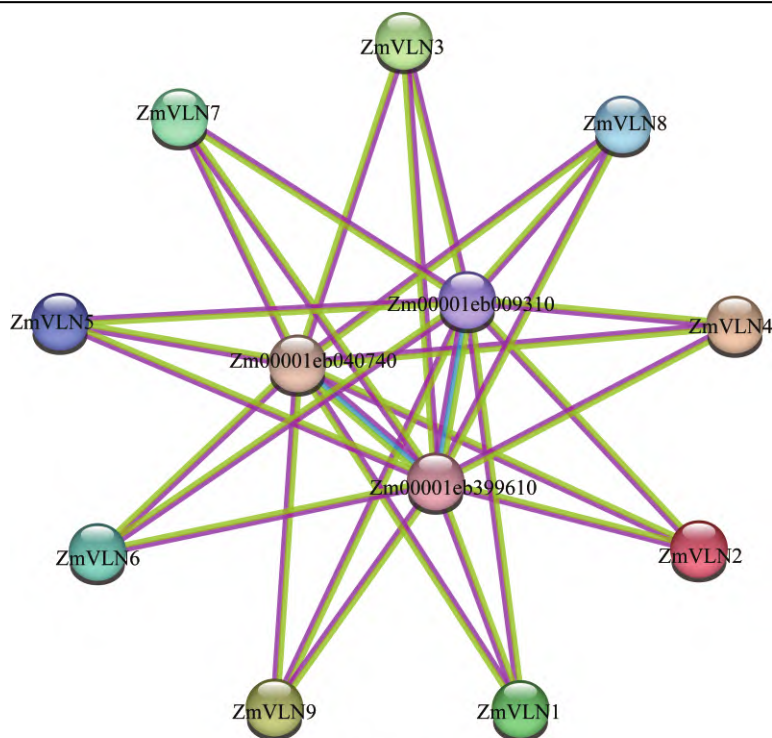


图10 玉米 VLN 蛋白互作网络

体关联可能暗示 VLN 蛋白参与细胞内的运输或结构维持,这可能与细胞响应胁迫时的膜结构重组有关。

4 结论

本研究从玉米基因组中鉴定出 9 个 VLN 基因,其编码蛋白均含典型 GEL 结构域,除 ZmVLN5 外均具有 VHP 结构域,9 个 VLN 蛋白亚细胞定位于细胞质。系统进化分析将 41 个植物 VLN 蛋白划分为 5 个亚组,玉米 VLN 蛋白主要分布在 III 和 IV 组,与水稻 VLN 基因表现出高度共线性。玉米 VLN 基因家族通过片段复制扩张,3 对旁系同源基因受强烈纯化选择。玉米 VLN 基因启动子含多种胁迫和激素响应元件,ZmVLN4/ZmVLN6/ZmVLN7 在非生物胁迫应答中起核心作用。蛋白互作网络提示 VLN 蛋白可能参与高尔基体介导的膜运输系统,为解析其调控细胞骨架动态的分子机制提供新线索。本研究系统解析了玉米 VLN 基因家族的结构特征与潜在功能,为后续开展基因调控细胞骨架动态的分子机制及作物抗逆遗传改良提供了重要理论依据。

参考文献:

[1] Yuan G Q, Gao H H, Yang T. Exploring the role of the plant actin cytoskeleton: from signaling to cellular functions [J]. International Journal of Molecular Sciences 2023 24(20): 15480.
[2] Blancaflor E B, Wang Y, Motes C M. Organization and function of the

actin cytoskeleton in developing root cells [J]. International Review of Cytology 2006 252: 219 – 264.
[3] Pei W K, Du F, Zhang Y, et al. Control of the actin cytoskeleton in root hair development [J]. Plant Science 2012 187: 10 – 18.
[4] 钱东, 李盼盼, 向云. 微丝骨架调控植物特有生理活动的研究进展 [J]. 中国细胞生物学学报 2019 41(3): 399 – 405.
[5] McCurdy D W, Kovar D R, Staiger C J. Actin and actin – binding proteins in higher plants [J]. Protoplasma 2001 215(1): 89 – 104.
[6] 钱东, 向云. 植物特有微丝结合蛋白研究进展 [J]. 中国科学(生命科学) 2017 47(8): 829 – 838.
[7] Silacci P, Mazzolai L, Gauci C, et al. Gelsolin superfamily proteins: key regulators of cellular functions [J]. Cellular and Molecular Life Sciences 2004 61(19): 2614 – 2623.
[8] Friederich E, Vancompernelle K, Louvard D, et al. Villin function in the organization of the actin cytoskeleton: correlation of *in vivo* effects to its biochemical activities *in vitro* [J]. Journal of Biological Chemistry 1999 274(38): 26751 – 26760.
[9] Su H, Wang T, Dong H J, et al. The villin/gelsolin/fragmin superfamily proteins in plants [J]. Journal of Integrative Plant Biology 2007 49(8): 1183 – 1191.
[10] Miears H L, Gruber D R, Horvath N M, et al. Plant villin headpiece domain demonstrates a novel surface charge pattern and high affinity for F – actin [J]. Biochemistry 2018 57(11): 1690 – 1701.
[11] 李丽凤. 棉花绒毛蛋白基因的功能研究 [D]. 南京: 南京农业大学 2015.
[12] Huang S J, Qu X L, Zhang R H. Plant villins: versatile actin regulatory proteins [J]. Journal of Integrative Plant Biology 2015, 57(1): 40 – 49.
[13] Yokota E, Vidali L, Tominaga M, et al. Plant 115 – kDa actin –

- filament bundling protein P-115-ABP, is a homologue of plant villin and is widely distributed in cells [J]. *Plant and Cell Physiology* 2003, 44(10): 1088–1099.
- [14] Yokota E, Shimmen T. The 135-kDa actin-bundling protein from lily pollen tubes arranges F-actin into bundles with uniform polarity [J]. *Planta* 1999, 209(2): 264–266.
- [15] Qian D, Nan Q, Yang Y M, et al. Gelsolin-like domain 3 plays vital roles in regulating the activities of the lily villin/gelsolin/fragmin superfamily [J]. *PLoS One* 2015, 10(11): e0143174.
- [16] Tominaga M, Yokota E, Vidali L, et al. The role of plant villin in the organization of the actin cytoskeleton, cytoplasmic streaming and the architecture of the transvacuolar strand in root hair cells of *Hydrocharis* [J]. *Planta* 2000, 210(5): 836–843.
- [17] Ketelaar T, Faivre-Moskalenko C, Esseling J J, et al. Positioning of nuclei in *Arabidopsis* root hairs: an actin-regulated process of tip growth [J]. *The Plant Cell* 2002, 14(11): 2941–2955.
- [18] Huang S J, Robinson R C, Gao L Y, et al. *Arabidopsis* VILLIN1 generates actin filament cables that are resistant to depolymerization [J]. *The Plant Cell* 2005, 17(2): 486–501.
- [19] Wang X L, Bi S T, Wang L, et al. GLABRA2 regulates actin bundling protein VILLIN1 in root hair growth in response to osmotic stress [J]. *Plant Physiology* 2020, 184(1): 176–193.
- [20] Khurana P, Henty J L, Huang S J, et al. *Arabidopsis* VILLIN1 and VILLIN3 have overlapping and distinct activities in actin bundle formation and turnover [J]. *The Plant Cell* 2010, 22(8): 2727–2748.
- [21] van der Honing H S, Kieft H, Emons A M C, et al. *Arabidopsis* VILLIN2 and VILLIN3 are required for the generation of thick actin filament bundles and for directional organ growth [J]. *Plant Physiology* 2012, 158(3): 1426–1438.
- [22] Bao C C, Wang J, Zhang R H, et al. *Arabidopsis* VILLIN2 and VILLIN3 act redundantly in sclerenchyma development via bundling of actin filaments [J]. *The Plant Journal* 2012, 71(6): 962–975.
- [23] Zou M X, Ren H Y, Li J J. An auxin transport inhibitor targets villin-mediated actin dynamics to regulate polar auxin transport [J]. *Plant Physiology* 2019, 181(1): 161–178.
- [24] Zhang Y, Xiao Y Y, Du F, et al. *Arabidopsis* VILLIN4 is involved in root hair growth through regulating actin organization in a Ca^{2+} -dependent manner [J]. *The New Phytologist* 2011, 190(3): 667–682.
- [25] Du F, Zhang Y, Ren H Y. The universal bundling activity of AtVILN4 in diffusely growing cells [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2011, 6(9): 1290–1293.
- [26] 吴群慧. 干旱胁迫下拟南芥微丝结合蛋白 AtADF11 和 AtVILN4 调节根毛生长作用的研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022.
- [27] Li M Y, Liu S Y, Wang J S, et al. Dynamics of actin filaments play an important role in root hair growth under low potassium stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. *International Journal of Molecular Sciences* 2024, 25(16): 8950.
- [28] 胡子英. 拟南芥 VILN1 和 VILN5 的时空表达及参与响应非生物胁迫机理的初步研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [29] Zhuang Y H, Wang Y J, Jiao C X, et al. *Arabidopsis* VILLIN5 bundles actin filaments using a novel mechanism [J]. *The Plant Journal* 2024, 119(6): 2854–2866.
- [30] Li W B, Song S W, Zhong M M, et al. VILLIN2 regulates cotton defense against *Verticillium dahliae* by modulating actin cytoskeleton remodeling [J]. *Plant Physiology* 2023, 192(1): 666–679.
- [31] Ge D D, Pan T, Zhang P P, et al. GhVILN4 is involved in multiple stress responses and required for resistance to *Verticillium* wilt [J]. *Plant Science* 2021, 302: 110629.
- [32] Lv F N, Han M Y, Ge D D, et al. GhVILN4 is involved in cell elongation via regulation of actin organization [J]. *Planta* 2017, 246(4): 687–700.
- [33] Wu S Y, Xie Y R, Zhang J J, et al. VILN2 regulates plant architecture by affecting microfilament dynamics and polar auxin transport in rice [J]. *The Plant Cell* 2015, 27(10): 2829–2845.
- [34] Mittermann I, Voronin V, Heberle-Bors E, et al. Identification of a villin-related tobacco protein as a novel cross-reactive plant allergen [J]. *FEBS Letters* 2005, 579(17): 3807–3813.
- [35] Li X, Zhuang Y H, Zhao W Y, et al. Molecular and functional adaption of *Arabidopsis* villins [J]. *New Phytologist* 2025, 245(3): 1158–1179.
- [36] 徐婧. 水稻 VILN 基因家族的鉴定与生物信息学分析 [J]. 蚌埠学院学报, 2023, 12(2): 1–6, 30.
- [37] Deep A, Pandey D K, Deep A, et al. Genome-wide analysis of VILLIN gene family associated with stress responses in cotton (*Gossypium* spp.) [J]. *Current Issues in Molecular Biology* 2024, 46(3): 2278–2300.
- [38] Lv F N, Wang S, Tian R P, et al. Villin family members associated with multiple stress responses in cotton [J]. *Phyton* 2021, 90(6): 1645–1660.
- [39] 张中起, 梁邦平, 王俊涛, 等. 大豆 VILN 基因家族的全基因组鉴定及组织表达分析 [J]. 江苏农业科学, 2023, 51(3): 35–45.
- [40] Chen C J, Wu Y, Li J W, et al. TBtools-II: a “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining [J]. *Molecular Plant* 2023, 16(11): 1733–1742.
- [41] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38(7): 3022–3027.
- [42] 郭娅, 任昊, 王洪章, 等. 高温干旱复合胁迫抑制夏玉米光系统 II 性能降低籽粒产量 [J]. 中国农业科学, 2024, 57(21): 4205–4220.
- [43] 陈国立, 徐超峰, 许卫猛, 等. 河南省玉米新品种产量与主要农艺性状综合分析及评价 [J]. 种子, 2024, 43(9): 53–58, 77.
- [44] 赵瑞宁, 李永生, 汪军成, 等. 外源甲基乙二醛对干旱胁迫下玉米种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 江苏农业学报, 2025, 41(1): 28–34.
- [45] 张静. 棉花 Villin 基因家族的鉴定及 GhVILN4 的抗逆性研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- [46] Zhang H, Qu X L, Bao C C, et al. *Arabidopsis* VILLIN5, an actin filament bundling and severing protein, is necessary for normal pollen tube growth [J]. *The Plant Cell* 2010, 22(8): 2749–2767.