植物遗传资源学报
Journal of Plant Genetic Resources
ISSN 1672-1810,CN 11-4996/S

《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目：水稻 DRP 基因家族鉴定及表达分析
作者：程艳双，袁博，王嘉宇
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20251018003
收稿日期：2025-10-18
网络首发日期：2025-12-22
引用格式：程艳双，袁博，王嘉宇．水稻 DRP 基因家族鉴定及表达分析[J/OL]．植物遗传资源学报. https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20251018003

植物遗传资源学报
Journal of Plant Genetic Resources　DOI:10.13430/j.cnki.jpgr.20251018003

水稻 *DRP* 基因家族鉴定及表达分析

程艳双，袁博，王嘉宇

（沈阳农业大学水稻研究所/农业农村部东北水稻生物学与遗传育种重点实验室，沈阳 110866）

摘要：动力相关蛋白（DRP）是一类大分子 GTP 水解酶蛋白，参与胞质分裂、细胞器分裂、膜系统运输和网格蛋白介导的后高尔基体转运等细胞活动。本研究在水稻（*Oryza sativa* L.）基因组中共鉴定出 14 个 *OsDRP* 基因，利用生物信息学方法对其理化性质、保守结构域、顺式作用元件、进化关系和非生物胁迫下的表达模式等进行分析。结果表明，OsDRP 蛋白为大分子不稳定蛋白，亚细胞定位在线粒体、细胞质和叶绿体上。同一亚家族的保守基序、保守结构域及外显子的数量和分布相似，都含有 Motif 1、Motif 2 和 Motif 7 基序。*OsDRP* 家族在进化中存在 3 组大片段复制事件，Ka/Ks 均小于 1，为净化选择。*OsDRP* 基因启动子上包含脱落酸、生长素、低温、干旱、光响应和植物生长发育相关顺式作用元件。qRT-PCR 试验表明，*OsDRP1E* 和 *OsDRP3A* 基因在 4℃和 20%PEG 处理下表达量均显著增加，可能是响应非生物胁迫的重要基因。OsDRP 与网格蛋白接头复合体和四肽重复蛋白存在互作关系，OsDRP2A 和 OsDRP2B 结合能为-17.4 kcal/mol。以上结果为深入研究水稻 *DRP* 家族在水稻生长发育中的基因功能提供了理论参考。

关键词：水稻; *DRP* 基因家族; 全基因组鉴定; 胁迫响应

Identification and Expression Analysis of the *DRP* Gene Family in Rice

CHENG Yanshuang, YUAN Bo, WANG Jiayu

(*Rice Research Institute, Shenyang Agricultural University/Key Laboratory of Northeast Rice Biology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs , Shenyang110866*)

Abstract: Dynamin-related proteins (DRPs) are a class of large molecular GTPase proteins involved in cellular activities such as cytoplasmic division, organelle fission, membrane system transport, and post-Golgi trafficking mediated by clathrin proteins. This study identified a total of 14 *DRP* genes in the rice (*Oryza sativa* L.) genome, and analyzed their physicochemical properties, conserved domains, *cis*-acting elements, evolutionary relationships, and expression patterns under abiotic stress using bioinformatics methods. The results indicate that OsDRP proteins are large unstable proteins, with subcellular localization in mitochondria, cytoplasm, and chloroplasts. The same subfamily are similar in the number and distribution of conserved motifs, domains, and exons, all containing Motif 1、Motif 2 and Motif 7. The *OsDRP* family has three large segment duplication events in its evolution, with Ka/Ks values both being less than 1, indicating purifying selection. The promoters of *OsDRP* genes contain *cis*-acting elements related to abscisic acid, auxin, low temperature, drought, light response, and plant growth and development. The qRT-PCR test indicated that the expression levels of *OsDRP1E* and *OsDRP3A* genes significantly increased under 4℃ and 20%PEG treatment, and they might be important genes in response to abiotic stress. OsDRP interacts with the clathrin adaptor complex and tetratricopeptide repeat proteins, and the binding energy of OsDRP2A and OsDRP2B is -17.4 kcal/mol. These findings provide a theoretical basis for further investigating the gene functions of the *DRP* family in rice growth and development.

Key words：rice; *DRP* gene family; genome-wide identification; stress response

---

收稿日期：2025-10-18

第一作者研究方向水稻分子生理机制研究，E-mail: 18302427383@163.com

通信作者：王嘉宇，研究方向为水稻分子遗传育种与种质创新，E-mail: wangjiayu@syau.edu.cn

基金项目：生物育种国家科技重大专项（2023ZD04022）；沈阳市自然科学基金项目（23-503-6-20）
Foundation projects: Biological Breeding-National Science and Technology Major Project (2023ZD04022); Shenyang Municipal Natural Science Foundation, China (23-503-6-20)

动力相关蛋白（DRP,dynamin-related protein）是一类含有 GTP 水解酶活性的蛋白，其保守结构域包括 GTP 水解酶结构域（Dynamin-N,PF00350），Dynamin 中间结构域（Dynamin-M,PF01031），GTP 水解酶效应域（GED,PF02212），pleckstrin 同源结构域（PH,PF00169）和富脯氨酸结构域（PRD）。GTP 水解酶结构域是保守程度最高的功能域，主要负责结合和水解 GTP。Dynamin 中间结构域是介导二聚化的中间域，可以和 GED 结构域的 N 端结构域形成一个杆状的颈部，启动自我组装[1]。GED 是调节 GTPase 活性的效应因子[2]。PH 结构域，又称普列克底物蛋白可以结合磷脂酰肌醇脂类，主要负责动力蛋白与膜的结合[3]。PRD 是一个位于 C 端富含脯氨酸的结构域，参与动力蛋白在内吞区的定位并在内吞过程中使动力蛋白的功能与其它因子相协调[4]。DRP 蛋白通过与质膜上脂类物质结合，并寡聚化形成螺旋或环状结构，这种自我寡聚化激活了 GTP 水解作用，由此产生的机械力使膜扭曲或拉伸，促进囊泡与质膜之间凹陷的形成。酿酒酵母 Drp（Vps1）和过氧化物酶体膜蛋白 Pex27 相互作用，维持增殖酵母细胞中过氧化物酶体数量[5]。Drp1 参与哺乳动物细胞中的线粒体分裂，线粒体失调是引发多种疾病的原因[6]。心肌细胞 Drp1 丧失会导致心肌纤维化升高，大量心肌细胞坏死[7]。有氧运动可以通过磷酰胺 3-激酶（PI3K）/蛋白激酶 B（AKT）通路调节 DRP1 下调，来抑制肝细胞癌发展[8]。在神经系统中，Drp1 缺乏会导致树突状细胞线粒体增大，突触传递抑制可能加重神经退行性疾病[9]。

植物动力蛋白存在于不同的亚细胞位置，参与了多种细胞活动，如细胞板形成、内吞作用、胞吐作用、蛋白质分选到液泡和质膜以及线粒体和叶绿体的分裂。在拟南芥中有 16 个基因编码 DRP，根据功能和序列相似性分为 6 个亚家族 DRP1-DRP6[10]。DRP1A、DRP1C 和 DRP1E 定位于胞质分裂细胞的细胞板上、质膜上或细胞骨架中发挥特定作用[11-15]。DRP2 蛋白可能参与高尔基体、质膜和液泡之间的网格蛋白包被囊泡运输[16-17]。DRP3 可能参与线粒体和过氧化物酶体的分裂[18-20]。DRP5 与其他亚家族不同，定位于叶绿体。前人研究表明 DRP5B 定位于叶绿体分裂环，参与叶绿体分裂[21-22]。DRP4 和 DRP6 亚家族的功能目前尚不清楚。在番茄中，SlDRP2A 与受体样蛋白（RLP）LeEIX2 结合，利用胞吞传递受体介导的信号，在植物免疫反应的信号传导中起作用[23]。Li 等[24]在玉米抗冻材料和冻害敏感材料的转录组差异基因中发现动力相关蛋白 GRMZM2G180335（Zm00001d012027）。在小麦中，抗病蛋白 TaYRG1.6 与 TaDrp1 形成复合物在膜运输系统中通过动员内吞通路中的脂质和激酶信号来触发细胞死亡[25]。

在水稻中有 3 个 DRP 蛋白的功能被鉴定和验证。*OsDRP1E* 是一个类病斑突变体致病基因，E409 残基是 OsDRP1E 定位到线粒体所必需的，点突变影响线粒体嵴的形态和细胞色素 *c* 释放到细胞质中，从而导致水稻的细胞程序性死亡[26]。*OsDRP1C* 突变体的 L 型侧根数量和直径均高于野生型，OsDRP1C 通过内吞作用影响生长素转运蛋白 PIN 蛋白在水稻根系中的定位，从而影响生长素在侧根原基中的分布，参与侧根的形成[27]。OsDRP2B 的功能是通过脆秆突变体 *bc3* 被发现的，OsDRP2B 参与胞吞作用，调控质膜上纤维素合酶催化亚基 OsCESA4 的丰度，可能还参与后高尔基体的跨膜转运，跨膜转运对次生细胞壁的纤维素合成十分重要，进而导致水稻植株较差的机械性能[28-30]。

虽然植物 DRP 蛋白的结构与功能已经在拟南芥中被明确解析和充分验证，但在水稻中的功能知之甚少。本研究利用生物信息学技术，系统鉴定了水稻基因组中的 *DRP* 家族成员，对该家族成员的基因结构、保守结构域、染色体定位及进化关系等基因信息展开全面解析；通过低温和干旱处理，分析水稻 *DRP* 家族基因在逆境处理条件下的响应表达情况，为后续深入理解该家族蛋白在水稻生长发育及逆境响应中的功能机制提供了理论依据。

1. 材料与方法

1.1 *OsDRP* 基因家族的全基因组鉴定及表征

从 Ensembl Plants（https://plants.ensembl.org/index.html）数据库下载水稻和拟南芥全基因组序列及 GFF 注释文件。利用 TBtools[31]的 Blast Compare 工具以拟南芥 DRP 家族蛋白序列为模板对水稻基因组蛋白序列进行比对，分析得到水稻中相应的 *DRP* 基因家族成员；此外下载 Pfam 数据库（http：//pfam.xfam.org/）hmm 文件，利用 TBtools 的 HMM Search 工具提取含有 DRP（Dynamin-related protein）结构域（PF00350: Dynamin-N; PF01031: Dynamin-M; PF00169: PH; PF02212: GED）的蛋白质序列，去掉可信值低的成员，提取基因号。Blast 和 HMM 两组结果做交集，最终确定 *OsDRP* 家族成员。

利用 ExPASY 在线工具（https://web.expasy.org/protparam/）预测基本理化性质。利用 Plant-mPLoc 在线工具（http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/）预测亚细胞定位。

1.2 *OsDRP* 基因的系统发育、保守基序、基因结构和进化关系分析

利用 MEGA11.0 软件中 ClustalX 功能比对水稻、高粱、玉米和拟南芥的 *DRP* 蛋白质序列，使用 Neighbour-Joining 分析方法构建系统发育树。

OsDRP 基因的系统发育、基因结构、保守基序和进化关系分析及作图利用 TBtools 软件完成。利用 One Step Build a ML Tree 工具进行系统发育分析。利用 Simple MEME 工具预测

保守基序，根据 E-value 设置 motif 个数为 10。在 NCBI（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd）Batch CD-Search 下载 *OsDRP* 家族保守结构域信息，利用 NCBI CDD Domain Pattern 工具可视化。利用 Visualize Gene Structure 工具进行基因结构可视化。利用 One Step MCScanX-Super Fast 进行物种内和物种间共线性分析。物种内共线性关系用 Advance Circos 进行可视化。将水稻和拟南芥的基因组序列两两比对，合并比对结果文件后，用 Multiple Synteny Plot 进行物种间共线性关系可视化。利用 Simple Ka/Ks Calculator 计算水稻重复基因之间非同义突变（Ka）与同义突变（Ks）的比值（Ka/Ks）。

1.3 *OsDRP* 基因 GO 数据库功能注释及蛋白质网络互作分析

在 https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/网站下载 *OsDRP* 基因的 GO 功能注释，并按生物过程、分子功能和细胞组分进行分类统计。

将 *OsDRP* 家族的基因号提交至 String 网站（https://cn.string-db.org/），得到的蛋白质互作网络数据利用 Cytoscape 软件进行可视化。在 UniProtKB 数据库中获取 *OsDRP2A* 和 *OsDRP2B* 的蛋白结构，将获取的两种目标蛋白结构同时输入 GRAMM（http://gramm.compbio.ku.edu/gramm），采用蛋白-蛋白对接参数启动计算，收集系统输出的 TOP 10 对接结果。对接完成后使用 PDBePISA（http://www.ebi.ac.uk/mad-srv/prot_int/）计算结合自由能，并采用 pymol（http://pymol.org/2）进行可视化分析。以结合能作为核心评价指标，同时深入分析氢键作用及关键氨基酸残基等特征。

1.4 *OsDRP* 基因启动子顺式作用元件分析

提取 *OsDRP* 基因上游 2000 bp 碱基序列，提交至 Plant CARE 在线工具（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/）预测各成员启动子顺式作用元件，利用 Tbtools 中 HeatMap 工具绘制热图。

1.5 *OsDRP* 基因组织表达模式分析

从水稻转录组数据库（https://plantrnadb.com//ricerna/download/）下载 *OsDRP* 基因在不同组织中的转录组表达数据，利用 Tbtools 中 HeatMap 工具绘制热图。

1.6 水稻幼苗低温及干旱胁迫处理

以水稻品种“沈农 9816”为试验材料，选取成熟饱满的水稻种子在 0.3%次氯酸钠溶液中浸泡 20 进行消毒。冲洗干净的种子在 30℃培养箱中浸泡 24 h 进行发芽，选取长势一致的种子于 96 孔黑色培养盒中培养至三叶一心期。低温胁迫：将水稻幼苗放置植物培养箱，温度调为 4℃。干旱处理：用 20%PEG 溶液处理水稻幼苗。胁迫处理 24 h 后采集样品，立即放置在液氮中速冻，于－80°C 冰箱保存。

1.7 RNA 提取及荧光定量 qRT-PCR 分析

水稻幼苗的 RNA 提取（RC411-01,Vazyme），反转录（R333-C1,Vazyme），荧光定量反应（Q411-02,Vazyme）均按照试剂盒的说明实施。qRT-PCR 反应用引物在生工 Sangon Biotech 公司合成，详细序列信息详见表 1，反应使用荧光定量仪 Applied Biosystems QuantStudio 3 （Thermo,USA）测定。基因相对表达量计算采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法，以正常条件下生长的水稻幼苗为对照，每个样品三次生物学重复，通过 GraphPad Prism8 软件对不同处理下的基因表达量进行差异显著性分析，并绘制柱状图。

表 1 *OsDRP* 基因 qRT-PCR 定量引物信息

Table 1 Information on qRT-PCR Quantitative Primers for the *OsDRP* Gene

引物名称 Primer name	引物序列(5'to 3') Primer sequence （5′-3′）	退火温度(°C) Annealing temperature	产物长度(bp) Product length
OsDRP1A-F-RT	TCAACAAGCTGCAGCGGGC	64	150
OsDRP1A-R-RT	CCTTCCCAACAACGCTCTCC	61	
OsDRP1B-F-RT	ATTGTTACACGGCGCCCTCTG	62	151
OsDRP1B-R-RT	GGCCGGTAGCTCGTTCAGTT	63	
OsDRP1C-F-RT	TGGTGAACCGGATCCAGCGG	63	140
OsDRP1C-R-RT	GCTCTCGAGCACCGACGAC	63	
OsDRP1D-F-RT	CGTGATCGTGCTCGTGAACCG	62	157
OsDRP1D-R-RT	CTCCAGCACCGATGACTTGCC	63	
OsDRP1E-F-RT	GATCGGCCTGATGAACCGCA	63	145
OsDRP1E-R-RT	CACGGAGGACTTGCCCGAAC	62	
OsDRP2A-F-RT	GCAAGTCGGCCGTGCTGAAC	63	130
OsDRP2A-R-RT	GCAGCACGATGGACTTGCTGC	64	
OsDRP2B-F-RT	TGCTCAACAGCCTCATCGGC	62	130
OsDRP2B-R-RT	CTGTCGATCTGCAGGACGATGG	61	
OsDRP2C-F-RT	GCTCAATGGATTGATCGGCCAC	61	143
OsDRP2C-R-RT	CCTGCTGCGACTTGCTGTC	60	
OsDRP3A-F-RT	ATGACTTCCGCGAAATCCGCC	62	143
OsDRP3A-R-RT	CCCAGGCAAGTCAACCAACGT	63	
OsDRP3B-F-RT	GCTTCCACGACTTCGACCAGATC	61	148
OsDRP3B-R-RT	CCAGGGAGGTCAACCAAGGTG	62	
OsDRP4A-F-RT	AAGTCGAGCGTGCTCGAGTC	61	136
OsDRP4A-R-RT	TGCTGTACTCCAGCTGCAGC	62	
OsDRP4B-F-RT	ATGATGGATGGCCAGAGCAGG	61	130
OsDRP4B-R-RT	GTGCGACACGTCGGTCTCT	62	
OsDRP5A-F-RT	TCCAGATGGTCCACGACCCCA	61	142

OsDRP5-R-RT	TTCCTGAGGTGCGCTTCAGTC	61	
OsDRP5B-F-RT	GACACTCCAGGCCTCATCCTAC	61	165
OsDRP5B-R-RT	CTCTCCTTGTAGTTGCATTGCTCC	59	
Actin-RT-F	TCACTGCCTTGGCTCCTAGC	60	200
Actin-RT-R	GCATTTCCTGTGCACAATGG	60	

2. 结果与分析

2.1 *OsDRP* 基因家族的鉴定

通过 Blast 比对序列和 Pfam 数据库筛选两种方法最终确定了 14 个 *OsDRP* 家族成员，并分为了 *OsDRP1-OsDRP5* 亚家族。由表 2 可知，*OsDRP* 家族蛋白质分子质量在 20.31~100.39 kDa 之间，除了 OsDRP1B 蛋白，其他蛋白质分子质量均在 60 kDa 以上，属于大分子蛋白；等电点在 5.93~9.21 之间，其中有 7 个酸性蛋白（等电点小于 7）；不稳定系数大于 40 的为不稳定蛋白，OsDRP4B 蛋白结构相对稳定，其他家族成员为不稳定蛋白；所有蛋白的亲水性系数均为负，均属于亲水性蛋白。亚细胞定位预测结果表明，OsDRP1 和 OsDRP3 亚家族蛋白定位在线粒体上，OsDRP2 和 OsDRP4 亚家族定位在细胞质，OsDRP5 定位在叶绿体。

表 2 *OsDRP* 基因家族的蛋白质理化性质

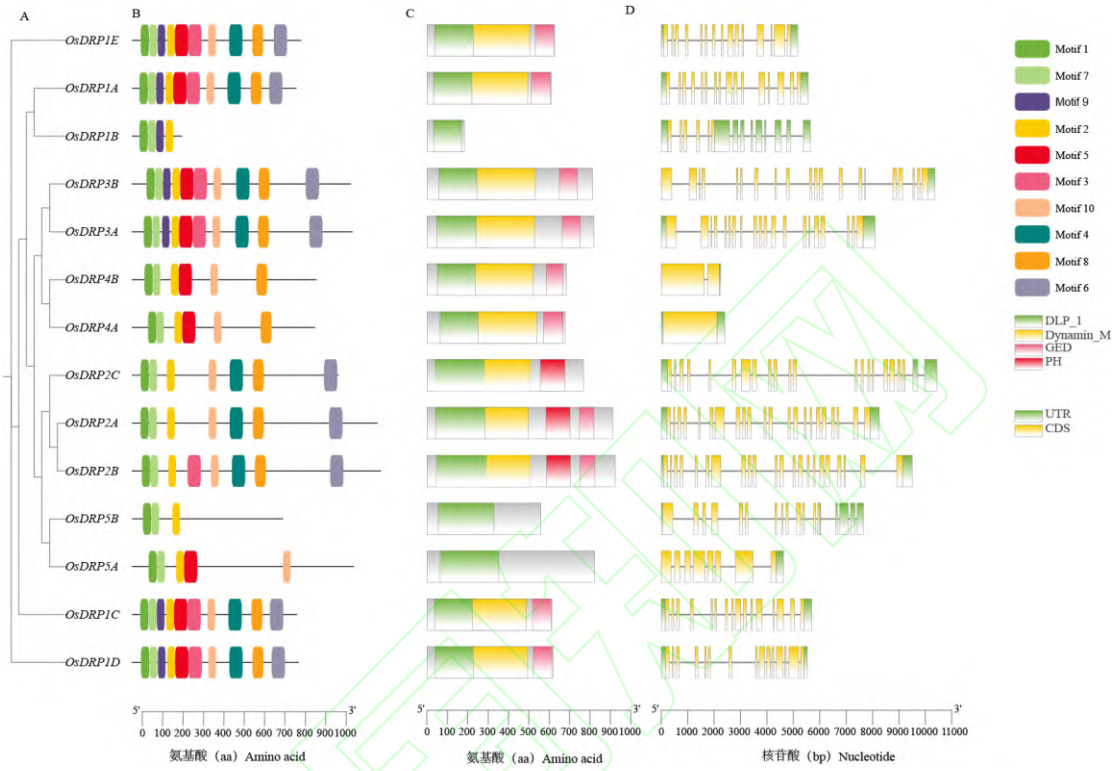
Table 2 Physicochemical properties of *OsDRP* genes in rice

基因名称 Gene name	基因号 Gene ID	分子质量(kDa) Molecular weight	等电点 pI	不稳定系数 Instability index	亲水性系数 Hydrophilic coefficient	亚细胞定位 Subcellular localization
OsDRP1A	*LOC_Os05g48240*	68.68	7.65	59.40	-0.334	线粒体
OsDRP1B	*LOC_Os01g48900*	20.31	5.95	55.41	-0.021	线粒体
OsDRP1C	*LOC_Os03g50520*	68.03	8.39	50.56	-0.355	线粒体
OsDRP1D	*LOC_Os10g41820*	69.38	7.26	45.00	-0.316	线粒体
OsDRP1E	*LOC_Os09g39960*	69.50	6.55	40.48	-0.308	线粒体
OsDRP2A	*LOC_Os06g13820*	99.24	9.21	43.02	-0.582	细胞质
OsDRP2B	*LOC_Os02g50550*	100.39	9.19	41.36	-0.541	细胞质
OsDRP2C	*LOC_Os08g32920*	83.93	9.19	47.31	-0.289	细胞质
OsDRP3A	*LOC_Os01g69130*	90.03	6.56	45.52	-0.343	线粒体
OsDRP3B	*LOC_Os04g31190*	88.85	7.05	48.16	-0.267	线粒体
OsDRP4A	*LOC_Os03g15420*	75.07	5.93	48.81	-0.151	细胞质
OsDRP4B	*LOC_Os04g04060*	75.74	6.12	37.09	-0.259	细胞质
OsDRP5A	*LOC_Os01g54420*	90.94	6.86	45.83	-0.339	叶绿体
OsDRP5B	*LOC_Os12g07880*	61.86	6.12	42.70	-0.174	叶绿体

2.2 *OsDRP* 家族基因的保守基序/域和基因结构分析

同一亚家族的保守基序和基因结构分布高度相似。*OsDRP* 基因都含有 Motif 1、Motif 2 和 Motif 7 基序，*OsDRP1* 和 *OsDRP3* 亚家族含有 10 个 Motif 基序。*OsDRP1*、*OsDRP3* 和 *OsDRP4* 亚家族有 3 个高度保守的结构域，*OsDRP2* 亚家族有 4 个保守结构域，*OsDRP5* 亚

家族和 *OsDRP1B* 只含有 DLP（Dynamin-1-like protein）结构域。*OsDRP2* 亚家族特有 PH（Pleckstrin Homology）结构域，可能与其膜靶向、活性调控等功能有关。*OsDRP4* 亚家族外显子个数最少，其他亚家族均含有多个外显子（图 1）。



A:系统发育树; B:保守基序; C:保守结构域; D:基因结构

A: Phylogenetic tree B: Conserved motif; C: Conserved domain; D: Gene structure

图 1 *OsDRP* 家族系统发育及结构分析

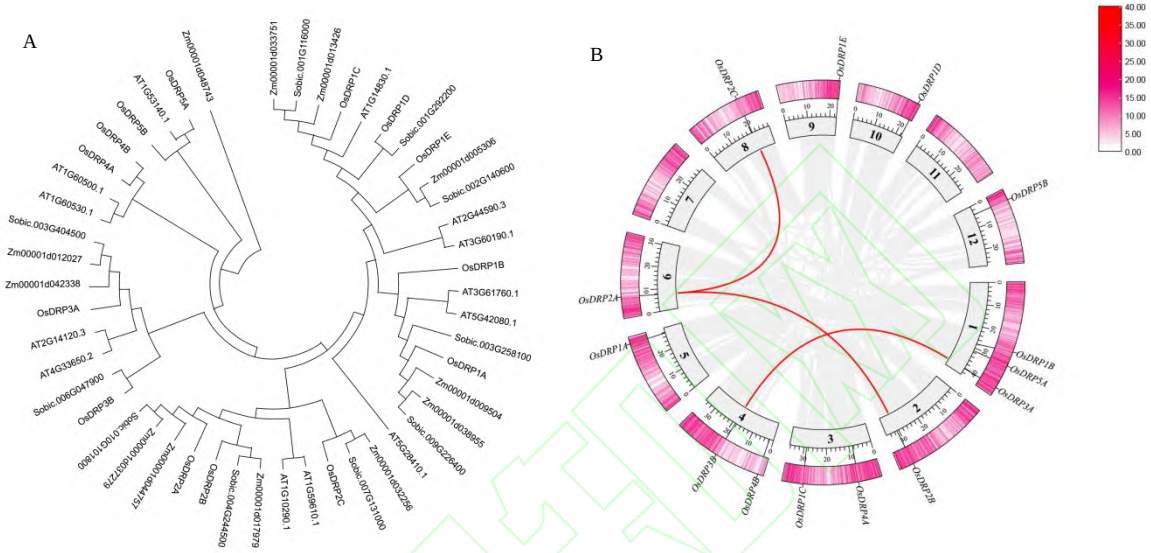
Fig. 1 Phylogenetic and structural analysis of the *OsDRP* family in rice.

2.3 *DRP* 基因系统进化及共线性分析

由水稻、拟南芥、玉米和高粱的 *DRP* 基因进化树可以清晰分辨不同亚家族的分支，其中 *DRP1* 亚家族成员最多。玉米中 *Zm00001d009540* 与 *OsDRP1A* 分支最近，*Zm00001d013426* 与 *OsDRP1C* 分支最近，*Zm00001d005306* 与 *OsDRP1E* 分支最近（图 2A）。

在水稻中，14 个 *OsDRP* 基因分布在 10 条染色体上。*OsDRP1B*、*OsDRP3A*、*OsDRP5A* 位于 1 号染色体；*OsDRP2B* 位于 2 号染色体；*OsDRP1C*、*OsDRP4A* 位于 3 号染色体；*OsDRP4B*、*OsDRP3B* 位于 4 号染色体；*OsDRP1A* 位于 5 号染色体；*OsDRP2A* 位于 6 号染色体；*OsDRP2C* 位于 8 号染色体；*OsDRP1E* 位于 9 号染色体末端；*OsDRP1D* 位于 10 号染色体；*OsDRP5B* 位于 12 号染色体。种内共线性分析表明，*OsDRP* 家族不存在串联重复事件区，但包含 *OsDRP2A*/*OsDRP2C*、*OsDRP2B*/*OsDRP2A*、*OsDRP3A*/*OsDRP3B* 大片段复制基因对。所有

基因对的 Ka/Ks 值均小于 1，说明 *OsDRP* 基因在进化过程中可能经历了净化选择压力，也说明了基因对的结构稳定且进化保守，突变可能导致功能异常（图 2B 和表 3）。拟南芥、大豆、玉米和高粱与水稻之间分别存在 3 个、3 个、24 和 18 个 *DRP* 同源基因对，水稻和玉米的 *DRP* 基因亲缘关系更近。*OsDRP1C*、*OsDRP1D* 和 *OsDRP2B* 在单双子叶中均存在同源基因，可能是进化中受到自然选择的保留，对植株具有重要功能（图 3）。



A:不同植物 *DRP* 家族成员系统进化关系；B: *OsDRP* 家族的种内共线性分析，红色曲线连接片段复制的基因对；外侧部分指示基因在染色体上的对应位置，灰色框对应不同的染色体（Chr 01~Chr 12）

A：A phylogenetic relationship of *DRP* family members in different plants; B: Intraspecific colinear analysis of OsDRP genes family ,Red curved line connects duplicated gene pairs；The outer part indicates the location of these genes on the chromosome， and the grey boxs correspond to different chromosomes (Chr 01-Chr 12)

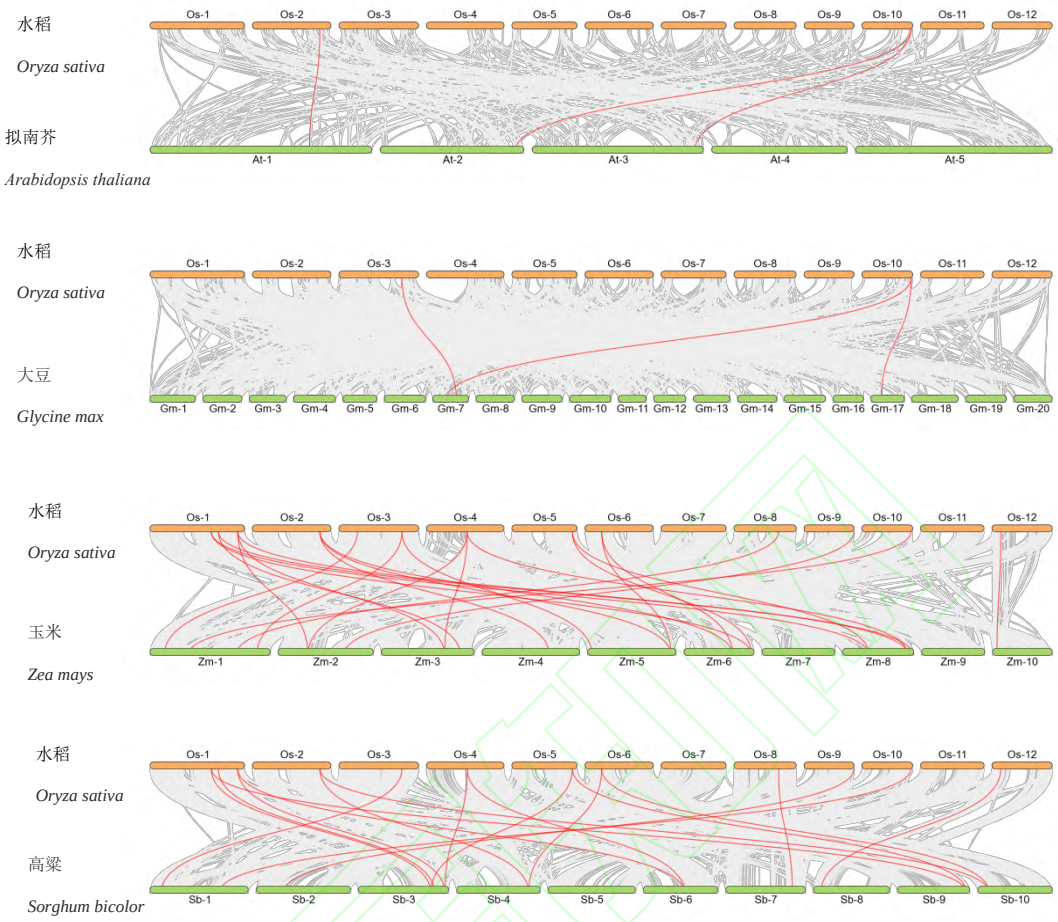
图 2 不同物种 *DRP* 基因进化关系及 *OsDRP* 家族的种内共线性分析

Fig. 2 The evolutionary relationship of DRP genes among different species and intraspecific colinear analysis of *OsDRP* genes family

表 3 *OsDRP* 家族大片段复制基因对 Ka/Ks

Table 3 Large fragment replication genes of the *OsDRP* family for Ka/Ks

序列 1 Sequence1	序列 2 Sequence2	非同义替换率 Ka	同义替换 Ks	Ka/Ks	有效长度（bp）Effective Len
OsDRP2A	*OsDRP2C*	0.198156383	1.426427286	0.13891797	2268
OsDRP2B	*OsDRP2A*	0.086611572	0.762852943	0.113536394	2706
OsDRP3A	*OsDRP3B*	0.251746493	1.60074911	0.157267926	2352



红色高亮线为 *OsDRP* 基因的物种间共线性对，灰色线条为水稻与其他物种基因组的所有共线性区块

The red lines highlight collinear pairs of *OsDRP* genes，while the gray lines in the background represent collinear blocks between the genome of rice and the other species

图 3 水稻与不同物种间 *DRP* 基因的共线性分析

Fig. 3 Synteny analysis of *DRP* gene between rice and other species

2.4 *OsDRP* 基因 GO 数据库功能注释及蛋白质网络互作分析

GO（Gene Ontology）数据库由生物过程、分子功能和细胞组分 3 个维度进行基因注释。在生物过程方面，*OsDRP* 基因主要参与细胞分裂、线粒体分裂、过氧化物酶体分裂和内吞作用等生物过程；在分子功能方面，*OsDRP* 基因具备 GTP 酶活性和 GTP 结合功能，并与微管结合相关；在细胞组分方面，*OsDRP* 基因在成膜体、微管和细胞质中发挥重要作用（图 4）。

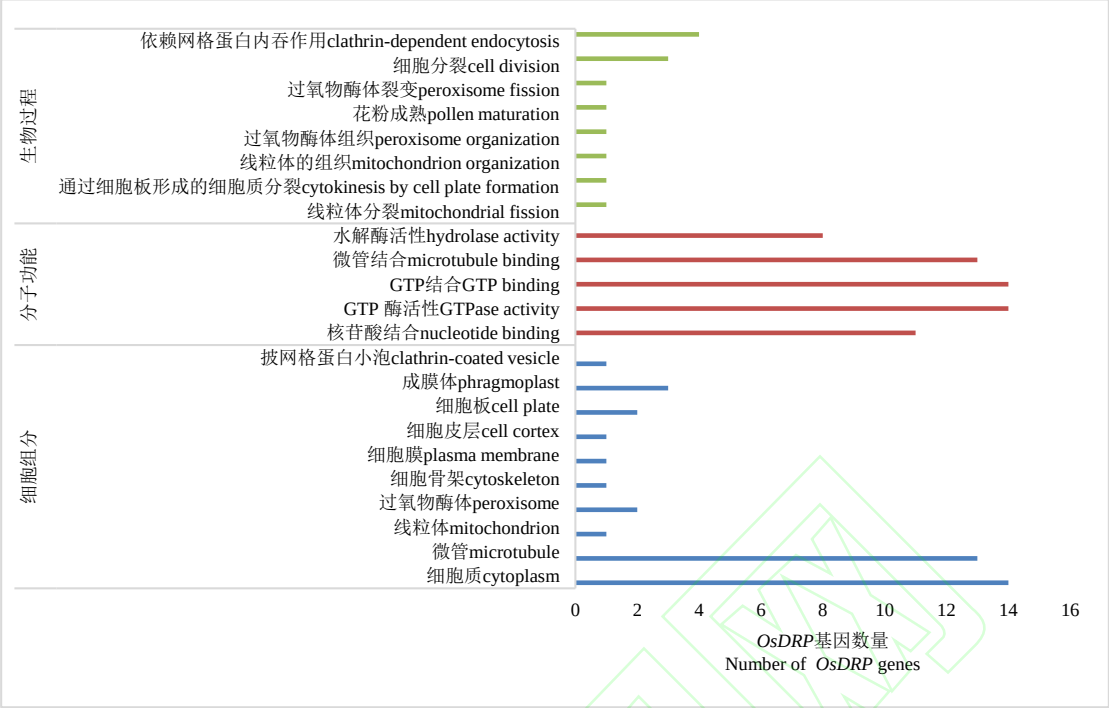
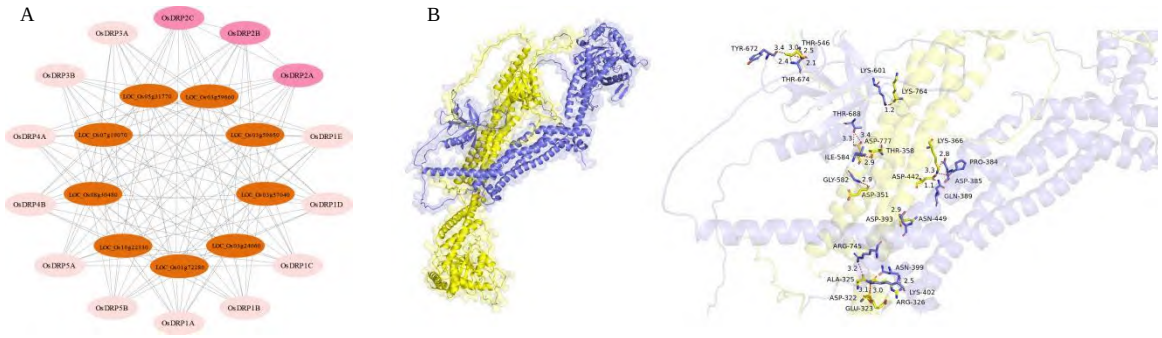


图 4 *OsDRP* 基因 GO 数据库注释分析

Fig. 4 GO database annotation analyse of *OsDRP* genes

通过蛋白互作网络预测发现，OsDRP 蛋白与网格蛋白接头复合体和四肽重复蛋白存在相互作用关系（图 5A）。*LOC_Os01g72280*、*LOC_Os05g31770* 和 *LOC_Os03g24060* 基因编码含有四肽重复的蛋白质，参与蛋白质的互作调控和多蛋白复合物的组装[32]；*LOC_Os03g59660*、*LOC_Os10g22330*、*LOC_Os08g304* 和 *LOC_Os03g57040* 基因编码网格蛋白接头复合体含小链结构域蛋白，通过识别跨膜蛋白的胞质尾部信号基序，介导网格蛋白与受体-配体复合物之间的连接[33]；*LOC_Os03g59650* 编码 BRCA1 羧基末端结构域（BRTC），串联的 BRCT 重复序列会形成一个有配体特异性的磷酸肽结合结构域；*LOC_Os07g19070* 编码前折叠蛋白，可调节蛋白质的正确折叠。基于 String 网站预测的蛋白质互作网络，以上 9 个基因与 *OsDRP* 家族的 14 个成员均存在互作关系，可能共同参与相关生物学过程的调控，为深入探究 *OsDRP* 家族的功能机制提供了重要线索。

OsDRP2 亚家族的 OsDRP2A、OsDRP2B、OsDRP2C 三个蛋白之间也被预测存在互作，为了进一步了解其相互作用关系，对 OsDRP2A 和 OsDRP2B 进行了蛋白质-蛋白质分子对接分析。结果表明 GRAMM 刚性对接排名第 1 的构象结合能为 -17.4 kcal/mol，表明两种目标蛋白可在表面形成稳定的相互作用体系。两个蛋白表面接触组合在一起，有多个氨基酸残基通过氢键相互作用，这更加稳固了蛋白结合稳定性（图 5B）。



A：蛋白质互作网络；B：OsDRP2A 和 OsDRP2B 分子对接，黄色蛋白代表 OsDRP2A，紫色蛋白代表 OsDRP2B

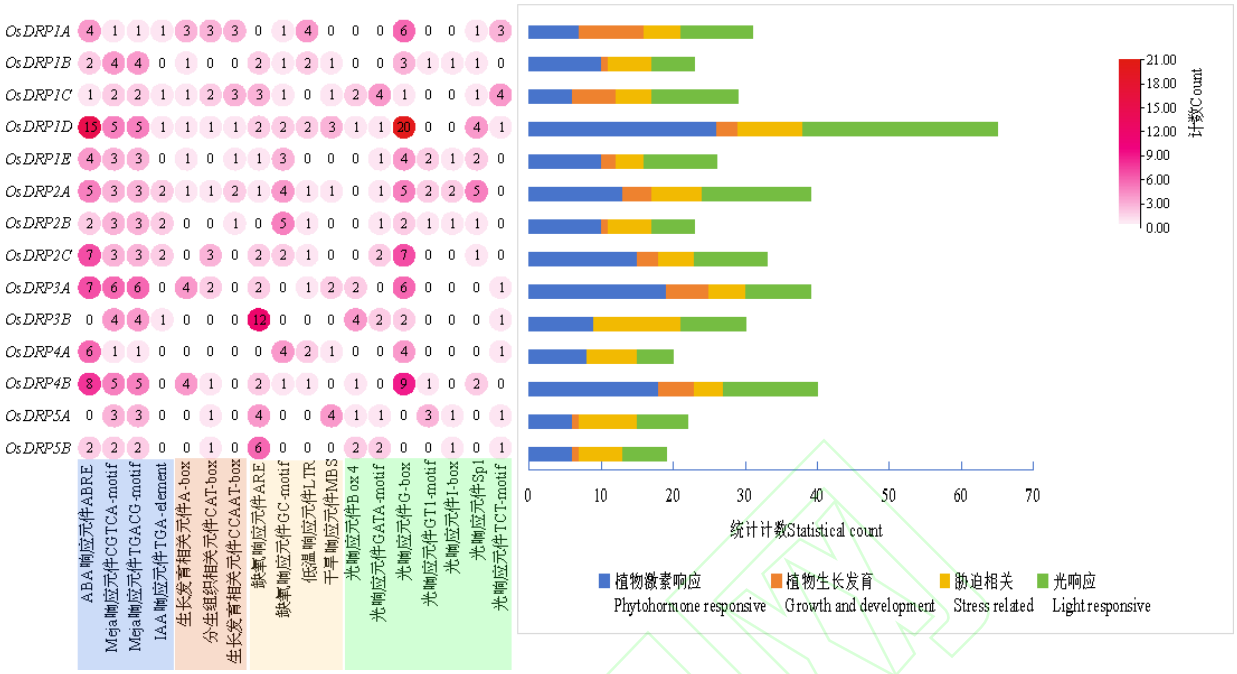
A: Protein interaction network; B: OsDRP2A and OsDRP2B molecules dock, yellow protein represents OsDRP2A, and purple protein represents OsDRP2B

图 5 *OsDRP* 家族蛋白质互作网络

Fig. 5 The *OsDRP* family protein interaction network

2.5 *OsDRP* 基因启动子顺式作用元件分析

根据 *OsDRP* 基因启动子区顺式作用元件的统计分析，将其按功能分成 4 类，分别为植物激素响应、生长发育、胁迫相关和光响应元件。*OsDRP* 基因含有多个 ABA 响应元件（ABRE）和 Meja 响应元件（CGTCA-motif 和 TGACG-motif）；*OsDRP2* 亚家族含有 IAA 响应元件 TGA-element，推测 *OsDRP2* 亚家族与 IAA 调控的生长过程有关，如植物株高、根长、向光性和向地性等。植物生长发育相关元件有 A-box、CAT-box 和 CCAAT-box 基序。响应缺氧（ARE 和 GC-motif）、低温（LTR）和干旱（MBS）的元件可能对 *OsDRP* 基因在各种胁迫条件下的转录调控起关键作用，其中缺氧响应元件数量最多，ARE 有 37 个，GC-motif 有 24 个。光响应元件种类最多，包含 Box 4、GATA-motif 和 G-box 等，其中 G-box 元件数量有 69 个。*OsDRP* 家族启动子区域富含不同种类和数量的顺式作用元件，表明脱落酸、茉莉酸、生长素、低氧、低温、干旱和光照可能会影响 *OsDRP* 基因的表达，使植株能够对多种内部和外部刺激做出反应（图 6）。



圆圈内数字表示顺式作用元件的个数

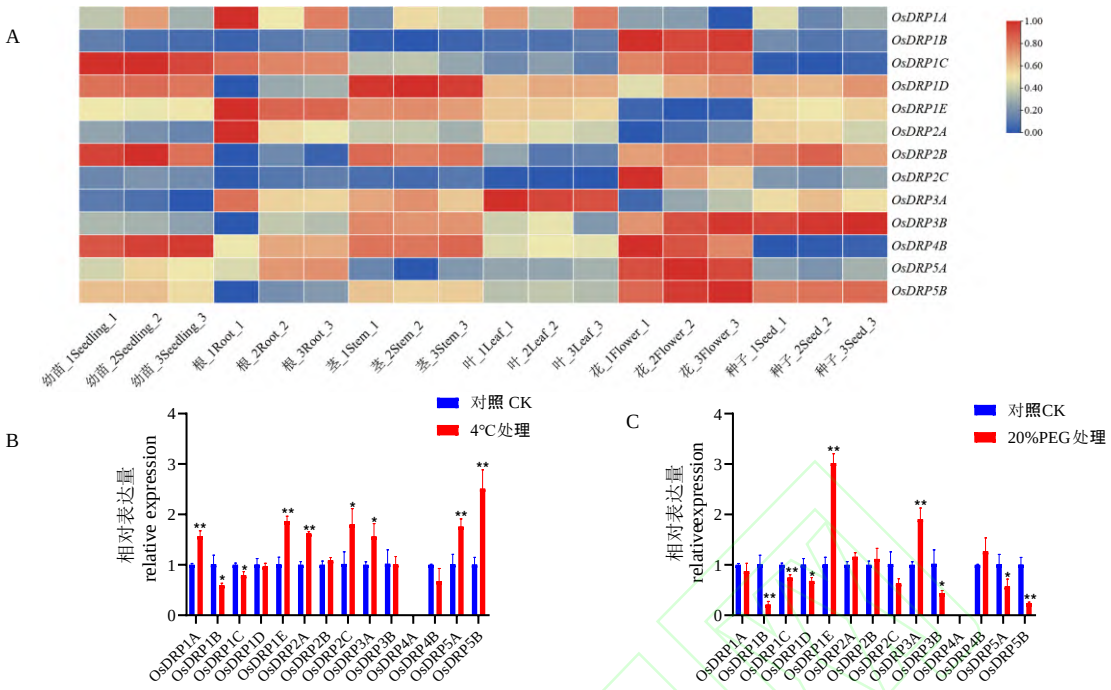
The number in the circle represents the number of *cis*-acting elements

图 6 *OsDRP* 家族基因启动子顺式作用元件分析

Fig. 6 Analysis of *cis*-acting elements in the promoters of *OsDRP* family genes

2.6 *OsDRP* 基因表达模式分析及非生物胁迫响应分析

基于转录组数据，分析 *OsDRP* 基因在幼苗、根、茎、叶、花和种子中的表达模式。*OsDRP1B*、*OsDRP2C* 和 *OsDRP5A* 在花中表达量较高，*OsDRP1C* 在幼苗、根和花中表达量较高，*OsDRP1D* 和 *OsDRP2B* 在幼苗和茎中表达量较高，*OsDRP1E* 在根中表达量较高，*OsDRP3A* 在叶中表达量较高，*OsDRP3B* 和 *OsDRP5B* 在花和种子中表达量较高，*OsDRP4B* 在幼苗和花中表达量较高（图 7A）。*OsDRP4A* 的表达量在所有组织中均小于 1，因此没有在热图中展示。根据启动子顺式作用元件的特征，对水稻幼苗进行了低温和模拟干旱非生物胁迫，通过荧光定量分析 *OsDRP* 基因在非生物胁迫下的相对表达量，与对照相比，4℃ 处理下 *OsDRP1A*、*OsDRP1E*、*OsDRP2A*、*OsDRP2C*、*OsDRP3A*、*OsDRP5A*、*OsDRP5B* 相对表达量显著或极显著增加，*OsDRP1B* 和 *OsDRP1C* 相对表达量显著降低；20%PEG 处理下，*OsDRP1E* 和 *OsDRP3A* 相对表达量极显著增加，*OsDRP1B*、*OsDRP1C*、*OsDRP1D*、*OsDRP3B*、*OsDRP5A*、*OsDRP5B* 相对表达量显著或极显著降低（图 7B 和 7C）。*OsDRP5* 亚家族在低温胁迫下表达升高，在干旱胁迫下表达下降，这可能与其在叶绿体中的功能有关，通过调节光合作用响应不同非生物胁迫对植株造成的伤害。



A: *OsDRP* 基因在不同组织中的表达量；B: 4°C 处理后 *OsDRP* 基因相对表达量；C: 20%PEG 处理后 *OsDRP* 基因相对表达量。

**表示在 $p<0.01$ 水平显著，*表示在 $0.01<p<0.05$ 水平显著

A: The expression levels of the OsDRP gene in different tissues; B: Relative expression level of the OsDRP gene after treatment at 4°C; C: Relative expression level of OsDRP gene after 20%PEG treatment.

** indicates significant at the $p < 0.01$ level, and * indicates significant at the $0.01 < p < 0.05$ level

图 7 *OsDRP* 基因在不同组织的表达模式及在非生物胁迫处理下的表达

Fig. 7 Gene expression pattern of the *OsDRP* in rice and expression under abiotic stress treatment

3. 讨论

DRP 蛋白在膜动力学、细胞器分裂、胞质分裂及后高尔基网格蛋白介导的转运等生物过程中发挥作用[34]。本研究鉴定了 14 个 *OsDRP*，系统进化分析将其划分成 *OsDRP1-OsDRP5* 亚家族。

研究结果表明，同一亚家族的亚细胞定位相同，保守基序/域和基因结构相似，说明同一亚家族成员功能的保守性具有分子基础。OsDRP1B 蛋白质分子质量远小于其他成员，但在转录组数据及 qRT-PCR 试验中检测到基因表达量，推测是由于基因组错误注释导致 OsDRP1B 基因编码区不完全，正确的注释结果需要进一步比对序列及基因扩增试验进行检验核实。OsDRP2 和 OsDRP3 亚家族的蛋白质分子质量相对较大，接近或达到了 100kDa，在结构上可能存在功能域组合和多亚基组装能力。Fujimoto 等[35]通过酵母双杂试验证明 AtDRP3A 和 AtDRP3B 存在相互作用，并发现其在叶表皮细胞中彼此共定位。本研究中预测了 OsDRP2 亚家族 3 个成员之间存在蛋白质互作，推测 OsDRP2 亚家族可能存在多亚基组装。物种间共线性表明，*OsDRP2* 和 *OsDRP3* 亚家族内，基因存在大片段复制事件，并受到

了净化选择，维持了进化过程中基因结构稳定和进化保守性。水稻与拟南芥、大豆、玉米和高粱之间存在共线性。拟南芥中 DRP1A 和 DRP1C 蛋白的丧失影响生长素的运输和分布，导致突变体在根生长和重力响应方面均有缺陷[36]；水稻中 OsDRP1C 影响生长素转运蛋白 PIN 在水稻根系中的定位，参与侧根的形成[27]。AtDRP1E 基因突变可能影响线粒体膜的结构和功能，使其更容易触发 PCD[37]；在水稻中，*OsDRP1E* 突变影响线粒体嵴的形态和细胞色素 *c* 释放到细胞质中，从而导致水稻的 PCD[26]。*AtDRP1* 和 *OsDRP1* 亚家族具有相似的功能，因此，在对 *OsDRP* 基因的研究中，可以结合不同物种中 DRP 家族同源基因的已知功能信息，对 *OsDRP* 家族各成员的潜在功能进行合理预测，为后续功能验证试验提供方向。

启动子顺式作用元件分析，*OsDRP* 基因启动子存在多个 ABA、MeJa、低氧、低温、干旱胁迫和光响应元件。*OsDRP2* 亚家族均含有 IAA 响应元件，在对前人研究的总结中发现，*OsDRP2B* 不同等位突变体不仅植株变脆，还均伴有株高变矮的表型[28,30,38-39]，推测 *OsDRP2B* 可能跟 IAA 信号通路调控相关，导致其突变体矮化。表达量数据分析表明，*OsDRP* 基因在不同水稻组织中表达存在差异。在拟南芥中，AtDRP1E 通过加速质膜上部分内吞作用和低温条件下质膜成分重排，从而提高植株耐冻性[40]，在本研究中 *OsDRP1E* 同样在低温处理表达量极显著升高，两者可能具有相似的分子功能。*OsDRP* 基因在 4°C（低温胁迫）和 20%PEG（干旱胁迫）处理下表达量发生不同程度的变化。在 4°C 处理后有 7 个基因表达上调，2 个基因表达下调；20%PEG 处理下有 2 个基因上调，6 个基因下调，推测 *OsDRP* 家族部分基因可能是水稻低温胁迫响应的关键候选基因，而对干旱胁迫则以表达抑制响应为主。

本研究共鉴定到 14 个 *OsDRP* 家族成员，都含有 Motif 1、Motif 2 和 Motif 7 保守基序。*OsDRP* 基因在进化过程发生 3 次复制事件，受到净化选择，维持了基因结构的稳定和保守性。转录组及 qRT-PCR 表达分析表明，*OsDRP* 基因的表达有明显的组织特异性且受不同非生物胁迫差异诱导，*OsDRP1E* 可能在低温胁迫中发挥重要作用。

参考文献

[1] Chen Y J, Zhang P, Egelman E H, Hinshaw J E. The stalk region of dynamin drives the constriction of dynamin tubes. Nature Structural & Molecular Biology, 2004, 11(6): 574–575

[2] Takei K, Yoshida Y, Yamada H. Regulatory mechanisms of dynamin-dependent endocytosis. Journal of Biochemistry, 2005, 137(3): 243–247

[3] Bethoney K A, King M C, Hinshaw J E, Ostap E M, Lemmon M A. A possible effector role for the pleckstrin homology (PH) domain of dynamin. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(32): 13359–13364

[4] Shpetner H S, Herskovits J S, Vallee R B. A binding site for SH3 domains targets dynamin to coated pits. The Journal of Biological

Chemistry, 1996, 271(1): 13–16

[5] Ekal L, Alqahtani A M S, Hettema E H. The dynamin-related protein Vps1 and the peroxisomal membrane protein Pex27 function together during peroxisome fission. Journal of Cell Science, 2023, 136(6): jcs246348

[6] Smirnova E, Griparic L, Shurland D L,van der Bliek A M. Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. Molecular Biology of the Cell, 2001, 12(8): 2245–2256

[7] Song M, Mihara K, Chen Y, Scorrano L, Dorn G W. Mitochondrial fission and fusion factors reciprocally orchestrate mitophagic culling in mouse hearts and cultured fibroblasts. Cell Metabolism, 2015, 21(2): 273–286

[8] Zhao T, Guo B J, Xiao C L, Chen J J, Lü C, Fang F F, Li B. Aerobic exercise suppresses hepatocellular carcinoma by downregulating dynamin-related protein 1 through PI3K/AKT pathway. Journal of Integrative Medicine, 2021, 19(5): 418–427

[9] Shields L Y, Kim H, Zhu L, Haddad D, Berthet A, Pathak D, Lam M, Ponnusamy R, Diaz-Ramirez L G, Gill T M, Sesaki H, Mucke L, Nakamura K. Dynamin-related protein 1 is required for normal mitochondrial bioenergetic and synaptic function in CA1 hippocampal neurons. Cell Death & Disease, 2015, 6(4): e1725

[10] Hong Z, Bednarek S Y, Blumwald E, Hwang I, Jurgens G, Menzel D, Osteryoung K W, Raikhel N V, Shinozaki K, Tsutsumi N, Verma D P. A unified nomenclature for Arabidopsis dynamin-related large GTPases based on homology and possible functions. Plant Molecular Biology, 2003, 53(3): 261–265

[11] Hong Z, Geisler-Lee C J, Zhang Z, Verma D P. Phragmoplastin dynamics: multiple forms, microtubule association and their roles in cell plate formation in plants. Plant Molecular Biology, 2003, 53(3): 297–312

[12] Gu X, Verma D P S. Phragmoplastin, a dynamin-like protein associated with cell plate formation in plants. The EMBO Journal, 1996, 15(4): 695–704

[13] Gu X, Verma D P S. Dynamics of phragmoplastin in living cells during cell plate formation and uncoupling of cell elongation from the plane of cell division. The Plant Cell, 1997, 9(2): 157–169

[14] Kang BH, Busse JS, Bednarek SY. Members of the *Arabidopsis* dynamin-like gene family, ADL1, are essential for plant cytokinesis and polarized cell growth. The Plant Cell, 2003, 15 (4): 899–913

[15] Kang B H, Busse J S, Dickey C, Rancour D M, Bednarek S Y. The *Arabidopsis* cell plate-associated dynamin-like protein, ADL1Ap, is required for multiple stages of plant growth and development. Plant Physiology, 2001, 126(1): 47–68

[16] Lam B C, Sage TL, Bianchi F, Blumwald E. Regulation of ADL6 activity by its associated molecular network. The Plant Journal, 2002, 31(5): 565–576

[17] Jin J B, Kim Y A, Kim S J, Lee S H, Kim D H, Cheong G W, Hwang I. A new dynamin-like protein, ADL6, is involved in trafficking from the trans-Golgi network to the central vacuole in *Arabidopsis*. The Plant Cell, 2001, 13(7): 1511–1526

[18] Lingard M J, Gidda S K, Bingham S, Rothstein S J, Mullen R T, Trelease R N. *Arabidopsis* PEROXIN11c-e, FISSION1b, and DYNAMIN-RELATED PROTEIN3A cooperate in cell cycle-associated replication of peroxisomes. The Plant Cell, 2006, 20(6): 1567–1585

[19] Arimura S, Tsutsumi N. A dynamin-like protein (ADL2b), rather than FtsZ, is involved in *Arabidopsis* mitochondrial division. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(8): 5727–5731

[20] Zhang X, Hu J The *Arabidopsis* chloroplast division protein DYNAMIN-RELATED PROTEIN5B also mediates peroxisome division. The Plant Cell, 2010, 22(2): 431–442

[21] Gao H, Kadirjan-Kalbach D, Froehlich J E, Osteryoung K W. ARC5, a cytosolic dynamin-like protein from plants, is part of the chloroplast division machinery. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100(7): 4328–4333

[22] Miyagishima S Y, Nishida K, Mori T, Matsuzaki M, Higashiyama T, Kuroiwa H, Kuroiwa T. A plantspecific dynamin-related protein forms a ring at the chloroplast division site. The Plant Cell, 2003, 15(3): 655–665

[23] Pizarro L, Leibman-Markus M, Schuster S, Bar M, Avni A. Tomato dynamin related protein 2A associates with LeEIX2 and enhances PRR mediated defense by modulating receptor trafficking. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 936

[24] Li Z, Hu G, Liu X, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Yuan X, Zhang Q, Yang D, Wang T, Zhang Z. Transcriptome sequencing identified genes and gene ontologies associated with early freezing tolerance in maize. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1477

[25] Zhang L, Liu Y, Wang Q, Wang C, Lv S, Wang Y, Wang J, Wang Y, Yuan J, Zhang H, Kang Z, Ji W. An alternative splicing isoform of wheat TaYRG1 resistance protein activates immunity by interacting with dynamin-related proteins. Journal of Experimental Botany, 2022, 73(16): 5474–5489

[26] Li Z, Ding B, Zhou X, Wang G L. The rice dynamin-related protein OsDRP1E negatively regulates programmed cell death by controlling the release of cytochrome c from mitochondria. PLoS Pathogens, 2017, 13(1): e1006157

[27] Kawai T, Akahoshi R, Shelley I J, Kojima T, Sato M, Tsuji H, Inukai Y. Auxin distribution in lateral root primordium development affects the size and lateral root diameter of rice. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 834378

[28] Hirano K, Kotake T, Kamihara K, Tsuna K, Aohara T, Kaneko Y, Takatsuji H, Tsumuraya Y, Kawasaki S. Rice BRITTLE CULM 3 (BC3) encodes a classical dynamin OsDRP2B essential for proper secondary cell wall synthesis. Planta, 2010, 232(1): 95–108

[29] Li R, Xiong G Y, Zhou Y H. Membrane trafficking mediated by OsDRP2B is specific for cellulose biosynthesis. Plant Signal Behavior, 2010, 5(11): 159–162

[30] Xiong G, Li R, Qian Q, Song X, Liu X, Yu Y, Zeng D, Wan J, Li J, Zhou Y. The rice dynamin-related protein DRP2B mediates membrane trafficking, and thereby plays a critical role in secondary cell wall cellulose biosynthesis. The Plant Journal, 2010,64(1): 56–70

[31] Chen C, Wu Y, Li J, Wang X, Zeng Z, Xu J, Liu Y, Feng J, Chen H, He Y, Xia R. TBtools-II: A "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining. Molecular Plant, 2023, 16(11):1733–1742

[32] Zhou X, Zheng Y, Cai Z, Wang X, Liu Y, Yu A, Chen X, Liu J, Zhang Y, Wang A. Identification and functional analysis of tomato TPR gene family. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(2): 758

[33] 胡天伟. 拟南芥网格蛋白调控下胚轴伸长的分子机制以及接头蛋白复合体 AP-2 调控根尖干细胞活性的机理研究. 兰州: 兰州大学, 2021

Hu TW. Mechanism of clathrin regulating hypocotyl elongation and its adaptor protein 2 modulating the activity of root apical meristem in *Arabidopsis thaliana*. Lanzhou: Lanzhou University, 2021

[34] Meier O, Greber U F. Adenovirus endocytosis. The Journal of Gene Medicine, 2004, 6(S1): S152 – S163

[35] Fujimoto M, Arimura S, Mano S, Kondo M, Saito C, Ueda T, Nakazono M, Nakano A, Nishimura M, Tsutsumi N. *Arabidopsis* dynamin-related proteins DRP3A and DRP3B are functionally redundant in mitochondrial fission, but have distinct roles in peroxisomal fission. The Plant Journal, 2009, 58(3): 388–400

[36] Mravec J, Petrášek J, Li N, Boeren S, Karlova R, Kitakura S, Pařezová M, Naramoto S, Nodzyński T, Dhonukshe P, Bednarek S Y, Zažímalová E, de Vries S, Friml J. Cell plate restricted association of DRP1A and PIN proteins is required for cell polarity establishment in Arabidopsis. Current Biology, 2011, 21(12): 1055–1060

[37] Tang D, Ade J, Frye C A, Innes R W. A mutation in the GTP hydrolysis site of Arabidopsis dynamin-related protein 1E confers enhanced cell death in response to powdery mildew infection. The Plant Journal, 2006, 47(1): 75–84

[38] 叶亚峰. 水稻脆秆突变体遗传与基因定位研究. 合肥: 安徽大学, 2012

Ye Y F. The research of genetic and gene mapping about brittle culm mutants of rice (*Oryza sativa* L.). Hefei: Anhui University, 2012

[39] 舒亚洲,曾冬冬,秦冉,金晓丽,郑希,石春海. 水稻脆秆突变体 *bc16* 的鉴定和基因精细定位. 中国水稻科学, 2016,30(04): 345–355

Shu Y Z, Zeng D D, Qin R, Jin X L, Zhen X, Shi C H. Identification and gene fine mapping of a Brittle Culm16 (*bc16*) mutant in rice. Chinese Journal of Rice Science, 2016, 30(4): 345–355

[40] Minami A, Tominaga Y, Furuto A, Kondo M, Kawamura Y, Uemura M. *Arabidopsis* dynamin-related protein 1E in sphingolipid-enriched plasma membrane domains is associated with the development of freezing tolerance. The Plant Journal, 2015, 83(3): 501–514