

文章编号: 1000-5862(2021)02-0180-08

# 铁限制诱导对聚球藻转录组的影响

何昕颖, 申 铁\*

(贵州师范大学贵州省信息与计算科学重点实验室, 贵州 贵阳 550001)

**摘要:** 为探究 Fe 元素限制对聚球藻转录组的影响, 该文以聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 为研究对象, 采用高通量测序技术对经过铁限制处理的聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 进行转录组分析。以铁的 3 种摩尔浓度进行处理, 其中每组数据重复 3 次实验, 一共获得 9 组实验数据; 对照组摩尔浓度为  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 铁限制组摩尔浓度分别为  $0.410$ 、 $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。实验发现: 在铁限制环境下, 聚球藻通过增加对胞外铁摄取、上调光合作用相关蛋白的表达和调整代谢通路来应对缺铁环境, 且铁限制程度与差异基因数量成正相关关系。此外, 在强缺铁时通过下调 CRISPR 系统中某些核酸酶的表达来影响聚球藻抵御外源病毒感染的功能, 其转运磷酸基团 ABC 转运蛋白表达水平下降, 从而极大地影响了聚球藻的生存。

**关键词:** 聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002; Fe 元素限制; 转录组; 高通量测序技术

**中图分类号:** Q 5      **文献标志码:** A      **DOI:** 10.16357/j.cnki.issn1000-5862.2021.02.11

## 0 引言

蓝藻( *Cyanobacteria* ) 也称蓝细菌, 因其含藻青蛋白而呈现蓝绿色, 也被称为蓝绿藻, 蓝藻属革兰氏阴性、光合产氧原核微生物。聚球藻( *Synechococcus* ) 是一种单细胞蓝藻, 是海洋蓝细菌系统中重要的组成部分。研究表明: 地球海洋中的原绿球藻( *Prochlorococcus*, 聚球藻的近缘种) 和聚球藻每年大约吸收  $1 \times 10^{10} \text{ t}$  碳, 即海洋固定了大气二氧化碳总量的  $2/3$ , 在碳循环和食物链中是不可或缺的成员<sup>[1]</sup>。

铁( Fe ) 对于蓝藻光合作用非常重要, 但在海洋的含氧条件下, 热力学稳定的  $\text{Fe}^{3+}$  氧化态的溶解度非常低, 溶解  $\text{Fe}(\text{dFe})$  的摩尔浓度通常低于  $2.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[2]</sup>。铁本身也是光系统 II ( PS II ) 中的组成成分, 负责电子的传递, 因此铁限制会影响蓝藻的光合作用。此外, 铁还参与活性氧代谢过程, 如和铁超氧化物歧化酶(  $\text{Fe-SOD}$  )、过氧化氢酶(  $\text{CAT}$  )、过氧化物酶(  $\text{POD}$  ) 的形成有关<sup>[3]</sup>。不同摩尔浓度铁限制是如何影响 *Synechococcus* sp. PCC 7002 转录组的, 目前还不是很清楚。

转录组测序( RNA-seq ) 主要通过高通量测序研究细胞或特定组织在某个时期内转录出来的 mRNA

的表达量, 从而对相关基因和表型的关系进行分析, 其中测序的研究对象为特定细胞在某一功能状态下所能转录出来的所有 RNA 的总和, 主要包括 mRNA 和非编码 RNA<sup>[4]</sup>。转录组是研究基因表达的较好方式与途径, 可以了解生命体的表达来源, 并是基因功能及结构研究的保障。转录水平的调控是目前研究最多、在生物体中最高效快捷调控方式, 它可以从整体水平上研究细胞中转录情况及其调控规律, 从 RNA 水平来研究基因表达的情况, 可以揭示在不同环境条件下不同的组织类型在不同的生理状态下所表达的基因<sup>[5]</sup>。

本文以聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 为研究对象, 应用高通量测序技术进行转录组测序, 得到测序数据并确定相关代谢通路信息, 筛选其差异基因, 确定相关差异基因表达功能, 为进一步探究在 Fe 元素限制对聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 的影响过程中关键基因的功能与作用奠定理论基础, 也为 Fe 元素对水生微生物转录组研究提供了思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验环境

本次实验前期数据处理均在 Ubuntu 16.4 操作

收稿日期: 2020-11-25

基金项目: 国家自然科学基金( 31760254 ) 资助项目。

通信作者: 申 铁( 1982— ), 男, 贵州遵义人, 教授, 博士, 主要从事转录组学、代谢流量组学、基因组学等研究。E-mail: 20421980@qq.com

系统下使用命令进行.

1.2 数据采集

本实验数据来源于 NCBI 数据库,通过在 NCBI 数据库中的 GEO DataSets 下载得到聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 测序数据, GEO accession 序列号为 GSE77354,分别采用 10.900 nmol · L<sup>-1</sup> (铁充足)、0.410 nmol · L<sup>-1</sup> (铁轻微限制) 和 0.003 nmol · L<sup>-1</sup> (铁严重限制) 3 种铁元素摩尔浓度所对应的共 9 组数据.

1.3 数据格式处理

SRA(Sequence Read Archive) 数据库是用于存储 2 代测序原始数据和比对信息的数据库<sup>[6]</sup>. 为便于后续数据分析,使用 SRA-Tools 软件把序列原始数据从 SRA 格式转换为 FastQ 格式.

1.4 质控分析

Trim Galore 是一个用于去接头和低质量序列的软件,用于处理高通量测序得到的原始数据,数据来自 Illumina 测序平台,可用 FastQC 软件评估数据质量,也可配合使用 MultiQC 软件进行多组报告整合并生成质控报告,以便用于整体分析.

1.5 转录组数据与参考基因组做比对

从 NCBI 网站中下载聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 参考基因组,利用 Hisat2(7.5.0 版本)软件将过滤后的数据与参考基因组做比对.

1.6 featureCounts 计数

高通量数据比对产生的结果无法深入理解生物学过程,只有将其转化成基因组特征的 read count. 它比现有的方法要快得多(基因级摘要的数量级),需要的计算机内存也更小,且适用于单端或双端读取,并为不同的测序应用提供了广泛的选择<sup>[7]</sup>. 从 NCBI 网站下载注释文件,将比对后的数据利用 featureCounts(2.0.1 版本)软件对输入文件 bam 类型进行计数,从而得到表达矩阵,得到的表达矩阵是后续很多分析过程的重要输入文件.

1.7 差异基因表达分析

DESeq2 可用作基因差异表达分析,属于 R 包, DESeq2 以整数值矩阵的形式从 RNA-Seq 或其他高通量测序实验中获得的数据<sup>[8]</sup>,经过前期分析(数据质控、与参考基因组比对、计数)后,得到表达矩阵,通过在 RStudio 中安装并使用 DESeq2 包,载入表达矩阵进行差异分析,从而得到差异基因.

1.8 KEGG Pathway 分析

KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes) 是一种功能数据库,作为分析基因功能以及联系基因信息和功能信息的知识库. 可以从 2 个方面分析: (i) 由功能到通路再到基因,快速锁定某一功能的关键基因; (ii) 获得某个基因在信号通路中的角色(上下游关系) 和其生物学功能,深入理解基因与功能的关系.

2 结果与分析

2.1 测序数据质控结果

测序原始数据经过转换、质控分析,共有 52.7 GB 的过滤后的数据(clean data) 用于后续分析,9 个样本数据的 GC 含量均在 44% 以上.

2.2 转录组数据与参考基因组比对分析

将过滤后的数据与聚球藻参考基因组做比对, 每组平均有 16 026 972 条 reads 比对到参考基因组上,其上 0.003 nmol · L<sup>-1</sup> 组比对率在 76% 以上, 10.900 nmol · L<sup>-1</sup> 组和 0.410 nmol · L<sup>-1</sup> 组数据与参考基因组比对率均达到 97% 以上(见表 1).

表 1 各样本转录组数据与参考基因组比对情况

样品名称	比对率/%
0.003 nmol · L <sup>-1</sup> A ,SRR3132686.1_trimmed.fq	76.61
0.003 nmol · L <sup>-1</sup> B ,SRR3132687.1_trimmed.fq	76.86
0.003 nmol · L <sup>-1</sup> C ,SRR3132688.1_trimmed.fq	77.93
0.410 nmol · L <sup>-1</sup> A ,SRR3132692.1_trimmed.fq	97.92
0.410 nmol · L <sup>-1</sup> B ,SRR3132693.1_trimmed.fq	97.87
0.410 nmol · L <sup>-1</sup> C ,SRR3132694.1_trimmed.fq	97.59
10.900 nmol · L <sup>-1</sup> A ,SRR3132695.1_trimmed.fq	99.24
10.900 nmol · L <sup>-1</sup> B ,SRR3132696.1_trimmed.fq	99.25
10.900 nmol · L <sup>-1</sup> C ,SRR3132697.1_trimmed.fq	99.24

2.3 转录组数据与注释文件比对情况

通过上述分析得到的表达矩阵,与注释文件进行比对,结果如表 2 所示,其中注释文件共有 3 240 个基因,比对到注释文件共有 3 204 个基因,基因覆盖率达到 98.89%.

表 2 GTF 注释情况

GTF 总基因	测取基因	百分比/%	注释基因
3 240	3 204	98.89	529

注:测取基因是指实际测到的基因个数;注释基因是指确定基因功能的基因.

## 2.4 差异基因表达分析结果

由 featureCounts 得到的不同组所对应的基因表达矩阵,用 R 语言的 pheatmap 包对表达矩阵进行层次聚类分析,结果如图 1 所示,各组组内能较好地聚类在一起,组间能较好地分开,且  $0.410 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  组和  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  组在总体基因表达水平上更接近,这表明铁限制会改变聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 转录组总体表达水平,铁限制的 2 组在总体基因表达水平上也更为相近。

通过 R 语言中的 DESeq2 对所得基因表达矩阵进行分析,得到  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  相对  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  以及  $0.410 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  相对  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的差异基因,通过 pheatmap 包对前 50 的差异基因进行可视化处理,结果如图 2 和图 3 所示。

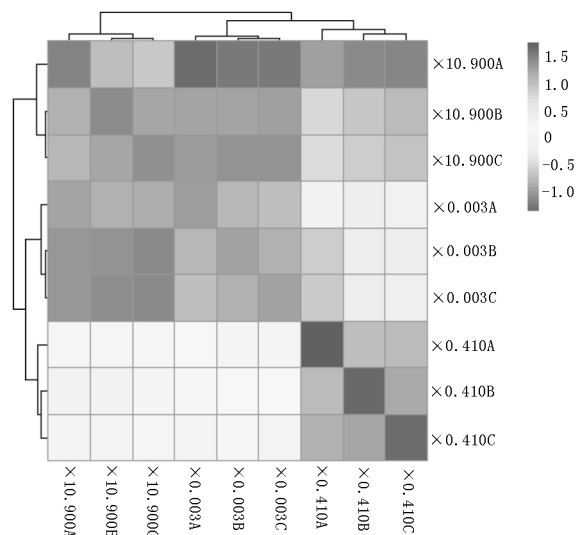


图 1 基因表达矩阵聚类热图

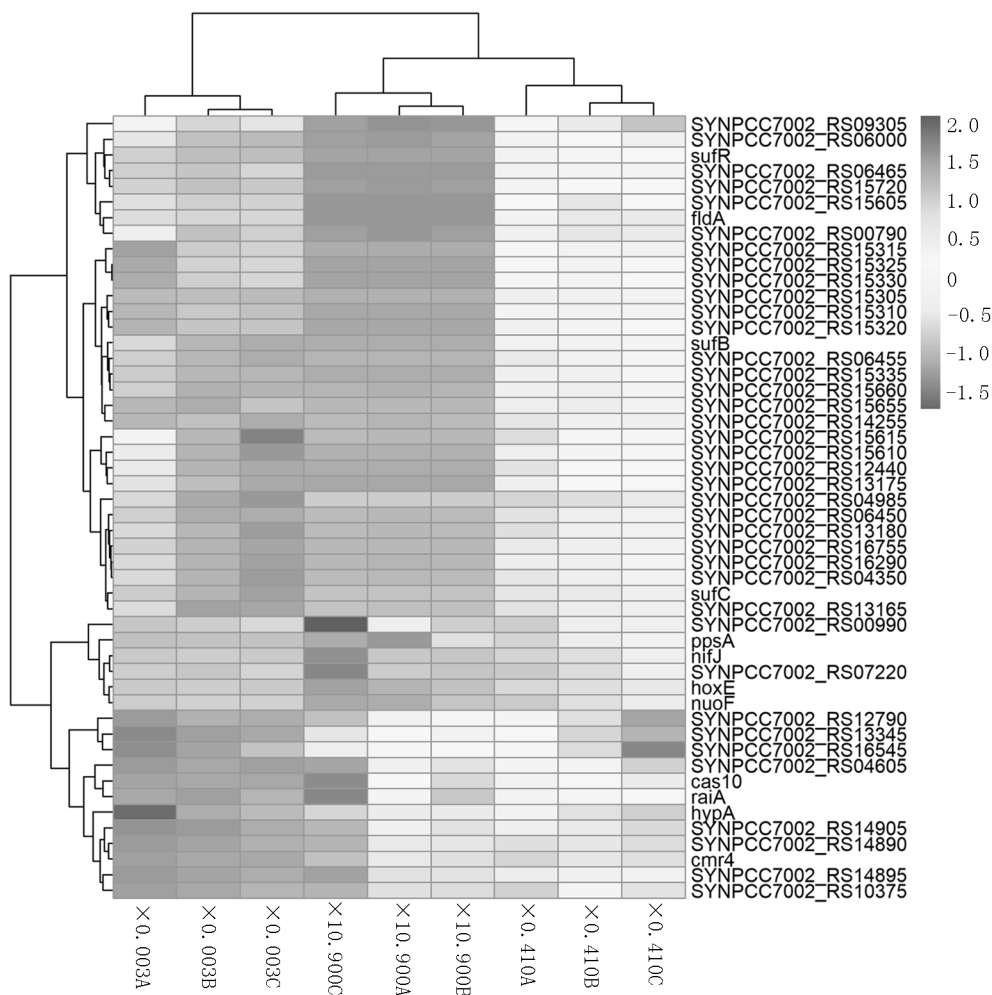


图 2  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  前 50 差异基因热图

相比  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  对照组,铁限制的 2 组都会显著提高 SufB、SufC、SufR 和 FldA 基因表达。SUF 复合体是由基因串 SufA、BCD、SE 编码,通常会在微生物或植物受到胁迫(氧化应激和铁限制)时上调表达<sup>[9]</sup>。SufBCD 复合体与 SufE 协同刺激 SufS

半胱氨酸脱硫酶活性, SufBCD 复合体有助于氧化应激下不稳定的铁硫团簇的组装或修复,可促进在铁限制下从细胞外铁螯合剂中吸收铁<sup>[10]</sup>。此外,在 SUF 复合体中 SufD、SufS 也都有显著性的上调,这表明在  $0.410$ 、 $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  条件下的铁限制,聚

球藻能通过上调 *SUF* 复合物的形成, 进而增加细胞外低浓度铁的摄取, 从而达到维持自身正常生理水平的作用, *FldA* 基因的上调表明铁限制会影响聚球藻的电子传递链.

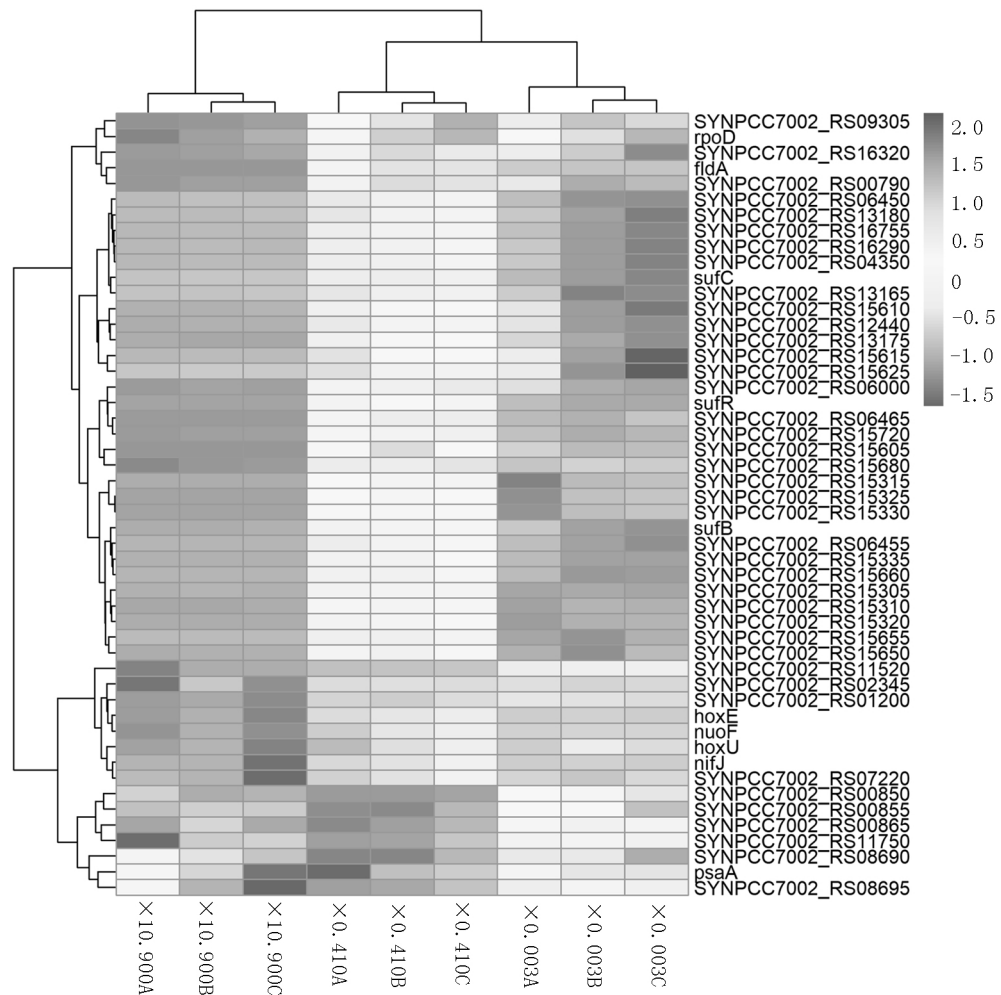


图 3 10.900 nmol · L<sup>-1</sup> vs. 0.410 nmol · L<sup>-1</sup>前 50 差异基因热图

相比 10.900 nmol · L<sup>-1</sup>对照组, 铁限制能显著性下调 *NifJ*、*HoxE* 和 *NuoF* 基因的表达, *NifJ*、*NuoF* 都直接与电子的传递有关, *NifJ* 是电子从丙酮酸转移至黄酮毒素所需的氧化还原酶, 而 *NuoF* 是 NADH-醌氧化还原酶 F 亚基, 负责将来自 NADH 的电子通过 FMN 和铁-硫(Fe-S)中心传递到呼吸链中的醌<sup>[11]</sup>, 其中 *HoxE* 与 NAD 的氧化还原有关<sup>[12]</sup>. 从显著性下调基因来分析, 铁限制通过影响电子传递相关蛋白质的表达, 从而下调聚球藻的电子传递效率以及氧化还原能力, 因此铁限制会减弱聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 的氧化呼吸能力和抵挡氧化物的能力.

由图 2 可知 0.003 nmol · L<sup>-1</sup> 组比 10.900 nmol · L<sup>-1</sup> 组和 0.410 nmol · L<sup>-1</sup> 组, 其 *Cas10*、*RaiA*、*HypA* 和 *Cmr4* 表达量显著下调, 可见在更强的铁限制条件下, 聚球藻 *Synechococcus* sp. 7002 基因表达会受到更大影响. *Cas10* 与 *Cmr4* 是 CRISPR 系统中重要

的组成蛋白, *Cas10* 是一种单链特异的脱氧核糖核酸酶, 当 crRNA 与靶 RNA 形成 3 元 Csm 复合结构时, 能靶向入侵 DNA 病毒的基因组, 招募 *Cas10* 蛋白并且激活单链 DNA 活性, 在转录泡(transcription bubble)处降解 DNA, 以此达到对入侵病毒的免疫<sup>[13]</sup>. *Cmr4* 则是通过类似的功能靶向外源 RNA 的降解<sup>[14]</sup>(如 RNA 病毒感染的). 强铁限制能通过对 CRISPR 系统中相关蛋白的 mRNA 调控来影响聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 对于外界病毒感染的免疫力. 0.003 nmol · L<sup>-1</sup> 铁限制组会明显降低聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 免疫力, 从而影响了它在该条件下较好地生存.

通过 DESeq2 软件包对各组数据进行差异基因数量统计(见图 4), 以 10.900 nmol · L<sup>-1</sup> 为对照参考组, 在 0.003 nmol · L<sup>-1</sup> 样本数据中, 有 357 个基因上调表达(根据  $\log(2^{foldchange}) > 1$ ,  $p_{adj} < 0.05$ , 上调基因, 下同), 384 个基因下调表达(根据  $\log(2 \cdot$

$f_{oldchange}) < -1$   $p_{adj} < 0.05$ , 下调基因); 在  $0.410 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  样本数据中, 有 159 个基因上调表达, 94 个基因下调表达(见图 5 和图 6), 通过寻找 2 组对比共有的差异基因, 得到共有差异基因数量, 其中上调的共同差异基因有 124 个, 下调的共同差异基因有 71 个。面对不同铁摩尔浓度处理, *Synechococcus* sp. PCC 7002 转录组调控有一定保守性, 也存在一定的差异性。

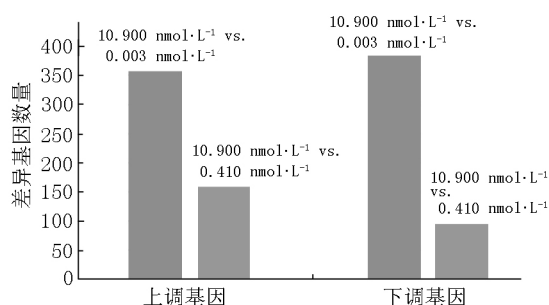


图 4 差异表达基因数量

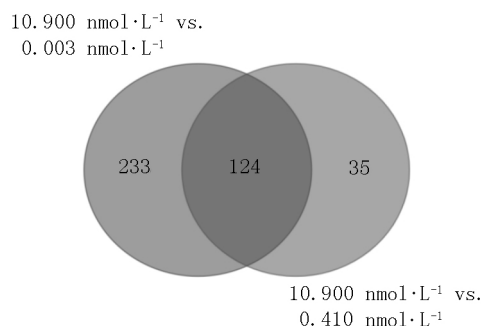


图 5 上调差异表达基因韦恩图

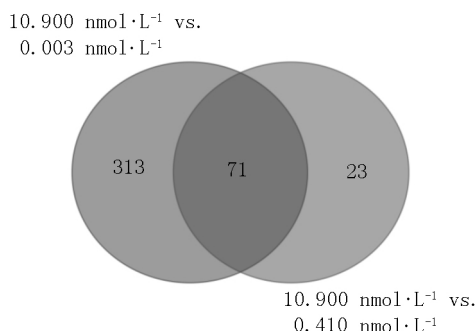


图 6 下调差异表达基因韦恩图

## 2.5 KEGG Pathway 分析结果

为弄清铁限制影响的差异基因具体富集在哪些通路上, 对上调的差异基因进行 KEGG 分析。

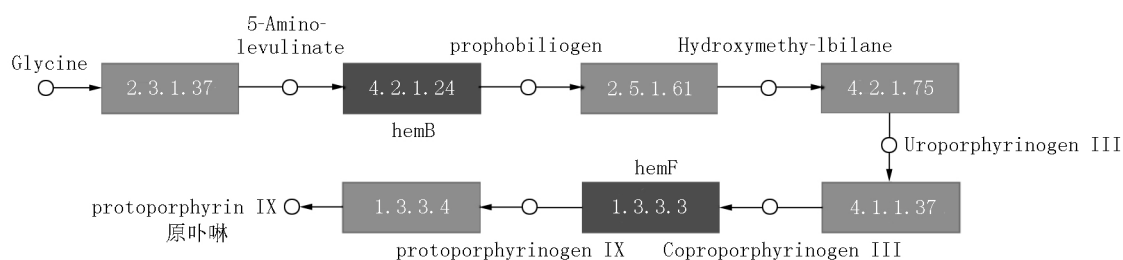


图 7 原卟啉合成通路图

$10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的上调差异性基因有 357 个, 其中注释基因有 65 个, 通过 DAVID Bioinformatics Resources 6.8 对  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  上调的 65 个注释功能的显著性差异基因进行 KEGG Pathway 分析, 共富集到 8 条信号通路(见表 3), 其中 7 条跟代谢相关, 1 条核糖体跟蛋白合成有关。由此可知, 在强烈缺失铁元素的环境下, 聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 主要通过调整自身代谢相关酶基因表达, 达到对强缺铁环境的适应。如在卟啉和叶绿素代谢中(见图 7), 强缺铁通过增加与卟啉和叶绿素代谢相关基因 (hemB、hemF、cobU) 的表达, 增加叶绿素前体原卟啉 (protoporphyrin IX) 的合成, 增强卟啉和叶绿素代谢通路, 从而提高光合作用。

表 3  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  上调基因 KEGG 分析

类别	通路	数量	P 值
KEGG_Pathway	代谢途径	27	$2.2 \times 10^{-4}$
KEGG_Pathway	叶酸生物合成	4	$6.7 \times 10^{-3}$
KEGG_Pathway	脂肪酸生物合成	3	$3.3 \times 10^{-2}$
KEGG_Pathway	氨基酸生物合成	7	$4.3 \times 10^{-2}$
KEGG_Pathway	次生代谢物的生物合成	12	$4.7 \times 10^{-2}$
KEGG_Pathway	脂肪酸代谢	3	$7.8 \times 10^{-2}$
KEGG_Pathway	卟啉和叶绿素代谢	3	$9.2 \times 10^{-2}$
KEGG_Pathway	核糖体	5	$9.3 \times 10^{-2}$

通过 ggplot 包对 DAVID 网站处理结果进一步得到  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  上调差异基因 KEGG 富集通路(见图 8), 与上述分析相同, 富集到了 SUF 系统 FeS 簇组装通路。在强铁限制的环境下, *Synechococcus* sp. PCC 7002 首先会通过加强 SUF 系统 FeS 簇相关蛋白表达, 增加 SUF 系统组装, 从而加大对胞外低浓度的铁摄取。此外, 在保证胞内基本铁维持后, 聚球藻还通过改变自身代谢方式达到对铁限制环境的适应。对  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.410 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的上调差异基因进行分析, 共有 159 个上调差异基因, 其中有注释功能的基因有

16 个,无法用 DAVID 进行 KEGG Pathway 分析,但这 16 个基因有 12 个基因包含在  $10.900\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  上调基因差异结果中,如 SufB、SufC、SufD、SufR、SufS 这 5 个基因与铁离子的吸收以及 Fe-S 簇生物功能相关.从差异性上调的数量上

看(见图 4), $10.900\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.410\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  差异性表达基因远不及  $10.900\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,这表明在铁缺失情况下,聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 调整的基因数量与铁限制程度成正相关关系.

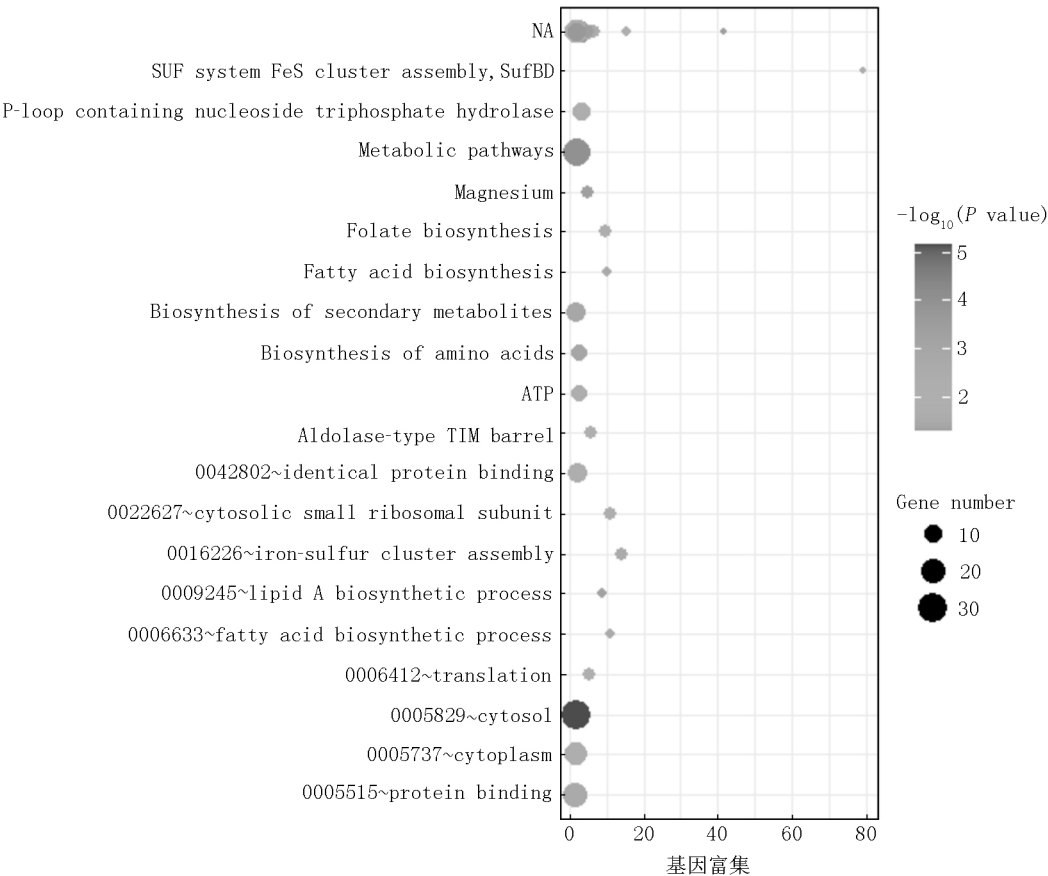


图 8  $10.900\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  上调差异基因 KEGG 富集通路

对下调差异基因进行 KEGG 分析, $10.900\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的下调差异性基因有 384 个,其中注释功能注释基因有 52 个,通过 DAVID Bioinformatics Resources 6.8 对  $10.900\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  下调的 52 个注释功能的显著性差异基因进行 KEGG Pathway 分析(见表 4) 共富集到 4 条信号通路,其中 RNA 降解通路在  $10.900\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  中下调表明聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 在强烈铁限制下, RNA 降解减少,这有利于在胁迫环境下更多与聚球藻存活相关蛋白质的生成.而在上调富集通路以及下调富集通路(见表 3 和表 4)中都富集到 Ribosome 通路,这说明在蛋白质翻译的水平上对照组与强铁限制有些差异.另外,强铁限制减少了聚球藻对于磷酸基团的转运(见图 9,★代表下调基因), $0.003\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  组主要通过限制 PstA 和 PstB 基因的转录,影响

ABC 转运蛋白复合体对磷酸基团的转运<sup>[15]</sup>,而磷酸根在氧化呼吸、蛋白质翻译后修饰以及 ATP 合成都起着极大作用,因此在该条件下聚球藻磷酸化会受到极大影响,从而影响了其较好地生存.

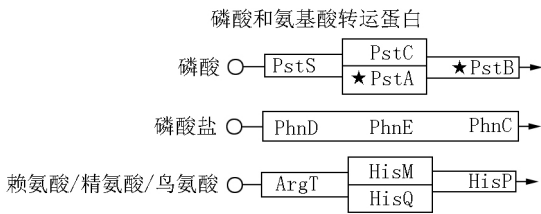


图 9 磷酸基团 ABC 转运通道

表 4  $10.900\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003\text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  下调基因 KEGG 分析

类别	通路	数量	P 值
KEGG_Pathway	核糖体	6	$5.3 \times 10^{-3}$
KEGG_Pathway	碳青霉烯生物合成	2	$3.3 \times 10^{-2}$
KEGG_Pathway	RNA 降解	3	$3.8 \times 10^{-2}$
KEGG_Pathway	ABC 转运蛋白	7	$5.2 \times 10^{-2}$

### 3 结果与讨论

为了理解铁是如何对聚球藻生理功能发挥作用的,本文比较了不同摩尔浓度铁限制对聚球藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 转录组的影响. 结果发现: 尽管在强铁限制条件下聚球藻生存受到较大的影响, 生存下来的聚球藻可通过调整自身的基因表达来适应铁缺乏环境. 面对胞外低浓度的 Fe *Synechococcus* sp. PCC 7002 增加 SUF 系统相关基因( SufB、SufC、SufR、SufD、SufS) 的表达, 增加对胞外铁摄取的能力, 以及铁硫团簇的组装或修复. 此外, 强铁限制处理的聚球藻注释功能的差异基因主要集中在代谢通路的调整, 这表明原核藻类在面对强铁限制下, 代谢的调整对其适应环境是极其重要的. 虽然在强铁限制下聚球藻还有一定生存能力, 但其抵御外源病毒感染的 CRISPR 系统 Cas10 和 Cmr4 基因显著下调, 它们分别靶向 DNA 病毒和 RNA 病毒, 在该环境下聚球藻抵抗病毒感染的免疫力下降, 这表明 Fe 元素对于原核生物免疫作用非常重要, 但具体是如何调控的还需要进一步研究.

铁本身对于聚球藻的光合作用很重要, 蓝藻为了适应铁缺失的环境, 且保持较为高效的光合效率, 进化出了一套相应的应对机制, 如大量合成缺铁诱导的捕光天线膜蛋白-色素复合物 IsiA 及结合黄素单核苷酸的黄素氧还蛋白( Flavodoxin, Fld) [16]. 在 KEGG Pathway 分析上, 富集到了卟啉和叶绿素代谢, 在显著性差异基因前 50 中找到了 FldA. 因此, 在缺铁环境下, *Synechococcus* sp. PCC 7002 为了增加光合效率, 大量表达和光合作用相关的蛋白, 以此来应对缺铁电子传递不足的局面, 从而适应强缺铁的环境.

研究还发现: 铁限制越强, 聚球藻调整的差异基因越多. 通过对  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.410 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  vs.  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  这 2 组差异基因分析, 面对铁限制聚球藻调整的差异基因在一定程度上是保守的; 但当面对更强铁缺失时, 需要调动更多的基因调整对该环境适应. 在保守层面上, 铁限制减少了聚球藻 NifJ、HoxE 和 NuoF 的表达, 影响了电子传递效率和氧化呼吸能力; 在低浓度铁吸收方面机制也相同. 而  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  组面对更为强的铁限制, 聚球藻调整更多的差异基因表达, 体现在代谢通路调整增多、防御系统受损、ABC 转运蛋白对磷酸的转运降低, 从而这导致其生存能

力下降.

通过铁限制对聚球藻的转录组研究, 了解到不同强度的铁限制是如何影响聚球藻生存能力的, 增加了聚球藻对该胁迫环境适应机制的理解. 为今后铁限制在海洋微生物以及其他水生微生物转录组的研究提供了思路.

### 4 参考文献

- [1] 马英, 焦念志. 聚球藻( *Synechococcus* ) 分子生态学研究进展 [J]. 自然科学进展, 2004, 14( 9 ): 967-972.
- [2] Hatta M, Measures C I, Wu Jingfeng et al. An overview of dissolved Fe and Mn distributions during the 2010—2011 U. S. GEOTRACES north Atlantic cruises: GEOTRACES GA03 [J]. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 2015, 116: 117-129.
- [3] 李政科. 蓝藻响应和适应铁限制的生理及分子机制 [D]. 武汉: 华中师范大学, 2016.
- [4] 祁云霞, 刘永斌, 荣威恒. 转录组研究新技术: RNA-Seq 及其应用 [J]. 遗传, 2011, 33( 11 ): 1191-1202.
- [5] 贾昌路, 张瑶, 朱玲, 等. 转录组测序技术在生物测序中的应用研究进展 [J]. 分子植物育种, 2015, 13( 10 ): 2388-2394.
- [6] 李瑞华, 田国祥, 郭晓娟, 等. SRA 数据库架构及二代测序数据共享 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11( 11 ): 1281-1284.
- [7] Liao Yang, Smyth G K, Shi Wei. FeatureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features [J]. Bioinformatics, 2014, 30( 7 ): 923-930.
- [8] Love M I, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 [J]. Genome Biol, 2014, 15( 12 ): 550.
- [9] 黄霞, 曾嘉, 王敏, 等. 铁硫簇的结构、功能及生物合成研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2008, 8( 5 ): 944-947, 951.
- [10] Outten F W, Wood M J, Munoz F M, et al. The SufE protein and the SufBCD complex enhance SufS cysteine desulfurase activity as part of a Sulfur transfer pathway for Fe-S cluster assembly in *Escherichia coli* [J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278( 46 ): 45713-45719.
- [11] Velazquez I, Nakamaru-Ogiso E, Yano T, et al. Amino acid residues associated with cluster N3 in the NuoF subunit of the proton-translocating NADH-quinone oxidoreductase from *Escherichia coli* [J]. FEBS Lett, 2005, 579( 14 ): 3164-3168.

- [12] Aubert-Jousset E ,Cano M ,Guedeney G ,et al. Role of HoxE subunit in synechocystis PCC6803 hydrogenase [J]. Febs Journal 2011 278( 21) : 4035-4043.
- [13] Kazlauskienė M ,Tamulaitis G ,Kostiuk G ,et al. Spatiotemporal control of Type III-A CRISPR-Cas Immunity: coupling DNA degradation with the target RNA recognition [J]. Molecular Cell 2016 62( 2) : 295-306.
- [14] Benda C ,Ebert J ,Scheltema R A ,et al. Structural model of a CRISPR RNA-silencing complex reveals the RNA-target cleavage activity in Cmr4 [J]. Molecular Cell ,2014 , 56( 1) : 43-54.
- [15] Schurdell M S ,Woodbury G M ,McCleary W R. Genetic evidence suggests that the intergenic region between pstA and pstB plays a role in the regulation of rpoS translation during phosphate limitation [J]. Journal of Bacteriology , 2007 ,189( 3) : 1150-1153.
- [16] Cao Peng ,Cao Duangfang ,Si Long ,et al. Structural basis for energy and electron transfer of the photosystem I-IsiA-flavodoxin supercomplex [J]. Nature Plants 2020 6( 2) : 167-176.

## The Effect of Iron Restriction Induction on the Transcriptome of *Synechococcus*

HE Xinying ,SHEN Tie \*

( Key Laboratory of Information and Computing Science of Guizhou Province ,Guizhou Normal University ,Guiyang Guizhou 550001 ,China)

**Abstract:** In order to explore the effect of Fe restriction on the *Synechococcus* transcriptome ,*Synechococcus* sp. PCC 7002 is as the research object in the study. High-throughput sequencing is used to analyze the transcriptome of *Synechococcus* sp. PCC 7002 treated with iron restriction. Three different concentrations of iron are used ,and the experiment is repeated three times for each set of data ,a total of nine sets of experimental data. The concentration of the control group is  $10.900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  ,and the iron-restricted group is  $0.410 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $0.003 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  ,respectively. It is found that in response to iron-deficiency environments ,*Synechococcus* increases extracellular iron uptake ,upregulates the expression of photosynthesis-related proteins and adjusts metabolic pathways ,and the degree of iron-restriction is positively correlated with the number of differential genes. In addition ,strong iron deficiency affects the ability of *Synechococcus* sp. PCC 7002 to resist foreign virus infection by down-regulating the expression of certain nucleases in the CRISPR system ,and the expression level of the ABC transporter that transported phosphate groups also decreased ,which greatly affects its survival.

**Key words:** *Synechococcus* sp. PCC 7002; Fe restriction; transcriptome; high-throughput sequencing technology

( 责任编辑: 刘显亮)