网络出版时间:2025-11-26 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2026.05.003

茶树 *CsMPC* 基因家族鉴定及胁迫表达分析

李晓飞[1],周文菲[2],唐磊[1],姚新华[3],边吉巴吉[3],陈核心[3],龚春梅[1]
(1 西北农林科技大学 园艺学院,陕西 杨凌 712100;2 西北农林科技大学 生命科学学院,陕西 杨凌 712100;
3 林芝市农牧技术推广中心,西藏 林芝 860100)

[摘 要] 【目的】探究线粒体内膜的丙酮酸转运体(MPC)基因家族在茶树生长发育及胁迫响应中的功能。【方法】在全基因组范围内鉴定了5个茶树品种的 *CsMPC* 基因家族,并构建了进化树。利用MEGA解析其保守基序特征,采用ProtParam、ProtScale等软件分析CsMPC蛋白的理化性质,使用TMHMM、Robetta预测CsMPC蛋白的跨膜结构和三级结构。以茶树舒茶早为材料,克隆获得3条 *CsMPC* 基因,通过瞬时转化体系结合PRE-PROTEIN在线预测,解析CsMPC蛋白的亚细胞定位。使用TeaAS官网进行可变剪接分析,结合转录组数据探讨 *CsMPC* 基因的表达模式。以龙井43为试验材料,在低温、干旱和盐胁迫条件下,通过实时荧光定量PCR(RT-qPCR)验证了 *CsMPC* 基因的表达响应。【结果】鉴定出3个茶树 *CsMPCs* 基因家族成员,其分别属于MPC1、MPC2和MPC3 3个亚群。不同茶树品种CsMPC保守基序及序列相似性存在差异,CsMPC1与CsMPC2和CsMPC3的序列相似性分别最高可达31%和34%。CsMPC编码的蛋白长度为93~131个氨基酸,具有亲/疏水性特点,并在部分茶树品种中具有跨膜结构特征;三级结构预测结果显示,不同品种茶树的CsMPC蛋白在结构上存在显著差异,推测CsMPC蛋白以异二聚体形式发挥转运功能。CsMPC蛋白的线粒体定位进一步支持其作为丙酮酸转运体在细胞代谢中的作用。 *CsMPC* 基因受到低温、干旱、盐等胁迫时通过可变剪接类型和组织表达量变化响应胁迫。RT-qPCR结果表明, *CsMPC* 基因的表达模式与转录组数据高度一致。【结论】不同茶树品种具有3个可以调节丙酮酸转运并响应胁迫的 *CsMPC* 基因,可用于进一步探究茶树 *MPC* 基因的功能和调控机制。

[关键词] 茶树;*MPC* 基因家族;全基因组鉴定;胁迫表达
[中图分类号] S571.1 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)05-0021-11

Identification of the *CsMPC* gene family and analysis of expression under stress in tea plants

LI Xiaofei[1], ZHOU Wenfei[2], TANG Lei[1], YAO Xinhua[3], BIAN Jibaji[3], CHEN Hexin[3], GONG Chunmei[1]
(1 *College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*; 2 *College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*; 3 *Linzhi Agricultural and Animal Husbandry Technology Extension Center, Linzhi, Xizang* 860100, *China*)

Abstract: 【Objective】 This research aims to investigate the functional roles of the mitochondrial pyruvate carrier (MPC) gene family in tea plant growth, development, and stress responses. 【Method】 The *CsMPC* gene family of five tea tree cultivars was identified on a whole-genome scale, and a phylogenetic tree was constructed. ProtParam and ProtScale were used to analyze the physicochemical properties of CsMPC proteins, and MEGA was used to examine their conserved motifs. TMHMM and Robetta were used to predict the transmembrane do-

[收稿日期] 2025-02-18 [修回日期] 2025-03-14
[基金项目] 西藏自治区科技厅重点研发计划项目(XZ202401ZY0019)
[作者简介] 李晓飞(1996—),女,甘肃天水人,在读硕士,主要从事茶树生理与分子生物学研究。E-mail:19829629621@139.com
[通信作者] 龚春梅(1973—),女,甘肃兰州人,教授,主要从事茶树生长发育与胁迫应答信号转导及分子机制研究。E-mail:gcm228@nwafu.edu.cn

mains and tertiary structures of CsMPC proteins. Three *CsMPC* genes were cloned from the 'Shuchazao' cultivar, and their subcellular localization was analyzed through a transient transformation system combined with PRE-PROTEIN online prediction. Alternative splicing analysis was performed by using TeaAS, and expression patterns of *CsMPC* genes were explored based on transcriptomic data. The expression responses of *CsMPC* genes to low temperature, drought, and salt stresses were validated through quantitative PCR (RT-qPCR) with the 'Longjing 43' cultivar as the experimental material.【Result】Three *CsMPC* gene family members were identified in tea trees, belonging to three distinct subgroups: MPC1, MPC2 and MPC3. Sequence similarity and conserved motifs of *CsMPC* genes varied across tea cultivars, with CsMPC1 showing the highest sequence similarity of 31% to CsMPC2 and 34% to CsMPC3. The proteins encoded by CsMPC ranged from 93 to 131 amino acids in length, exhibiting hydrophilic/hydrophobic characteristics and transmembrane features in certain cultivars. Tertiary structure prediction revealed significant structural differences among CsMPC proteins from different cultivars, suggesting that CsMPC proteins function as transporters in the form of heterodimers. Mitochondrial localization of CsMPC proteins further supported their role as pyruvate transporters in cellular metabolism. Under stresses including low temperature, drought, and salinity, *CsMPC* genes responded via alterations in splicing events and tissue-specific expression levels. Real-time quantitative PCR results confirmed that the expression patterns of *CsMPC* genes aligned closely with transcriptomic data.【Conclusion】Three *CsMPC* genes capable of regulating pyruvate transport and responding to stress were identified in different tea cultivars, offering insights for further exploration of the function and regulatory mechanisms of *MPC* genes in tea plants.

Key words: tea tree; *MPC* gene family; whole-genome identification; stress-responsive expression

丙酮酸是细胞代谢中的关键中间产物,有效连接糖类代谢与能量代谢[1]。在缺氧条件下,丙酮酸可转化为乳酸,而作为糖酵解的最终产物,在有氧条件下丙酮酸能通过氧化脱羧反应生成乙酰辅酶A,然后进入三羧酸循环(TCA)产生ATP并生成还原力(如NADH)[2]。此外,丙酮酸可作为甲基赤藓醇磷酸(MEP)途径的起始底物,参与萜类化合物的合成,这些次级代谢产物在植物的生态适应、病虫害防御及与环境的交互中具有重要功能[3]。

丙酮酸转运是细胞代谢调控的限速步骤。线粒体内膜的丙酮酸转运体(MPC)和钠同向转运蛋白家族2(BASS2),分别负责丙酮酸在细胞质与线粒体之间以及在叶绿体中的跨膜运输[4-5]。这些转运蛋白的功能直接影响丙酮酸的可用性及其后续代谢途径的活性,从而在细胞的能量代谢和合成代谢中发挥关键作用。近年来,丙酮酸转运体的功能研究在多种物种中取得了重要进展,包括酿酒酵母、果蝇、小鼠及人类等[6]。例如,酿酒酵母中的MPC家族包含3个成员,分别由YGL080W、YHR162W和YGR243W编码,对应MPC1、MPC2和MPC3蛋白[7]。在人类中,MPC1和MPC2被认为是关键的丙酮酸转运蛋白,在细胞代谢及能量供应中发挥着重要作用[8]。在植物中,*MPC*基因的功能研究亦逐渐深入。拟南芥*AtMPC*基因的功能缺失与气孔关闭、抗旱性等生理特征的变化密切相关[9]。在干旱胁迫下,*MPC1*突变体对脱落酸(ABA)诱导的气孔关闭响应敏感,表明*MPC*基因在植物的水分调控及抗逆性中具有重要作用。此外,MPC在铬胁迫下的功能也受到关注。研究表明MPC复合物在拟南芥中维持Cd耐受性并防止Cd积累[10]。这些研究揭示了*MPC*基因在植物逆境适应中的多重功能。

茶树(*Camellia sinensis*)作为全球重要的经济作物之一,其生长和品质易受到逆境胁迫(干旱、低温、盐碱以及病虫害等)影响[11]。近年来,关于茶树抗逆性和代谢关键基因的研究取得了重要进展,但茶树丙酮酸转运机制的研究仍处于起步阶段[12]。鉴于*MPC*基因在植物逆境适应中的重要性,本研究通过生物信息学分析手段鉴定了茶树*CsMPC*基因家族成员,并对其基因结构、理化性质、系统进化关系等进行了系统分析;采用烟草瞬时转化观察CsMPC蛋白的细胞定位特征;结合转录组数据,并利用实时荧光定量PCR(RT-qPCR)探讨了茶树*CsMPC*基因在不同胁迫下的可变剪接,为茶树抗逆育种提供了新的入口和候选基因。

1 材料与方法

1.1 茶树*CsMPC*基因家族成员的鉴定

为鉴定茶树*CsMPC*基因家族,首先从NCBI

GenBank数据库下载拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）的*MPC*基因序列，包括*MPC1*、*MPC2*和*MPC3*的核苷酸序列及其对应的氨基酸序列，作为同源基因序列比对的模板[13]。随后，从茶树基因组数据库（https://tpia.teaplants.cn/）中获取了5个茶树品种，包括龙井43（*C. sinensis* cv.‘Longjing 43’）、舒茶早（*C. sinensis* cv.‘Shuchazao’）、碧云（*C. sinensis* cv.‘Biyun’）、黄棪（*C. sinensis* cv.‘Huangdan’）和云抗10（*C. sinensis* cv.‘Yunkang 10’）的编码DNA序列（coding DNA sequence，CDS）数据，作为进行*MPC*基因同源性分析的基础[14]。利用Bioedit软件对拟南芥MPC蛋白序列与茶树CDS序列进行本地BLAST比对，识别出5个茶树品种中的同源*MPC*基因序列。以舒茶早的氨基酸序列为模板，利用NCBI的Blastp工具检索不同物种的基因序列，并在Geneious中提取并翻译编码DNA序列（CDS）为蛋白质序列，随后使用MEGA 5.10软件构建了系统进化树，并通过iTOL在线工具（https://itol.embl.de/upload.cgi）对进化树进行可视化处理，完成了*MPC*基因家族的鉴定[15]。

1.2　茶树CsMPC生物信息学分析

茶树CsMPC蛋白保守基序通过MEME（http://meme-suite.org/tools/meme）分析。在Geneious 9.0.2软件中对5个茶树品种中鉴定的*CsMPC*基因家族成员进行多序列比对，获得序列相似性数据。随后使用RStudio软件绘制相似性热图，直观展示基因序列的相似性差异。通过ProtParam工具（https://web.expasy.org/protparam）计算CsMPC的理论等电点（pI）、分子量（Mw）和总平均亲水性（GRAVY）等特征；使用ProtScale（https://web.expasy.org/protscale）预测CsMPC蛋白的亲/疏水性；跨膜结构预测采用TMHMM Server v2.0（www.cbs.dtu.dk/services/TMHM）进行分析；通过PRE-PROTEIN网站（https://predictprotein.org/）进行CsMPC亚细胞定位预测；通过Robetta在线网址（https://robetta.bakerlab.org/）对蛋白质的三级结构进行分析。

1.3　茶树*CsMPC*基因在胁迫条件下的转录组表达模式分析

从安徽农业大学TPIA网站（https://tpia.teaplants.cn/）下载茶树转录组数据，分析其在不同组织、叶位以及干旱、低温、冷害、遮阴、盐胁迫、激素（茉莉酸甲酯）胁迫条件下的基因表达情况。基于已鉴定的5个茶树品种*MPC*基因序列，检索各基因在不同胁迫下的表达量数据，并利用RStudio进行数据处理，绘制热图，直观展示*CsMPC*基因在不同胁迫条件下的表达模式差异。

1.4　茶树CsMPC蛋白的亚细胞定位及其在非生物胁迫下的表达模式

1.4.1　植物材料及处理方法　选用长势和品质一致的两年生舒茶早和龙井43的扦插苗作为试验材料，用清水洗净茶苗根部泥土，采用营养液将其水培于西北农林科技大学人工气候室内，24 h连续通气，以提供充足的氧气供应。培养温度设定为白天26 ℃/夜晚22 ℃，模拟自然昼夜温差；光周期设置为12 h光照/12 h黑暗，以模拟自然光照条件；空气相对湿度维持在（75±5）%，以创造适宜的湿度环境。每周更换1次营养液，茶苗在水培条件下培养2周后，选取长势一致的个体进行低温、干旱及盐胁迫处理。低温胁迫将培养温度设置为4 ℃，干旱胁迫利用12% PEG（聚乙二醇）溶液模拟，盐胁迫采用200 mmol/L的NaCl溶液处理，每种胁迫处理分别持续0，12和24 h后进行取样。每个处理设置3次生物学重复，所有样品采集后立即液氮速冻，然后保存于－80 ℃备用。

1.4.2　CsMPC基因的克隆及亚细胞定位　参照已经发表的舒茶早茶树基因组数据[16]，使用软件CE Design V1.04设计基因特异性引物（表1）。提取舒茶早茶树RNA后，使用PrimeSTAR® Max DNA Polymerase（Code No. R045A）反转录合成cDNA，并以其为模板进行PCR扩增。扩增条件为：94 ℃ 3 min；94 ℃ 30 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 90 s，35个循环；72 ℃ 延伸7 min。采用Gel Extraction Kit（OMEGA，美国）纯化试剂盒回收PCR产物，然后将其连接至pCAMBIA1300-eGFP-MCS载体上转化大肠杆菌DH5α感受态细胞，筛选阳性单克隆送至西安擎科生物科技有限公司完成测序。

为了验证该基因在植物细胞中的亚细胞定位，选取自然播种培养至三叶期或四叶期的烟草植株作为试验材料。将构建的p35S：CsMPCs-eGFP融合载体转化至农杆菌（*Agrobacterium tumefaciens*）GV3101感受态细胞中，通过瞬时表达技术转化烟草叶片，并利用激光共聚焦显微镜观察注射部位，以确定CsMPC蛋白的亚细胞定位。

表1 基因克隆及荧光定量PCR引物系列

Table 1 Primer sequences of gene cloning and quantitative real-time PCR

引物名称 Primer name	引物序列(5′→3′) Sequence(5′→3′)	用途 Application
sczMPC1-F	GAGCTCGGTACCCGGGGATCCATGGCTTCGTTCCGAGCAT	基因克隆 DNA cloning
sczMPC1-R	CATGTCGACTCTAGAGGATCCCTGAGGTGCAGGTTCATCCTTC	
sczMPC2-F	GAGCTCGGTACCCGGGGATCCATGGCGACTTCGAAGCTTCA	
sczMPC2-R	CATGTCGACTCTAGAGGATCCTTCCTTGGCAACAACAGCTTC	
sczMPC3-F	GAGCTCGGTACCCGGGGATCCATGGTGGCTTCGAAGCTCCA	
sczMPC3-R	CATGTCGACTCTAGAGGATCCTTCTTTTGCCACATCTTCTTTTTTT	
ljMPC1-qF	TGCATGGATGGTACAGCCTC	实时定量PCR Real-time PCR
ljMPC1-qR	CCTTCTTCTGCCCACCCAAG	
ljMPC2-qF	CCTGCAGGCCCTAAAACCAT	
ljMPC2-qR	GGCTGTGACCGCAATTTGTT	

1.4.3 RNA提取和RT-qPCR分析 采用CTAB法提取龙井43叶片总RNA,用NanoDrop2000c(Thermo Scientific,美国)超微量分光光度计测定RNA的浓度和质量。按照5×All-In-One RTMasterMix试剂盒(ABM,加拿大)说明书进行cDNA第一链合成,保存于−20 ℃备用。

参照龙井43茶树基因组数据,并设计定量引物(表1),以茶树的18S rRNA基因为内参基因,使用EvaGreen2×qPCR MasterMix-ROX(ABM,加拿大)试剂盒在Bio-Rad IQ5 Real Time PCR System(伯乐,美国)定量仪上完成RT-qPCR分析。反应程序为:95 ℃ 3 min;95 ℃ 30 s,60 ℃ 70 s,40次循环,并进行熔解曲线检测。针对3种胁迫条件下叶片的基因表达水平,每个生物学重复进行3次技术重复,相对表达量使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算。

1.5 数据分析

所有试验数据均来自3个独立的生物学重复试验,结果以"均值±标准差(mean±SD)"表示。统计学分析采用GraphPad Prism软件进行单因素方差分析,并通过正态分布检验法进行多重比较检验。显著性差异水平设定为$P<0.01$。

2 结果与分析

2.1 *MPC*基因家族的三大亚群及其成员划分

为了理清*MPC*基因家族的进化关系,基于拟南芥、烟草、茶树等不同植物的已知蛋白序列,构建了*MPC*基因的系统进化树,结果见图1。图1结果表明,*MPC*基因家族在植物界中广泛分布,可分为3个主要进化分支(Subfamily Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ),分别对应MPC1、MPC2和MPC3亚家族。MPC1在所有研究物种中均存在,而MPC2或MPC3至少存在1种,其中龙井43缺乏MPC3,其他4种茶树均包含MPC1、MPC2和MPC3。MPC1、MPC2和MPC3亚家族内存在多成员现象,如洋蓟(*Cynara cardunculus*)含3种MPC1,拟南芥含2种MPC2,而5种茶树品种中每个亚家族仅有一个成员,表明其具有高度保守性和分化趋势。进一步分析显示,茶树CsMPC1与番木瓜(*Carica papaya*)、石榴(*Punica granatum*)和洋蓟的MPC1亲缘关系最近,CsMPC2与拟南芥和葡萄(*Vitis vinifera*)的MPC2亲缘关系密切,CsMPC3则与葡萄和石榴的MPC3较为接近。此外,进一步的系统发育分析表明,MPC2和MPC3在进化树上靠得较近,二者在遗传特征上显示出较强的亲缘关系。

2.2 不同茶树品种CsMPC保守基序及序列相似性的差异

基于5个代表性茶树品种(舒茶早、碧云、龙井43、黄棪和云抗10号)的蛋白序列,进行了*CsMPC*基因家族的保守基序和序列相似性的分析,结果见图2。图2结果显示,Motif 1和Motif 2在除ykMPC3之外的所有CsMPCs中均存在。Motif 3在ykMPC1、byMPC1、ykMPC2和byMPC3中缺失,而在其余CsMPCs中均存在。Motif 4未出现在所有CsMPC1亚家族成员以及ykMPC3和ykMPC2中,但在CsMPC2和CsMPC3亚家族中普遍存在。Motif 5仅限于CsMPC1亚家族中。Motif 6、Motif 7、Motif 8和Motif 10则仅出现在ykMPC2和ykMPC3中,而Motif 9仅存在于ykMPC1和ykMPC3中。通过序列相似性分析对不同茶树品种间的CsMPC蛋白序列进行了比对。结果表明,不同茶树品种的MPC1蛋白序列相似性范围较窄,为92%~100%;MPC2蛋白序列相似性则更为一致,为99%~100%;MPC3蛋白序列相似性则表现出较大波动,在30%~100%,这可能与云抗10号的蛋白序列差异有关。此外在不同亚型基因的序列相似性比较中,MPC1与MPC2的蛋白序列相似性最高为31%;

MPC1 与 MPC3 的蛋白序列相似性最高为 34%；MPC2 与 MPC3 的蛋白序列相似性最高为 76%。这表明 MPC 在不同分支间存在一定的序列差异，但各基因之间的相似性仍然较高。

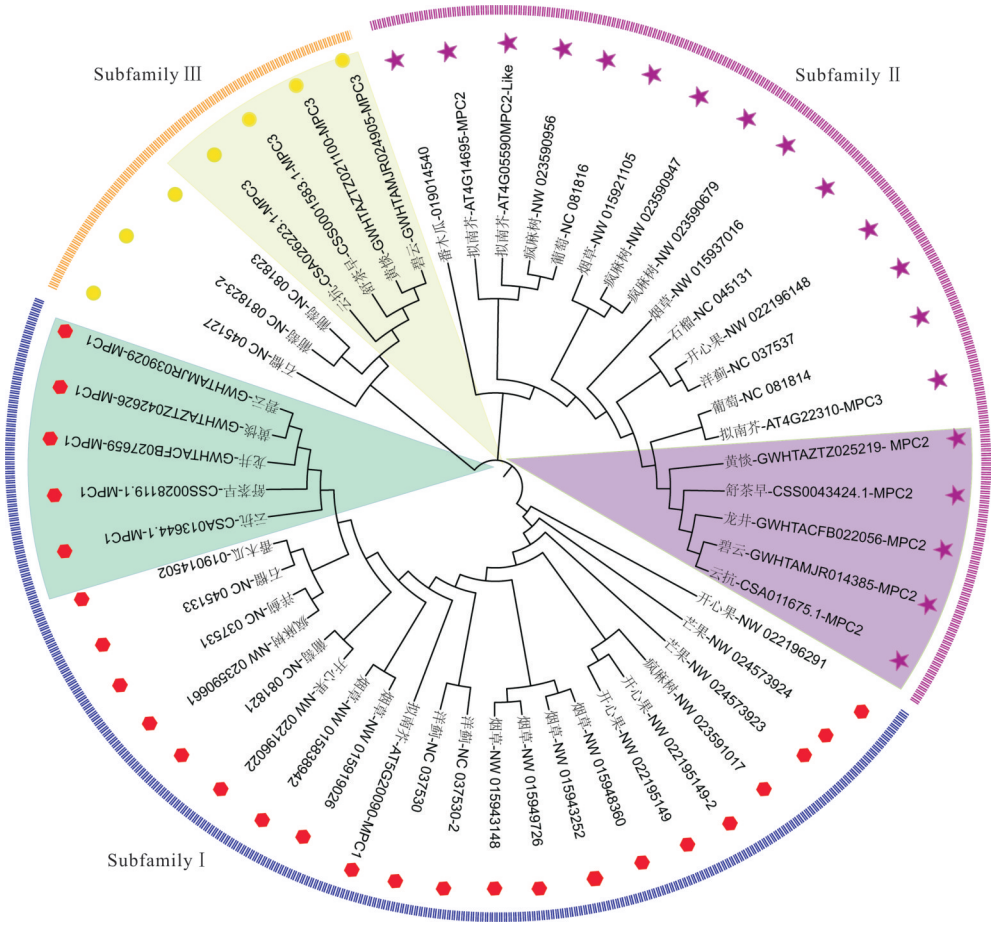
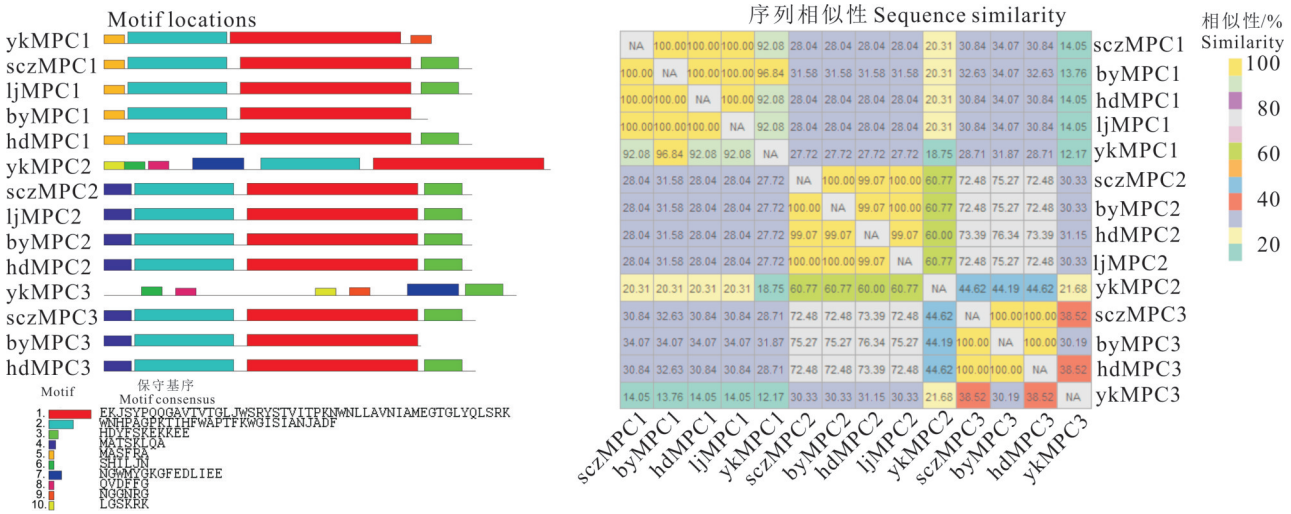


图 1　植物 *MPC* 基因家族系统进化关系

Fig. 1　Systematic evolutionary relationship of the plant *MPC* gene family



scz. 舒茶早；yk. 云抗 10；lj. 龙井 43；by. 碧云；hd. 黄棪。图 4 同。

scz. Shuchazao；yk. Yunkang 10；lj. Longjing 43；by. Biyun；hd. Huangdan. The same as in Fig. 4.

图 2　茶树 CsMPC 的保守基序和序列相似性分析

Fig. 2　Conserved motif and sequence similarity analysis of tea plant CsMPC

2.3　不同茶树品种 *CsMPC* 编码蛋白的理化性质

由表 2 可以看出，*CsMPC* 编码氨基酸的序列长度差异显著，为 291～1 233 bp；编码蛋白平均长度为 108 个氨基酸，其中最长的基因 CSA011675.1 编

码131个氨基酸,而最短的GWHTAMJR024905仅编码93个氨基酸。CsMPCs蛋白的分子量为10.487～14.854 ku,平均分子量为11.359 ku;等电点的平均值为10.14,最低为9.72(CSA013644.1),最高为10.68(GWHTAMJR024905)。这些结果表明,CsMPC家族成员的理化性质差异不大。CsMPC蛋白的跨膜结构预测结果显示,云抗10号和碧云的CsMPC1蛋白均含有一个跨膜结构域,表明其具有明显的跨膜结构特征;相比之下,CsMPC2和CsMPC3未能显示出跨膜结构的特征:提示*CsMPC*基因家族的不同成员在结构上可能具有不同的功能特性。此外,CsMPC蛋白的亲水性为－0.067～0.322,且所有成员的跨膜结构域预测均定位在线粒体内膜上,这一特性与其作为通道蛋白的功能相一致[17]。除云抗10外,其他茶树品种(舒茶早、碧云、龙井43、黄棪)中CsMPC1的亲水性/疏水性特征明显不同于CsMPC2和CsMPC3,且CsMPC2与CsMPC3在亲水性/疏水性上极为相似。这种亲水性/疏水性的差异可能反映了不同品种中的CsMPC蛋白在细胞膜或其他细胞区室中的分布及其潜在的生物学功能[18]。

表2 *CsMPC*基因及其预测蛋白的基本信息

Table 2 Basic information of *CsMPC* genes and their putative proteins

蛋白 Protein	品种 Varieties	基因组编号 Unigene ID	序列/bp CDS	氨基酸数 Number of animo acids	分子量/ku Mw	等电点 pI	跨膜结构 TM domains	平均亲水性 GRAVY	亚细胞定位 SCL
MPC1	云抗10 Yunkang 10	CSA013644.1	291	96	10.793	9.72	1	0.173	MT
	舒茶早 Shuchazao	CSS0028119.1	327	108	12.071	9.87	0	－0.200	MT
	龙井43 Longjing 43	GWHTACFB027659	327	108	12.071	9.87	0	－0.200	MT
	碧云 Biyun	GWHTAMJR039029	606	95	10.659	10.07	1	－0.233	MT
	黄棪 Huangdan	GWHTAZTZ042626	453	108	12.071	9.87	0	－0.200	MT
MPC2	云抗10 Yunkang 10	CSA011675.1	396	131	14.854	10.59	0	0.183	MT
	舒茶早 Shuchazao	CSS0043424.1	327	108	12.108	10.20	0	－0.067	MT
	龙井43 Longjing 43	GWHTACFB022056	327	108	12.108	10.20	0	－0.067	MT
	碧云 Biyun	GWHTAMJR014385	327	108	12.108	10.20	0	－0.067	MT
	黄棪 Huangdan	GWHTAZTZ025219	327	108	12.142	10.20	0	－0.067	MT
MPC3	云抗10 Yunkang 10	CSA026223.1	366	121	13.418	10.14	0	－0.139	MT
	舒茶早 Shuchazao	CSS0001583.1	330	109	12.400	10.01	0	0.150	MT
	碧云 Biyun	GWHTAMJR024905	1 233	93	10.487	10.68	0	0.322	MT
	黄棪 Huangdan	GWHTAZTZ021100	330	109	12.400	10.01	0	0.150	MT

注:MT.线粒体内膜。

Note:MT. Mitochondrial inner membrane.

2.4 不同茶树品种CsMPC家族蛋白三级结构的差异

三级结构预测结果(图3)表明,舒茶早、黄棪、碧云和龙井43茶树品种的MPC1、MPC2、MPC3蛋白具有相似的结构,而云抗10的MPC蛋白则显著不同。进一步分析显示,CsMPC1与CsMPC2和CsMPC3之间可能存在蛋白互作,形成异聚体。研究表明,MPC蛋白以异二聚体形式发挥转运功能,其中MPC1为其活性不可或缺的亚型[19]。

2.5 不同胁迫下*CsMPC*基因的表达模式和可变剪接分析

本研究基于转录组数据系统解析了*CsMPC*基因家族在不同胁迫条件下的表达模式。图4-A、B显示,在植物组织和叶位间*CsMPC*基因的表达存在显著差异。*byMPC3*在成熟叶中表达量最高,而*sczMPC3*、*hdMPC3*、*ykMPC3*和*sczMPC1*在老叶中高度表达,表明其可能在叶片衰老和成熟过程中参与代谢调控。此外,*CsMPC*家族成员在花中的表达水平普遍高于其他组织,提示其在花期代谢或发育过程中发挥重要作用。*byMPC1*、*sczMPC1*和*ljMPC1*在1叶位的表达显著高于其他叶位,而*hdMPC3*、*sczMPC3*和*ykMPC3*在4叶位的表达水平较高,表明不同叶位对*CsMPC*基因的表达调控存在差异。其他家族成员在芽中高表达,提示芽部可能是其主要活跃区域。综上所述,*MPC*基因不同亚型呈现相似的组织表达模式,其中*MPC1*和*MPC2*在幼嫩组织中高表达,并随叶片成熟而逐渐下降,而*MPC3*在成熟叶片中的表达水平较高,说明*CsMPC*基因家族在茶树生长发育中具有潜在功能,可用于后续基因功能验证及代谢调控机制研究。

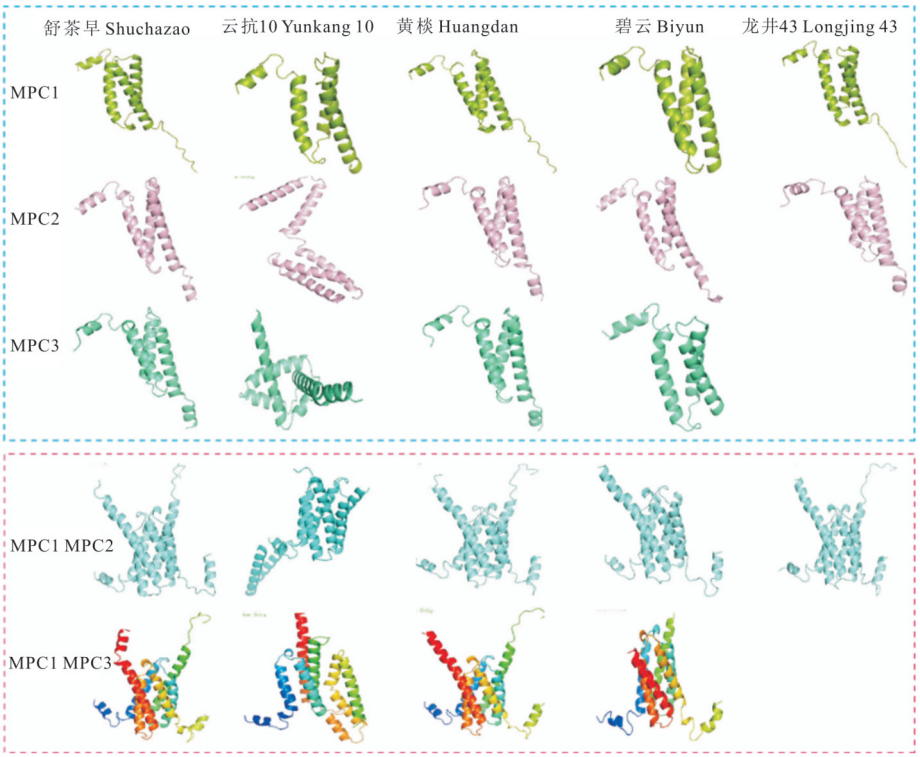


图 3　茶树 CsMPC 蛋白的三级结构

Fig. 3　Tertiary structure of CsMPC proteins in tea plants

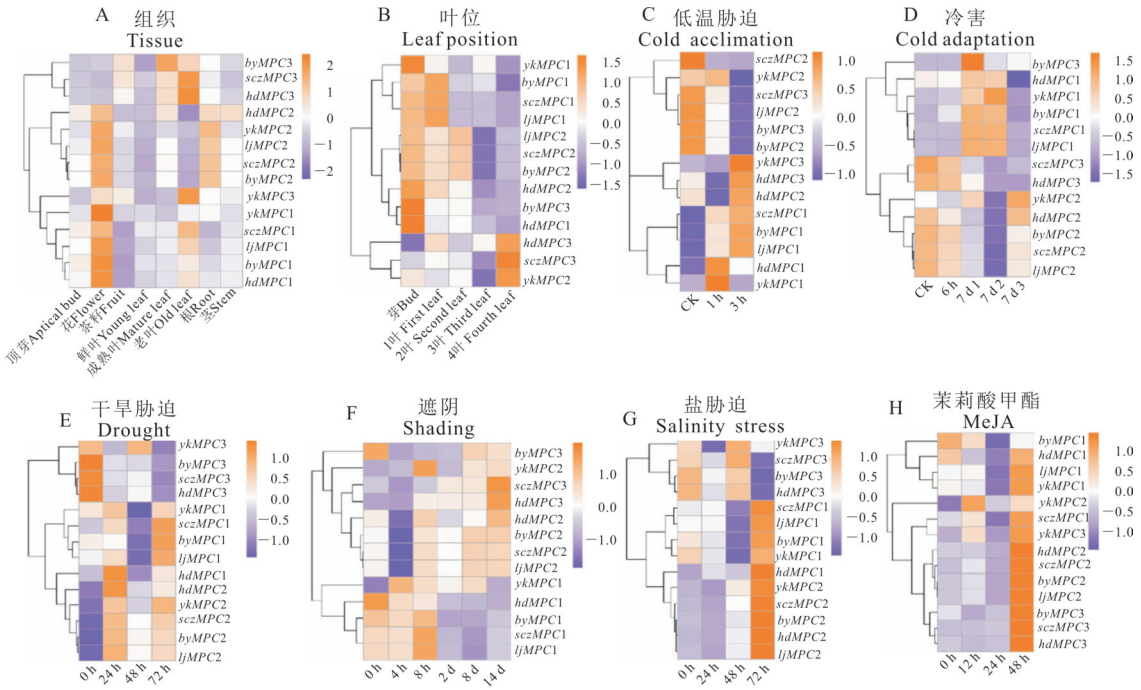


图 4　不同胁迫条件下 *CsMPC* 基因的表达模式

Fig. 4　Expression patterns of the *CsMPC* gene under different stress conditions

图 4-C～H 结果表明，大多数 *CsMPC* 家族成员对低温、干旱和盐胁迫表现出显著响应。在低温条件下，8 个 *CsMPC* 基因的表达显著上调，而其他 6 个基因呈下调趋势，表明不同 *CsMPC* 基因对低温胁迫的响应存在差异。在冷害胁迫下，*CsMPC1* 普遍上调，而 *CsMPC2* 和 *CsMPC3* 的表达则表现出品种特异性，其中部分基因下调。在干旱和盐胁迫下，*CsMPC1* 和 *CsMPC2* 一般表现上调，而干旱处理中 *CsMPC3* 表现下调。此外，*CsMPC3* 在盐胁迫下的表达趋势因品种而异，除 *ykMPC3* 和 *sczMPC3*

外,其余品种均呈下调趋势。在遮阴和MeJA处理条件下,*CsMPC*基因表达随处理时间延长普遍上调,尤其是*CsMPC1*、*CsMPC2*和*CsMPC3*在大多数品种中随处理时间的增加而进一步增强,表明*CsMPC*基因可能在植物光照适应及激素调控过程中发挥重要作用。

为了进一步了解茶树*CsMPC*基因在不同胁迫条件下的功能调控,基于5种茶树品种的染色体级基因组数据,在TeaAS官网对*CsMPC*基因的可变剪接情况进行分析。结果(表3)显示,舒茶早*CsMPC*基因在多种生物和非生物胁迫下均发生可变剪接,不同胁迫诱导的剪接形式存在差异,且*CsMPC*基因的表达水平亦呈现显著变化。根据剪接位点的选择,主要存在选择性5′剪接位点和其他两种剪接类型。这些剪接事件可能作为茶树胁迫应答机制的一部分,推测*CsMPC*基因通过调控可变剪接来适应不同胁迫环境,发挥其调控功能。

表3 舒茶早*MPC*基因响应生物胁迫和非生物胁迫发生的可变剪接

Table 3 Alternative splicing of Shuchazao *MPC* gene in response to biotic stress and abiotic stress

基因组编号 Unigene ID	基因 Gene	处理 Treatment	可变剪贴种类 Variable clip type	可变剪贴类别 ASC
CSS0028119.1	*MPC1*	不同组织 Different tissues 不同温度处理 Different low and high temperature treatments 干旱胁迫下腐植酸处理 FA-treated under drought stress	MSTRG.50880.1;MSTRG.50880.2 MSTRG.48403.1 MSTRG.42696.2	选择性5′剪接位点 Alternative 5′splice site
CSS0043424.1	*MPC2*	干旱、高温或其复合胁迫 Drought, heat or their combination stress	MSTRG.41455.1	其他 Others
CSS0001583.1	*MPC3*	不同生育期 Different growth stages 干旱、高温及其复合胁迫 Drought, heat or their combination stress 遮阴条件 Shading condition	MSTRG.30812.2;MSTRG.30812.3 MSTRG.37084.1 MSTRG.33724.2;MSTRG.33724.3	其他 Others

2.6 *CsMPC*基因的线粒体定位及其对胁迫的响应

以舒茶早为例,通过构建p35S:CsMPCs-eGFP融合表达载体,并以带mCherry的线粒体标记蛋白为对照,采用农杆菌(GV3101)瞬时表达法在烟草叶片中进行转化。激光共聚焦显微镜观察结果见图5。

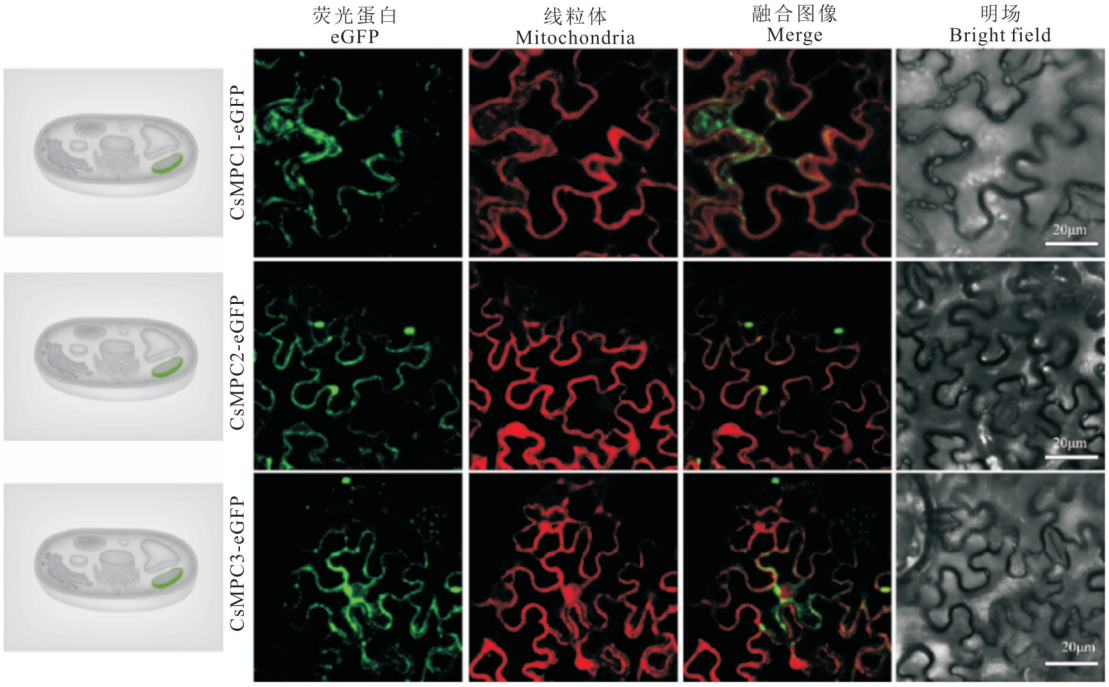


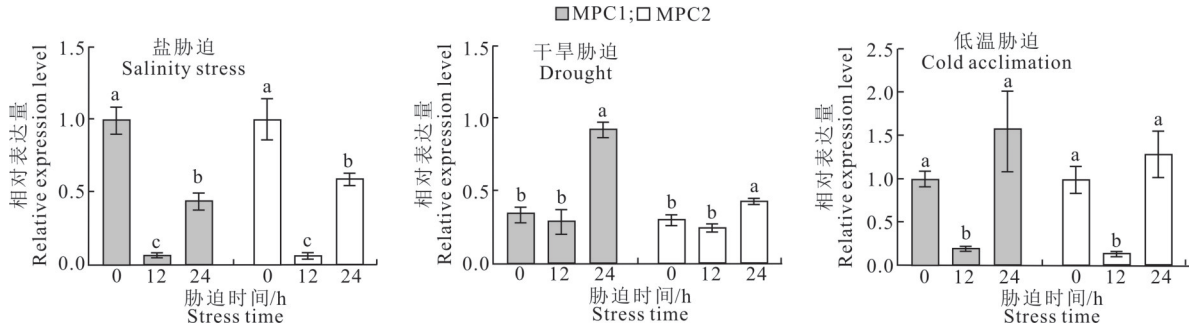
图5 舒茶早*MPC*基因在线粒体上的定位

Fig. 5 Localization of the Shuchazao *MPC* gene in the mitochondria

图5结果表明,CsMPC蛋白定位于线粒体膜上,与在线工具预测的定位结果相一致,进一步证实CsMPC作为转运体具有的空间定位。

为确定*CsMPC*基因在非生物胁迫下的响应机

制，以龙井 43 为材料，通过 RT-qPCR 分析了 *CsMPC* 基因在低温（4 ℃）、干旱及盐胁迫下的表达情况，结果（图 6）表明，*CsMPC* 基因表达模式与转录组数据基本一致。在盐胁迫条件下，随处理时间延长（12 和 24 h），*ljMPC1* 和 *ljMPC2* 表达量呈现先下降后上升趋势；与 0 h 对照相比，12 h 处理时表达量显著下调，而在 24 h 处理时表达量出现明显回升。干旱胁迫处理 24 h 后，*ljMPC1* 和 *lj43MPC2* 基因的表达量较 0 h 对照显著上调。在低温胁迫条件下，*ljMPC1* 和 *ljMPC2* 基因的表达模式与盐胁迫相似，即在处理初期（12 h）表达量下降，而在处理后期（24 h）出现显著提高，提示 *CsMPC* 基因可能通过差异化的表达调控参与茶树对多种非生物胁迫的响应过程。



不同小写字母表示处理间差异显著（$P<0.01$）。

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments（$P<0.01$）.

图 6　非生物胁迫下 *CsMPC* 基因的表达水平

Fig. 6　Expression levels of *CsMPC* genes under abiotic stress

3　讨　论

MPC 基因家族广泛存在于不同植物中，展现出高度的保守性与特异性。本研究中，茶树的 *CsMPC* 基因可分为 3 个亚家族，分别对应 MPC1、MPC2 和 MPC3，这与拟南芥[20]、酵母[21]和水稻的 MPC 家族成员的研究结果一致。MEME 分析显示，Motif 1 和 Motif 2 高度保守，其识别可揭示基因家族成员间保守的功能域，为研究基因家族功能演化及结构-功能关系提供重要依据。特异性 Motif，如 Motif 5 和 Motif 9 可能在蛋白功能发挥上起重要作用[22]。蛋白序列分析表明，MPC1 和 MPC2 相似性较低，功能分化显著，而 MPC2 和 MPC3 相似性较高，可能存在协同作用[23]。此外，不同品种间 MPC3 相似性差异显著，其中云抗 10 尤为独特，这种差异可能由自然选择和生态适应驱动[24]，为植物进化与适应性研究提供了新见解。茶树 CsMPC 蛋白的长度（93～131 个氨基酸）和分子量（10.487～14.854 ku）与拟南芥和大豆等植物的 MPC 蛋白相似，显示其分子水平的保守性[25]。CsMPC 蛋白的平均等电点为 10.14，呈碱性，表明其在生理 pH 值（7.4）下带正电，这可能影响其构象稳定性、分子相互作用及功能活性[26]。CsMPC1 普遍含有跨膜结构域，符合 MPC 家族作为线粒体丙酮酸转运蛋白的功能特性，这一特性同样见于哺乳动物细胞中[27]。茶树中 CsMPC1 的亲/疏水性特征明显区别于 CsMPC2 和 CsMPC3，与线粒体丙酮酸载体的蛋白-蛋白互作及功能研究相似，提示其在膜蛋白功能和分布中的差异[28]。此外，云抗 10 CsMPC1 的跨膜结构和亲水性/疏水性特征异于其他品种，可能反映其遗传背景对特殊环境的适应性[29-30]。三级结构预测表明，CsMPC 成员可能通过互作形成异聚体，类似于其他植物中 MPC1 和 MPC2 异二聚体作为丙酮酸转运核心的功能[31-32]。

非生物胁迫严重限制作物产量[33]。茶树作为重要的经济作物同样受到多种胁迫影响。本研究结果表明，*CsMPC* 基因在不同组织中呈现特异性表达模式，尤其在花中高表达，这与水稻 *OsCOL*10 在开花时间调控中的作用类似[34]，提示 *MPC* 基因可能参与植物发育调控。此外，*CsMPC*1 和 *CsMPC*2 在幼嫩组织中高表达，并随叶片成熟逐渐下降，该趋势与拟南芥叶片发育过程中 *MPC* 基因的表达模式[35]相一致。在非生物胁迫响应方面，*CsMPC* 基因对低温、干旱和盐胁迫表现出显著调控作用。在低温胁迫下，*CsMPC* 基因显著上调，其表达模式与水稻低温响应基因[36]相似，表明其可能参与植物低温胁迫响应机制。此外，*CsMPC* 基因的表达呈现品种特异性，这一现象与高粱和水稻中某些基因在不同

环境条件下的差异性调控[37]相一致。*CsMPC*3在干旱处理下显著下调,与水稻中部分干旱响应基因的调控趋势[38]相符,可能涉及细胞代谢调节、生物合成及水分调控等适应性机制。进一步以龙井43为材料的RT-qPCR验证结果表明,随胁迫时间延长,*ljMPC*1和*ljMPC*2在低温、干旱及盐胁迫下均上调;而*ljMPC*2在低温胁迫下的表达模式表现出显著特异性,其在转录组数据中呈现下调趋势,与RT-qPCR结果存在差异。这种表达调控的复杂性可能反映出*ljMPC*2在不同胁迫条件下的功能分化,提示其可能通过胁迫类型特异性的调控机制参与茶树的逆境适应过程。此外,在遮荫和MeJA处理下*CsMPC*基因表达上调,并随处理时间延长在多数品种中的表达进一步增强,这一趋势与龙眼(*Dimocarpus longan*)中某些非生物胁迫响应基因的表达模式[39]相似。

在舒茶早品种中,不同胁迫条件下*CsMPC*基因发生可变剪接,可能生成多种蛋白质变体,从而增强茶树的逆境适应能力。类似的剪接现象在水稻中亦有报道[40-41],表明其在逆境胁迫响应中的重要作用。然而,茶树*CsMPC*基因的可变剪接形式具有独特性,不同胁迫条件下的剪接事件表现出显著差异,这可能与茶树特有的抗逆机制和生态适应性相关。此外,相较于其他物种,茶树可能经历了特定的基因组重排或插入/缺失事件,从而形成独特的剪接模式[42]。定位分析表明,CsMPC蛋白主要分布于线粒体内,这与拟南芥AtMPC1的亚细胞定位一致。AtMPC1已被证实定位于线粒体,并参与丙酮酸转运,在初级代谢调控中发挥关键作用[43]。同样,水稻MPC蛋白亦定位于线粒体,进一步表明丙酮酸跨膜转运在植物能量代谢及胁迫响应中的重要性。

4 结 论

本研究系统鉴定了茶树中3个*CsMPC*基因家族成员,其分别归属于3个不同亚群,其中MPC1在所有物种中普遍存在,而MPC2或MPC3至少存在一种,展现出较高的保守性与多样性。这些成员在保守基序上存在显著差异,不同品种的CsMPC蛋白在结构上存在差异,推测CsMPC蛋白以异二聚体形式发挥功能,为初步了解茶树*CsMPC*基因家族奠定基础,基于结构和序列变化,结合转录组数据和RT-qPCR验证结果表明,*CsMPC*基因家族成员在非生物胁迫条件下呈现差异表达模式。此外,舒茶早定位于线粒体的*CsMPC*基因通过可变剪接响应环境胁迫。本研究可为进一步探究茶树*MPC*基因的功能和调控机制提供参考依据。

[参考文献]

[1] PLAXTON W C. The organization and regulation of plant glycolysis[J]. Annual Review of Plant Biology,1996,47:185-214.

[2] ARAUJO W L, NUNES-NESI A, NIKOLOSKI Z, et al. Metabolic control and regulation of the tricarboxylic acid cycle in photosynthetic and heterotrophic plant tissues[J]. Plant, Cell & Environment,2012,35(1):1-21.

[3] BANERJEE A, SHARKEY T D. Methylerythritol 4-phosphate (MEP) pathway metabolic regulation[J]. Natural Product Reports,2014,31(8):1043-1055.

[4] FURUMOTO T, YAMAGUCHI T, OHSHIMA-ICHIE Y, et al. A plastidial sodium-dependent pyruvate transporter[J]. Nature,2011,476(7361):472-475.

[5] LE X H, LEE C P, MONACHELLO D, et al. Metabolic evidence for distinct pyruvate pools inside plant mitochondria[J]. Nature Plants,2022,8(6):694-705.

[6] BRICKER D K, TAYLOR E B, SCHELL J C, et al. A mitochondrial pyruvate carrier required for pyruvate uptake in yeast, *Drosophila*, and humans[J]. Science,2012,337(6090):96-100.

[7] XU L, PHELIX C F, CHEN L Y. Structural insights into the human mitochondrial pyruvate carrier complexes[J]. Journal of Chemical Information and Modeling,2021,61(11):5614-5625.

[8] SCHELL J C, WISIDAGAMA D R, BENSARD C, et al. Control of intestinal stem cell function and proliferation by mitochondrial pyruvate metabolism[J]. Nature Cell Biology, 2017, 19(9):1027-1036.

[9] CHEN J Y, LIU Z H, YAN J W. BPC1 and BPC2 positively regulates the waterlogging stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications,2025,747:151296.

[10] HE L L, JING Y, SHEN J L, et al. Mitochondrial pyruvate carriers prevent cadmium toxicity by sustaining the TCA cycle and glutathione synthesis[J]. Plant Physiology,2019,180(1):198-211.

[11] SAMYNATHAN R, ILANGO R V J, SHANMUGAM A, et al. The effect of abiotic and biotic stresses on the production of bioactive compounds in tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze)[J]. Plant Gene,2021,27:100316.

[12] ZHANG Z B, FENG X B, WANG Y, et al. Advances in research on functional genes of tea plant[J]. Gene, 2019, 711:143940.

[13] GOODSTEIN D M, SHU S Q, HOWSON R, et al. Phytozome: a comparative platform for green plant genomics[J]. Nucleic Acids Research,2012,40(D1):D1178-D1186.

[14] WEI C L, YANG H, WANG S B, et al. Draft genome sequence of *Camellia sinensis* var. *sinensis* provides insights into

the evolution of the tea genome and tea quality[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(18): E4151-E4158.

[15] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.

[16] XIA E H, ZHANG H B, SHENG J, et al. The tea tree genome provides insights into tea flavor and independent evolution of caffeine biosynthesis[J]. Molecular Plant, 2017, 10(6): 866-877.

[17] HARTMANN F P, TINTURIER E, JULIEN J L, et al. Between stress and response: function and localization of mechanosensitive Ca^{2+} channels in herbaceous and perennial plants [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(20): 11043.

[18] GASTEIGER E, HOOGLAND C, GATTIKER A, et al. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server [M]. [S. l.]: Humana Press, 2005.

[19] BENDER T, PENA G, MARTINOU J C. Regulation of mitochondrial pyruvate uptake by alternative pyruvate carrier complexes[J]. The EMBO Journal, 2015, 34(7): 911-924.

[20] LE X H, LEE C P, MILLAR A H. The mitochondrial pyruvate carrier (MPC) complex mediates one of three pyruvate-supplying pathways that sustain *Arabidopsis* respiratory metabolism[J]. The Plant Cell, 2021, 33(8): 2776-2793.

[21] ZANGARI J, PETRELLI F, MAILLOT B, et al. The multifaceted pyruvate metabolism: role of the mitochondrial pyruvate carrier [J]. Biomolecules, 2020, 10(7): 1068.

[22] MERMET S, VOISIN M, MORDIER J, et al. Evolutionarily conserved protein motifs drive interactions between the plant nucleoskeleton and nuclear pores[J]. The Plant Cell, 2023, 35 (12): 4284-4303.

[23] DUGAN J L, BOURDON A K, PHELIX C F. Mitochondrial pyruvate carrier 1 and 2 heterodimer, in silico, models of plant and human complexes: a comparison of structure and transporter binding properties [J]. International Journal of Knowledge Discovery in Bioinformatics, 2017, 7(2): 11-42.

[24] ZHANG J, NING Y Y, LI J J, et al. Comparative chloroplast genome analysis of *Ardisia* (Myrsinoideae, Primulaceae) in China and implications for phylogenetic relationships and adaptive evolution[J]. BMC Plant Biology, 2024, 24(1): 1198.

[25] PATIL G, VALLIYODAN B, DESHMUKH R, et al. Soybean (*Glycine max*) SWEET gene family: insights through comparative genomics, transcriptome profiling and whole genome re-sequence analysis [J]. BMC Genomics, 2015, 16 (1): 520.

[26] FATIMA A, SINGH P, PANDEY V K, et al. Exploring the significance of protein concentrate: a review on sources, extraction methods, and applications[J]. Food Chemistry Advances, 2024, 5: 100771.

[27] QUESÑAY J E N, POLLOCK N L, NAGAMPALLI R S K, et al. Insights on the quest for the structure-function relationship of the mitochondrial pyruvate carrier[J]. Biology, 2020, 9 (11): 407.

[28] ZHANG Y J, FERNIE A. On the detection and functional significance of the protein-protein interactions of mitochondrial transport proteins[J]. Biomolecules, 2020, 10(8): 1107.

[29] 林兴凤. NLP-5/6-NPR-9 调控诱丽线虫感觉信号整合的神经环路与分子机制研究[D]. 南京：东南大学，2011.
LIN X F. Neural circuit and molecular mechanism of NLP-5/6-NPR-9 regulating sensory signal integration of LEPIDOPTERA [D]. Nanjing: Southeast University, 2011.

[30] 巫永睿. 玉米硬质胚乳形成的分子遗传机制研究[C]//第十九届中国作物学会学术年会论文摘要集. 武汉：第十九届中国作物学会学术年会，2020：45.
WU Y R. Research on the molecular genetic mechanism of hard endosperm formation in corn[C]//Abstract of the 19th Annual Conference of the Chinese Crop Society. Wuhan: 19th Annual Conference of the Chinese Crop Society, 2020: 45.

[31] BRUNI R, LAGUERRE A, KAMINSKA A M, et al. High-throughput cell-free screening of eukaryotic membrane protein expression in lipidic mimetics[J]. Protein Science, 2022, 31 (3): 639-651.

[32] HEGAZY L, GILL L E, PYLES K D, et al. Identification of novel mitochondrial pyruvate carrier inhibitors by homology modeling and pharmacophore-based virtual screening[J]. Biomedicines, 2022, 10(2): 365.

[33] KOPECKÁ R, KAMENIAROVÁ M, ČERNÝ M, et al. Abiotic stress in crop production[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(7): 6603.

[34] TAN J J, WU F Q, WAN J M. Flowering time regulation by the *CONSTANS*-like gene OsCOL10[J]. Plant Signaling & Behavior, 2017, 12(1): e1267893.

[35] MA W F, ZHAO J W, LU S X, et al. Analysis of Apple MPC gene family and validation of *MdMPC5* improving *Arabidopsis* salt-tolerance[J]. Scientia Horticulturae, 2025, 342: 114027.

[36] PAN Y H, LIANG H F, GAO L J, et al. Transcriptomic profiling of germinating seeds under cold stress and characterization of the cold-tolerant gene LTG5 in rice[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 371.

[37] PATHAN M, COURTOIS B, NGUYEN H, et al. Molecular dissection of abiotic stress tolerance in sorghum and rice[M]// Physiology and Biotechnology Integration for Plant Breeding. Boca Raton: CRC Press, 2004.

[38] MOUMENI A, SATOH K, KONDOH H, et al. Comparative analysis of root transcriptome profiles of two pairs of drought-tolerant and susceptible rice near-isogenic lines under different drought stress[J]. BMC Plant Biology, 2011, 11(1): 174.

[39] JUE D W, SANG X L, LIU L Q, et al. The ubiquitin-conjugating enzyme gene family in Longan (*Dimocarpus longan* Lour.): genome-wide identification and gene expression during flower induction and abiotic stress responses [J]. Molecules, 2018, 23(3): 662.

（下转第 41 页）