

# 普通丝瓜 *LcSUN1* 基因的克隆及表达分析

曾美娟<sup>1</sup> 陈敏氩<sup>1</sup> 刘建汀<sup>1</sup> 叶新如<sup>1</sup> 王彬<sup>1</sup> 林锦辉<sup>2</sup> 朱海生<sup>1\*</sup> 温庆放<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>福建省蔬菜遗传育种重点实验室, 福建省农业科学院作物研究所, 福建省蔬菜工程技术研究中心, 福州 350013;

<sup>2</sup>漳州市农业技术推广站, 漳州 363000)

**摘要** 果长是普通丝瓜的重要的性状之一, 相关研究表明 *SUN* 基因与果长有关, 但是目前关于普通丝瓜 *SUN* 基因的研究鲜见报道。为深入研究普通丝瓜中的 *SUN* 基因, 该研究基于丝瓜基因组数据, 筛选出4个 *SUN* 基因, 暂将其命名为 *LcSUN1~LcSUN4*, 并采用 RT-PCR 克隆出普通丝瓜 *LcSUN1* 基因。生物信息学分析表明, 该蛋白含有一个跨膜结构域和一个 *SUN* 结构域。系统进化树分析表明, 该蛋白与南瓜和冬瓜的 *SUN* 蛋白亲缘比较近。实时荧光定量 PCR 分析显示, *LcSUN1* 基因在普通丝瓜果实发育过程中表达量呈现先上升后下降的趋势; *LcSUN1* 基因在花后12天短果中的表达量高于长果, 且表达量存在极显著差异。这些结果说明普通丝瓜 *LcSUN1* 在调控果长方面具有保守性, 这将为普通丝瓜果长性状的相关研究提供理论基础。

**关键词** 普通丝瓜; *LcSUN1*; 克隆; 生物信息学分析; 表达分析

## Cloning and Expression Analysis of *LcSUN1* Gene from *Luffa cylindrica*

ZENG Meijuan<sup>1</sup>, CHEN Mindong<sup>1</sup>, LIU Jianting<sup>1</sup>, YE Xinru<sup>1</sup>, WANG Bin<sup>1</sup>, LIN Jinhui<sup>2</sup>, ZHU Haisheng<sup>1\*</sup>, WEN Qingfang<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Fujian Key Laboratory of Vegetable Genetics and Breeding, Crops Research Institute,

Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fujian Engineering Research Center for Vegetables, Fuzhou 350013, China;

<sup>2</sup>Zhangzhou Agricultural Technology Extension Station, Zhangzhou 363000, China)

**Abstract** Fruit length is one of the important characters of *Luffa cylindrica* fruits. Previous studies have shown that *SUN* genes are related to fruit length, but there are few reports on *SUN* genes in *Luffa cylindrica*. In order to investigate *SUN* genes of *Luffa cylindrica*, four *SUN* genes were identified based BLAST on the genomic data of *Luffa cylindrica*, named *LcSUN1-LcSUN4*, further *LcSUN1* was cloned by RT-PCR. Bioinformatics analysis showed that *LcSUN1* contains a transmembrane domain and a *SUN* domain. Phylogenetic tree analysis showed that *LcSUN1* was closely related to the *SUN* protein of *Cucurbita moschata* and *Benincasa hispida*. Real-time fluorescence quantitative PCR analysis showed that the expression of *LcSUN1* was increased at the initial stage and then decreased during the fruit development of *Luffa cylindrica*. In addition, the expression level of *LcSUN1* was significantly higher in short fruit than in long fruit of *Luffa cylindrica* twelve days after flowering. The results suggested that *LcSUN1* might have conserved function in regulation of fruit length in *Luffa cylindrica*, which would provide a theoretical basis for the study of fruit length of *Luffa cylindrica*.

收稿日期: 2021-12-29 接受日期: 2022-03-15

福建省省属公益类科研院所基本科研专项(批准号: 2020R1031002)、福建省自然科学基金(批准号: 2019J01112)、福建省农业科学院科技创新平台专项(批准号: CXPT202001)、福建省农业科学院蔬菜科技创新团队项目(批准号: CXTD2021038)和福建省省属公益类科研院所基本科研专项(批准号: 2021R1031001)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0591-87573380, E-mail: zhs0246@163.com; fjvrc@163.com

Received: December 29, 2021 Accepted: March 15, 2022

This work was supported by the Fundamental Scientific Research Project of Public Scientific Research Institution in Fujian Province (Grant No.2020R1031002), the Natural Science Foundation of Fujian Province (Grant No.2019J01112), the Science and Technology Innovation Platform Project of Fujian Academy of Agricultural Sciences (Grant No.CXPT202001), the Vegetable Science and Technology Innovation Team Project of Fujian Academy of Agricultural Sciences (Grant No.CXTD2021038) and the Fundamental Scientific Research Project of Public Scientific Research Institution in Fujian Province (Grant No.2021R1031001)

\*Corresponding authors. Tel: +86-591-87572110, E-mail: zhs0246@163.com; fjvrc@163.com

**Keywords** *Luffa cylindrica*; *LcSUN1*; cloning; bioinformatics analysis; expression analysis

丝瓜(*Luffa cylindrica* L. Roem.)为葫芦科一年生攀援藤本植物<sup>[1]</sup>,是我国最主要的瓜类蔬菜之一<sup>[2]</sup>。在生产上将丝瓜分为普通丝瓜和有棱丝瓜2个栽培种<sup>[3]</sup>,其中以普通丝瓜更为普遍,其嫩瓜可食用,具有较高的营养和药用价值、广阔的应用前景和巨大的经济潜力<sup>[4-5]</sup>。果长是普通丝瓜品质评价、分类及市场定级的主要考核指标之一。我国丝瓜研究起步较晚,在优良品质形成机制和高品质品种选育等方面仍滞后很多。丝瓜果形多样,但是丝瓜果形的调控机理尚不清楚。已有研究发现,黄瓜*SUN*基因与果形调控、果形大小有关<sup>[6-7]</sup>,但普通丝瓜相关研究还未见报道。

SUN(Sad-1, UNC-84)-domain家族蛋白是植物细胞膜上核骨架与细胞骨架连接复合物LINC(the linker of nucleoskeleton and cytoskeleton)的重要组成部分<sup>[8]</sup>。SUN-domain家族蛋白主要定位于内核膜,是连接核内物质和核膜外的KASH(Klarsicht/ANC-1/Syne Homology)-domain家族蛋白的桥梁<sup>[9-11]</sup>。在减数分裂过程中,LINC复合物将中心体连接到端粒而不是着丝粒,端粒-LINC复合物的缺失会影响纺锤体的形成<sup>[12]</sup>。SUN-domain蛋白家族因其氨基酸序列上存在SUN结构域而被命名。除SUN结构域外,其还包含至少一个螺旋结构域和一个跨膜结构域,这些结构域可以帮助SUN-domain蛋白发挥正常功能<sup>[13-15]</sup>。相关研究表明,番瓜果长关键基因*SUN*能控制果实伸长,它在果实中高水平表达并引起番瓜果实伸长<sup>[16]</sup>。同样在番茄的相关研究中发现,*SUN*能间接导致那些参与细胞分裂、细胞壁形成及修饰相关基因的表达<sup>[17]</sup>,而果实发育期与细胞增殖和细胞扩增有关<sup>[18]</sup>。在葡萄方面的研究中也发现,*VvSUN*基因可能参与果形伸长的调控<sup>[19]</sup>。关于丝瓜*SUN*基因的研究鲜见报道。因此,基于已公布的普通丝瓜基因组数据<sup>[20]</sup>,筛选出4个*SUN*基因,克隆出*LcSUN1*基因,并分析预测了*LcSUN1*蛋白理化性质及蛋白结构,构建了*LcSUN1*蛋白与其他SUN蛋白的系统进化树,分析了*LcSUN1*基因在丝瓜果实不同发育时期及长短果果实中的表达情况,以期深入丝瓜果长的相关研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

选取普通丝瓜不同时期(花后6天、花后10天以

及花后15天)的果实和普通丝瓜长短果(花后12天)作为实验材料,取3次重复。样品用液氮速冻,-80 °C储藏,用于后续RNA提取。

### 1.2 普通丝瓜基因组中*LcSUNs*基因的鉴定、蛋白的理化特性分析

普通丝瓜的基因组数据从国家基因库生命大数据平台(<https://db.cngb.org/>)中获取。通过Pfam数据库(<http://pfam.xfam.org/>)下载基于动植物SUN保守结构域的HMM模型(PF07738),并采用TBtool进行Simple HMM Search对普通丝瓜基因组蛋白序列进行搜索,获得初筛蛋白序列。再利用NCBI网站进一步验证初筛获得的候选蛋白是否含有SUN保守结构域,具有SUN保守结构域的候选蛋白即为普通丝瓜SUN蛋白,将普通丝瓜编码这些蛋白的基因定义为*LcSUN*基因。

### 1.3 引物设计、RNA提取及cDNA合成

利用Primer Primer 5.0软件设计特异性PCR扩增引物,引物序列由福州尚亚生物技术有限公司合成。采用FastPure Plant Total RNA Isolation Kit(南京诺唯赞生物科技有限公司)的RNA提取试剂盒对处理后的丝瓜果实RNA的进行提取,用Nanodrop 2000检测RNA的质量并测定其浓度,用1%琼脂糖凝胶电泳检测RNA质量,余下部分存于诺唯赞-80 °C超低温冰箱。采用PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser(TaKaRa公司)反转录试剂盒合成第一条链cDNA。

### 1.4 丝瓜*LcSUN1*基因的RT-PCR扩增

RT-PCR反应体系总体积为50 μL,含25 μL 2× Buffer,5 μL dNTPs,上游引物和下游引物各2 μL,4 μL cDNA,1 μL酶,11 μL蒸馏水。PCR反应条件:94 °C预变性2 min;94 °C变性30 s,58 °C退火30 s,72 °C延伸50 s,共计40个循环;72 °C后延伸5 min。PCR产物用1%的琼脂糖凝胶进行电泳检测。

### 1.5 PCR产物的克隆及测序

用南京诺唯赞生物科技有限公司的胶回收试剂盒对PCR产物进行纯化回收。将其与pMD 18-T克隆载体(TaKaRa)连接,随后将连接产物转化大肠杆菌DH5α感受态细胞(北京博迈德基因技术有限公司),对长出的单菌落进行菌落PCR检测,阳性菌37 °C过夜培养,提取质粒并进行质粒PCR鉴定,鉴

定出的阳性克隆送至福州尚亚生物技术有限公司进行测序。

## 1.6 生物信息学分析

通过 ProtParam(<http://web.expasy.org/prot-param/>)预测丝瓜 LcSUN1 蛋白的理化性质分析; 通过 ProtScale(<https://web.expasy.org/protscale/>)在线软件分析丝瓜 LcSUN1 蛋白的亲疏水性; 通过 TMHMM 在线工具预测 LcSUN1 蛋白的跨膜结构域; 采用 SOPMA([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=NPSA/npsa\\_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=NPSA/npsa_sopma.html))分析蛋白二级结构; 采用 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)在线分析工具对基因进行保守结构域的分析<sup>[21-24]</sup>。用 SWISS-MODEL<sup>[25-26]</sup>(<http://swissmodel.expasy.org/>)进行丝瓜 LcSUN1 蛋白三级结构分析, 并建立丝瓜 LcSUN1 蛋白三维立体结构模型。使用 BLAST 网站(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)对比序列, 将与丝瓜 LcSUN1 蛋白同源的其他物种 SUN 氨基酸序列挑选出来, 采用 MEGA5.10 软件构建进化树<sup>[27]</sup>。

## 1.7 普通丝瓜 *LcSUN1* 基因表达分析

利用荧光定量 PCR 技术检测 *LcSUN1* 基因在丝瓜果实不同发育时期以及花后 12 天长短果中表达情况。以逆转录形成的丝瓜果实 cDNA 第一链作为模板, 并采用 Lc18S rRNA 作为内参基因<sup>[28]</sup>。按照荧光定量试剂盒(诺唯赞) SYBR Premix Ex Taq™ 说明书, 配制 25 μL qRT-PCR 反应体系: 4 μL cDNA 模板、10 μL SYBR Premix、0.4 μL 正向引物、0.4 μL 反向引物、0.4 μL ROX、9.8 μL 蒸馏水, 并在 qPCR 仪(ABI 7500)上进行扩增。反应程序: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 58 °C 退火 30 s。反应循环数为 40 个。采用 2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup> 法分析处理数据并得出目的基因的表达情况。

## 1.8 数据分析

将纳入研究的所有数据进行收集并整理, 数据

采用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。 $P<0.05$ 时具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 普通丝瓜 *LcSUNs* 蛋白的鉴定及理化性质分析

通过对普通丝瓜 *LcSUNs* 基因家族成员进行筛选和鉴定, 最终确定 4 个 *LcSUNs* 基因, 暂将其命名为 *LcSUN1*、*LcSUN2*、*LcSUN3* 和 *LcSUN4*(表 1)。通过 ProtParam 在线分析软件获得普通丝瓜 *LcSUNs* 蛋白氨基酸序列的氨基酸数目、分子量、等电点和脂溶指数等基本信息。

### 2.2 普通丝瓜 *LcSUN1* 基因的克隆

采用 RT-PCR 克隆出 *LcSUN1* 基因。以 *LcSUN1-F* 和 *LcSUN1-R* 为引物, 普通丝瓜的 cDNA 为模板进行 *LcSUN1* 基因的扩增, 结果获得预期大小的片段, 即长度约为 1 410 bp 的 DNA 片段(图 1)。在线网站 NCBI-Blast 的结果显示, 测序序列与冬瓜、西葫芦和南瓜的 *SUN* 基因序列相似性分别达 90.71%、89.94% 和 89.73%。

### 2.3 普通丝瓜 *LcSUN1* 氨基酸亲疏水性和跨膜结构分析

氨基酸的疏水性反映蛋白质的折叠情况, 通过 Prot-Scale 在线软件分析了丝瓜 *LcSUN* 蛋白的亲疏水性, 发现正值的氨基酸具有更大的疏水性, 负值(即数值越小)的氨基酸则更加亲水(图 2A)。图 2A 中的高数值(正值)的区域表示疏水的区域, 而负值的“低谷”区域是亲水区域。氨基酸的疏水性反映蛋白质的折叠情况, 在潜在的跨膜区域会出现疏水区, 亲疏水性图可为后面蛋白跨膜区域的鉴定提供参考。TMHMM 对跨膜结构域的预测结果(图 2B)中的跨膜蛋白区域出现在 100 bp 到 150 bp 之间, 与 *LcSUN1* 蛋白氨基酸亲疏水性图中疏水区域(100 bp 到 150 bp 区域)保持一致, 符合 *SUN* 蛋白常包含一个或多个跨膜

表 1 普通丝瓜 *LcSUNs* 蛋白质的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of *LcSUNs* in *Luffa*

基因名称 Gene name	蛋白质长度/aa Protein length /aa	分子量/kDa Molecular weight /kDa	等电点 pI	不稳定系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index	平均亲水系数 Grand average of hydropathicity
<i>LcSUN1</i>	469	51.64	8.71	41.20	79.00	-0.385
<i>LcSUN2</i>	632	72.29	6.17	36.81	86.39	-0.315
<i>LcSUN3</i>	640	71.82	6.04	38.85	78.89	-0.455
<i>LcSUN4</i>	1 049	118.30	5.88	48.15	87.13	-0.403

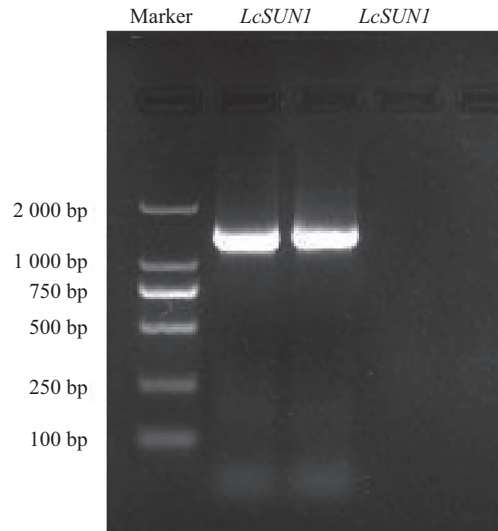
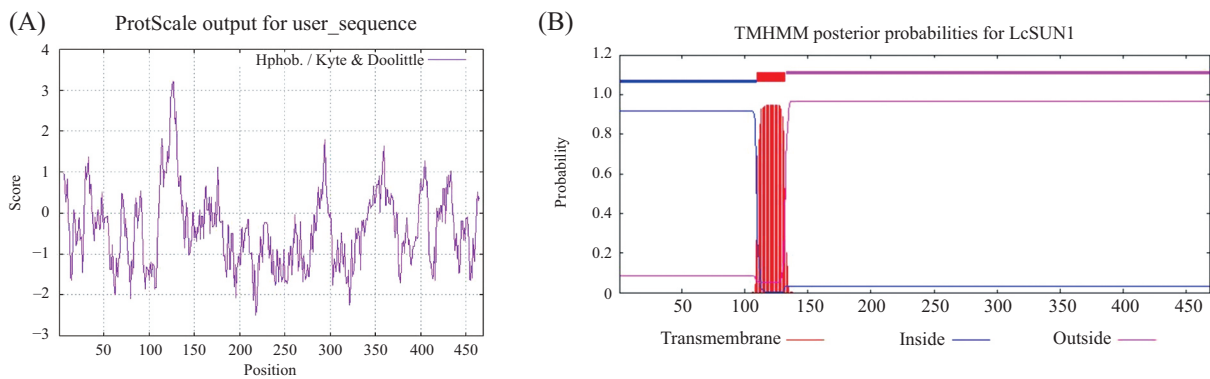


图1 普通丝瓜*LcSUN1*基因PCR扩增

Fig.1 PCR amplification of *LcSUN1* gene in *Luffa cylindrica*



A: 普通丝瓜LcSUN1蛋白氨基酸亲疏水性; B: 普通丝瓜LcSUN1蛋白跨膜结构区域。

A: hydrophobicity of LcSUN1 of *Luffa cylindrica*; B: transmembrane of LcSUN1 of *Luffa cylindrica*.

图2 普通丝瓜LcSUN1蛋白氨基酸亲疏水性和跨膜结构区域

Fig.2 Hydrophobicity and transmembrane of LcSUN1 of *Luffa cylindrica*

结构域的特性。

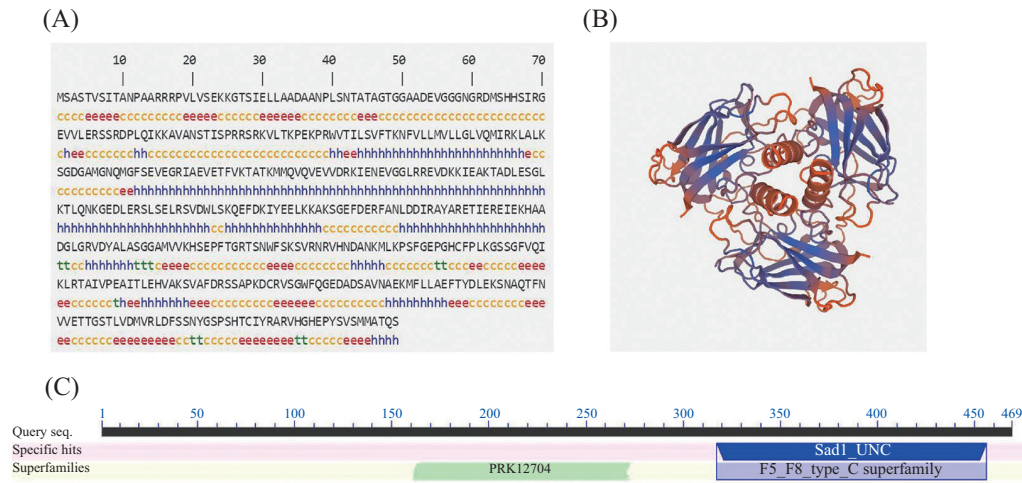
#### 2.4 丝瓜LcSUN1蛋白二级结构、保守结构域及三级结构分析

通过SOPMA在线分析工具对蛋白质的二级结构进行预测,结果表明LcSUN1含有178个 $\alpha$ -螺旋(Hh),其占整个多肽链的百分比为37.95%,82个延伸链(Ee),其占整个多肽链的百分比为17.48%,12个 $\beta$ -转角(Tt),其占整个多肽链的百分比为2.56%,197个无规则卷曲(Cc)二级结构,其占整个多肽链的百分比为40.00%(图3A)。采用NCBI在线分析工具对LcSUN1蛋白质保守结构域进行预测,结果表明,该蛋白质含有SUN结构域(图3C)。蛋白质的三级结构是指其在二级结构的基础上进一步盘绕折叠所形成

的天然构象。为了对LcSUN1蛋白的三级结构开展进一步了解,采用SWISS-MODEL同源建模预测丝瓜LcSUN1蛋白的三级结构如图3B所示。

#### 2.5 普通丝瓜LcSUN1蛋白进化树分析

在NCBI中查找其他物种SUN基因编码的氨基酸序列,并利用MEGA 7.0软件将丝瓜LcSUN1基因编码的氨基酸序列与冬瓜(*Benincasa hispida*)、南瓜(*Cucurbita moschata*)、甜瓜(*Cucumis melo*)、苦瓜(*Momordica charantia*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)、橡胶树(*Hevea brasiliensis*)、东方苔草(*Trema orientale*)、木薯(*Manihot esculenta*)、白梨(*Pyrus bretschneideri*)、川桑(*Morus notabilis*)、扁桃(*Prunus dulcis*)、甜樱桃(*Prunus avium*)、苹果(*Malus domes-*



A:普通丝瓜LcSUN1蛋白二级结构, Hh:  $\alpha$ -螺旋; Ee: 延伸链; Tt:  $\beta$ -转角; Cc: 无规则卷曲; B: 普通丝瓜LcSUN1蛋白三级结构; C: 普通丝瓜LcSUN1蛋白保守结构域。

A: secondary structure of LcSUN1 protein in *Luffa cylindrica*, Hh: alpha helix; Ee: extended strand; Tt: beta turn; Cc: random coil; B: tertiary structure of LcSUN1 protein in *Luffa cylindrica*; C: conserved domain of LcSUN1 protein in *Luffa cylindrica*.

图3 普通丝瓜LcSUN1蛋白二级结构、保守结构域及三级结构分析

Fig.3 Secondary structure, conserved domain and tertiary structure of LcSUN1 protein in *Luffa cylindrica*

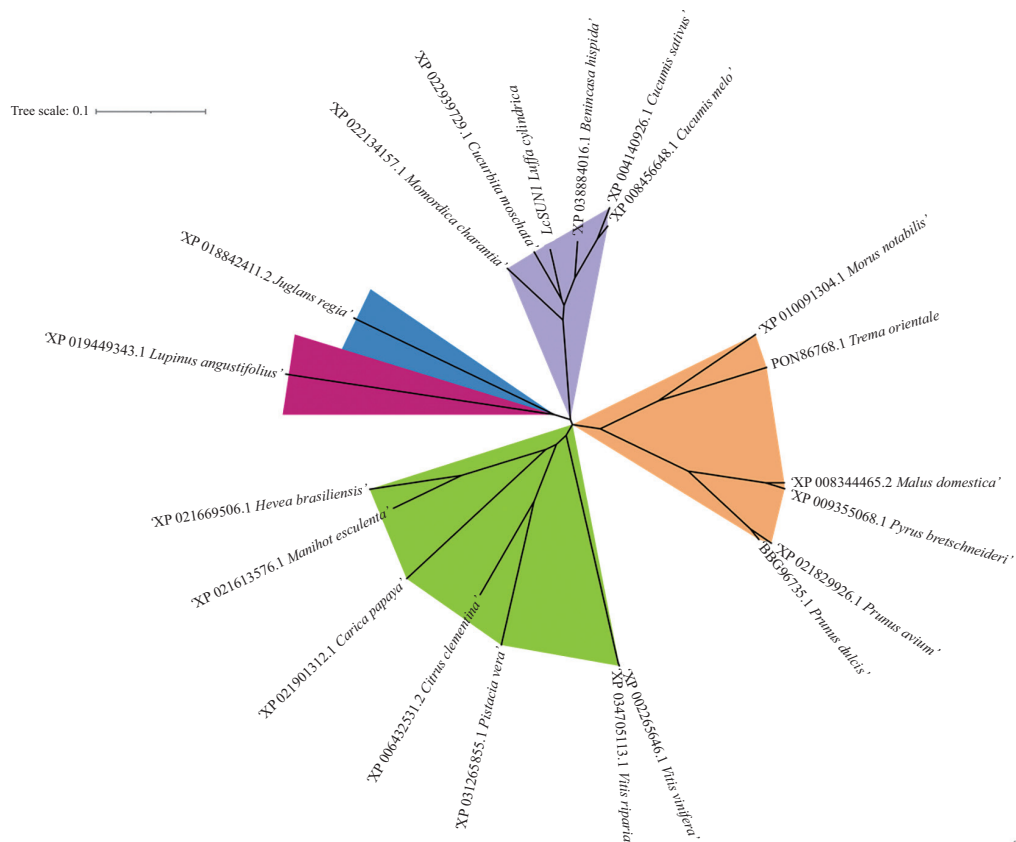
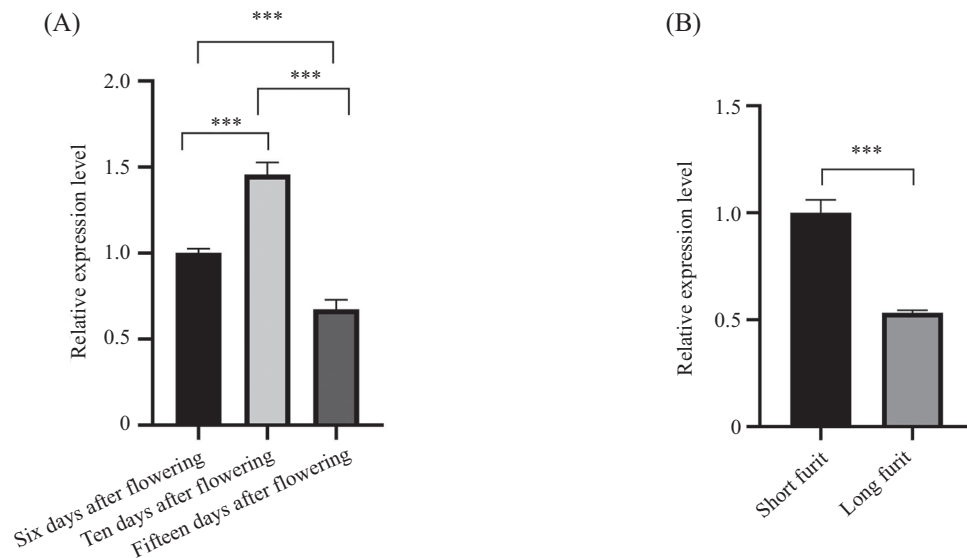


图4 普通丝瓜LcSUN1蛋白与其他物种SUN蛋白系统进化树

Fig.4 Phylogenetic tree of LcSUN1 protein in *Luffa cylindrica* and SUN proteins in other species

tica)、番木瓜(*Carica papaya*)、核桃(*Juglans regia*)、河岸葡萄(*Vitis riparia*)、狭叶羽扇豆属(*Lupinus angustifolius*)、开心果(*Pistacia vera*)、克莱门桃(*Citrus*

*clementina*)和葡萄(*Vitis vinifera*)的SUN基因编码的氨基酸序列进行系统进化分析, 构建了系统进化树。普通丝瓜LcSUN1蛋白进化树(图4)表明, 本研究克



A: 普通丝瓜果实不同发育过程中*LcSUN1*基因的表达情况; B: 普通丝瓜短果和长果中*LcSUN1*基因的表达情况。\*\*\* $P < 0.001$ 。

A: expression of *LcSUN1* gene in different fruit development of *Luffa cylindrica*; B: expression of *LcSUN1* gene in long and short fruits of *Luffa cylindrica*. \*\*\* $P < 0.001$ .

图5 普通丝瓜在果实不同发育过程和长短果中*LcSUN1*基因的表达情况

Fig.5 Expression of *LcSUN1* gene in different fruit development and long and short fruit of *Luffa cylindrica*

隆得到的丝瓜*LcSUN1*蛋白与来源于上述20个物种中的南瓜和冬瓜的SUN蛋白亲缘比较近。

## 2.6 普通丝瓜*LcSUN1*基因的表达模式分析

**2.6.1 普通丝瓜果实发育过程中*LcSUN1*基因的表达情况** 以丝瓜18S rRNA为内参,利用荧光定量PCR技术分析*LcSUN1*基因在普通丝瓜花后6天的果实、花后10天的果实以及花后15天果实的表达情况,结果(图5A)表明,*LcSUN1*基因在普通丝瓜花后10天果实的表达量>花后6天果实的表达量>花后15天果实的表达量,*LcSUN1*基因在普通丝瓜果实发育过程中的表达量呈现先上升后下降的趋势。

**2.6.2 普通丝瓜长果和短果果实中*LcSUN1*基因的表达情况** 以丝瓜18S rRNA为内参,利用荧光定量PCR技术分析*LcSUN1*基因在普通丝瓜长果和短果花后12天果实的表达情况,结果(图5B)表明,*LcSUN1*基因在普通丝瓜长果和短果均有表达,在短果的表达量高于长果品种,且表达量存在极显著差异。

## 3 讨论与结论

SUN-domain家族蛋白一般含有SUN结构域,还包含至少一个螺旋结构域和一个跨膜结构域,这些结构域可以帮助SUN-domain蛋白发挥正常功能<sup>[17]</sup>。目前关于丝瓜*LcSUN1*的研究鲜见报道。本研究采

用RT-PCR技术克隆出丝瓜SUN基因,并暂将其命名为*LcSUN1*,生物信息学分析表明,*LcSUN1*蛋白含有一个跨膜结构域,符合SUN蛋白常包含至少一个螺旋结构域和一个跨膜结构域的特性。蛋白质的结构域预测结果表明*LcSUN1*蛋白含有SUN结构域。相关研究表明,跨膜结构域能够帮助SUN-domain蛋白锚定在内核膜上<sup>[29]</sup>。关于螺旋结构域,相关研究人员发现,其可以利用三股螺旋线圈来驱动同源寡聚体的形成,并认为该结构域是维持内、外核膜间距离的必要结构<sup>[30]</sup>。这些结构域可以帮助SUN-domain蛋白发挥功能。

果长是普通丝瓜品质评价、分类及市场定级的主要考核指标之一。果实的伸长在授粉后立即开始,通常在12~16天内完成<sup>[31]</sup>,其最终的器官大小由果实发育期间两个协调的发育事件决定,即细胞增殖和细胞扩增<sup>[32]</sup>。WU等<sup>[33]</sup>等在番茄的相关研究发现,*SUN*可以通过改变细胞分裂模式来影响果实的形状。徐婧等<sup>[7]</sup>在黄瓜果实大小相关研究中发现*CsSUN*和*CsLNG1*控制Q30黄瓜果长主要是在子房期抑制细胞增大,导致细胞体积变小,细胞密度增大;进入果实迅速增长后期后该基因对细胞大小的抑制作用减弱,在原有数量基础上细胞逐渐变大,果实持续增长。因此,推测该基因在果实发育过程中的

不同时期可能发挥着不同的作用。同样地, 我们的结果表明, *LcSUN1*在普通丝瓜果实发育中的表达水平是动态变化的, 表现为*LcSUN1*基因在普通丝瓜果实发育过程中的表达量呈现先上升后下降的趋势, 说明了普通丝瓜的*LcSUN1*和其他物种的同源基因*SUN*对果长可能有调控功能, 通过调控*SUN*基因的表达进而能实现对果长一定程度的调控。进一步研究发现, 在果长显著不同的普通丝瓜品种相同发育时期(花后12天)中的*LcSUN1*的表达水平也存在明显差异, 表现为短果表达水平显著高于长果。而徐婧等<sup>[7]</sup>在黄瓜果实大小相关研究中也发现, *CsSUN*与*CsLNG1*是通过控制细胞数量调控黄瓜果实大小的。因此, 我们下一步将开展普通丝瓜长果和短果果实细胞组织的形态结构观察来验证*SUN*基因是通过促进细胞增大还是通过增加细胞数量进而影响果长变化的。总之, 我们的结果表明了普通丝瓜的*LcSUN1*基因与其他瓜类*SUN*具有保守的功能, *LcSUN1*可能是调控普通丝瓜果长的关键基因, 具有育种潜力。同时, 下一步将开展*LcSUN1*基因在多个不同普通丝瓜短果和长果品种中的表达情况的研究及*LcSUN1*基因功能验证, 进一步解析该基因调控普通丝瓜果实发育及果长性状的相关机制。

### 参考文献 (References)

- [1] 颜国纲, 郑振佳, 时新刚, 等. 丝瓜的营养价值及其综合利用研究进展[J]. 中国果菜(YAN G G, ZHENG Z J, SHI X G, et al. Research progress on nutritional value and comprehensive utilization of *Luffa cylindrica* [J]. China Fruit & Vegetable), 2011(7): 35-6.
- [2] XU Y Y, LIU Z, LOU L, et al. Identification of browning-related microRNAs and their targets reveals complex miRNA-mediated browning regulatory networks in *Luffa cylindrica* [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 16242.
- [3] 苏小俊, 徐海, 陈龙正, 等. 丝瓜种质资源亲缘关系的ISSR分析[J]. 南京农业大学学报(SU X J, XU H, CHEN L Z, et al. Analysis on the phylogenetic relationship of luffa (*Luffa cylindrica* L. Roem.) germplasm based on ISSR [J]. Journal of Nanjing Agricultural University), 2010, 33(3): 42-6.
- [4] AN J Y, YIN M Q, ZHANG Q, et al. Genome survey sequencing of *Luffa Cylindrica* L. and microsatellite high resolution melting (SSR-HRM) analysis for genetic relationship of *Luffa* genotypes [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18: 1942.
- [5] ZHU H S, LIU J T, WEN Q F, et al. *De novo* sequencing and analysis of the transcriptome during the browning of fresh-cut *Luffa cylindrica* 'Fusi-3' fruits [J]. PLoS One, 2017, 12(11): e0187117.
- [6] 葛倩, 王祥飞, 李豪, 等. 黄瓜IQD/SUN基因家族全基因组鉴定及分析[J]. 基因组学与应用生物学(GE Q, WANG X F, LI H, et al. Genome-wide identification and analysis of IQD/SUN gene family in *Cucurbit* [J]. Genomics and Applied Biology), 2019, 38(9): 4110-9.
- [7] 徐婧, 潘玉朋, 程智慧. 黄瓜*CsSUN*和*CsLNG1*调控果实大小的机理分析[J]. 园艺学报(XU J, PAN Y P, CHENG Z H. Mechanism analysis of fruit size regulating genes *CsSUN* and *CsLNG1* in *Cucurbit* [J]. Acta Horticulturae Sinica), 2020, 47(1): 53-62.
- [8] BONE C R, TAPLEY E C, GORJANACZ M, et al. The *Caenorhabditis elegans* SUN protein UNC-84 interacts with lamin to transfer forces from the cytoplasm to the nucleoskeleton during nuclear migration [J]. Mol Biol Cell, 2014, 25(18): 2853-65.
- [9] CRISP M, LIU Q, ROUX K, et al. Coupling of the nucleus and cytoplasm: role of the LINC complex [J]. J Cell Biol, 2006, 172(1): 41-53.
- [10] TZUR Y B, WILSON K L, GRUENBAUM Y. SUN-domain proteins: 'Velcro' that links the nucleoskeleton to the cytoskeleton [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7 (10): 782-8.
- [11] VAN DAMME D, BOUGET F Y, VAN POUCKE K, et al. Molecular dissection of plant cytokinesis and phragmoplast structure: a survey of GFP-tagged protein [J]. Plant J, 2004, 40(3): 386-98.
- [12] FENNEL A, FERNÁNDEZ-ÁLVAREZ A, TOMITA K, et al. Telomeres and centromeres have interchangeable roles in promoting meiotic spindle formation [J]. J Cell Biol, 2015, 208(4): 415-28.
- [13] CLEVENGER J P, JASON V H, MICHELLE B, et al. Network analyses reveal shifts in transcript profiles and metabolites that accompany the expression of *SUN* and an elongated tomato fruit [J]. Plant Physiol, 2015, 168(3): 1164-78.
- [14] WU S, XIAO H, CABRERA A, et al. *SUN* regulates vegetative and reproductive organ shape by changing cell division patterns [J]. Plant Physiol, 2011, 157(3): 1175-86.
- [15] 张亚光, 袁月, 高世敏, 等. 葡萄Vv*SUN*基因的克隆及其控制果形功能的初探[J]. 西北植物学报(ZHANG Y G, YUAN Y, GAO S M, et al. Cloning of Vv*SUN* gene in Grape (*Vitis* L.) and a preliminary study on the function of controlling fruit shape [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica), 2017, 37(7): 1271-7.
- [16] XIAO H, JIANG N, SCHAFFNER E, et al. A retrotransposon mediated gene duplication underlies morphological variation of tomato fruit [J]. Science, 2008, 319: 1527-30.
- [17] 吴贺, 包颖. *SUN*-domain蛋白家族在植物中的研究进展[J]. 曲阜师范大学学报(WU H, BAO Y. Research progress of *SUN*-domain proteins in plants [J]. Journal of Qufu Normal University), 2020, 46(1): 92-9.
- [18] BURKE B, ROUX K J. Nuclei take a position: managing nuclear location [J]. Dev Cell, 2009, 17(5): 587-97.
- [19] STARR D A, FRIDOLFSSON H N. Interactions between nuclei and the cytoskeleton are mediated by *SUN*-*KASH* nuclear-envelope bridges [J]. Annu Rev Cell Dev Bi, 2010, 26: 421-44.
- [20] ZHANG T, REN X Y, ZHANG Z, et al. Long-read sequencing and *de novo* assembly of the *Luffa cylindrica* (L.) Roem genome [J]. Mol Ecol Resour, 2020, 20(2): 511-9.
- [21] MARCHLER-BAUER A, BO Y, HAN L Y, et al. CDD/SPARCLE: functional classification of proteins via subfamily domain architectures [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45: 200-3.
- [22] MARCHLER-BAUER A, DERBYSHIRE M K, GONZALES N R, et al. CDD: NCBI's conserved domain database [J]. Nucleic

- Acids Res, 2011, 43: 222-6.
- [23] MARCHLER-BAUER A, LU S N, ANDERSON J B, et al. CDD: a conserved domain database for the functional annotation of proteins [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39: 225-9.
- [24] SCHWEDE T, KOPP J, GUEX N, et al. SWISS-MODEL: an automated protein homology-modeling server [J]. Nucleic Acids Res, 2003, 31(13): 3381-5.
- [25] ARNOLD K, BORDOLI L, KOPP J, et al. The SWISS-MODEL workspace: a web-based environment for protein structure homology modelling [J]. Bioinformatics, 2006, 22(2): 195-201.
- [26] GUEX N, PEITSCH M C. SWISS-MODEL and the Swiss-Pdb viewer: an environment for comparative protein modeling [J]. Electrophoresis, 1997, 18(15): 2714-23.
- [27] 尚洁, 陈阿丽, 潘伟志. 宁夏枸杞查耳酮合成酶基因cDNA片段的克隆及生物信息学分析[J]. 中草药(SHANG J, CHEN A L, PAN W Z. Cloning and bioinformation analysis of chalcone synthase gene from *Lycium barbarum* in Ningxia [J]. Chinese Traditonal and Herbal Drugs), 2013, 44(20): 2898-903.
- [28] 朱海生, 陈敏敏, 温庆放, 等. 丝瓜18S rRNA基因克隆及其作为内参基因的应用[J]. 核农学报(ZHU H S, CHEN M D, WEN Q F, et al. Cloning of 18S rRNA gene from *Luffa cylindrical* and its application as an internal standard [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences), 2016, 30(1): 35-41.
- [29] SOSA B A, ROTHBALLER A, KUTAY U, et al. LINC complexes form by binding of three KASH peptides to domain interfaces of trimeric SUN proteins [J]. Cell, 2012, 149 (5): 1035- 47.
- [30] SOSA B A, KUTAY U, SCHWARTZ T U. Structural insights into LINC complexes [J]. Curr Opin Struc Biol, 2013, 23(2): 285-91.
- [31] ANDO K, GRUMET R. Transcriptional profiling of rapidly growing cucumber fruit by 454-pyrosequencing analysis [J]. J Am Soc Hortic Sci, 2010, 135(4): 291-302.
- [32] YANG L M, LIU H Q, ZHAO J Y, et al. LITTLELEAF (LL) encodes a WD40 repeat domain-containing protein associated with organ size variation in cucumber [J]. Plant J, 2018, 95(5): 834-47.
- [33] WU S, XIAO H, CABRERA A, et al. SUN regulates vegetative and reproductive organ shape by changing cell division patterns [J]. Plant Physiol, 2011, 157(3): 1175-86.