

· 研究报告 ·

拟南芥纤维素合酶基因时空表达模式与功能预测

韩笑^{1,2,3}, 郭凯^{1,2,4}, 李新新^{1,2,3}, 刘绪^{1,2,3}, 王炳锐^{1,3}, 夏涛^{1,2,4}
彭良才^{1,2,3,4}, 丰胜求^{1,2,3*}

¹华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070; ²华中农业大学生物质与生物能源研究中心, 武汉 430070

³华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070; ⁴华中农业大学生命科学技术学院, 武汉 430070

摘要 纤维素是细胞壁的主要组成成分, 研究纤维素合成可以从源头上解决关于高效降解纤维素的问题。该研究通过综合拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)纤维素合酶基因(*AtCESA*)家族的进化和芯片表达分析及根据拟南芥全生育期GUS染色结果分析纤维素合酶基因的时空表达模式, 发现拟南芥纤维素合酶基因*AtCESA1*, *3*, *6*以及*AtCESA4*, *7*, *8*分别参与细胞壁初生壁和次生壁的合成并存在明显的共表达现象。其中, *AtCESA1*, *3*, *6*在全生育期表达, *AtCESA4*, *7*, *8*主要在根、茎和叶脉等次生壁细胞中表达。*AtCESA5*和*AtCESA6*、*AtCESA2*和*AtCESA9*以及*AtCESA1*和*AtCESA10*等基因对均有基因重复作用。根据*AtCESA*家族基因表达模式和分子演化关系可以推测, *AtCESA5*对*AtCESA6*以及*AtCESA9*对*AtCESA2*可能分别存在功能冗余。此外, *AtCESA9*的表达具明显的组织特异性。上述研究结果为深入认识拟南芥纤维素合酶基因的功能奠定了基础。

关键词 拟南芥, 细胞壁, 纤维素合酶, 表达模式

韩笑, 郭凯, 李新新, 刘绪, 王炳锐, 夏涛, 彭良才, 丰胜求 (2014). 拟南芥纤维素合酶基因时空表达模式与功能预测. 植物学报 49, 539–547.

纤维素是细胞壁的主要组成部分, 普遍存在于植物细胞中(姚敦义和王静之, 1988; 侯雷平和李梅兰, 2001), 构成了地球上最为丰富的生物能源(Saxena and Brown, 2005; 刘长斌等, 2007)。据推算, 每年地球上由绿色植物光合作用产生的纤维素达 10^{11} t, 因此纤维素是一种重要的工业原料(Carroll and Somerville, 2009)。而研究细胞壁以及纤维素合成可以从源头上解决高效降解纤维素的问题。微管植物的纤维素由原生质膜上的纤维素合酶(cellulose synthase, CESA)催化合成, 通过质膜的冷冻断裂技术观察到纤维素合酶组成直径25–30 nm的对称玫瑰状复合体, 每个复合体由6个亚基组成(Doblin et al., 2002; Somerville, 2006)。构成玫瑰状复合体的每个亚基均可合成6条 β -1,4-葡萄糖链, 36条 β -1,4-葡萄糖链彼此由氢键连接构成一个微纤维(Somerville, 2006)。

关于高等植物纤维素复合体的报道最早来自棉花(*Gossypium hirsutum*)。Pear等(1996)通过对比细菌纤维素合酶序列得出纤维素合酶复合体由CESAs

亚基组成。双子叶模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中*AtCESA1*是第1个被克隆并被生化证据证明的纤维素合酶基因, 通过对温度敏感型EMS突变体*rsw1*的研究表明, 其在高温时纤维素含量显著减少, 果胶含量明显增加, 通过分子标记和序列分析证实这种表型由*AtCESA1*基因的单碱基突变引起(Arioli et al., 1998)。随着越来越多物种基因测序的完成, 纤维素合酶基因家族在多个物种中已被鉴定出来, 如拟南芥有10个纤维素合酶基因, 水稻(*Oryza sativa*)至少有9个, 杨树(*Populus tremula*)有18个(Richmond and Somerville, 2000; Schenk et al., 2000; Dhugga, 2001)。氨基酸数量和序列同源性分析结果表明, 植物纤维素合酶基因家族各个成员之间都有很高的相似性, 在第985到第1 088氨基酸之间, 序列同源性达到53%–98%(Schenk et al., 2000; 魏建华和宋艳茹, 2002)。

通过分析拟南芥组织mRNA的10个纤维素合酶基因, 发现*AtCESA1*、*AtCESA2*、*AtCESA3*、*AtCE-*

收稿日期: 2013-09-09; 接受日期: 2014-04-03

基金项目: 高等学校学科创新引智计划(No.B08032)和中央高校基本科研业务费专项资金(No.2013QC042)

* 通讯作者。E-mail: fengsq@mail.hzau.edu.cn

SA5和AtCESA6在所有拟南芥组织中均有表达(Pear et al., 1996; Dhugga, 2001; Wang et al., 2010); 突变体分析表明, AtCESA1、AtCESA2、AtCESA3和AtCESA6与植物初生壁的生物合成有关(Arioli et al., 1998; Pagant et al., 2002); 胚的基因表达分析表明, AtCESA1、AtCESA2、AtCESA3和AtCESA9在胚中表达(Burn et al., 2002)。因此, AtCESA1、AtCESA2、AtCESA3、AtCESA5、AtCESA6和AtCESA9可能与细胞初生壁的合成有关, 而AtCESA4、AtCESA7和AtCESA8只在叶脉等次生壁组织中表达, 可能与次生壁的合成有关(Richmond, 2000)。通过对突变体进行研究, 发现错译突变的AtCESA1和AtCESA3表现为植株生成减缓, AtCESA6的EMS突变体(prc1)表现为细胞膨胀(Turner and Somerville, 1997)。次生壁纤维素合酶基因复合体由AtCESA4、AtCESA7和AtCESA8构成, 这些突变体的木质部都十分不规则(irregular xylem, irx)(Turner and Somerville, 1997; Szyjanowicz et al., 2004)。目前, 关于AtCESA2、AtCESA5和AtCESA9的功能尚未有定论, 但有报道表明这三个基因与AtCESA6相关, 在功能上可能存在着部

分冗余(Persson et al., 2007)。

本文通过分析拟南芥AtCESA基因家族的进化及其全生育期芯片表达谱, 结合纤维素合酶启动子连接报告基因GUS(Pro_{CESA1-10}::GUS)的高世代转化株系拟南芥, 分别在营养生长期和生殖生长期, 系统地进行GUS组织染色, 以揭示这些基因在正常生长发育中的时空表达模式, 为进一步了解纤维素合酶基因的功能提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以高世代稳定遗传的哥伦比亚生态型拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)为实验材料, 包含AtCESA1-10的启动子连接报告基因GUS(Pro_{CESA1-10}::GUS)的转化株系。启动子引物序列及扩增长度见表1。所需芯片数据来源于NCBI(National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)网站GEO数据库中的拟南芥全生育期芯片GSE5629、GSE5630、GSE5631、GSE5632、GSE5633和GSE-

表1 拟南芥纤维素合酶基因启动子扩增引物以及序列长度

Table 1 Primer information and promoter length of AtCESA genes in *Arabidopsis thaliana*

Primer name	Primer sequence (5'-3')	Restriction enzyme site	Promoter length (bp)
AtCESA1-F	CTGGT <u>CGAC</u> GAGAAGAGATGGTAAAGAGAG	Sal I	1 118
AtCESA1-R	GGACTGCAGCCATGGCGCAGCCACCGACACACAGAG	Pst I, Nco I	
AtCESA2-F	ACGGT <u>CGAC</u> GACAGATTGTGAGTGCAGAA	Sal I	2 462
AtCESA2-R	CCATGGCTGCAGGATGTCTTCTACACCGAATC	Nco I, Pst I	
AtCESA3-F	GACGT <u>CGAC</u> CTGGTGATACGAGGTGATGG	Sal I	2 176
AtCESA3-R	GAGCTGCAGCCATGGTTGTCACTTAGTTGCTTCCAACACC	Pst I, Nco I	
AtCESA4-F	ATCCG <u>GTCGAC</u> ATTAAATCTTATTTACTAACAAAAC	Sal I	805
AtCESA4-R	AAAGGATCCACGAAATGTACATTACGTTGAG	Bam HI	
AtCESA5-F	CGCGAATTCACGCTTTCAGTTTGTGCGACC	Eco RI	2 619
AtCESA5-R	GACGGATCCATGGTACCGACAAAACAGTAGACAG	Bam HI, Nco I	
AtCESA6-F	TGCGT <u>CGAC</u> GATCGAATCAAGTTGAAGTGC	Sal I	2 472
AtCESA6-R	ACCGAATTCATGGATTTGTCTGAAAACAGACACAGC	Eco RI, Nco I	
AtCESA7-F	TCCGT <u>CGAC</u> ATCCGGTTCAGCTATGATG	Sal I	1 694
AtCESA7-R	ACTAAGCTTGAAGACTCCATGAGGGACGGCCGGAGATTAGC	Hind III, Bbs I	
AtCESA8-F	GCATGCATCAGAGGAACTCAGATGTGA	Sph I, Nsi I	948
AtCESA8-R	GTCTACCTTCGAATTCCTCCCTGTTTGG	Acc I, Eco RI	
AtCESA9-F	GGAGT <u>CGAC</u> TAAAGATGGTTTTAGTGGAGG	Sal I	978
AtCESA9-R	CCACTGCAGCCATGGATCACTAGTCCGATCAGATCAC	Pst I, Nco I	
AtCESA10-F	ACGGGTACCGATGGTCCGAGAACTGCTCCG	Asp7181/Kpn I	2 634
AtCESA10-R	ACTAAGCTTGGTCTCGCATGCCGGCGTTTTGCTGCAACG	Hind III, Bsa I	

5634。所需的拟南芥基因序列来自TAIR(The Arabidopsis Information Resource, <http://www.arabidopsis.org/>)。

1.2 方法

1.2.1 拟南芥*AtCESA*基因的进化及复制

从TAIR网站上下载拟南芥*AtCESA*基因的蛋白质序列, 利用MEGA5(Tamura et al., 2011)分别作比对(alignment)。使用邻位法(neighbor joining, NJ) (Saitou and Nei, 1987)构建系统发生树, 其中自展参数(bootstrap)为1 000。

拟南芥各基因之间的片段复制(segmental duplications)关系数据来自PGDD(<http://Chibba.agtecega.edu/duplication/>)网站, 并利用DAGchainer program(Haas et al., 2004)进行验证, 参数为V=5, B=5, E=1e-10。各基因的染色体位置以及长度信息来自TAIR网站。利用Circos(Krzywinski et al., 2009)软件绘制*AtCESA*基因的染色体分布以及基因之间的复制关系图。

1.2.2 全生育期芯片数据研究拟南芥*CESA*基因的表达模式

从NCBI网站的GEO数据库中下载CEL文件, 用R软件(<http://www.r-project.org>)的affy包将数据导入, 利用MAS5(MAS5.0, Affymetrix, Inc.)对芯片数据进行背景扣除、均一化以及数据总结, 提取拟南芥*CESA*基因在各生育期以及组织中的表达情况, 计算*CESA*基因之间的表达相关性以及欧式距离(Euclidean distance), 利用分层聚类(hierarchical cluster)中complete linkage方法构建聚类树。结果用gplots软件包中的heatmap.2软件绘制热图。

1.2.3 GUS染色观察拟南芥纤维素合酶*AtCESA*基因全生育期的表达模式

运用GUS染色法对拟南芥全生育期进行染色观察, 所选的时期为二叶期、六叶期、花期及角果期。具体步骤如下: (1) 植物材料在90%丙酮中固定30分钟; (2) 倒掉90%丙酮, 加入GUS染色缓冲液, 固定30分钟; (3) 倒掉GUS染色缓冲液, 加入新的GUS染色缓冲液, 固定30分钟; (4) 倒掉GUS染色缓冲液, 加入GUS染色液, 37°C过夜; (5) 70%乙醇37°C脱色, 每

隔30分钟更换1次至无绿色; (6) 在体式显微镜(XYH-06A)下观察并拍照。

2 结果与讨论

2.1 拟南芥*AtCESA*基因的进化关系

由图1A可知, 拟南芥纤维素合酶*AtCESA*基因在进化关系上可分为两大类, 即Cluster A和Cluster B。Cluster A又分为2个亚类: Cluster A1和Cluster A2。初生壁合成基因*AtCESA1*, 3, 6位于Cluster A中, 次生壁合成基因*AtCESA4*, 7, 8位于Cluster B中。其中,

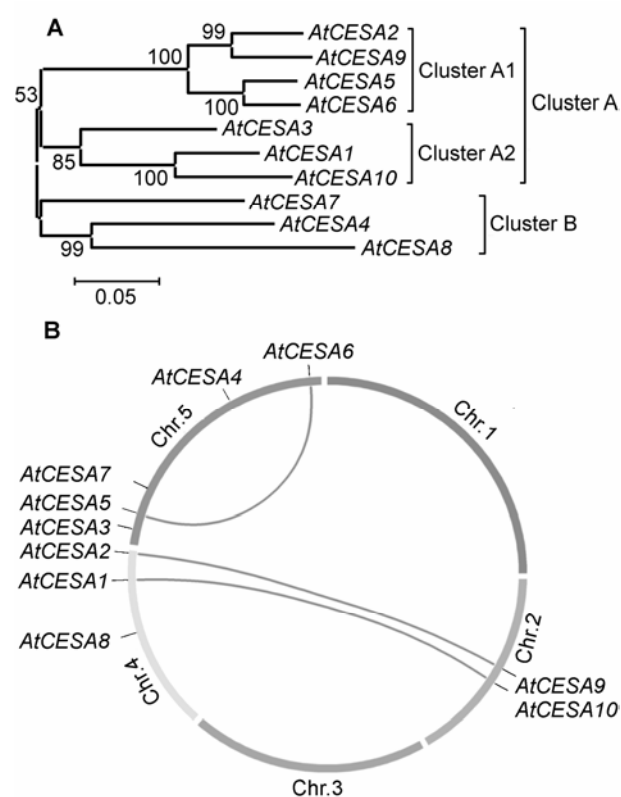


图1 拟南芥纤维素合酶基因的系统发生树及染色体分布和片段重复关系图

(A) 拟南芥纤维素合酶基因的系统发生树; (B) 拟南芥纤维素合酶基因的染色体分布及片段重复关系图

Figure 1 Unrooted phylogenetic tree and chromosomal localization and segmental genome duplication of *AtCESA* genes in *Arabidopsis thaliana*

(A) Unrooted phylogenetic tree of *AtCESA* genes; (B) Chromosomal localization and segmental genome duplication of *AtCESA* genes

AtCESA2, 5, 6, 9位于Cluster A1中, 由其进化关系可知*AtCESA5*, 6以及*AtCESA2*, 9为旁系同源基因。可以推测*AtCESA5*对*AtCESA6*基因存在相同功能或对*AtCESA6*具功能冗余。

2.2 拟南芥纤维素合酶基因*AtCESA*的染色体分布及片段重复关系

从图1B可以看出, 拟南芥*AtCESA*基因主要分布在第2号、4号和5号染色体上。由*AtCESA*基因之间的复制关系可知, *AtCESA2*和*AtCESA9*、*AtCESA1*和*AtCESA10*以及*AtCESA5*和*AtCESA6*为片段重复基因, 可以推测这几组基因是染色体复制形成的。其中, *AtCESA1*和*AtCESA2*由于在染色体上邻近, 并且同时都是*AtCESA10*和*AtCESA9*片段的重复基因, 可以推断这两对基因是在同一时间复制出来的。除此之外, 比较容易得出这3组基因均为旁系同源基因, 与前文进化分析的结果一致。

2.3 拟南芥纤维素合酶基因在全生育期芯片中的表达模式

根据拟南芥全生育期芯片可以得出*AtCESA1-10*基因的表达模式。由图2可知, *AtCESA1*、*AtCESA3*和*AtCESA6*在拟南芥全生育期各组织中均有较强表达, 并且存在明显的共表达, 说明初生壁基因(*AtCESA1*, 3, 6)具备相似的功能, 并且能形成纤维素合酶复合体, 表明这些基因是植株生长发育所必需的基因。*AtCESA4*、*AtCESA7*和*AtCESA8*主要在茎、根、花药以及角果中有较强表达, 呈现一定的组织特异性, 并具有明显的共表达, 说明次生壁表达基因*AtCESA4*, 7, 8在这些组织的形成中起一定作用。*AtCESA10*在角果后期以及种子形成初期有较强表达, 在其它时期和组织中均无明显表达, 呈现出明显的组织特异性, 说明*AtCESA10*在角果形成后期以及种子形成过程中发挥一定功能。*AtCESA5*在花期花中以及成熟的花粉中无明显表达, 在其余各组织中均表达较强。*AtCESA2*在花中以及成熟的花粉中表达与其它组织相比较低。*AtCESA9*在第1节间和种子形成后期有少量表达, 在其余组织中表达相对较低或基本不表达。

2.4 拟南芥纤维素合酶基因在营养生长时期的表达

由图3可知, 在六叶期, *AtCESA1*、*AtCESA2*、*At-*

CESA3、*AtCESA5*和*AtCESA6*表达部位相似, 在根、茎、子叶、真叶叶肉、表皮毛和生长点中表达。*AtCESA4*、*AtCESA7*和*AtCESA8*表达部位相似, 主要在根、茎和叶脉中表达。同时, *AtCESA9*仅在生长点中表达, *AtCESA10*在各组织中均无表达。纤维素合酶基因在六叶期的表达模式与二叶期(资料未显示)一致。

2.5 拟南芥纤维素合酶基因在生殖生长期的表达

从图4可以看出, 在花期, *AtCESA1*、*AtCESA2*、*AtCESA3*和*AtCESA6*表达部位一致, 在根、茎、真叶叶肉、叶基部、生长点和花中表达。*AtCESA5*除不在花中表达外, 其余表达部位与*AtCESA1*、*AtCESA2*、*AtCESA3*和*AtCESA6*一致。*AtCESA4*在根和茎中表达; *AtCESA7*和*AtCESA8*表达部位相似, 在根、茎、叶脉和花中表达。*AtCESA9*在生长点中表达; *AtCESA10*在各组织中均无表达。

由图5可知, 角果期, *AtCESA1*、*AtCESA2*、*AtCESA3*和*AtCESA6*表达部位相似, 在根、茎、真叶叶肉、叶基部、生长点、花和角果中表达。*AtCESA4*、*AtCESA7*和*AtCESA8*表达部位相似, 在根、茎、叶脉和花中表达。*AtCESA9*在花中表达。*AtCESA5*和*AtCESA10*在各组织中均无表达。

结合芯片数据以及拟南芥全生育期表达的GUS染色对应分析可以看出, *AtCESA1*、*AtCESA2*、*AtCESA3*和*AtCESA6*的表达时期及部位十分相似, 都在植株全生育期的根、茎、叶、花和角果中表达, 说明上述基因在拟南芥的整个生长发育过程中都发挥作用, 主要与初生壁的合成有关。而*AtCESA4*、*AtCESA7*和*AtCESA8*与根、茎、叶脉和花的合成有关, 而且可以看出这几个基因与次生壁的合成关系十分密切。*AtCESA9*只在生长点和花中表达, 呈现比较明显的组织特异性, 生长点是细胞初生壁合成的活跃部位, 而就花器官而言, 同时具初生壁和次生壁, 所以*AtCESA9*的功能还有待进一步证实。*AtCESA10*只在角果后期以及种子形成初期有较强表达且呈现明显的组织特异性。

2.6 讨论

纤维素作为细胞壁的重要组成部分, 对其生物合成的研究具有重要意义。拟南芥作为双子叶模式植物, 加

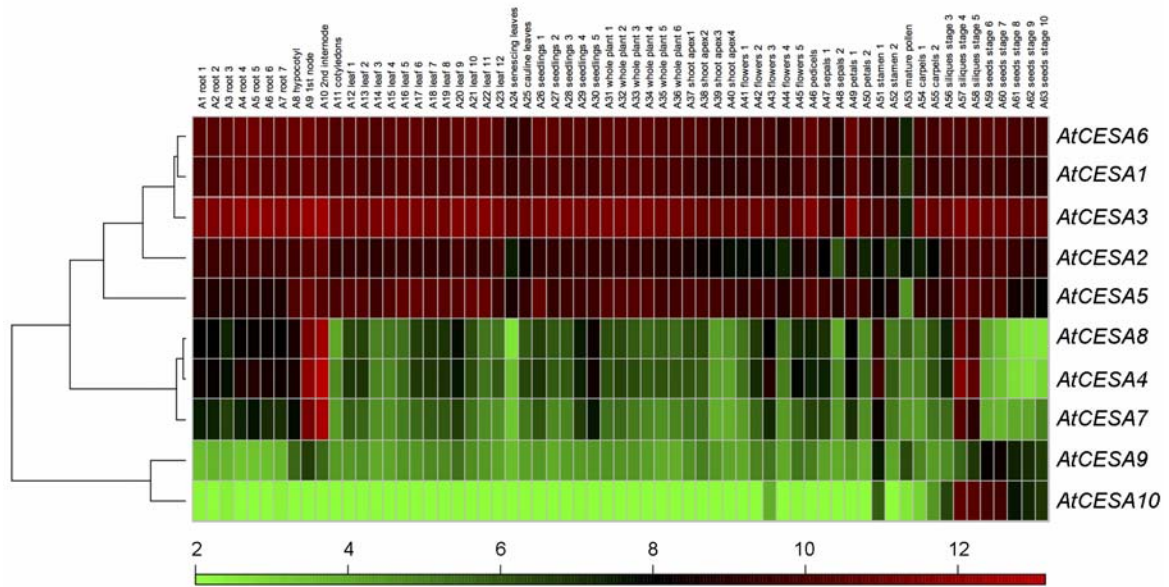


图2 拟南芥*AtCESA*基因在全生育期的表达模式图
标尺颜色显示基因表达强度(绿色表示低表达, 黑色表示中度表达, 红色表示高表达)。

Figure 2 Genome-wide expression profiling of *AtCESA* genes in *Arabidopsis thaliana*
The color scale representing the relative signal values is shown below (green refers to low expression; black refers to medium expression and red refers to high expression).

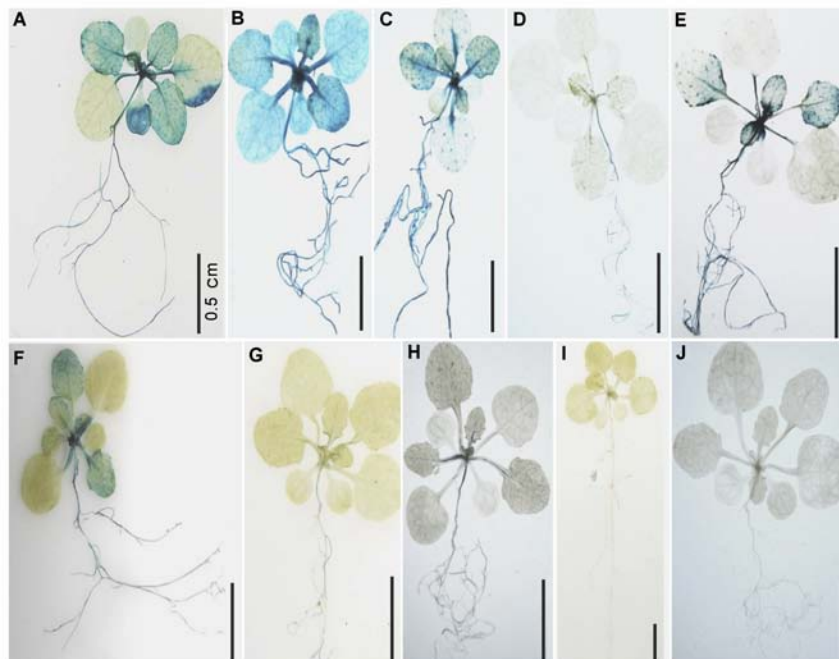


图3 拟南芥六叶期*ProCESA1-10::GUS*植株染色

Figure 3 The GUS staining of *ProCESA1-10::GUS* at six leaves stage of *Arabidopsis thaliana*
(A) *AtCESA1*; (B) *AtCESA2*; (C) *AtCESA3*; (D) *AtCESA4*; (E) *AtCESA5*; (F) *AtCESA6*; (G) *AtCESA7*; (H) *AtCESA8*; (I) *AtCESA9*; (J) *AtCESA10*. Bar=0.5 cm



图4 拟南芥花期 $Pro_{CESA1-10}::GUS$ 植株染色
(A)-(J) 同图3。Bar=1 cm

Figure 4 The GUS staining of $Pro_{CESA1-10}::GUS$ at flowering phase of *Arabidopsis thaliana*
(A)-(J) see Figure 3. Bar=1 cm

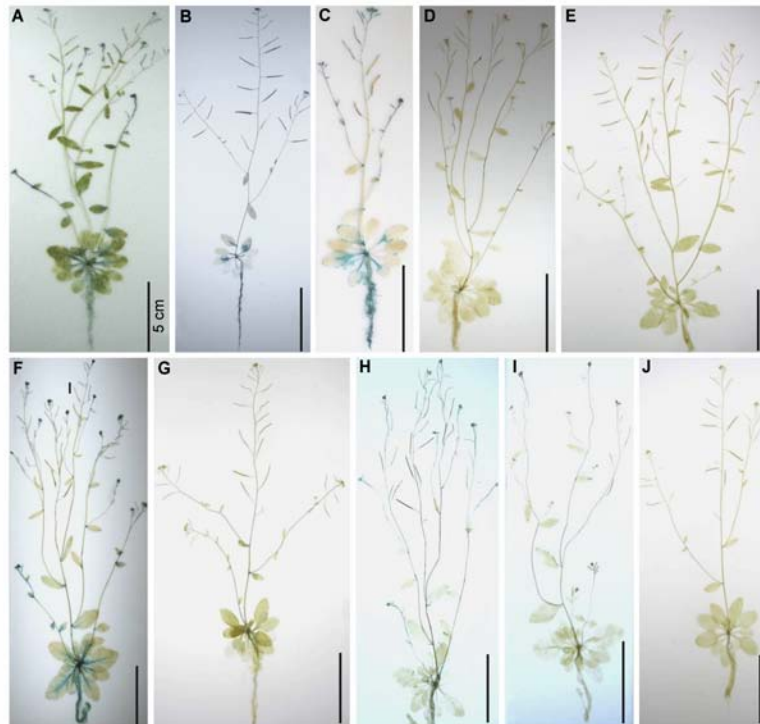


图5 拟南芥角果期 $Pro_{CESA1-10}::GUS$ 染色
(A)-(J) 同图3。Bar=5 cm

Figure 5 The GUS staining of $Pro_{CESA1-10}::GUS$ at silique phase of *Arabidopsis thaliana*
(A)-(J) see Figure 3. Bar=5 cm

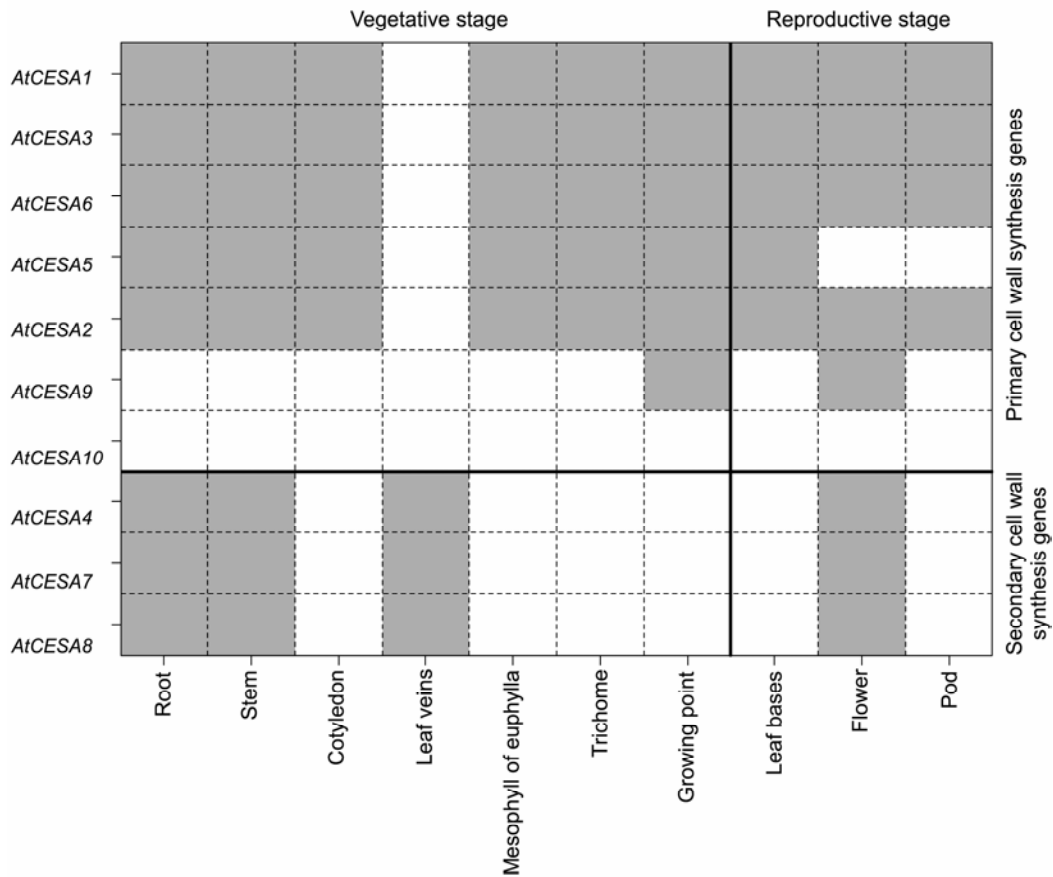


图6 拟南芥全生育期ProCESA1-10::GUS染色

Figure 6 The GUS staining of ProCESA1-10::GUS at whole life cycle of Arabidopsis thaliana

之其AtCESA1是第1个被克隆并被验证的高等植物纤维素合酶基因(Arioli et al., 1998), 故成为纤维素合成的重要研究对象。随着拟南芥纤维素合成研究的日益深入, 越来越多的突变体(如*rsw1*(AtCESA1)、*prc1*(AtCESA6))以及对应编码AtCESA8、AtCESA7和AtCESA4的突变体(*irx1*、*irx3*和*irx5*)的发现及鉴定加速了人们对拟南芥纤维素合成的了解(Persson et al., 2007)。综合当前研究进展可知, AtCESA1, 3, 6主要参与拟南芥初生壁的形成, 而AtCESA4, 7, 8主要参与次生壁的形成, AtCESA5被认为对AtCESA6存在着部分功能冗余, 可能也参与初生壁的合成(Wang et al., 2010)。而AtCESA9的功能尚需进一步探讨。

本研究通过结合拟南芥全生育期芯片的表达分析及对其启动子融合GUS基因表达的观察, 从基因表达的角度证实了AtCESA1, 3, 6和AtCESA4, 7, 8的

功能。与芯片特定时期只对特定部位取材相比, GUS染色更直接且在同一时期覆盖的组织更多(全植株染色), 从而更有利于研究基因在特定时期的组织表达模式和全面了解AtCESA基因的功能。另外, 对比芯片结果可知, 在芯片中AtCESA10在角果后期以及种子形成初期有较强表达。这与GUS染色结果不一致, 推测可能由于没有对种子进行GUS染色及角果期取样时间与芯片不一致。根据进化以及基因复制的关系可以得出AtCESA5和AtCESA6同样来源于基因片段的复制, 从而可以推断AtCESA5对AtCESA6具功能冗余, 加上AtCESA2, 5, 6, 9位于同一个Cluster, 故可以得出AtCESA2和AtCESA9对AtCESA5和AtCESA6具功能冗余, 因此这4个基因应该具有共同的祖先(Endler and Persson, 2011)。通过比较全生育期芯片表达分析及GUS染色结果(图2, 图6)可以看出, AtCESA1, 3, 6在全生育期的各个组织中均有较强表

达,且具有很强的共表达现象;*AtCESA4*, *7*, *8*主要在根、茎和叶脉的次生壁组织中表达,同样呈现明显的共表达,可见这6个基因具特异的生物学功能。复制基因*AtCESA5*和*AtCESA6*在大多数组织中表达相似。对比GUS结果可以看出,在角果期*AtCESA5*基本不表达。可以得知*AtCESA5*和*AtCESA6*虽然由复制产生,但基因复制后发生了变异,导致这2个基因表达存在一定的差异(Desprez et al., 2007)。*AtCESA2*和*AtCESA9*表达存在明显的差异,*AtCESA2*在全生育期都有较高表达,*AtCESA9*只在花和生长点中表达。可以得出这2个基因在复制后命运发生了本质的变化,导致了其功能不同。*AtCESA1*和*AtCESA10*与*AtCESA2*和*AtCESA9*类似。上述结果对我们深入认识拟南芥纤维素合酶基因的功能提供了新的证据。

参考文献

- 侯雷平,李梅兰 (2001). 油菜素内酯(BR)促进植物生长机理研究进展. 植物学通报 **18**, 560–566.
- 刘长斌,薛永常,聂会忠 (2007). 高等植物纤维素合酶超家族. 生命的化学 **27**, 533–535.
- 魏建华,宋艳茹 (2002). 植物纤维素合酶基因研究进展. 植物学通报 **19**, 641–649.
- 姚敦义,王静之 (1988). 细胞壁. 植物学通报 **5**, 18–21.
- Arioli T, Peng L, Betzner AS, Burn J, Wittke W, Herth W, Camilleri C, Höfte H, Plazinski J, Birch R, Cork A, Glover J, Redmond J, Williamson RE (1998). Molecular analysis of cellulose biosynthesis in Arabidopsis. *Science* **279**, 717–720.
- Burn JE, Hocart CH, Birch RJ, Cork AA, Williamson RE (2002). Functional analysis of the cellulose synthase genes *CESA1*, *CESA2*, and *CESA3* in Arabidopsis. *Plant Physiol* **129**, 797–807.
- Carroll A, Somerville C (2009). Cellulosic biofuels. *Annu Rev Plant Biol* **60**, 165–182.
- Desprez T, Juraniec M, Crowell EF, Jouy H, Pochylova Z, Parcy F, Höfte H, Gonneau M, Vernhettes S (2007). Organization of cellulose synthase complexes involved in primary cell wall synthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 15572–15577.
- Dhugga KS (2001). Building the wall: genes and enzyme complexes for polysaccharide synthases. *Curr Opin Plant Biol* **4**, 488–493.
- Doblin MS, Kurek I, Jacob-Wilk D, Delmer DP (2002). Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes. *Plant Cell Physiol* **43**, 1407–1420.
- Endler A, Persson S (2011). Cellulose synthases and synthesis in Arabidopsis. *Mol Plant* **4**, 199–211.
- Haas BJ, Delcher AL, Wortman JR, Salzberg SL (2004). DAGchainer: a tool for mining segmental genome duplications and synteny. *Bioinformatics* **20**, 3643–3646.
- Krzywinski M, Schein J, Birol I, Connors J, Gascoyne R, Horsman D, Jones SJ, Marra MA (2009). Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res* **19**, 1639–1645.
- Pagant S, Bichet A, Sugimoto K, Lerouxel O, Desprez T, McCann M, Lerouge P, Vernhettes S, Höfte H (2002). *KOBITO1* encodes a novel plasma membrane protein necessary for normal synthesis of cellulose during cell expansion in Arabidopsis. *Plant Cell* **14**, 2001–2013.
- Pear JR, Kawagoe Y, Schreckengost WE, Delmer DP, Stalker DM (1996). Higher plants contain homologs of the bacterial *celA* genes encoding the catalytic subunit of cellulose synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 12637–12642.
- Persson S, Paredes A, Carroll A, Palsdottir H, Doblin M, Poindexter P, Khitrov N, Auer M, Somerville CR (2007). Genetic evidence for three unique components in primary cell-wall cellulose synthase complexes in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 15566–15571.
- Richmond TA (2000). Higher plant cellulose synthases. *Genome Biol* **1**, 3001–3006.
- Richmond TA, Somerville CR (2000). The cellulose synthase superfamily. *Plant Physiol* **124**, 495–498.
- Saitou N, Nei M (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* **4**, 406–425.
- Saxena IM, Brown RM (2005). Cellulose biosynthesis: current views and evolving concepts. *Ann Bot* **96**, 9–21.
- Schenk PM, Kazan K, Wilson I, Anderson JP, Richmond T, Somerville SC, Manners JM (2000). Coordinated plant defense responses in Arabidopsis revealed by microarray analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 11655–11660.
- Somerville C (2006). Cellulose synthesis in higher plants. *Annu Rev Cell Dev Biol* **22**, 53–78.
- Szyjanowicz PMJ, McKinnon I, Taylor NG, Gardiner J, Jarvis MC, Turner SR (2004). The *irregular xylem 2* mutant is an allele of *korrigan* that affects the secondary cell wall of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **37**, 730–740.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M,

- Kumar S** (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* **28**, 2731–2739.
- Turner SR, Somerville CR** (1997). Collapsed xylem phenotype of Arabidopsis identifies mutants deficient in cellulose deposition in the secondary cell wall. *Plant Cell* **9**, 689–701.
- Wang LQ, Guo K, Li Y, Tu YY, Hu HZ, Wang BR, Cui XC, Peng LC** (2010). Expression profiling and integrative analysis of the CESA/CSL superfamily in rice. *BMC Plant Biol* **10**, 282.

Expression Profiling and Functional Prediction of Arabidopsis AtCESA Genes

Xiao Han^{1,2,3}, Kai Guo^{1,2,4}, Xinxin Li^{1,2,3}, Xu Liu^{1,2,3}, Bingrui Wang^{1,3}, Tao Xia^{1,2,4},
Liangcai Peng^{1,2,3,4}, Shengqiu Feng^{1,2,3*}

¹National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China
²Biomass and Bioenergy Research Center, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; ³College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; ⁴College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract Cellulose is a major structural component of the plant cell wall. Thus, understanding cellulose biosynthesis is important in plant biology and biomass production. In this study, we analyzed the phylogenetics of Arabidopsis cellulose synthesis genes (*AtCESA*) and their expression using the microarray data from NCBI. Furthermore, we analyzed the expression of 10 *AtCESA* promoter:GUS reporter genes in different vegetative and reproductive growth stages of Arabidopsis. Our results showed that *AtCESA1*, -3, and -6 or -6-like protein genes were probably required for primary cell-wall complexes, whereas *AtCESA4*, -7, and -8 protein genes were possibly involved in secondary cell-wall complexes. *AtCESA1*, -3, and -6 show high global expression in all tissues, whereas *AtCESA4*, -7, -8 are highly expressed in root, stem and leaf vein. We found 3 segmental duplication genes (*AtCESA5/6*, *AtCESA2/9* and *AtCESA11/10*); *AtCESA5* may be partially redundant with *AtCESA6*. In addition, *AtCESA9* showed tissue-specific expression in meristems and flowers and may be partially redundant with *AtCESA2*. *AtCESA* genes may be important for primary and secondary cell-wall formation during different developmental stages in Arabidopsis and in different organs.

Key words Arabidopsis, cell wall, cellulose synthase, expression pattern

Han X, Guo K, Li XX, Liu X, Wang BR, Xia T, Peng LC, Feng SQ (2014). Expression profiling and functional prediction of Arabidopsis *AtCESA* genes. *Chin Bull Bot* **49**, 539–547.

* Author for correspondence. E-mail: fengsq@mail.hzau.edu.cn