

大豆转录因子基因 *GmMYBJ7* 的表达及功能分析

杨文杰^{1,2}, 吴燕民², 唐益雄²

(1. 淮阴师范学院, 江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室, 江苏 淮安 223300; 2. 中国农业科学院 生物技术研究所, 北京 100081)

摘要: MYB 转录因子广泛参与植物的生长、发育、生理代谢的调控及胁迫应答, 它们均具有保守的 MYB 结构域。*GmMYBJ7* 是从大豆中分离获得的一个新的 MYB 基因 (GenBank 登录号: DQ902864)。亚细胞定位检测结果表明, *GmMYBJ7* 蛋白定位于细胞核中; 半定量 RT-PCR 检测结果显示, 在紫外辐射、高盐及干旱 (PEG) 等非生物胁迫处理下, *GmMYBJ7* 在大豆品种吉林 3 号中的表达量明显降低; 构建植物表达载体 pCambia2301-*GmMYBJ7*, 利用农杆菌介导法转化烟草 NC89, 在 *GmMYBJ7* 的阳性转化受体中, 总黄酮的含量则明显减少。推测 *GmMYBJ7* 可能通过对类黄酮生物合成的调控参与植物的基础生理代谢。

关键词: 大豆; MYB 转录因子; 基因表达调控

中图分类号: Q786 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)06-0024-06

Expressing and Functional Analysis of *GmMYBJ7* from Soybean

YANG Wen-jie^{1,2}, WU Yan-min², TANG Yi-xiong²

(1. Huaiyin Teachers' College, Jiangsu Key Laboratory for Eco-Agricultural Biotechnology around Hongze Lake, Huai'an 223300, China; 2. Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Plant MYB transcription factors are characterized by the presence of a structurally conserved MYB domain, which involved in the regulation of many aspects of plant growth, development, metabolism and stress responses. A new MYB gene, designated *GmMYBJ7* (GenBank accession No. DQ902864), was isolated from soybean (*Glycine max*). The result of subcellular localization indicated that *GmMYBJ7* proteins were mostly distributed in the nucleus. Semi-quantitative RT-PCR analysis indicated that the expression of *GmMYBJ7* would be decreased under the abiotic stress treatment such as UV-B radiation, drought and high-salt. *GmMYBJ7* were transformed into tobacco NC89 with *Agrobacterium* LBA4404 containing the plant expression vectors pCambia2301-*GmMYBJ7*. The results showed that the average total flavonoids content decreased significantly in the positive tobacco transformants, which suggested that *GmMYBJ7* was probably involved in the basic physiological metabolism by regulating the biosynthesis of flavonoid in plants.

Key words: Soybean; MYB transcription factors; Gene expression and regulation

MYB 蛋白是植物中极为重要的一类反式作用因子, 它们均具有一个高度保守的 DNA 结合域, 其中含有 1~3 个重复的 MYB 结构域。而植物体中绝大多数 MYB 蛋白为含有 2 个重复 MYB 结构域的 R2R3-MYB^[1-2]。

近年来, 已先后从拟南芥、玉米、大麦、大豆、番茄等植物中分离克隆出了大量的 MYB 基因, 并对其功能进行了深入的研究^[3-13]。研究表明, MYB 转录

因子对植物体的生长发育及基础代谢具有重要的调节作用^[14-22], 并广泛参与植物次生代谢调控及激素和环境因子的应答^[23-29]。MYB 基因的分离克隆及其功能的研究, 对于理解和认识此类转录因子对植物某些生理过程的调控机制具有重要的理论意义。

大豆是重要的油料作物, 也是人类及家畜食物和饲料中蛋白质的主要来源。近年来, 已有许多大豆中的 MYB 基因被分离克隆出来^[10-13, 30], 对其功

收稿日期: 2012-07-13

基金项目: 中央级公益性科研院所科研业务费专项资金 (基本 2008-17)

作者简介: 杨文杰 (1970-), 男, 山东泰安人, 讲师, 博士, 主要从事生物化学与分子生物学研究。

通讯作者: 唐益雄 (1965-), 男, 湖南邵东人, 研究员, 博士, 主要从事生物化学与分子生物学研究。

能的研究既有利于对 MYB 家族蛋白参与植物生长代谢、环境因子应答等机制的认识和解析,而且还可作为大豆的耐逆、抗病等品质改良的研究提供一定的理论依据。

GmMYBJ7 (GenBank 登录号: DQ902864) 是从大豆中分离克隆的 MYB 基因,序列分析显示为典型的 R2R3MYB 转录因子。本研究在亚细胞定位、非生物胁迫下的表达及对植物次生代谢的影响等方面对此基因进行了初步的研究和分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 供试大豆品种吉林 3 号,由中国农业科学院作物科学研究所、作物种质资源保护与研究中心及北京国家大豆改良分中心孙君明博士共同提供。

1.1.2 药品、菌株与试剂 RNA 提取试剂 Trizol 购自北京天根科技有限公司; Super Script™ III Reverse Transcriptase 及 Gene Racer™ kit 购自 Invitrogen 公司; pMD18-T 载体购自宝生物公司; 大肠杆菌 DH-5 α 感受态购自北京天根科技有限公司; pGFP-163 由中国农业科学院农业质量标准与检测研究所提供; 载体 pUCST4A、pCAMBIA2301 由本室保存。

1.2 MYB 基因 cDNA 的克隆

温室培养 2 周后,剪取叶片液氮冻存备用。Trizol (TianGen) 小量提取总 RNA。根据植物中 MYB 基因 DNA 结合域保守区设计 1 对简并引物,从叶片中提取总 RNA 进行 RT-PCR 扩增,获得 cDNA 同源片段;然后,通过 RACE-PCR 的方法分离得到 MYB 基因的 cDNA 全长序列。

1.3 GmMYBJ7 转录因子的亚细胞定位

利用引物 GFP-JL7 (F) (5'-GAGAAGCTTG-GCATGGGTAGAGCTC-3') 和引物 GFP-JL7 (R) (5'-CGTGGATCCTGCGTACTACGTGACT-3'),从连接有 *GmMYBJ7* cDNA 全长序列的 pMD18-T 载体上扩增出完整的开放阅读框。扩增产物和 p163-GFP 载体经双酶切、琼脂糖凝胶电泳、回收后,将 *GmMYBJ7* 连接于 p163-GFP 载体的 Hind III 和 BamH I 位点之间,构建与 GFP 翻译融合的表达载体 p163-GFP-*GmMYBJ7*。

基因枪法转化经 MS 培养基预培养 4 h 的洋葱表皮细胞,Leica TCS SP2 激光扫描共聚焦荧光显微镜观察试验结果。

1.4 MYB 基因在不同胁迫下的应答

1.4.1 引物的设计与合成 以大豆泛素蛋白基因

Subi-1 (D16248) 为内标基因,设计大豆泛素蛋白基因特异引物 GmUBQ-F 和 GmUBQ-R; 根据 *GmMYBJ7* 的 cDNA 序列,在基因的非保守区设计基因特异引物,所用引物见表 1。

表 1 *GmMYBJ7* 在非生物胁迫下的表达分析所使用的引物

Tab. 1 Primers used in the analysis of *GmMYBJ7*

under abiotic stresses	
引物编号 Primer	引物序列 Primer sequence
JL7-RT(F)	5'-CAGTACTCCAAAGGAAGCCTCAAC-3'
JL7-RT(R)	5'-TGCCTGTCCACCCACTAACACTA-3'
GmUBI-F	5'-CTCTGACAGGGAAGACCGTAAC-3'
GmUBI-R	5'-GAGACCGTGCATAGCAAGCTA-3'

1.4.2 *GmMYBJ7* 对紫外辐射的应答 温室盆栽播种,出苗后自然光照下培养 2 周,然后对幼苗进行 UV-B 辐射处理,辐射强度为 0.2 mW/cm² 20 min/d,分别在处理的第 3、7、15 天提取叶片总 RNA,以大豆泛素蛋白基因作为内标基因,利用 *GmMYBJ7* 的特异引物 JL7-RT(F) 和 JL7-RT(R) 进行半定量 RT-PCR 扩增,以检测在紫外辐射不同处理时间下 *GmMYBJ7* 的表达情况。

1.4.3 *GmMYBJ7* 对高盐的应答 经 10% 的次氯酸钠灭菌处理 5~10 min 后,将大豆种子播种于 B5 培养基,出苗后温室培养 2 周,然后,将苗转入含有 300 mmol/L 的 NaCl 的 B5 培养基中进行高盐胁迫处理;在处理的第 3、7、15 天分别提取叶片总 RNA,以大豆泛素蛋白基因为内标基因,利用 *GmMYBJ7* 的特异引物 JL7-RT(F) 和 JL7-RT(R) 进行半定量 RT-PCR 扩增,以检测在高盐浓度不同处理时间下 *GmMYBJ7* 的表达变化。

1.4.4 *GmMYBJ7* 对干旱的应答 利用 10% 的次氯酸钠浸泡处理大豆种子 5~10 min,然后将其播种于 B5 培养基,出苗后温室培养 2 周,然后,将幼苗转入含有 10% PEG6000 的 B5 培养基中进行高盐胁迫处理;分别在处理的第 3、7、15 天提取叶片总 RNA,反转录获得的 cDNA,以大豆泛素蛋白基因为内标基因,利用 *GmMYBJ7* 特异引物 JL7-RT(F) 和 JL7-RT(R) 进行半定量 RT-PCR 扩增,以检测在干旱条件下不同处理时间 *GmMYBJ7* 的表达情况。

1.5 *GmMYBJ7* 对烟草的遗传转化及相关功能分析

1.5.1 转化烟草 利用引物 pUCST4A-JL7 (F) (5'-GCGTCTAGAACCATGGGTAGAGCTC-3') 和 pUCST4A-JL7 (R) (5'-AGAGGTACCGTCCAACAAGTCATA-AGTC-3'),从连接有全长 *GmMYBJ7* cDNA 的 pMD18-T 载体上扩增出完整的开放阅读框。扩增产物和载体经双酶切、回收后,T4 连接酶将 *GmMY-*

BJ7 连接于中间载体 pUCST4A 的 *Xba* I 和 *Kpn* I 位点 *Hind* III 和 *Eco*R I 双酶切切下完整表达框,连接至 pCAMBIA2301 的 *Hind* III 和 *Eco*R I 位点,构建植物表达载体 pCAMBIA2301-*GmMYBJ7*。利用农杆菌 LBA4404 介导转化烟草 NC89,以转化 pCAMBIA2301 空载体的转化烟草为对照,检测烟草转化苗中总黄酮的含量变化。

1.5.2 转基因烟草中总黄酮含量分析 建立吸收曲线:将芦丁标准品干燥至恒质量后,精密称取 5 mg 置于一容量瓶中,加入 2.5 mL 甲醇,水浴促使其溶解后,蒸馏水定容至 10 mL。

分别精密吸取标准品溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 于比色管中,分别加入 1 mL 5% 的 NaNO_2 溶液,摇匀并静置 6 min; 然后加入 1 mL 5% 的 AlCl_3 溶液,摇匀,静置 6 min; 再分别加入 5 mL 4% 的 NaOH 溶液,用蒸馏水定容至 10 mL,静置 15 min,在波长 510 nm 处测定吸收值,建立线性回归方程。

样品检测:在液氮中充分研磨植物材料,称取约 0.1 g (每一样品 3 个重复) 按照 0.1 g 鲜质量/1 mL 甲醇的比例加入预冷的色谱纯甲醇,密闭、避光、超声波处理 15 min,8 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,经 0.45 μm 微孔膜过滤,收集滤液至 1 mL HPLC 专用小瓶中密闭,4℃ 保存。

吸取 0.5 mL 样品转入 15 mL 比色管中,加入 1 mL 5% 的 NaNO_2 溶液,摇匀,静置 6 min; 加入 1 mL 5% 的 AlCl_3 溶液,摇匀,静置 6 min; 再加入 5 mL 4% 的 NaOH 溶液,用蒸馏水定容至 10 mL,静置 15 min,

然后在波长 510 nm 处测定吸收值。

2 结果与分析

2.1 cDNA 全长序列的获得

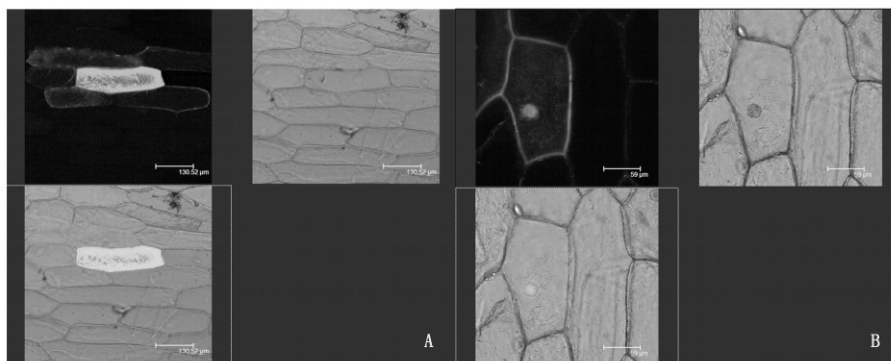
以叶片总 RNA 反转录获得的 cDNA 为模板, RACE-PCR 获得 1 个新的 *MYB* 基因。测序结果表明,此扩增产物全长序列为 1 371 bp,开放阅读框 969 bp,编码 322 个氨基酸,推测其分子量为 35.640 kDa,等电点为 6.60。具有 2 个 MYB 结构域,在 C-端存在一个酸性活化区域,判断为典型的 R2R3MYB 转录因子。命名为 *GmMYBJ7* (DQ902864) [30]。

2.2 亚细胞定位

基因枪法将构建好的重组质粒 p163-GFP-*GmMYBJL7* 转入洋葱表皮细胞,25℃ 暗培养 24~36 h 后,激光扫描共聚焦荧光显微镜观察。结果显示,在转化空载体 p163-GFP 的洋葱表皮细胞中,绿色荧光分布在整個细胞中;在转化重组质粒 p163-GFP-*GmMYBJL7* 的洋葱表皮细胞中,细胞核部位观察到有绿色荧光(图 1)。可见,*GmMYBJL7* 定位于细胞核,与亚细胞定位预测结果一致。

2.3 在非生物胁迫下的表达分析

对大豆栽培品种吉林 3 号的 2 周龄幼苗进行紫外辐射、高盐和干旱(PEG)等胁迫处理,在不同处理时间,分别提取其总 RNA,反转录获得 cDNA。半定量 RT-PCR 检测结果显示,随着胁迫处理时间的增长,*GmMYBJL7* 的表达有下降的趋势(图 2)。由此可知,*GmMYBJL7* 对非生物胁迫具有明显的应答,并随处理时间的增长表达量逐渐降低。



A. 对照 (p163-GFP); B. *GmMYBJL7*。

A. Control (p163-GFP); B. *GmMYBJL7*。

图 1 *GmMYBJ7* 的亚细胞定位

Fig. 1 The subcellular localization of *GmMYBJL7*

2.4 转基因烟草中总黄酮检测

以芦丁作标准品测定不同浓度梯度在 510 nm 处的吸收值,经数据统计建立标准吸收曲线和回归方程(表 2);以转化 pCAMBIA2301 空载体的转基因烟草为对照,对 *GmMYBJL7* 的烟草转化苗进行总黄

酮检测。随机抽取 3 株阳性转化苗,每株样品重复检测 3 次。结果显示,对照组总黄酮含量为 0.018 4 mg/mL,*GmMYBJL7* 的转化烟草中,总黄酮含量为 0.013 2 mg/mL,低于对照组(图 3)。由此可知,在 *GmMYBJL7* 的转化烟草中,类黄酮的生物合成明显

降低,此结果与 *GmMYBJL7* 烟草转化苗中类黄酮代谢相关酶表达分析的实验结果一致(资料显示)。

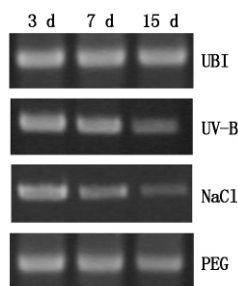


图2 *GmMYBJL7* 在非生物胁迫下表达分析

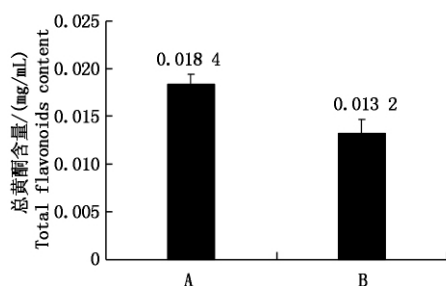
Fig.2 Expression analysis of *GmMYBJL7* in soybean treated by abiotic stresses

表2 标准溶液在 510 nm 处的吸光度

Tab.2 The Absorbance of the standard solution at the wavelength of 510 nm

浓度 /(mg/mL)	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06
吸光值 A	0.00	0.094	0.229	0.353	0.503	0.655	0.806

根据表2得线性回归方程: $A = 13.621C - 0.0315$ $r = 0.9993$



A. pCambia2301(对照); B. *GmMYBJL7*。

A. pCambia2301 as a control; B. *GmMYBJL7*.

图3 转基因烟草的总黄酮检测

Fig.3 The total flavonoids assay of transgenic tobacco

3 讨论

MYB 转录因子是最大的植物转录因子家族之一,在植物次生代谢、激素和环境因子的应答、细胞分化和细胞周期、植物器官的形态建成及植物生理节律等诸多方面均具有重要的调节作用^[31-34]。

近年来的研究还显示,MYB 转录因子对干旱、高盐、冷冻等非生物胁迫也具有明显的应答^[11],并可激活和调控植物体中相关胁迫基因的表达^[10,35-38]。因此,分离克隆新的 MYB 基因,研究鉴定其功能,对于解析 MYB 蛋白在转录水平对植物生理代谢调控以及在逆境胁迫条件下的应答机制均具有重要的意义。

研究显示,在干旱、脱水等胁迫条件下,ABA 可诱导拟南芥的 *rd22* 和 *AtADH1* 基因的表达,序列分

析表明,在 *rd22* 和 *AtADH1* 基因的启动子区分别存在着 MYB 和 MYC 转录因子的识别位点^[35]。半定量 RT-PCR 检测结果表明,*GmMYBJ7* 对高盐、干旱及紫外辐射等非生物胁迫均表现有明显应答。然而,对高盐、干旱等渗透胁迫的应答是否也依赖于 ABA 诱导途径,则有待进一步研究。

真核基因的表达随细胞内外环境的改变而在不同层次上受到精确调控,而转录因子在转录水平的调控是很多基因表达调控的主要方式^[39-41]。然而,转录因子首先要在核定位信号的引导下或在其他蛋白的协助下进入细胞核中,方能发挥其调控功能。本研究利用基因枪法将重组质粒 p163-GFP-*GmMYBJ7* 转入洋葱表皮细胞进行瞬时表达,结果在转化细胞的细胞核中检测到了绿色荧光,表明 *GmMYBJ7* 蛋白能够定位于细胞核;此外,发现在 p163-GFP-*GmMYBJ7* 的转化细胞中,细胞膜或细胞壁上也分布有较弱的荧光,这可能与 *GmMYBJ7* 的其他生物学功能有关。

GmMYBJ7 和 *GmMYBJ6* 均为从大豆栽培品种吉林 3 号中分离获得 MYB 基因,序列比对结果显示,它们与拟南芥的 *AtMYB36* 同源性较高,均属于 MYB 转录因子家族的第 14 亚群,在其 C-端具有明显的转录激活域。但其功能似有不同,在烟草转化中,*GmMYBJ6* 的表达可显著上调 4-香豆酰辅酶 A 连接酶(4CL)、查尔酮合成酶(CHS)等多种类黄酮代谢途径中关键酶基因的表达,最终导致植物体中总黄酮含量明显增加^[13];而 *GmMYBJ7* 在转化烟草中的过量表达则导致受体植物中总黄酮含量有所下降,这与 *GmMYBZ2* 的功能相似^[12,42]。

序列分析表明,*GmMYBZ2* 与拟南芥的 *AtMYB4*、红草莓的 *FaMYB1* 及牵牛中的 *AmMYB308*、*AmMYB330* 同源性较高,均属于 MYB 家族的第 4 亚群,其突出的特征是氨基酸序列的 C-端都存在一个 pDLNLD/ELXiG/S 氨基酸基序和一个锌指结构域,序列的缺失和突变结果分析表明,这个保守的 C-末端基序是转录抑制区的一部分。进一步的研究表明,*AmMYB308*、*AtMYB4*、*FaMYB1* 和 *GmMYBZ2* 的过量表达对类黄酮代谢均具有抑制作用^[12,20,43-44]。但序列分析表明,*GmMYBJ7* 氨基酸序列的 C-末端并不存在上述保守的转录抑制基序,因此,推测其对类黄酮代谢的作用方式和机制有可能不同于 *AtMYB4*、*AmMYB308*、*FaMYB1* 和 *GmMYBZ2*。类黄酮广泛存在于从苔藓植物到被子植物的各种植物类群中^[19],种类繁多、分布广泛,具有多种生物学功能,而且代谢途径繁多、代谢网络极为复杂,*GmMYBJ7*

对类黄酮不同代谢支路的调控、对非生物胁迫的应答机制以及其他生物学功能有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Stracke R ,Werber M ,Weisshaar B. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Current Opinion in Plant Biology* 2001 ,4: 447 – 456.
- [2] Rabinowicz P D ,Braun E L ,Wolfe A D ,et al. Maize R2R3-MYB genes: sequence analysis reveals amplification in the higher plants [J]. *Genetics* ,1999 ,153: 427 – 444.
- [3] Lee M M ,Schiefelbein J. Developmentally distinct MYB genes encode functionally equivalent protein in *Arabidopsis* [J]. *Development* 2001 ,128: 1539 – 1546.
- [4] Bruce W ,Folkerts O ,Garnaat C ,et al. Expression profiling of the maize flavonoid pathway genes controlled by estradiol-inducible transcription factors CRC and P [J]. *Plant Cell* 2000 ,12: 65 – 79.
- [5] Liu C J ,Blount J W ,Steele C L ,et al. Bottlenecks for metabolic engineering of isoflavone glyconjugates in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ,99: 14578 – 14583.
- [6] Borevitz J O ,Xia Y ,Blount J ,et al. Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis [J]. *Plant Cell* 2000 ,12: 2383 – 2394.
- [7] Nesi N ,Jond C ,Debeaujon I ,et al. The *Arabidopsis* TT2 gene encodes an R2R3 MYB domain protein that acts as a key determinant for proanthocyanidin accumulation in developing seed [J]. *Plant Cell* 2001 ,13: 2099 – 2114.
- [8] Mathews H ,Clendennen S K ,Caldwell C G ,et al. Activation Tagging in Tomato Identifies a Transcriptional Regulator of Anthocyanin Biosynthesis ,Modification and Transport [J]. *The Plant Cell* 2003 ,15: 1689 – 1703.
- [9] Goodrich J ,Carpenter R ,Coen E S. A common gene regulates pigmentation pattern in diverse plant species [J]. *Cell* ,1992 ,68: 955 – 964.
- [10] Bo-Jun Chen ,Yong Wang ,Yuan-Lei Hu ,et al. Cloning and characterization of a drought-inducible MYB gene from *Boea crassifolia* [J]. *Plant Science* 2005 ,168: 493 – 500.
- [11] Yong Liao ,Hong-Feng Zou ,Hui-Wen Wang ,et al. Soybean GmMYB76 ,GmMYB92 ,and GmMYB177 genes confer stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. *Cell Research* 2008 ,18: 1047 – 1060.
- [12] 杨文杰 ,杜海 ,方芳 ,等. 大豆两个 MYB 转录因子基因的克隆与表达分析 [J]. *中国农业科学* 2008 ,41(4) : 961 – 970.
- [13] 杨文杰 ,吴燕民 ,唐益雄. 大豆转录因子基因 *GmMYB16* 的表达及功能分析 [J]. *遗传* 2009 ,31 (6) : 654 – 662.
- [14] Shin B ,Choi G ,Yi H ,et al. AtMYB21 , a gene encoding a flower-specific transcription factor ,is regulated by COP1 [J]. *The Plant Journal* 2002 ,30(1) : 23 – 32.
- [15] Lee M M ,Schiefelbein J ,WEREWOLF. A MYB-related protein in *Arabidopsis* ,is a position dependent regulator of epidermal cell patterning [J]. *Cell* ,1999 ,99(5) : 473 – 483.
- [16] Shmitz G ,Tillmann E ,Carriero F. The tomato Blind gene encodes a MYB transcription factor that controls the formation of lateral meristems [J]. *PNAS* ,2002 ,99(2) : 1064 – 1069.
- [17] Penfield S ,Messner R C ,Shoue D A ,et al. MYB61 is required for mucilage deposition and extrusion in the *Arabidopsis* seed coat [J]. *Plant Cell* 2001 ,13(12) : 2777 – 2791.
- [18] Steiner-Lange S ,Unte U S ,Eckstein L ,et al. Disruption of *Arabidopsis thaliana* MYB26 results in male sterility due to non-dehiscent anthers [J]. *Plant J* 2003 ,34(4) : 519 – 528.
- [19] Koes R E ,Quattrocchio F ,Mol J N M. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution [J]. *Bio Essays* ,1994 ,16: 123 – 132.
- [20] Tamagnone L ,Merida A ,Parr A ,et al. The AmMYB308 and AmMYB330 transcription factors from *Antirrhinum* regulate Phenylpropanoid and lignin biosynthesis in transgenic tobacco [J]. *Plant Cell* ,1998 ,10: 135 – 154.
- [21] Newman L J ,Campbell M M. MYB proteins and xylem differentiation [M] // Savidge R ,Barnett J ,Napier R. *Cell and molecular biology of wood formation*. Oxford: BIOS Scientific Publishers 2000: 437 – 444.
- [22] Lauvergeat V ,Rech P ,Jauneau A ,et al. The vascular expression pattern directed by the *Eucalyptus gunnii* cinnamyl alcohol dehydrogenase EgCAD2 promoter is conserved among woody and herbaceous plant species [J]. *Plant Mol Biol* 2002; 50: 497 – 509.
- [23] Bruce W ,Folkerts O ,Garnaat C ,et al. Expression profiling of the maize flavonoid pathway genes controlled by estradiol-inducible transcription factors CRC and [J]. *Plant Cell* 2000 ,12: 65 – 79.
- [24] Borevitz J O ,Xia Y ,Blount J ,et al. Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis [J]. *Plant Cell* 2000 ,12: 2383 – 2394.
- [25] Moyano E ,Martinez-Garcia J F ,Martin C. Apparent Redundancy in MYB Gene Function provides Gearing for the control of Flavonoid Biosynthesis in *Antirrhinum* Flowers [J]. *The Plant Cell* ,1996 ,8: 1519 – 1532.
- [26] Nesi N ,Jond C ,Debeaujon I ,et al. The *Arabidopsis* TT2 gene encodes an R2R3 MYB domain protein that acts as a key determinant for proanthocyanidin accumulation in

- developing seed[J]. *Plant Cell* 2001 ,13: 2099 – 2114.
- [27] Murray F ,Kalla R ,Jacobsen J *et al.* A role for HvGA-MYB in anther development[J]. *Plant J* 2003 ,33(3) : 481 – 491.
- [28] Gubler F ,Chandler P M ,White R G *et al.* Cloning of a rice DNA encoding a transcription factor homologous to barley GAMYB [J]. *Plant Cell Physiol* ,1997 ,38(3) : 362 – 365.
- [29] Kranz H D ,Denekamp M ,Greco R *et al.* Towards functional characterization of the members of the R2R3-MYB gene family from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J* , 1998 ,16: 263 – 276.
- [30] 杜海,杨文杰,刘蕾,等. 大豆 MYB 转录因子基因 *GmMYBJ6* 和 *GmMYBJ7* 的克隆及表达分析[J]. *作物学报* 2008 ,34 (7) : 1179 – 118.
- [31] Martin C ,Paz-Ares J. MYB transcription factors in plants [J]. *Trends Genet* ,1997 ,13: 67 – 73.
- [32] 王栋,李利红,陈志玲,等. 拟南芥根特异表达转录因子 AtMYB305 的鉴定及功能研究[J]. *科学通报* , 2001 ,46(21) : 1804 – 1809.
- [33] Wang D ,Li L H ,Chen Zh L *et al.* Characterization and pilot functional study of a roots pecific MYB transcription factor of *Arabidopsis* [J]. *Chinese Science Bulletin* , 2002 ,47(4) : 297 – 301.
- [34] Carre I A ,Kim J Y. MYB transcription factors in the *Arabidopsis* circadian clock [J]. *J Exp Bot* ,2002 ,53 (374) : 1551 – 1557.
- [35] Hiroshi Abe ,Takeshi Urao ,Takuya Ito *et al.* *Arabidopsis* AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) Function as Transcriptional Activators in Absciscic Acid Signaling [J]. *The Plant Cell* 2003 ,15: 63 – 78.
- [36] Hoeren F U ,Dolferus R ,Wu Y *et al.* Evidence for a role for AtMYB2 in the induction of the *Arabidopsis* alcohol dehydrogenase gene (ADH1) by low oxygen [J]. *Genetics* ,1998 ,149: 479 – 490.
- [37] Quaedvlieg N ,Dockx J ,Keultjes G *et al.* Identification of a light-regulated MYB gene from an *Arabidopsis* transcription factor gene collection [J]. *Plant Mol Biol* , 1996 ,32: 987 – 993.
- [38] Marten Denekamp ,Sjef C Smeekens. Integration of Wounding and Osmotic Stress Signals Determines the Expression of the AtMYB102 Transcription Factor Gene [J]. *Plant Physiology* 2003 ,132: 1415 – 1423.
- [39] Latchman D S. Transcription factor: an overview [J] ,*Int J Biochem Cell Biol* ,1997 ,29(12) : 1305 – 1312.
- [40] 刘强,张贵友,陈受宜. 植物转录因子的结构与调控作用[J]. *科学通报* 2000 ,45(14) : 1465 – 1474.
- [41] Gert J C ,Veenstra ,Alan P W. Gene-selective developmental roles of general transcription factors [J]. *Trends Biochem Sci* 2001 ,26: 665 – 671.
- [42] 杨文杰,吴燕民,唐益雄. 大豆转录因子基因 *GmMY-BZ2* 的表达及功能分析[J]. *江苏农业科学* ,2010 (5) : 44 – 47.
- [43] Jin H ,Cominelli E ,Bailey P *et al.* Transcriptional repression by AtMYB4 controls production of UV-protecting sunscreens in *Arabidopsis* [J]. *Embo J* ,2000 ,19: 6150 – 6161.
- [44] Aharoni A ,De Vos C H ,Wein M *et al.* The strawberry FaMYB1 transcription factor suppresses anthocyanin and flavonol accumulation in transgenic tobacco [J]. *Plant J* , 2001 ,28: 319 – 332.