

## 研究报告

### A Letter

## 甘薯 *IbSPF1* 基因植物表达载体的构建

后猛<sup>1</sup>, 郑在哲<sup>2</sup>, 安哲汉<sup>2</sup>, 郭尚洙<sup>2</sup>, 马代夫<sup>1</sup>, 李强<sup>1</sup>

1.江苏徐州甘薯研究中心/中国农业科学院甘薯研究所, 徐州, 221121

2.环境生物工程研究中心, 韩国生命工学研究院, 大田, 305-806

✉ 通讯作者: [instrong@163.com](mailto:instrong@163.com); ✉ 作者

分子植物育种, 2011 年, 第 9 卷, 第 82 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0082

收稿日期: 2011 年 05 月 16 日

接受日期: 2011 年 06 月 22 日

发表日期: 2011 年 06 月 24 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式:

后猛等, 2011, 甘薯 *IbSPF1* 基因植物表达载体的构建, 分子植物育种 Vol.9 No.82 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0082)

**摘要** 为了获得具有多种抗逆特性的转基因甘薯材料, 本文构建了由甘薯过氧化氢酶胁迫诱导型启动子 SWPA2 和植物组成型启动子 CaMV 35S 分别控制、且含有甘薯 SP8 的结合蛋白基因(*IbSPF1*)的过表达植物载体。*IbSPF1* 是植物 WRKY 转录因子家族的成员之一。由于其参与植物多种生物和非生物胁迫的反应以及许多生理过程, WRKY 类家族越来越成为人们研究的热点。本研究利用 RT-PCR 方法从甘薯茎叶组织中扩增出编码 *IbSPF1* 的完整开放阅读框, 与已发表的 *IbSPF1* 相比, 从翻译起始点开始第 1009 位点的胸腺嘧啶转变为胞嘧啶, 从而使翻译产物由色氨酸转变为脯氨酸。本研究进一步构建了由不同启动子控制、携带 *IbSPF1* 基因的超表达植物载体 pCAMBIA2300, 并转入到根癌农杆菌菌株 EHA105 中, 为未来甘薯抗逆转基因打下基础。

**关键词** 甘薯; *IbSPF1* 基因; SWPA2 启动子; 多重胁迫

## Construction of Plant Expression Vectors Harboring *IbSPF1* Gene of Sweetpotato

Kou Meng<sup>1</sup>, Jeong Jaecheol<sup>2</sup>, An Chulhan<sup>2</sup>, Kwak Sangsoo<sup>2</sup>, Ma Daifu<sup>1</sup>, Li Qiang<sup>1</sup>

1.Jiangsu Xuzhou Sweetpotato Research Center/Sweetpotato Research Institute, CAAS, Xuzhou, 221121, P.R. China

2.Environmental Biotechnology Research Center, Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Daejeon, 305-806, Korea

✉ Corresponding author, [instrong@163.com](mailto:instrong@163.com); ✉ Authors

**Abstract** To generate transgenic sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) with enhanced tolerance to multiple stresses, we constructed the overexpression vectors of *IbSPF1* under the control of a stress inducible sweetpotato peroxidase (SWPA2) promoter and a constitutive active CaMV 35S promoter. Sweetpotato SP8 binding protein (referred to as *IbSPF1*) is a member of WRKY transcription factor superfamily in plant. WRKY family is becoming one of the most intensively studying transcription factors due to its diverse functions in plant biotic and abiotic stress responses as well as many physiological processes. We amplified full-length ORF coding sequence of *IbSPF1* with RT-PCR method using total RNA from sweetpotato leaf tissue. We found that thymine residue at the position of 1009 from translational start site was changed to cytosine resulting the substitution of amino acid sequence proline for serine compare to reported *IbSPF1*. We constructed *IbSPF1* overexpressing plant binary pCAMBIA2300 vector under the control of two different promoters. These vectors were transformed into *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA105. These *Agrobacterium* transformants will be used to generate transgenic sweetpotato with enhanced tolerance to abiotic and biotic stresses.

**Keywords** Sweetpotato; *IbSPF1* gene; SWPA2 promoter; Multiple stress

### 研究背景

转录因子(transcription factor), 又称反式作用因子, 是能与位于转录起始位点上游 50 bp~5 000 bp 的顺式作用元件(*cis-acting elements*)、沉默子(silencer)或增强子(enhancer)特异性结合的一类蛋白, 其通过与启动子(promoter)区域的结合, 激活或

抑制下游基因在特定时间和空间的转录与表达。植物体内存在大量的转录因子, 在拟南芥中, 全基因组中超过 5%的基因用于编码大约 1500 种转录因子。根据与 DNA 结合区域的特点, 这些转录因子可以分为若干个家族(Riechmann et al., 2000)。

WRKY 蛋白家族是近年来发现的又一类植物

特有的转录调节因子, 因在 N-端含有由 WRKYGQK 组成的高度保守的氨基酸序列而得名。目前, 人们已从多种植物中分离出该家族的成员, 并对其生理特性进行深入研究(Chen and Chen, 2000; Sun et al., 2003; Lagace and Matton, 2004; Zhang et al., 2004; Xu et al., 2004; Borrone et al., 2004; Ashida et al., 2002; Lambais, 2001; Pnueli et al., 2002)。WRKY 蛋白能专一性结合((T) (T) TGAC (C/T)序列, 而这种结合特定 DNA 序列的功能是由 WRKY 蛋白中的 WRKY 结构域行使的(Eulgem et al., 1999)。研究表明, WRKY 蛋白广泛地参与植物对生物、非生物胁迫的应答反应、植物衰老和器官发育等一系列生理活动, 在植物的抗逆境反应中起着非常重要的作用。

虽然 *IbSPF1* 是第一个从植物中克隆得到的 WRKY 超家族成员(Ishiguro and Nakamura, 1994), 但是其生物学功能一直没有得到深入了解。本实验以日本甘薯品种‘Kokei No.14’总 RNA 为模板, 成功地克隆了 *IbSPF1* 基因 cDNA, 构建起含有不同启动子(CaMV 35S 和 SWPA2)的 *IbSPF1* 基因植物表达载体, 对进一步研究 *IbSPF1* 基因的生物特性以及转基因甘薯的抗逆性有重要意义, 并为抗逆植物基因工程的进一步研究提供参考。

## 1 结果与分析

### 1.1 *IbSPF1* 基因的克隆及序列测定

参照 Ishiguro 和 Nakamura (1994)报道的甘薯基因 cDNA 序列, 设计一对基因特异性引物(GSP, 由韩国 SolGent 公司合成), *IbSPF1*-Forward: 5'-GGATCCATGGCTGCTTCT TCAGGGACAATA-3'(下划线部分为 *Bam*H I 酶切位点); *IbSPF1*-Reverse: 5'-GGATCCTCAAGCTAGCAAT GTGTCCAGAAA-3'(下划线部分为 *Bam*H I 酶切位点)。按照以上设计引物对 *IbSPF1* 基因进行 PCR 扩增, 用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物显示一条 1.7 kb 左右长度的 DNA 片段(图 1), 该产物经凝胶回收试剂盒回收克隆到 T-Blunt 载体上, 转至大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 。挑取 4 个阳性克隆用碱裂解法提取质粒, *Bam*H I 酶切后, 编号为 2、3 和 4 的克隆均可扩增出预期的目的片段(图 2)。测序结果表明, 3 号克隆序列与 NCBI 上登录的序列仅有一个核苷酸差异(图 3), 相似度高达 99.99%。

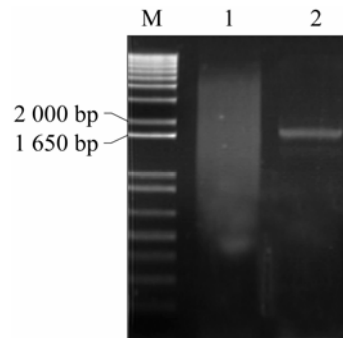


图 1 RT-PCR 扩增结果

注: M: 分子量 Marker; 1: 以 Oligo (dT)为引物所得 PCR 产物; 2: 以 GSP 为引物所得 PCR 产物

Figure 1 RT-PCR amplification of *IbSPF1* cDNA

Note: M: Marker; 1: The PCR product with Oligo (dT) primer; 2: The PCR product with GSP primer

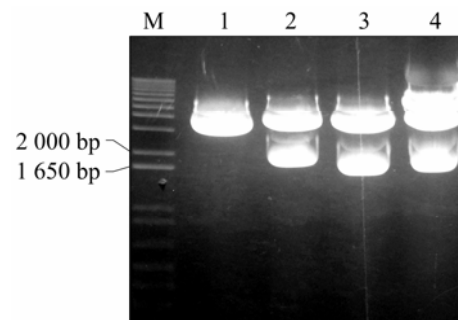


图 2 重组质粒 T-Blunt-*IbSPF1* 酶切检测

注: M: 分子量 Marker; 1~4: 质粒酶切结果

Figure 2 Detection of remodeled plasmid T-Blunt- *IbSPF1* digested with *Bam*HI

Note: M: Marker; 1~4: The results of plasmid digested with restriction endonuclease

### 1.2 植物表达载体的构建与鉴定

将 *IbSPF1* 基因分别与质粒 pCAMBIA2300-C-aMV 35S 和 pCAMBIA2300-SWPA2 连接后得到单克隆, 用引物对 1(CaMV 35S int-For 和 *IbSPF1*-Reverse) 和引物对 2 (SWPA2 c-term-For 和 *IbSPF1*-Reverse)进行克隆 PCR 检测, 以鉴定 *IbSPF1* 片段与 pCAMBIA2300-CaMV 35S 或 pCAMBIA2300-SWPA2 的连接方向的正确性。在挑取的 7 个 pCAMBIA2300-CaMV 35S-*IbSPF1* 阳性克隆中共有 2 个克隆得到了预期的目的片段(图 4), 表明编号分别为 4 和 8 的克隆连接方向正确; 在挑取的 5 个

NCBI one	841	TCGGCTTCAACCTTGGCTGCCAGTCTTATAATGCGCCTGCCAGTGATGTCCCGGATCAG	900
Cloned one	841	TCGGCTTCAACCTTGGCTGCCAGTCTTATAATGCGCCTGCCAGTGATGTCCCGGATCAG	900
NCBI one	901	TCGTA CTGGTCTAATGGTAACGGGCAGATGGATTCTGTTGCCACGCCAGAGAATTCTTCG	960
Cloned one	901	TCGTA CTGGTCTAATGGTAACGGGCAGATGGATTCTGTTGCCACGCCAGAGAATTCTTCG	960
NCBI one	961	ATCTCGGTGGGGGATGATGAATTTCGAGCAGAGCTCTCAGAAGAGGGAG	1 020
Cloned one	961	ATCTCGGTGGGGGATGATGAATTTCGAGCAGAGCTCTCAGAAGAGGGAG	1 020
NCBI one	1 021	GAGTTTGTGTAAGACGAACCGGATGCAAAGAGATGGAAAAGTGGAAAACGAAAAGCGAGGGA	1 080
Cloned one	1 021	GAGTTTGTGTAAGACGAACCGGATGCAAAGAGATGGAAAAGTGGAAAACGAAAAGCGAGGGA	1 080
NCBI one	1 081	GTTTCTGCACAGGGGAGTAGGACAGTAAGAGAACCGAGAGTTGTAGTTCAAACGACGAGT	1 140
Cloned one	1 081	GTTTCTGCACAGGGGAGTAGGACAGTAAGAGAACCGAGAGTTGTAGTTCAAACGACGAGT	1 140

图 3 获得的 *IbSPF1* 基因序列与 NCBI 登录序列比对(部分序列)

注: 红色标识表示的是两基因之间核苷酸差异序列

Figure 3 Comparison of cloned *IbSPF1* gene with NCBI one (part of sequence)

Note: The difference between DNA sequence of cloned *IbSPF1* gene with NCBI one is indicated by red mark

pCAMBIA2300-SWPA2-*IbSPF1* 阳性克隆中共有 4 个克隆得到了预期的目的片段(图 5), 结果显示编号为 3、4、5 和 6 的克隆连接方向正确。提取质粒后, 用 *Bam*HI 酶切以上连接方向正确的阳性克隆, 所检测的六个克隆酶切后皆可以得到大小为 1650 bp 的片段(图 6), 表明植物表达载体 pCAMBIA2300-CaMV 35S-*IbSPF1* 和 pCAMBIA2300-SWPA2-*IbSPF1* 已构建成功(图 7)。

基因的特异引物进行 PCR 检测(图 8; 图 9): 所挑取

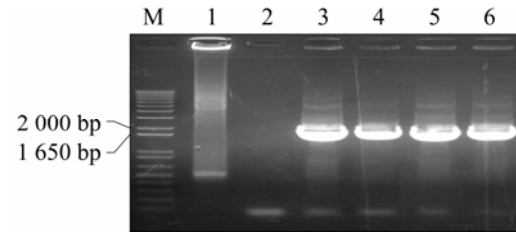


图 5 *IbSPF1* 片段与 pCAMBIA2300-SWPA2 的连接方向鉴定  
注: M: 分子量 Marker; 1: 空 pCAMBIA2300-SWPA2 载体; 3~6: 阳性克隆

Figure 5 Orientation identification of *IbSPF1* fragment in pCAMBIA2300-SWPA2

Note: M: Marker; 1: The empty pCAMBIA2300-SWPA2 vector; 3~6: The positive clones

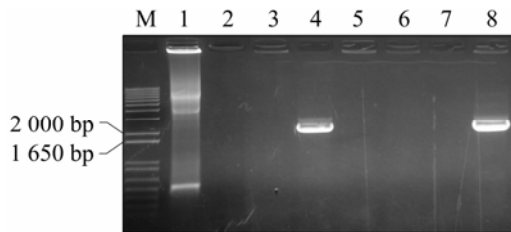


图 4 *IbSPF1* 片段与 pCAMBIA2300-CaMV 35S 的连接方向鉴定

Figure 4 Orientation identification of *IbSPF1* fragment in pCAMBIA2300-CaMV 35S

注: M: 分子量 Marker; 1: 空 pCAMBIA2300-CaMV 35S 载体; 4, 8: 阳性克隆

Note: M: Marker; 1: The empty pCAMBIA2300-CaMV 35S vector; 4, 8: The positive clones

### 1.3 根癌农杆菌的转化与鉴定

采用冻融法将含有两个不同启动子的重组表达载体导入农杆菌 EHA105 中, 分别得到许多转化子。以根癌农杆菌中纯化的质粒为模板, 用 *IbSPF1*

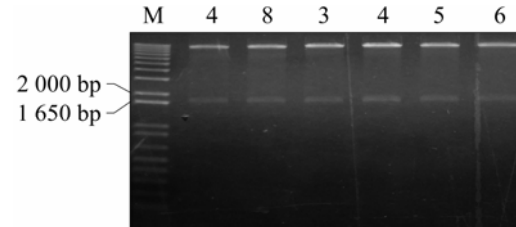


图 6 重组质粒 pCAMBIA2300-CaMV 35S (或 SWPA2)-*IbSPF1* 酶切检测

注: CaMV35S\_p: 4,8; SWPA2\_p: 3,4,5,6

Figure 6 Detection of remodeled plasmid pCAMBIA2300-CaMV 35S (or SWPA2)-*IbSPF1* by enzyme restriction

Note: CaMV35S\_p: 4,8; SWPA2\_p: 3,4,5,6

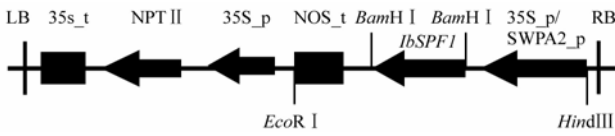


图 7 植物表达载体 pCAMBIA2300-CaMV 35S(或 SWPA2)-*IbSPF1* 的构造

Figure 7 Diagram for construct of plant expression vector pCAMBIA2300-CaMV 35S (or SWPA2)-*IbSPF1*

的四个转化子和阳性对照的DNA中均能扩增出与 *IbSPF1* cDNA片段大小相同的片段, 而阴性对照未能扩增出相应条带, 说明重组质粒确已转入根癌农杆菌。

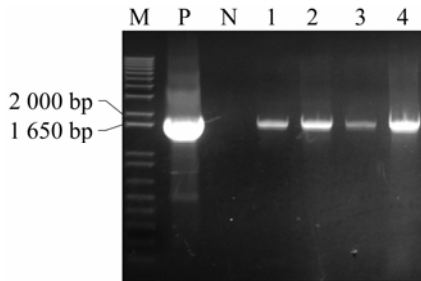


图 8 pCAMBIA2300-CaMV 35S-*IbSPF1* 导入根癌农杆菌结果鉴定

注: M: 分子量 Marker; P: 阳性对照; N: 阴性对照; 1~4: 阳性克隆子

Figure 8 Identification of transformant for pCAMBIA2300-CaMV 35S-*IbSPF1* into *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA105

Note: M: Marker; P: The positive control; N: The negative control; 1~4: The positive clones

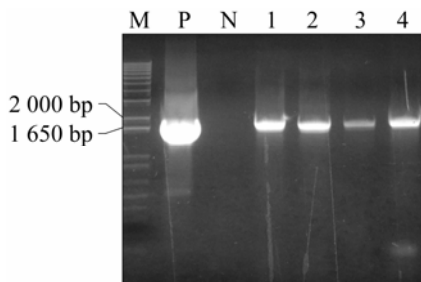


图 9 pCAMBIA2300-SWPA2-*IbSPF1* 导入根癌农杆菌结果鉴定

注: M: 分子量 Marker; P: 阳性对照; N: 阴性对照; 1~4: 阳性克隆子

Figure 9 Identification of transformant for pCAMBIA2300-SWPA2-*IbSPF1* into *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA105

Note: M: Marker; P: The positive control; N: The negative control; 1~4: The positive clones

## 2 讨论

WRKY 蛋白是 DNA 结合的调节蛋白, 通过与目标基因上的 W 盒元件互作, 在转录水平上调控基因的表达。各种高等植物当机体受到机械损伤、病原物侵害或者非生物胁迫诱导时, *WRKY* 基因都能大量而快速的表达。研究证实, 有三分之二的拟南芥 *WRKY* 基因被病原侵染或被植物防卫反应的信号分子水杨酸诱导(Dong et al., 2003)。水稻受真菌病原体 *M. grisea* 侵染后, 在被测试的 45 个 *OsWRKY* 基因中有 15 个基因的表达显著增加, 而其中 12 个受 *M. grisea* 诱导的 *OsWRKY* 基因也不同程度的受到细菌病原体 *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* (Xoo) 的差异调控(Ryu et al., 2006)。(仇玉萍等, 2004, 科学通报, 49(18): 1860-1869)对获得的 13 个水稻 *WRKY* 基因进行 Northern blotting 分析, 发现其中 10 个 *WRKY* 基因的表达受到 NaCl、PEG、低温(4°C)和高温(42°C)等 4 种非生物逆境因子胁迫的影响, 但其诱导表达模式在各种胁迫及胁迫诱导时间上均存在着很大的差异, 这种基因诱导表达模式的差异可能体现于它们之间的生物学功能的差异, 在水稻抵抗不同非生物胁迫或不同抗逆境信号转导中可能发挥不同的作用。在实验过程中, 我们利用 RT-PCR 技术对 *IbSPF1* 基因在甘薯不同生长部位以及病原菌浸染、干旱胁迫和 NaCl 处理下的表达谱进行了初步研究, 发现其表达方式存在着很大的区别(结果未发表), 说明 *IbSPF1* 基因同许多 *WRKY* 家族成员一样, 可能参与调控植物抗逆反应, 这为转基因抗逆甘薯材料的获得提供了一种新的思路。我们相信, 随着研究的深入, 人们将会对 *IbSPF1* 基因的功能和生理特性进一步了解, *IbSPF1* 基因将会在植物抗逆遗传转化研究中发挥越来越重要的作用。

CaMV 35S 启动子是一种高效的组成型启动子, 常用于调控植物外源基因的表达。但是利用诱导型启动子(特别是胁迫诱导型启动子)来精细调控基因表达, 可能更加有利于毒害胁迫下植物抗逆蛋白的产生(Yoshida and Shinmyo, 2000)。SWPA2 启动子是从甘薯悬浮培养组织中得到的一种氧化胁迫诱导的 POD 启动子(Kim et al., 2003), 它的表达受各种氧化胁迫, 如过氧化氢、UV 照射及机械伤害的诱导。因此, SWPA2 启动子有助于转基因植物中

抗性基因的精确表达以及转基因细胞和植株中一些有益药物蛋白成分的大量生产。与此同时, SWPA2 启动子对于氧化胁迫过程中的信号转导研究具有重大的意义。我们构建了含有不同启动子 (CaMV 35S 和 SWPA2) 的植物表达载体, 目前正在进行载体的遗传转化试验, 并取得了一些较好的结果, 这些都为今后探索组成型启动子和胁迫诱导型启动子在转基因植物抗逆效果上的差异提供研究基础。

### 3 材料与amp;方法

#### 3.1 实验材料

##### 3.1.1 植物材料

甘薯栽培品种高系 14 (*Ipomoea batatas* L. Lam. cv. Kokei No.14) 由韩国生命工学院环境生命工学研究中心植物抗氧化研究组繁育与保存, 选取 15 d~20 d 的组培苗幼嫩茎叶为试材。

##### 3.1.2 菌株及质粒

供试的感受态大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 菌株 DH5 $\alpha$ 、克隆载体 T-Blunt 均为韩国 SolGent 公司产品; 感受态根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 菌株 EHA105、分别含有植物组成型启动子 CaMV 35S 和甘薯过氧化物诱导型启动子 SWPA2 (Kim et al., 2003) 的植物表达载体 pCAMBIA2300 (抗性标记为卡那霉素) 由韩国生命工学院环境生命工学研究中心植物抗氧化研究组构建与保存。

##### 3.1.3 实验试剂

DNA 限制性内切酶、Ex-Taq 酶、Pfu 高保真酶、牛小肠碱性磷酸酶 (CIAP) 和 dNTP 购自 TaRaKa; T4 DNA 连接酶购自 Promega; 逆转录 (RT) 试剂盒购自 Fermentas; DNA 凝胶产物回收试剂盒购自 Real Biotech; DNA 分子量 Marker 和高纯度质粒小提中量试剂盒购自 SolGent, 其他试剂为 TaKaRa 产品。

### 3.2 实验方法

#### 3.2.1 植物 RNA 的提取和纯化

采用 TRIzol 法 (Invitrogen 公司) 提取甘薯总 RNA, 具体提取方法参考说明书进行。测定浓度后, 将其置于 -20 $^{\circ}$ C 保存, 以备后用。

#### 3.2.2 PCR 扩增及其产物回收

首先, 按照逆转录试剂盒的说明书要求, 分别以 GSP 和 Oligo (dT) 为引物将 RNA 转录为 cDNA。接着对 *IbSPF1* 基因进行 PCR 扩增, 扩增条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 60 s, 56 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 25 个循环; 于 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, PCR 产物用韩国 Real Biotech 公司 DNA 凝胶回收试剂盒进行回收。

#### 3.2.3 中间载体的构建及测序

将回收的目的 DNA 片段与 T-Blunt 载体连接, 转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞, 在含卡那霉素的培养基上蓝白斑筛选, 用碱法小批量抽提质粒, 并作电泳鉴定和限制性内切酶分析。酶切鉴定片段大小正确后, 将扩增片段送韩国 SolGent 公司测序。

#### 3.2.4 植物重组表达载体的构建及转化根癌农杆菌

将含有 *IbSPF1* 基因的 T-Blunt 载体用 BamHI 酶切, 回收小片断后, 克隆到经 BamHI 酶切的 pCAMBIA2300 载体 (分别含有 CaMV 35S 和 SWPA2 启动子) 上, 构建成植物表达载体。冻融法转化根癌农杆菌 EHA105 (An, 1987)。

### 作者贡献

后猛、郑在哲和安哲汉是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 后猛、郑在哲和郭尚洙完成数据分析, 论文初稿的写作; 马代夫参与实验设计, 试验结果分析; 李强是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

### 致谢

本研究由中韩国际合作项目“应用生物技术防治沙漠化的耐旱植物开发研究”、国家高技术研究发展计划 (863 计划) (2009AA10Z102)、国家科技支撑计划 (2009BADA7B03) 和江苏省“六大人才高峰” (2008201) 共同资助。作者感谢韩国生命工学研究院环境生物工程研究中心植物抗氧化研究组各位成员在本实验过程中的技术支持和有益建议。本文中提到了我们实验中涉及的有关试剂供应商和测序服务商, 这并非我们为这些试剂供应商和测序服务商的产品和服务提供推荐或背书。

### 参考文献

- An G., 1987, Binary Ti vectors for plant transformation and promoter analysis, *Methods Enzymol*, 153: 292-305  
Ashida Y., Nishimoto M., Matsushima A., Watanabe J., and Hirata T., 2002, *Molecular cloning and mRNA expression* 1601

- of geraniol-inducible genes in cultured shoot primordia of *Matricaria chamomilla*, *Biosci Biotechnol Bioche.*, 66(11): 2511-2514
- Borrone J.W., Kuhn D.N., and Schnell R.J., 2004, Isolation, characterization, and development of WRKY genes as useful genetic markers in *Theobroma cacao*, *Theor. Appl. Genet.*, 109(3): 495-507
- Chen C., and Chen Z., 2000, Isolation and characterization of two pathogen-and salicylic acid-induced genes encoding WRKY DNA binding proteins from tobacco, *Plant Mol. Biol.*, 42(2): 387-396
- Dong J.X., Chen C.H., and Chen Z.X., 2003, Expression profiles of the Arabidopsis WRKY gene superfamily during plant defense response, *Plant Mol. Biol.*, 51(1): 21-37
- Eulgem T., Rushton P.J., Schmelzer E., Hahlbrock K., and Somssich I.E., 1999, Early nuclear events in plant defense signaling: rapid gene activation by WRKY transcription factors, *EMBO J.*, 18(17): 4689-4699
- Ishiguro S., and Nakamura K., 1994, Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and  $\beta$ -amylase from sweet potato, *Mol Gen. Genet.*, 244(6): 563-571
- Kim K.Y., Kwon S.Y., Lee H.S., Hur Y., Bang J.W., and Kwak S.S., 2003, A novel oxidative stress-inducible peroxidase promoter from sweetpotato: Molecular cloning and characterization in transgenic tobacco plants and cultured cells, *Plant Mol. Biol.*, 51(6): 831-838
- Lagace M., and Matton D.P., 2004, Characterization of a WRKY transcription factor expressed in late torpedo-stage embryos of *Solanum chacoense*, *Planta*, 219(1): 185-189
- Lambais M.R., 2001, In silico differential display of defense-related expressed sequence tags from sugarcane tissues infected with diazotrophic endophytes, *Genet. Mol. Biol.*, 24(1-4): 103-111
- Pnueli L., Hallak-Herr E., Rozenberg M., Cohen M., Goloubinoff P., Kaplan A., and Mittler R., 2002, Molecular and biochemical mechanisms associated with dormancy and drought tolerance in the desert legume *Retama raetam*, *Plant J.*, 31(3): 319-330
- Riechmann J.L., Heard J., Martin G., Reuber L., Jiang C., Keddie J., Adam L., Pineda O., Ratcliffé O.J., Samaha R.R., Creelman R., Pilgrim M., Broun P., Zhang J.Z., Ghandehari D., Sherman B.K., and Yu G., 2000, Arabidopsis transcription factors: Genome-wide comparative analysis among eukaryotes, *Science*, 290(5499): 2105-2110
- Ryu H.S., Han M.H., Lee S.K., Cho J.I., Ryoo N., Heu S., Lee Y.H., Bhoo S.H., Wang G.L., Hahn T.R., and Jeon J.S., 2006, A comprehensive expression analysis of the WRKY gene superfamily in rice plants during defense response, *Plant Cell Rep.*, 25(8): 836-847
- Sun C.X., Palmqvist S., Olsson H., Boren M., Ahlandsberg S., and Jansson C., 2003, A novel WRKY transcription factor, SUSIBA2, Participates in sugar signaling in barley by binding to the sugar-responsive elements of the iso1 promoter, *Plant Cell*, 15(9): 2076-2092
- Xu Y.H., Wang J.W., Wang S., Wang J.Y., and Chen X.Y., 2004, Characterization of GaWRKY1, a cotton transcription factor that regulates the sesquiterpene synthase gene (+)- $\delta$ -Cadinene synthase-A, *Plant Physiol.*, 135(1): 507-515
- Yoshida K., and Shinmyo A., 2000, Transgene expression systems in plant, a natural bioreactor, *J. Biosci Bioeng.*, 90(4): 353-362
- Zhang Z.L., Xie Z., Zou X.L., Casaretto J., Ho D.T.H., and Shen Q.X.J., 2004, A rice WRKY gene encodes a transcriptional repressor of the gibberellin signaling pathway in aleurone cells, *Plant Physiol.*, 134(4): 1500-1513



5<sup>th</sup>Publisher是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5<sup>th</sup>Publisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量的评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>