

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2021.03.001

# 毛竹硝态氮转运蛋白家族 *PeNPFs* 基因 鉴定及其表达特性分析

袁婷婷<sup>1</sup>, 朱成磊<sup>1</sup>, 杨克彬<sup>1</sup>, 宋新章<sup>2</sup>, 高志民<sup>1\*</sup>

(1. 国际竹藤中心竹藤资源基因科学与基因产业化研究所, 国家林业和草原局/北京市共建竹藤科学与技术重点实验室, 北京 100102; 2. 浙江农林大学, 浙江 杭州 311300)

**摘要:** [目的] 鉴定毛竹中硝态氮转运蛋白(NPF)家族基因成员, 系统分析其分子特征和表达模式, 为深入研究毛竹NPF基因的硝态氮转运功能奠定基础。[方法] 采用生物信息学方法从毛竹基因组中鉴定NPF家族基因成员, 并对其启动子调控元件、基因结构、编码蛋白理化性质、保守结构域、系统进化等进行全面分析, 利用已有转录组数据, 对毛竹NPF基因的组织表达特异性以及不同非生物胁迫和激素处理后的表达模式进行分析。[结果] 在毛竹中共鉴定NPF家族成员基因27个, 其基因结构差别较大, 内含子数量为2~5个, 编码区最长为2286 bp (*PeNPF7.4*), 最短为1359 bp (*PeNPF8.8*)。基因启动子调控元件分析发现, *PeNPFs*启动子序列中包含多种与低温和干旱等非生物胁迫以及GA<sub>3</sub>和NAA等激素响应相关的元件。*PeNPFs*编码蛋白的分子量介于49.56~82.08 kDa之间, 理论等电点为5.17~9.85, 大部分是中性或碱性蛋白, 均含有类似的跨膜结构; 系统进化分析表明, 毛竹27个*PeNPFs*分属于7个亚家族, 各亚家族成员数量分别为1、3、1、6、1、7和8个; 蛋白保守基序分析显示, *PeNPFs*共有10个保守基序, 其中motif 1、motif 2和motif 4是各成员共有的高度保守的基序。基于转录组数据的表达谱热图分析显示, *PeNPFs*在叶片、花序、根、鞭和笋等不同组织中的表达存在一定差异, 但各成员至少在1个组织中检测到表达, 部分成员的表达表现为组织特异性或组成型表达。在冷和干旱处理后, *PeNPF5.3*、*PeNPF7.2*、*PeNPF7.3*和*PeNPF8.7*的表达量均显著下调, 这与其启动子序列中存在与低温和干旱响应调控元件相一致; 在GA<sub>3</sub>和NAA处理后, *PeNPF7.3*和*PeNPF7.6*呈相反的表达变化, 而*PeNPF7.1*的表达趋势相似。[结论] 毛竹中有27个NPFs家族基因成员, 分为7个亚家族, 各亚家族成员之间的分子特征和组织表达特异性均存在一定的差异, 且一些基因对非生物胁迫和激素处理的响应变化均达到显著性差异, 推测这些基因在毛竹不同组织中及应对不同环境过程中对硝态氮的转运可能发挥着不同的功能, 研究结果为揭示*PeNPFs*的生物学功能提供了重要依据。

**关键词:** 毛竹; 硝态氮转运蛋白基因; 分子特征; 表达模式

**中图分类号:** S718.46

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1498(2021)03-0001-12

氮是影响植物生长发育的重要矿质营养元素, 也是叶绿体、核酸、蛋白质以及很多次生代谢产物的重要组成成分<sup>[1]</sup>。大多数陆生植物以硝态氮作为主要氮源, 并以主动运输的方式从外部环境吸收硝态氮, 运输到其它组织器官中, 供植物生长发育<sup>[2]</sup>。

植物体内的硝态氮转运体(NRTs)负责从土壤中吸收硝态氮、植物体内硝态氮的运输和细胞内硝态氮再分配, 如NRT1、NRT2和NRT3等<sup>[3-4]</sup>。植物在进化过程中形成2类不同的转运蛋白, 即高亲和力转运蛋白/系统(HATS)和低亲和力转运蛋白/系统

收稿日期: 2020-07-30 修回日期: 2020-10-10

基金项目: 国家自然科学基金项目“毛竹快速生长和退笋发生的碳氮供应及机理研究”(31930075); 国家自然科学基金项目“竹笋速生期水道蛋白调控水分运输的分子机制”(31971736)

\* 通讯作者: 高志民. E-mail: gaozhimin@icbr.ac.cn

(LATS), 它们又分别分为组成型 (cHATS 和 cLATS) 和诱导型 (iHATS 和 iLATS) 转运系统。拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) *AtNRT1.1* (*CHL1*) 是高等植物中第 1 个被克隆的硝态氮转运蛋白基因, 它的突变导致硝态氮的吸收减少<sup>[5]</sup>, 之后又在水稻 (*Oryza sativa* L.)、玉米 (*Zea mays* L.) 和小麦 (*Triticum aestivum* L.) 中获得了多种同源基因<sup>[6-8]</sup>。由于 NRT1 和 PTR (Peptide transporter) 成员序列同源性高, 且能转运种类广泛的底物, 它们被统一命名为 NRT1/PTR FAMILY, 即 NPF 家族<sup>[9]</sup>。

植物 NPF 蛋白可运输硝态氮、多肽和脱落酸 (ABA) 等多种底物, 是一个功能广泛的家族, 可分为 8 个亚家族<sup>[9-10]</sup>。研究表明, 在拟南芥中 *AtNPF4.6* 负责硝态氮的吸收, 它是一个组成型表达的低亲和转运蛋白, 也可转运 ABA; *AtNPF7.3* 介导硝态氮的木质部装载<sup>[11]</sup>; *AtNPF1.2* 的作用是负责木质部到韧皮部的转移, 将硝酸盐重新分配到正在发育的叶片中<sup>[12]</sup>。水稻 *NPF8.9* 负责硝酸盐的吸收, 有 2 个不同剪接形式的转录本 (*NPF8.9a* 和 *NPF8.9b*), 它们过表达可增加植株地上干质量; *OsNPF6.5* 作用于硝态氮的吸收和地上地下硝态氮的转运<sup>[13]</sup>。玉米中 *ZmNPF6.6* 是一个高亲和硝酸盐特异转运蛋白, 而 *ZmNPF6.4* 是一个低亲和转运蛋白, 同时具有转入和转出硝酸盐的双向转运活性<sup>[14]</sup>。NPF 广泛存在于多种植物中, 且成员众多, 如拟南芥 NPF 家族有 53 个成员, 水稻 NPF 家族有 93 个成员<sup>[13]</sup>, 之后在黄瓜 (*Cucumis sativus* L.)、毛果杨 (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray)、苹果 (*Malus domestica* Borkh.)、甘蔗 (*Saccharum officinarum* L.) 中相继鉴定了多个 NPF 成员<sup>[15-18]</sup>, 而竹子中 NPFs 的相关研究尚属空白。

竹子是禾本科 (Gramineae) 竹亚科 (Bambusoideae) 植物, 其中, 毛竹 (*Phyllostachys edulis* (Carrière) J. Houz.) 是最具特色的竹种之一, 具有生长快、材性好、笋材两用、固碳能力强等特点<sup>[19-20]</sup>。速生的特点, 使得毛竹必须从外界吸收大量的氮素供其快速生长所需<sup>[21]</sup>, 因此, 生产中毛竹林施用氮肥非常普遍。在一定范围内 (250 kg·hm<sup>-2</sup>), 随着氮肥施用量增加, 毛竹冬笋、春笋和竹材的产量均呈增加的趋势<sup>[22]</sup>; 然而, 毛竹如何吸收利用氮素仍不清楚, 其分子调节机制及对外界胁迫的响应机制等均有待深入研究。NPF 家族成员为氮素的重要运输者, 因

此, 开展毛竹 NPF 基因的鉴定与表达模式研究对于揭示其功能具有重要意义。本研究以毛竹为研究对象, 利用已有基因组数据<sup>[23]</sup> 对其中 NPF 家族基因成员进行全面分析, 包括基因启动子、基因结构、编码蛋白理化性质、保守结构域、系统进化等, 并利用毛竹转录组数据分析 NPF 基因的组织表达特异性, 以及非生物胁迫冷和干旱处理、激素 GA<sub>3</sub> 和 NAA 处理后的表达模式, 以期为深入研究毛竹中 NPF 基因的功能奠定基础, 为探索毛竹快速生长发育期的氮素吸收利用机制提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 毛竹 NPF 基因序列获取

分别从 Rice Genome Annotation Project (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) 和 Tair (<https://www.arabidopsis.org/index.jsp>) 数据库下载水稻和拟南芥 NPF 基因的 CDS 和氨基酸序列, 作为诱饵序列在毛竹基因组数据库 BambooGDB (<http://bamboo.bamboogdb.org/>) 中进行 BlastP、BlastN (e-value=1e<sup>-10</sup>) 比对, 查找并获取其中 NPF 同源基因的候选序列。对获得的候选序列基于 SMART 数据库 (<http://smart.embl-heidelberg.de>) 和 PFAM 数据库 (<http://pfam.xfam.org>) 逐条进行蛋白保守结构域的鉴定和分析, 仅保留具有编码完整保守结构域的序列, 并进行基因命名 (*PeNPFs*)。

### 1.2 基于 NPF 同源序列的系统进化分析

为分析毛竹 NPF 成员的进化关系, 预测其潜在的功能, 使用 MEGA 7.0 软件的 Clustal W 功能对毛竹、水稻和拟南芥的 NPF 蛋白序列进行同源比对分析, 使用邻接法 (Neighbor-joining) 构建系统进化树, bootstrap 试验重复 1000 次<sup>[24]</sup>, 其它参数设置为默认值。

### 1.3 毛竹 NPF 基因结构及其编码蛋白序列分析

使用 Gene Structure Display Server 2.0 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 在线工具绘制 *PeNPFs* 的基因结构图, 利用 Plant CARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线平台分析其启动子序列所含作用元件, 用 ProtParam (<http://web.expasy.org/prot-param/>) 对毛竹 NPF 基因编码蛋白质的基本理化特性进行分析, 使用 MEME Version 5.1.0 (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 分析毛竹 NPF

蛋白的保守基序, 使用 Plant-mPLOC 算法 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn>) 预测 *PeNPFs* 的亚细胞位置。

#### 1.4 组织表达特异性分析

依据本实验室前期毛竹 7 个不同组织 (叶、早花期花序、盛花期花序、根、鞭、20 cm 笋和 50 cm 笋) 的转录组数据<sup>[23]</sup>, 用不同组织中 NPF 基因的 RPKM (Reads Per Kilo-bases Per Million Reads) 值表示基因的表达丰度, 为有效地可视化展示基因表达量, 对 RPKM 的值取以 2 为底的对数即  $\text{Log}_2$  (RPKM) 作为基因的表达量<sup>[25]</sup>。采用 TBtools 的热图工具<sup>[26]</sup> 制作热图展示基因的表达情况, 颜色由蓝色到红色逐步变化表示基因的表达丰度数值递增。

#### 1.5 获得不同胁迫与激素处理后的转录组数据

根据文献查找, 从 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/>) 下载获取毛竹非生物胁迫和激素处理的转录组数据。冷和干旱处理的转录组数据源自 2 年生毛竹, 5 株的离体枝条分别进行冷 (0℃ 和无光条件) 和干旱 (20℃ 和相对湿度 50% 条件) 处理 2 h 后, 每个处理分别选取 10 片未展叶进行转录组测序, 其 RNA-seq 数据登录号为 SRS-1759772<sup>[27]</sup>;  $\text{GA}_3$  处理的转录组数据均源自毛竹实生苗, 1 个月的毛竹实生苗分别用水和  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{GA}_3$  喷洒处理后 4 h 取整株进行转录组测序, 其对照和处理的 RNA-seq 数据登录号分别为 SRS256-6465~SRS2566467、SRS2566468~SRS2566470<sup>[28]</sup>; NAA 处理的转录组数据均源自 1 个月的毛竹实生苗, 用  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NAA 喷洒处理, 间隔 1 h 处理 1 次, 4 h 后取根系进行转录组测序, 其对照和处理的 RNA-seq 数据登录号分别为 SRS2294012~SRS2294014、SRS2294015~SRS2294017<sup>[29]</sup>; 上述处理取样时均采用 3 次生物学重复。从这些转录组数据的基因注释中比对查找, 筛选出对应毛竹 NPF 基因的 FPKM 值, 用于表达分析。

#### 1.6 不同处理后基因的表达模式分析

利用获取的冷、干旱、 $\text{GA}_3$  和 NAA 处理毛竹及其对照中 NPF 基因的 FPKM 值, 比较分析处理前后的基因表达变化情况。为有效地可视化展示基因表达量, 用  $\text{FPKM}+1$  的值取以 2 为底的对数即  $\text{Log}_2(\text{FPKM}+1)$  作为基因的表达量<sup>[30]</sup>。对所有表达量数据用 TBtools 软件绘制表达谱热图, 分析不同基因的表达情况, 同时基于基因 FPKM 值对具有显著差异 ( $p < 0.05$ ) 表达的基因绘制点线图。

## 2 结果分析

### 2.1 毛竹 NPF 家族基因成员鉴定与系统进化分析

植物 NPF 蛋白通常含有 PTR2 保守结构域, 通过比对分析, 在毛竹基因组中共鉴定到具有编码完整 PTR2 的候选基因 27 个, 其编码蛋白均含有保守的跨膜结构域, 符合 MFS (Major Facilitator Superfamily) 超家族的 NPF 家族的特征<sup>[31]</sup>。根据候选基因在毛竹 Scaffold 中的位置以及同源基因的名称, 依次命名为: *PeNPF1.1*~*PeNPF8.8*。

为确定 *PeNPFs* 与其它物种中已鉴定的 NPF 蛋白之间的进化关系, 预测其潜在功能, 对毛竹、水稻和拟南芥 NPF 的氨基酸序列进行了多重序列比对, 并利用 MEGA7.0 软件构建了系统进化树。结果表明: 所有毛竹、水稻和拟南芥的 NPFs 被聚类到 8 个亚家族 (S1~S8), *PeNPFs* 成员分布在除 S3 之外的其它 7 个亚家族中, 每个亚家族中成员数量不等, 其中, 亚家族 S1、S4、S6 分别只有 1 个成员, S8 中的成员最多为 8 个, 其余亚家族分别有 3~7 个成员不等 (图 1)。

进一步分析发现, *PeNPFs* 半数成员被聚类在 S7 (7 个) 和 S8 (8 个) 亚家族, 而双子叶植物拟南芥在这 2 个亚家族的成员分别只有 3 个和 5 个, 在 S5 亚家族中, 水稻和拟南芥 NPF 成员分别达到 17 个和 16 个, 但仅包含 6 个毛竹成员。虽然 NPF 家族成员在功能上具有相似性, 但不同亚家族成员在功能上也存在一定的差异, 如 *AtNPF1.1* 和 *AtNPF1.2* 负责硝酸盐向嫩叶的分配<sup>[32]</sup>, 而 *OsNPF2.4* 主要在表皮、木质部薄壁细胞和韧皮部的伴胞中表达<sup>[33]</sup>。另外, 所有 *PeNPFs* 均优先与水稻 NPF 聚类在一起, 说明在功能上 *PeNPFs* 或许与水稻等单子叶植物的同源基因相似。

### 2.2 *PeNPFs* 基因结构及启动子分析

基因结构分析表明, *PeNPFs* 均有内含子, 数量为 2~5 个, 单个内含子在基因组上的跨度为 33 bp (*PeNPF7.6* 的第 5 个内含子)~3489 bp (*PeNPF2.2* 的第 2 个内含子), 而单个外显子在基因组上的跨度为 36 bp (*PeNPF7.3* 的第 1 个外显子)~1601 bp (*PeNPF7.3* 第 3 个外显子) (图 2)。 *PeNPFs* 各个成员之间的内含子和外显子的数量以及所在的位置存在一定的差异, 这可能是影响其转录表达的主要原因之一。

为更好地了解 *PeNPFs* 对外界环境的响应和受内在调控因子调节的情况, 对 *PeNPFs* 的起始密码

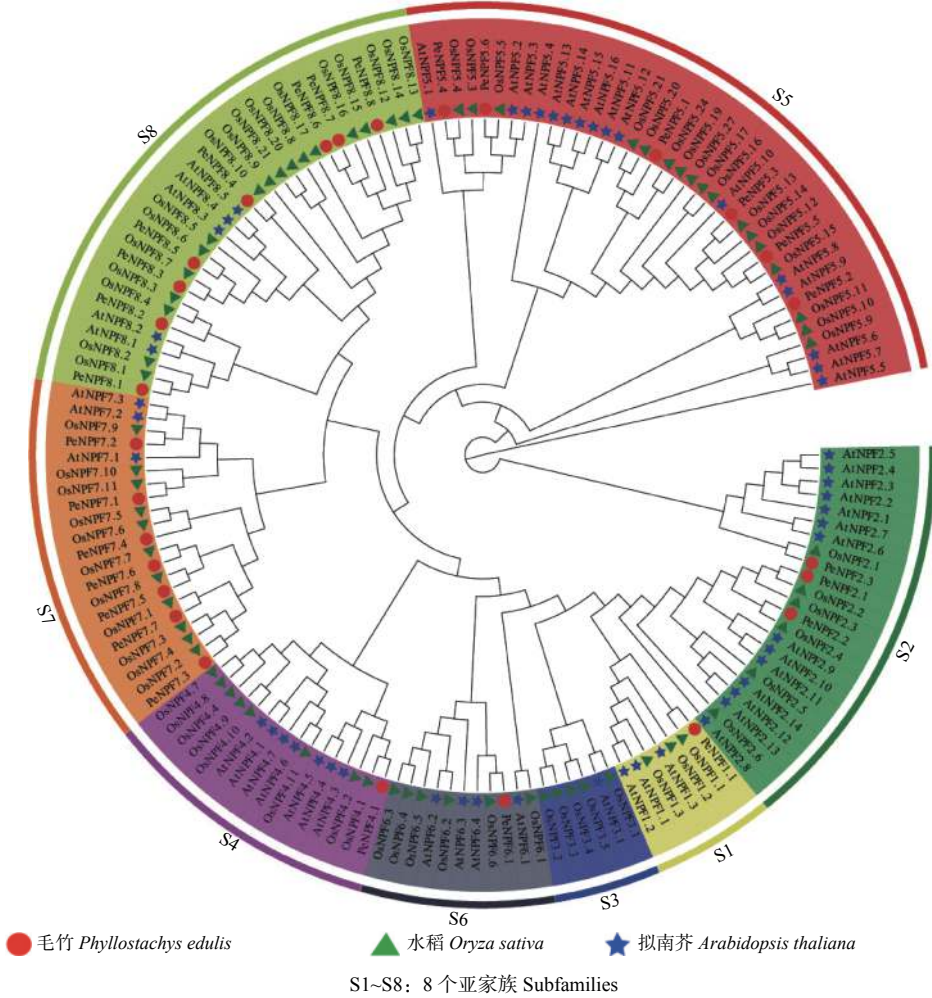


图1 基于毛竹、水稻和拟南芥 NPF 氨基酸序列构建的系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree constructed based on amino acid sequence of NPFs from moso bamboo, rice and Arabidopsis

子 ATG 上游 2 000 bp 的序列所含顺式作用元件和应答元件进行分析。结果表明：所有序列中均含有启动子必需的核心元件 TATA-box 和 CAAT-box。27 个 *PeNPFs* 的启动子序列中均包含多种参与基因表达调控的顺式作用元件和外界刺激的应答元件，如低温响应元件 LTR，干旱响应元件 MBS 和 TC-rich repeats，赤霉素响应元件 TATC-box、P-box 和 GARE-motif，生长素响应元件 TGA-element、AuxRR-core 和 AuxRE，茉莉酸甲酯响应元件 CGTCA-motif 和 TGACG-motif，脱落酸响应元件 ABRE 等 (图 3)。由此表明，*PeNPFs* 的转录表达可能会受到非生物胁迫和激素的影响。

### 2.3 *PeNPFs* 的保守基序分析

保守基序分析表明：在毛竹 *PeNPFs* 序列中共获得 10 个保守基序，分别命名为 motif 1~motif 10，其中，motif1、motif2 和 motif4 是 27 个 *PeNPFs*

共有的高度保守基序，而其它基序则在部分序列中缺失。27 个 *PeNPFs* 中有 15 个成员含有 10 个 motif，其它 12 个成员缺失 1~3 个 motif，如 *PeNPF2.1*、*PeNPF4.1* 和 *PeNPF8.8* 缺少 motif 3，*PeNPF8.2* 缺少 motif 5，*PeNPF2.1* 缺少 motif 6，*PeNPF2.1*、*PeNPF7.5*、*PeNPF7.7*、*PeNPF8.2*、*PeNPF8.3* 和 *PeNPF8.8* 缺少 motif 7，*PeNPF5.2*、*PeNPF5.5* 缺少 motif 8，*PeNPF7.6* 缺少 motif 9，*PeNPF5.1*、*PeNPF5.2*、*PeNPF5.3*、*PeNPF5.5* 缺少 motif 10 (图 4A)。

另外，各 motif 在氨基酸组成的偏好性方面有一定相似性，如 motif 1、motif 2 和 motif 4 高度保守，均富含疏水性氨基酸，但各 motif 在氨基酸组成的偏好性方面也存在一定的差异，如 motif 1 富含亮氨酸，motif 2 富含丝氨酸，motif 4 富含甘氨酸 (图 4B)。

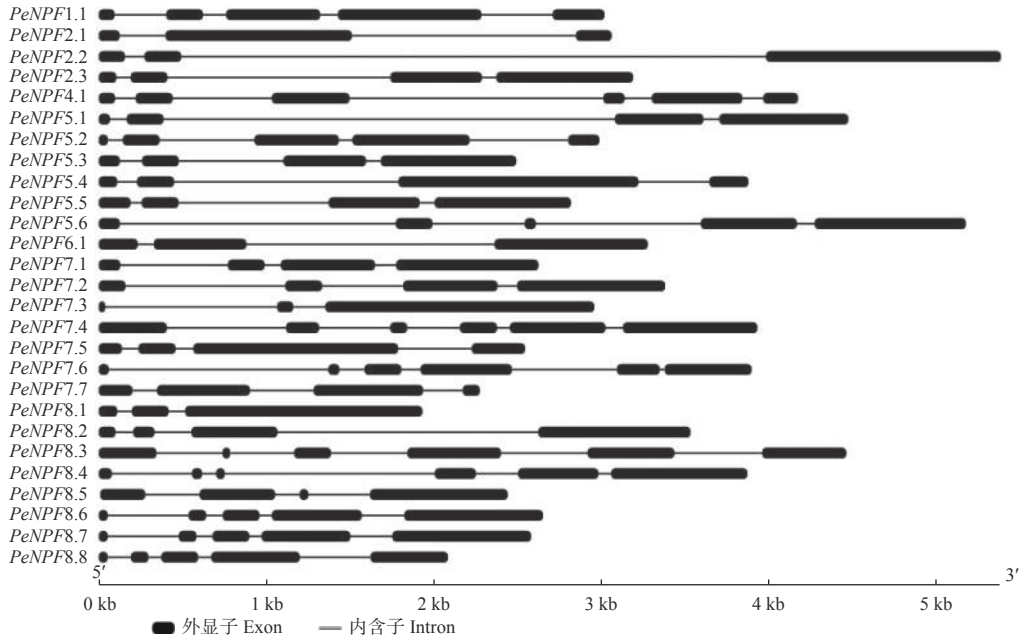


图2 *PeNPFs* 基因结构  
Fig. 2 Gene structure of *PeNPFs*

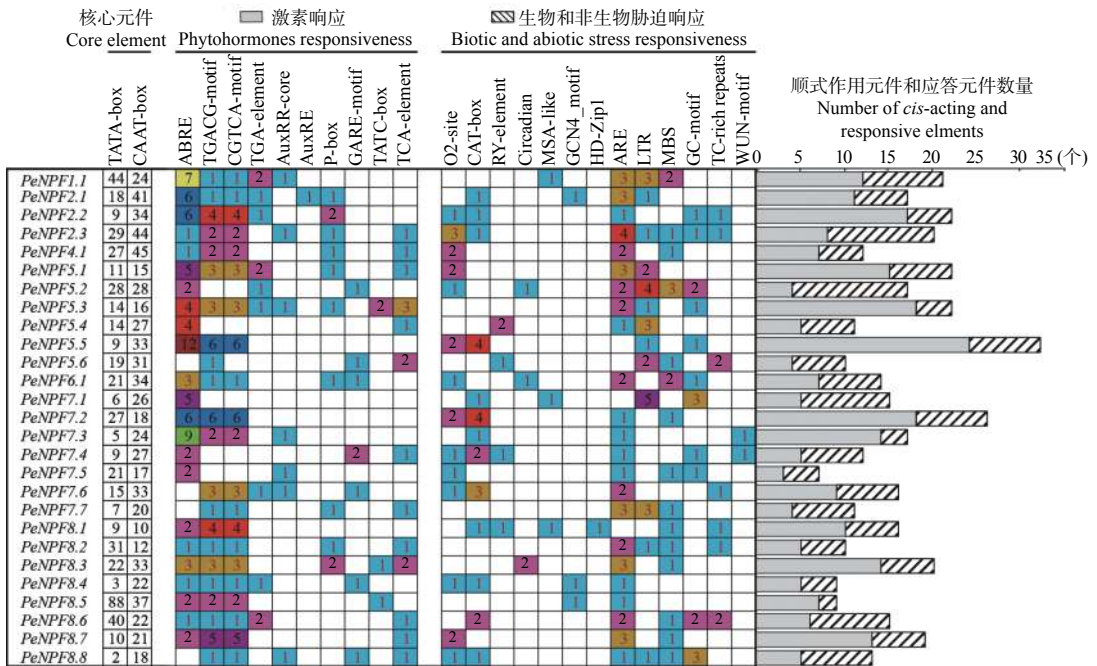


图3 毛竹 *PeNPFs* 基因启动子响应元件种类统计  
Fig. 3 Statistics of response elements in the promoter of *PeNPFs*

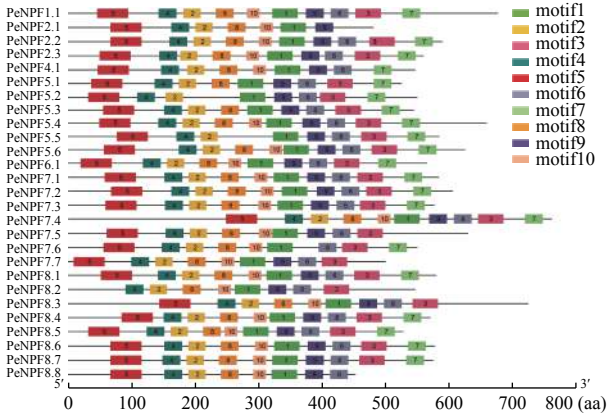
2.4 编码蛋白理化性质和亚细胞定位分析

*PeNPFs* 编码氨基酸序列最长的为 761 aa (PeNPF7.4), 最短的为 452 aa (PeNPF8.8), 蛋白分子量介于 49.56~82.08 kDa 之间, 理论等电点介于 5.17~9.85 之间, 大部分是中性或碱性蛋白。亲疏水性分析显示, *PeNPFs* 的亲水性值 (GRAVY)

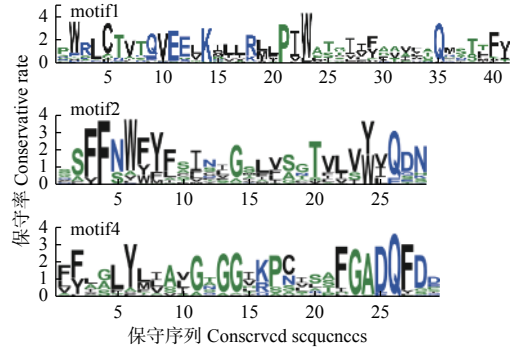
为 0.063~0.607, 推测它们属于亲水性蛋白。亚细胞定位预测显示, 所有 *PeNPFs* 均定位于细胞膜或液泡中, 其中, 有 8 个成员在细胞膜和液泡中均有定位 (表 1)。

2.5 *PeNPFs* 的组织表达模式分析

利用毛竹 7 个不同组织的转录组测序 (RNA-



A. PeNPFs 的保守基序  
Conserved motifs in PeNPFs



注: 蓝色字母: 亲水性氨基酸; 绿色字母: 中性氨基酸;  
黑色字母: 疏水性氨基酸

Notes: Blue alphabet: hydrophilic amino acid; Green alphabet: neutral amino acid; Black alphabet: hydrophobic amino acid

B. 3 个保守基序的氨基酸序列  
Amino acid sequences of three conserved motifs in PeNPFs

图4 PeNPFs 蛋白保守基序分析

Fig. 4 Analysis of conserved motifs in PeNPFs

表1 PeNPFs 编码蛋白的基本特征

Table 1 Basic characteristics of the proteins encoded by PeNPFs

基因名称 Gene name	基因登录号 Accession number	开放阅读框 ORF length/bp	蛋白长度 Protein length/aa	分子量 Molecular weight/kDa	理论等电点 pI	蛋白疏水性 GRAVY	亚细胞位置 Subcellular location
<i>PeNPF1.1</i>	PH01000336G0830	2 031	676	72.98	9.85	0.063	细胞膜/液泡(Plasma membrane/Vacuole)
<i>PeNPF2.1</i>	PH01000134G0780	1 443	480	52.29	9.50	0.083	细胞膜/液泡(Plasma membrane/Vacuole)
<i>PeNPF2.2</i>	PH01000652G0130	1 770	589	64.22	8.73	0.300	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF2.3</i>	PH01001828G0100	1 680	559	60.05	9.65	0.415	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF4.1</i>	PH01002847G0050	1 641	546	58.48	8.27	0.423	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF5.1</i>	PH01000066G1670	1 578	525	56.96	9.14	0.427	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF5.2</i>	PH01000401G0210	1 653	550	60.51	6.03	0.327	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF5.3</i>	PH01000587G0060	1 638	545	59.43	9.10	0.459	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF5.4</i>	PH01000693G0160	1 986	661	71.33	8.59	0.185	细胞膜/液泡(Plasma membrane/Vacuole)
<i>PeNPF5.5</i>	PH01003505G0080	1 758	585	62.97	8.00	0.404	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF5.6</i>	PH01003529G0160	1 878	625	69.08	9.18	0.156	细胞膜/液泡(Plasma membrane/Vacuole)
<i>PeNPF6.1</i>	PH01002186G0050	1 695	564	60.95	9.13	0.401	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF7.1</i>	PH01000062G1290	1 752	583	64.08	7.09	0.348	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF7.2</i>	PH01000672G0410	1 818	605	65.93	7.09	0.201	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF7.3</i>	PH01000690G0310	1 731	576	62.16	5.17	0.473	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF7.4</i>	PH01001425G0190	2 286	761	82.08	8.38	0.100	细胞膜/液泡(Plasma membrane/Vacuole)
<i>PeNPF7.5</i>	PH01001510G0300	1 890	629	67.90	9.26	0.311	细胞膜/液泡(Plasma membrane/Vacuole)
<i>PeNPF7.6</i>	PH01002667G0160	1 650	549	59.78	7.54	0.442	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF7.7</i>	PH01002743G0200	1 500	499	54.36	8.57	0.607	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF8.1</i>	PH01000015G1630	1 740	579	63.72	7.09	0.258	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF8.2</i>	PH01000031G0520	1 641	546	58.87	8.91	0.171	细胞膜/液泡(Plasma membrane/Vacuole)
<i>PeNPF8.3</i>	PH01000220G1120	2 175	724	79.79	8.60	0.228	细胞膜/液泡(Plasma membrane/Vacuole)
<i>PeNPF8.4</i>	PH01000220G1270	1 713	570	63.13	7.03	0.325	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF8.5</i>	PH01000723G0460	1 584	527	58.04	8.32	0.513	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF8.6</i>	PH01001374G0490	1 734	577	63.75	7.18	0.341	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF8.7</i>	PH01001586G0390	1 725	574	63.29	8.26	0.304	液泡(Vacuole)
<i>PeNPF8.8</i>	PH01002730G0140	1 359	452	49.56	6.70	0.357	液泡(Vacuole)

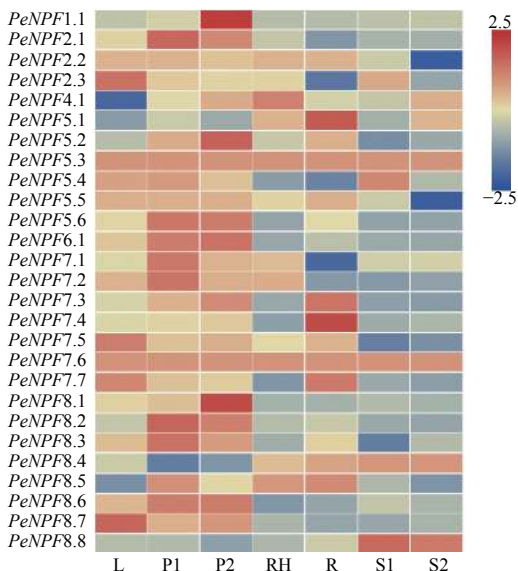
Seq) 表达谱数据, 对 *PeNPFs* 的组织表达特异性进行分析。结果(图5)表明: 在不同组织中, *PeNPFs* 表达模式存在一定差异, 其中, *PeNPF5.3* 和 *PeNPF7.6* 在 7 个组织中均检测到表达, 且在 7 个组织中的表达量变化不大, 呈组成型表达模式, 它们可能与毛竹整个生长发育过程密切相关; 而其它 *PeNPFs* 成员至少在 1 个组织中检测到表达, 但各成员的表达丰度差异较大, 如在叶片中 *PeNPF2.3*、*PeNPF7.5*、*PeNPF7.7* 和 *PeNPF8.7* 的表达丰度较高; *PeNPF2.1*、*PeNPF5.6*、*PeNPF6.1*、*PeNPF7.1*、*PeNPF7.2* 和 *PeNPF8.2* 在早花期花序中表达丰度较高; *PeNPF1.1*、*PeNPF5.2*、*PeNPF5.6*、*PeNPF6.1* 和 *PeNPF8.1* 在盛花期花序中表达丰度较高。一些 *PeNPFs* 成员表现出组织特异性, 如 *PeNPF4.1* 主要在竹鞭中表达; *PeNPF5.1* 和 *PeNPF7.4* 主要在根中表达; *PeNPF8.8* 主要在 20 cm 和 50 cm 高度笋中表达。*PeNPFs* 在叶、花序、鞭和根等不同组织中的表达差异, 表明它们在这些组织的生长发育中发挥着不同的功能。

## 2.6 毛竹 *PeNPFs* 响应非生物胁迫和激素胁迫的表达分析

启动子调控元件分析表明: *PeNPFs* 的表达可能会受到逆境胁迫的影响, 因此, 本文利用已发表

的转录组数据, 对冷和干旱处理下毛竹叶片中 *PeNPFs* 的表达进行分析。结果表明: 在冷和干旱处理的毛竹叶片转录组数据中获得了 18 个 *PeNPFs* 的 FPKM 值, 进一步分析发现它们的表达存在着一定的差异。与处理前 (CK) 相比, 冷处理 2 h 后共有 9 个 *PeNPFs* 呈下调表达趋势, 9 个 *PeNPFs* 呈上调表达趋势(图 6A); 其中, 下调表达的基因中有 6 个 (*PeNPF2.3*、*PeNPF5.3*、*PeNPF5.4*、*PeNPF7.2*、*PeNPF7.3* 和 *PeNPF8.7*) 呈显著下调 ( $p < 0.05$ ), 而在上调表达的基因中仅有 3 个基因 (*PeNPF5.2*、*PeNPF7.1* 和 *PeNPF8.1*) 表现为显著上调 ( $p < 0.05$ )(图 6B)。在干旱处理 2 h 后共有 15 个基因呈现下调表达趋势, 仅有 3 个基因呈上调表达趋势(图 6C); 其中下调表达的基因中有 6 个 (*PeNPF5.3*、*PeNPF7.2*、*PeNPF7.3*、*PeNPF8.1*、*PeNPF8.7* 和 *PeNPF8.8*) 呈显著下调 ( $p < 0.05$ ), 而上调基因的表达差异均不显著(图 6D)。综合分析发现, 4 个基因 (*PeNPF5.3*、*PeNPF7.2*、*PeNPF7.3* 和 *PeNPF8.7*) 在冷和干旱处理后均表现出显著下调, 这与其启动子序列中存在与低温和干旱响应调控元件(图 2)相一致, 推测它们可能在低温和干旱响应中发挥着重要作用。

另外, *NPF* 基因的表达还受到激素的影响<sup>[34]</sup>, 本文对  $GA_3$  和 NAA 处理毛竹幼苗的转录组数据中 *PeNPFs* 基因的表达模式进行分析。结果表明: 在转录组数据中获得了 18 个 *PeNPFs* 的 FPKM 值, 分析发现它们的表达在处理前后存在一定的差异。与处理前 (CK) 相比, 18 个 *PeNPFs* 在  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $GA_3$  处理 4 h 后, 各有 9 个基因呈上调或下调表达趋势(图 7A), 其中, 上调表达的 5 个基因 (*PeNPF4.1*、*PeNPF5.3*、*PeNPF5.4*、*PeNPF7.1* 和 *PeNPF7.6*), 下调表达的 3 个基因 (*PeNPF2.1*、*PeNPF5.1* 和 *PeNPF7.3*) 的表达差异显著 ( $p < 0.05$ )(图 7B); 在  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA 处理 4 h 后, 7 个基因呈上调表达趋势, 11 个基因呈下调表达趋势(图 7C), 其中, *PeNPF7.1* 和 *PeNPF7.3* 表现为显著上调, 而 *PeNPF2.2*、*PeNPF5.2* 和 *PeNPF7.6* 等基因表现为显著下调 ( $p < 0.05$ )(图 7D)。对比分析发现, *PeNPF7.3* 和 *PeNPF7.6* 在 2 种激素处理后呈相反的表达变化, 而 *PeNPF7.1* 的表达趋势相同, 推测这些基因在响应激素方面可能发挥着不同的功能。

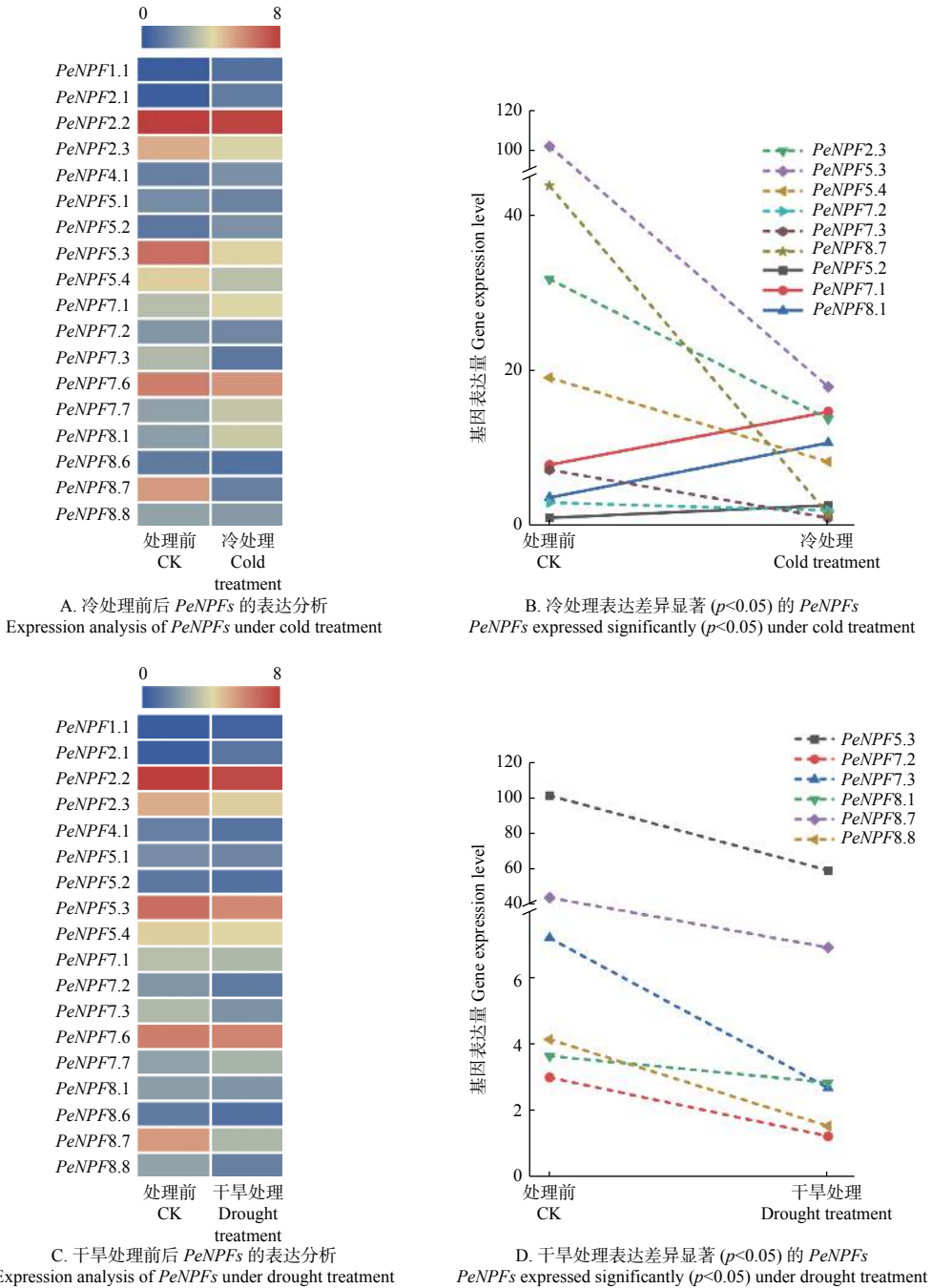


注: L: 叶; P1: 早花期花序; P2: 盛花期花序; RH: 竹鞭; R: 根; S1: 20 cm 笋; S2: 50 cm 笋。

Notes: L: leaves; P1: early panicles; P2: advanced panicles; RH: rhizomes; R: roots; S1: 20 cm shoots; S2: 50 cm shoots.

图5 *PeNPFs* 在毛竹 7 个组织中的表达分析

Fig. 5 Expression analysis of *PeNPFs* in seven tissues of moso bamboo

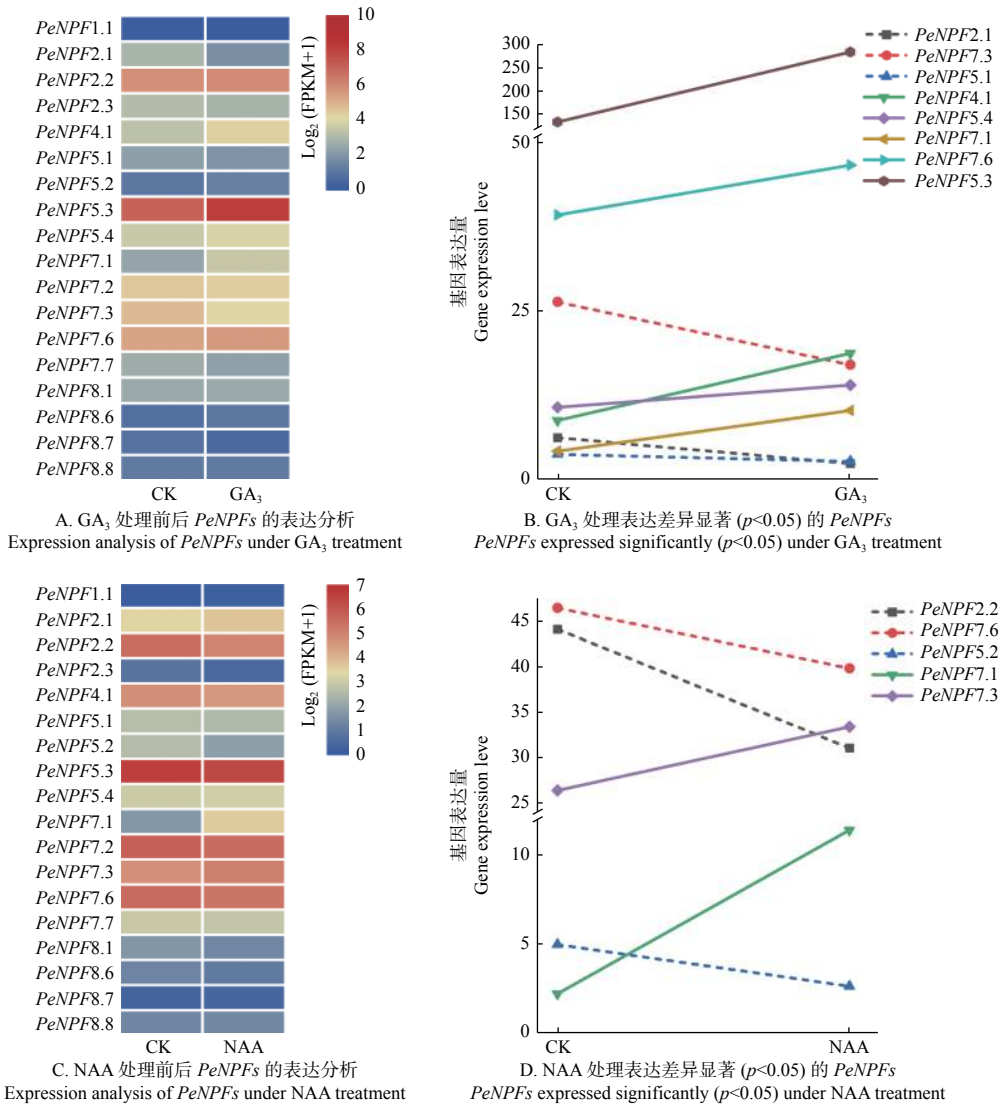
图 6 冷和干旱处理下 *PeNPFs* 的表达分析Fig. 6 Expression analysis of *PeNPFs* in moso bamboo under cold and drought treatments

### 3 讨论

NPF 蛋白是 MFS 超家族中成员数量最多的家族之一, 这些蛋白质广泛分布于真核生物和原核生物中, 它对于植物、动物、酵母和细菌的氮代谢具有重要作用。本研究从毛竹基因组数据库中, 鉴定到 27 个 NPF 成员, 这些成员均含有 PTR2 保守结构域及跨膜结构域, 这可能是 NPF 家族成员具有吸收和转运硝态氮的基础。同一个亚家族内的部

分 NPF 成员间的基因结构以及理化性质和亚细胞定位高度相似, 如 *PeNPF8.6* 和 *PeNPF8.7* 的序列的相似性为 86.83%, 氨基酸长度相差 3 个, 相对分子量、亚细胞位置、基因结构、所含保守基序以及在 7 个组织中的表达模式相似。另外, 部分 NPF 成员的基因结构、理化性质和亚细胞定位存在较大差异, 如毛竹 *PeNPF5.1* 和 *PeNPF5.4* 序列的同源性为 31.19%, 氨基酸长度相差 136 个, 二者



图7  $GA_3$  和 NAA 处理下 *PeNPFs* 的表达分析Fig. 7 Expression analysis of *PeNPFs* in moso bamboo treated with  $GA_3$  and NAA

的分子量分别为 56.96 kDa 和 71.33 kDa, 且二者在 7 个组织中的表达模式相反, 这可能是由于非保守区的差异造成的, 同时各成员序列非保守区的差异可能导致各个成员的功能具有多样性<sup>[35]</sup>。

从毛竹基因组数据库中, 鉴定了 27 个 *PeNPFs* 成员, 分别属于 7 个亚家族, 但没有鉴定到 S3 亚家族成员。系统进化分析发现, 在其它物种 (如水稻) 中存在 S3 亚家族成员, 推测本研究中没有鉴定到 S3 亚家族成员的原因可能是所用的是毛竹基因组草图, 毛竹可能存在 S3 亚家族成员, 作者将进一步用最新的毛竹基因组进行分析。同时, 通过物种进化关系分析发现, 聚类在同一个亚家族的成员可能具有相似的功能。在水稻和拟南芥中, S1、

S2、S5、S6 和 S7 亚家族成员的主要功能为转运硝态氮, 如 *OsNPF2.2* 负责根到地上部分硝态氮的运输<sup>[36]</sup>, 小麦 *TaNPF6.3* 负责硝态氮的吸收并调控非根系组织的硝态氮的分配<sup>[37]</sup>, *AtNPF7.2* 和 *AtNPF7.3* 分别负责硝态氮在木质部的卸载和装载<sup>[38]</sup>, 推测毛竹在这 5 个分枝的成员可能也具有硝态氮的转运功能。另外, 研究表明, *AtNPF2.4* 和 *AtNPF2.5* 负责根中  $Cl^-$  的转运<sup>[39]</sup>, *AtNPF5.2* 在胁迫条件下可以转运二肽和三肽, *AtNPF7.3* 还具有转运  $K^+$  的功能<sup>[40]</sup>, 所以, 也不排除相同亚家族中毛竹 *PeNPFs* 也具有其它功能。基因在不同组织的表达模式是基因功能的重要体现, 转录组表达谱表明, *PeNPFs* 在毛竹各组织的功能存在差异, 多数基因

在叶片和花序中的表达量较高,在根和笋中的表达量相对较低。3个毛竹 NPF 基因具有组织特异性, *PeNPF1.1* 只在盛花期花序中表达, *PeNPF5.1* 只在根中表达, *PeNPF8.8* 只在笋中表达,表明它们可能分别在盛花期花序、根以及笋中发挥着重要作用;而它们分别属于不同的亚家族,说明各亚家族之间功能有一定的差异。拟南芥 S8 是小肽转运体, *AtNPF8.1* 和 *AtNPF8.2* 能够转运多肽,同时 *AtNPF8.3* 在开花和种子发育过程中将小肽转出液泡,而毛竹 S8 成员中多个成员在花序发育时期的表达量较高,说明它们也可能参与毛竹开花发育时期小肽的转运。

真核生物基因的表达受到多层次调控,转录因子能够通过与其基因的启动子特定区域结合从而调控基因的转录表达,因此,对基因的启动子所含的调控元件进行分析对于基因功能的预测具有重要意义。本研究发现在 *PeNPFs* 中发现大量与逆境胁迫及激素响应相关的调控元件,这些元件已经被证实存在植物逆境胁迫<sup>[41]</sup>及植物生长与果实成熟等方面均发挥着重要作用。当植物受到生物或非生物胁迫时,NPF 基因通过上调或下调表达发挥其功能。冷处理后,18个 *PeNPFs* 中有9个 *PeNPFs* 的表达量发生了显著变化(上调或下调),说明毛竹在一定程度上通过 *PeNPFs* 表达量变化来响应冷处理;干旱处理后,18个 *PeNPFs* 中有15个基因的表达量下调,其中,6个与处理前差异显著,这与干旱处理能显著诱导小麦 NPF 基因表达量下调的结果一致<sup>[34]</sup>。在  $GA_3$  处理 4 h 后 18 个 *PeNPFs* 均发生变化,其中, *PeNPF4.1*、*PeNPF5.3*、*PeNPF5.4*、*PeNPF7.1* 和 *PeNPF7.6* 的表达量显著上升,推测它们可能受  $GA_3$  的诱导并通过表达量变化进行响应,这与施用  $GA_3$  能够增加 *ZmNRT2.1/2.2* 的表达水平相似<sup>[42]</sup>;NAA 处理后,毛竹有5个基因发生显著上调或下调,推测毛竹 S7 亚家族可能参与毛竹响应 NAA 过程。毛竹中 *PeNPFs* 不同成员对  $GA_3$  和 NAA 处理呈现不同程度、甚至相反的表达变化,表明各成员功能的差异,这与水稻中 *OsPTRs* 在  $GA_3$  和 NAA 处理后的表达类似<sup>[4]</sup>。*PeNPFs* 在毛竹中的具体功能和作用机制需要进一步实验验证。

## 4 结论

本研究从毛竹基因组中共鉴定出 27 个 *PeNPFs* 基因,所有成员编码的蛋白均包含完整的 PTR2 保

守结构域,根据其蛋白序列差异分为 7 个亚家族,各亚家族成员之间的分子特征和组织表达特异性均存在着一定的差异,部分成员的表达表现为组织特异性或组成型表达。在 *PeNPFs* 启动子序列中鉴定出多种与非生物胁迫和激素响应相关的调控元件,冷、干旱以及  $GA_3$  和 NAA 处理后毛竹的转录组表达谱证明 *PeNPFs* 参与了不同程度的非生物胁迫和激素的应答,研究结果为揭示 *PeNPFs* 的生物学功能提供了重要依据。但对于 *PeNPFs* 的研究尚在起步阶段,其在毛竹中的具体功能尚需展开大量的实验进行验证。

## 参考文献:

- [1] 蒋志敏,王威,储成才.植物氮高效利用研究进展和展望[J].生命科学,2018,30(10):34-45.
- [2] Liu B H, Wu J Y, Yang S Q, et al. Nitrate regulation of lateral root and root hair development in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(15): 4405-4414.
- [3] Krapp A, David L C, Chardin C, et al. Nitrate transport and signaling in *Arabidopsis*[J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(3): 789-798.
- [4] Wang Y Y, Cheng Y H, Chen K E, et al. Nitrate transport, signaling, and use efficiency[J]. Annual Review of Plant Biology, 2018, 69(1): 85-122.
- [5] Tsay Y F, Chiu C C, Tsai C B, et al. Nitrate transporters and peptide transporters[J]. FEBS Letters, 2007, 581(12): 2290-2300.
- [6] Lin C M, Koh S, Stacey G, et al. Cloning and functional characterization of a constitutively expressed nitrate transporter gene, *OsNRT1*, from rice[J]. Plant Physiology, 2000, 122(2): 379-388.
- [7] Quaggiotti S, Ruperti B, Pizzeghello D, et al. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.)[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(398): 803-813.
- [8] Guo T C, Xuan H M, Yang Y Y, et al. Transcription analysis of genes encoding the wheat root transporter NRT1 and NRT2 families during nitrogen starvation[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2014, 33(4): 837-848.
- [9] Leran S, Varala K, Boyer J C, et al. A unified nomenclature of NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family members in plants[J]. Trends Plant Science, 2014, 19(1): 5-9.
- [10] Zhao X, Huang J Y, Yu H H, et al. Genomic survey, characterization and expression profile analysis of the peptide transporter family in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 92.
- [11] Lin S H, Kuo H F, Canivenc G, et al. Mutation of the *Arabidopsis* NRT1.5 nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport[J]. The Plant Cell, 2008, 20(9): 2514-2528.
- [12] Hsu P K, Tsay Y F. Two phloem nitrate transporters, NRT1.11 and NRT1.12, are important for redistributing xylem-borne nitrate to enhance plant growth[J]. Plant Physiology, 2013, 163(2): 844-856.
- [13] Wang W, Hu B, Yuan D, et al. Expression of the nitrate transporter gene *OsNRT1.1A/OsNPF6.3* confers high yield and early maturation in rice[J]. The Plant Cell, 2018, 30(3): 638-651.

- [14] Wen Z Y, Tyerman S D, Dechornat J, *et al.* Maize NPF6 proteins are homologs of *Arabidopsis* CHL1 that are selective for both nitrate and chloride[J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(10): 2581-2596.
- [15] Migocka M, Warzybok A, Klobus G. The genomic organization and transcriptional pattern of genes encoding nitrate transporters 1 (NRT1) in cucumber[J]. *Plant and Soil*, 2012, 364: 245-260.
- [16] Bai H, Euring D, Volmer K, *et al.* The nitrate transporter (NRT) gene family in poplar[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72126.
- [17] Wang Q, Liu C H, Dong Q L, *et al.* Genome-wide identification and analysis of apple NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER Family (NPF) genes reveals MdNPF6.5 confers high capacity for nitrogen uptake under low-nitrogen conditions[J]. *International Journal of Molecular Science*, 2018, 19(9): 2761.
- [18] Wang J, Li Y X, Zhu F, *et al.* Genome-wide analysis of nitrate transporter (NRT/NPF) family in Sugarcane *Saccharum spontaneum* L. [J]. *Tropical Plant Biology*, 2019, 12(3): 133-149.
- [19] 江泽慧. 世界竹藤[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2002.
- [20] Song X Z, Peng C H, Ciais P, *et al.* Nitrogen addition increased CO<sub>2</sub> uptake more than non-CO<sub>2</sub> greenhouse gases emissions in a moso bamboo forest[J]. *Science Advance*, 2020, 6(12): eaaw5790.
- [21] Sun H F, Li Q, Lei Z F, *et al.* Ecological stoichiometry of nitrogen and phosphorus in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) during the explosive growth period of new emergent shoots[J]. *Journal of Plant Research*, 2019, 132(1): 107-115.
- [22] 高培军. 氮素施肥对毛竹光合能力与光谱特性的影响[D]. 北京: 北京林业大学, 2013.
- [23] Peng Z H, Lu Y, Li L B, *et al.* The draft genome of the fast-growing non-timber forest species moso bamboo (*Phyllostachys heterocycla*) [J]. *Nature Genetics*, 2013, 45(4): 456-461.
- [24] 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.
- [25] Knight V B, Serrano E E. Expression analysis of RNA sequencing data from human neural and glial cell lines depends on technical replication and normalization methods[J]. *BMC Bioinformatics*, 2018, 19(14): 412.
- [26] Chen C J, Chen H, Zhang Y, *et al.* TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [27] Huang Z, Jin S H, Guo H D, *et al.* Genome-wide identification and characterization of TIFY family genes in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and expression profiling analysis under dehydration and cold stresses[J]. *PeerJ*, 2016(4): e2620.
- [28] Wang W J, Gu L F, Ye S W, *et al.* Genome-wide analysis and transcriptomic profiling of the auxin biosynthesis, transport and signaling family genes in moso bamboo (*Phyllostachys heterocycla*) [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 870.
- [29] Zhang H X, Wang H H, Zhu Q, *et al.* Transcriptome characterization of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) seedlings in response to exogenous gibberellin applications[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 125.
- [30] Wu S, Lau K H, Cao Q H, *et al.* Genome sequences of two diploid wild relatives of cultivated sweet potato reveal targets for genetic improvement[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 4580.
- [31] Niño-González M, Novo-Uzal E, Richardson DN, *et al.* More transporters, more substrates: the *Arabidopsis* Major Facilitator Superfamily revisited[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(9): 1182-1202.
- [32] Chiba Y, Shimizu T, Miyakawa S, *et al.* Identification of *Arabidopsis thaliana* NRT1/PTR FAMILY (NPF) proteins capable of transporting plant hormones[J]. *Journal of Plant Research*, 2015, 128(4): 679-686.
- [33] Xia X D, Fan X R, Wei J, *et al.* Rice nitrate transporter OsNPF2.4 functions in low-affinity acquisition and long-distance transport[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(1): 317-331.
- [34] Wang H D, Wan Y F, Buchner P, *et al.* Phylogeny and gene expression of the complete NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER FAMILY in *Triticum aestivum* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(15): 4531-4546.
- [35] Xu X X, Lou Y F, Yang K B, *et al.* Identification of homeobox genes associated with lignification and their expression patterns in bamboo shoots[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(12): 862.
- [36] Li Y G, Ouyang J, Wang Y Y, *et al.* Disruption of the rice nitrate transporter OsNPF2.2 hinders root-to-shoot nitrate transport and vascular development[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 9635.
- [37] Buchner P, Hawkesford M J. Complex phylogeny and gene expression patterns of members of the NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family (NPF) in wheat[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(19): 5697-5710.
- [38] O'Brien J A, Vega A, Bouguyon E, *et al.* Nitrate transport, sensing, and responses in plants[J]. *Molecular Plant*, 2016, 9(6): 837-856.
- [39] Li B, Byrt C, Qiu J E, *et al.* Identification of a stellar-localized transport protein that facilitates root-to-shoot transfer of chloride in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2016, 170(2): 1014-1029.
- [40] Li H, Yu M, Du X Q, *et al.* NRT1.5/NPF7.3 functions as a proton-coupled H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> antiporter for K<sup>+</sup> loading into the xylem in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(8): 2016-2026.
- [41] Wu A M, Hao P B, Wei H L, *et al.* Genome-wide identification and characterization of glycosyltransferase family 47 in cotton[J]. *Frontiers in Genetics*, 2019, 10: 824.
- [42] Wang Y, Yao Q, Zhang Y, *et al.* The role of gibberellins in regulation of nitrogen uptake and physiological traits in maize responding to nitrogen availability[J]. *International Journal of Molecular Science*, 2020, 21(5): 1824.

# Identification of Nitrate Transporter Gene Family *PeNPFs* and Their Expression Analysis in *Phyllostachys edulis*

YUAN Ting-ting<sup>1</sup>, ZHU Cheng-lei<sup>1</sup>, YANG Ke-bin<sup>1</sup>, SONG Xin-zhang<sup>2</sup>, GAO Zhi-min<sup>1</sup>

(1. Institute of Gene Science and Industrialization for Bamboo and Rattan Resources, International Centre for Bamboo and Rattan, Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration/Beijing for Bamboo & Rattan Science and Technology, Beijing 100102, China; 2. Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

**Abstract:** [Objective] To identify the members of nitrate transporter (NPF) gene family in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and systematically analyze their molecular characteristics and expression patterns, in order to lay the foundation for in-depth study of the nitrate transport function of the NPF genes in Moso bamboo. [Method] Bioinformatics methods were used to identify NPF family gene members in the genome of Moso bamboo, a comprehensive analysis of acting elements in their promoters, gene structure, physical and chemical properties of their encoded proteins, conserved domains and systematic evolution was performed. The tissue specific expression of NPF genes in different tissues of Moso bamboo and their expression patterns after different abiotic stress and hormone treatments were analyzed using the existing transcriptome data. [Result] A total of 27 NPF genes (*PeNPF1.1~PeNPF8.8*) were identified in Moso bamboo, and their gene structure was found to be quite different. The number of intron was 2~5. The longest coding region was 2286 bp (*PeNPF7.4*) and the shortest was 1359 bp (*PeNPF8.8*). The regulatory element analysis showed that a variety of elements related to abiotic stresses such as cold and drought, as well as hormonal responses such as GA<sub>3</sub> and NAA were identified in the promoter region of *PeNPFs*. The molecular weight of the proteins encoded by *PeNPFs* ranged from 49.56~82.08 kDa, with the isoelectric point (pI) of 5.17~9.85. Most *PeNPFs* were neutral or basic proteins with similar transmembrane structures. Phylogenetic analysis showed that *PeNPFs* were clustered into 7 subfamilies, and the numbers of members in each subfamily were 1, 3, 1, 6, 1, 7 and 8, respectively. Analysis of protein conserved motifs showed that there was a total of 10 conserved motifs in *PeNPFs*, of which motif 1, motif 2 and motif 4 were highly conserved motifs shared by all members. The expression profile heat map analysis based on transcriptome data demonstrated that the expression of *PeNPFs* had certain differences in different tissues such as leaves, inflorescences, roots, rhizomes and shoots, among which each member was detected in at least one tissue, and some members exhibited tissue-specific or constitutive expression. After cold and drought treatments, the expression of *PeNPF5.3*, *PeNPF7.2*, *PeNPF7.3* and *PeNPF8.7* showed significant down-regulation, which was consistent with the presence of cold and drought response regulatory elements in their promoter sequences. After GA<sub>3</sub> and NAA treatments, *PeNPF7.3* and *PeNPF7.6* demonstrated opposite expression changes, while the expression trend of *PeNPF7.1* was similar. [Conclusion] There are 27 members of NPF gene family in Moso bamboo, which can be divided into 7 subfamilies. The molecular characteristics and tissue expression specificity of each member in different subfamilies have certain differences, and the expression changes of some *PeNPFs* in response to abiotic stress and hormone treatments have reached the level of significant differences. These expression profiles suggest that *PeNPFs* might play different functions in the transport of nitrate in different tissues of bamboo and in the process of dealing with different environments. These findings could be references for understanding the biological functions of *PeNPFs* in Moso bamboo.

**Keywords:** *Phyllostachys edulis*; NRT1/PTR family (NPF) gene; molecular characteristics; gene expression