

陆地棉 *GhCYP1* 基因的分离及其表达分析

李元宝¹, 王亦学², 司怀军¹, 吴家和²

(1. 甘肃农业大学, 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 甘肃 兰州 730070;

2. 中国科学院 微生物研究所 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101)

摘要:应用 SSH-PCR 技术, 在筛选到抗旱相关基因的 EST 序列基础上, 采用 RACE 技术, 分离克隆到全长为 801 bp, 含编码序列(CDS) 为 522 bp 的棉花抗旱相关基因 *GhCYP1*。氨基酸序列比对发现, 该基因与拟南芥、水稻、人等的亲环蛋白基因高度同源, 都具有由 11 个连续氨基酸所组成的单结构域亲环蛋白典型结构, 且在保守区都具有 PPIase 活性所必需的 3 个氨基酸(R、F、H) 以及与环孢素 A(CsA) 结合位点密切相关的色氨酸(W)。利用半定量 RT-PCR 对该基因的表达模式进行分析, 发现其在棉花的叶、茎、根中均有表达, 且在根中的表达量最高, 暗示了该基因可能与植物根系吸水及矿物运输有关, 从而在棉花适应干旱胁迫环境中发挥着关键作用。

关键词:棉花; 亲环蛋白; 干旱胁迫; 表达模式

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2011)06-0032-05

Isolation and Expression Pattern of *GhCYP1* Gene in Upland Cotton

LI Yuan-bao¹, WANG Yi-xue², SI Huai-jun¹, WU Jia-he²

(1. Gansu Key Laboratory of Crop Genetic and Germplasm Enhancement, Gansu Agricultural University,

Lanzhou 730070, China; 2. State Key Laboratory of Plant Genomic, Institute of Microbiology,

Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: In this study, based on the EST sequences of drought-resistant relative genes by employing SSH-PCR technique, a full length 801 bp cDNA of Cyclophilin-like gene was cloned from cotton(*Gossypium hirsutum*) by using RACE technique, which containing a 522 bp coding sequence(CDS), and was designated as *GhCYP1*. Amino acid sequence alignment analysis showed that the *GhCYP1* was high identified with cyclophilin from *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* and *Homo sapiens*, all these cyclophilins containing a typical single-domain with a composition of 11 amino acids, three essential amino acids(R, F, H) for PPIase activity and a tryptophan(W) closely related to the site for cyclosporine A(CsA) binding. Semi-quantitative PCR analysis showed that the *GhCYP1* was found with constitutive expression in the root, stem and leaf tissues, whereas the RNA transcriptional level in the root was highest, which suggested that this gene may be associated with uptaking water and transporting mineral, and played a pivotal role in the process of cotton adaptation to the drought environment.

Key words: Cotton(*Gossypium hirsutum* L.); Cyclophilin; Drought-stress; Expression pattern

亲环蛋白(Cyclophilin) 是一类广泛存在于动植物细胞的多功能蛋白家族, 在进化中高度保守^[1], 目前, 在哺乳动物中研究的比较深入, 主要发现其具有肽脯氨酰顺反异构酶(PPIase) 活性, 可通过催化寡肽中脯氨酸肽键的顺反异构来加速体内蛋白质的折叠或改变蛋白质的构象, 能充当分子伴侣的角色, 辅助细胞中蛋白质的折叠和功能的发挥^[2]。另外

还与多种疾病的发生相关, 参与免疫抑制^[3, 4]及信号转导^[5, 6]等多种生物学过程。在植物中, 亲环蛋白基因(*CyP*) 作为一种与植物生长和发育调节、代谢调控以及逆境应答等密切相关的基因, 已从多种植物中分离出来, 并且相关的研究也指出该基因的时空表达及逆境胁迫条件下 mRNA 的积累均反映出它们的功能是对环境适应和进化的结果^[7-10]。

收稿日期: 2011-06-10

基金项目: 国家转基因专项(2008ZX08010-004; 2009ZX08005-009B); 入侵昆虫综合技术与示范推广(201103026)

作者简介: 李元宝(1987-), 女, 在读硕士, 主要从事植物分子生物学研究。

通讯作者: 吴家和(1968-), 男, 安徽合肥人, 副研究员, 博士, 主要从事植物分子生物学与基因工程研究。

Marivet 等^[11]以玉米和大豆为材料,发现 *CyP* mRNA 在不同的胁迫环境下,如热激、低温胁迫及盐胁迫等非生物胁迫下的表达量变化差异很大,推测亲环素蛋白是与胁迫紧密相关的蛋白。同样, Luan 等^[12]发现在强光和热激诱导下,蚕豆叶绿体中 *pC-yP* 表达量会明显上升;马铃薯亲环素基因(*StCYP*) 在机械损伤、热激、ABA、JA 等的诱导下表达量也会显著增加^[13]。另外, Chen 等^[14]利用裂殖酵母系统筛选到盐芥中耐盐相关基因 *ThCYP1*, 并且在烟草 BY2 细胞中过量表达该基因能显著增强细胞的耐盐性。Sekhar 等^[10]的研究表明,在拟南芥中过表达木豆亲环素基因 *CcCYP*, 可以增强植株对干旱、高盐和极端温度的耐受能力。这些均说明植物亲环素基因类似一个调控因子参与到植物所面临的多种胁迫反应中,虽然目前相关的研究大多主要集中在调控表达方面,具体作用机制还不是很了解,但可以肯定该基因在胁迫环境中明显的表达量变化定是与其所发挥的某种功能有关。

本研究在应用 SSH-PCR 技术筛选到抗旱相关基因的 EST 序列基础上,采用 RACE 技术,首次在耐旱陆地棉品种中分离克隆一个亲环素基因,并对该基因的序列及其在棉花中的表达模式进行了分析,以期为进一步研究棉花 *GhCYP1* 基因的功能及其对逆境的响应提供更多的线索和依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本试验所用棉花(*Gossypium hirsutum* L.) 品种晋棉 35, 由山西省农业科学院棉花研究所资源室提供,属陆地棉中熟品种,耐旱能力强。

大肠杆菌(*Escherichia coli*) 菌株 DH5 α , 由所在实验室保存提供;克隆载体 pGEM-T-easy, 购自 Promega 公司;各种限制性内切酶、RACE 试剂盒(Core Set Ver. 2.0: D314) 均购自大连 TaKaRa 公司。

1.2 方法

1.2.1 陆地棉总 RNA 的提取 选用陆地棉(*Gossypium hirsutum* L.) 品种晋棉 35 新长出的幼嫩组织为材料,采用改良的 CTAB 法^[15,16],提取高质量的陆地棉总 RNA,经纯度和完整性检测后用 DNase I 去除痕量 DNA,并于 -80℃ 冰箱中保存备用。

1.2.2 cDNA 末端序列的快速扩增与序列分析 根据所在实验室已应用 SSH-PCR 技术所筛选提供的抗旱相关基因的 EST 序列,挑选到一个与其他物种亲环蛋白基因高度同源的基因,序列全长为 256 bp,5'末端经过验证序列已经获得,但缺少 3'末端序

列,采用 RACE 技术进行 cDNA 末端序列的快速扩增,具体操作如下:

①选用棉花幼嫩叶片提取的总 RNA 反转录合成的 cDNA 第一链为模板,利用 DNAMAN 软件,根据 EST 序列设计一对 PCR 引物: GR1-F: 5'-TGGAGC-CTTTCGCAGATTGC-3'; GR1-R: 5'-AGCGTTAGC-CATTGAGAGAATAC-3',进行 PCR 扩增,验证该基因在此阶段的棉花幼嫩组织是否有表达,并通过测序和比对检测所扩增出的片段是否与所提供的 EST 序列一致。

②cDNA 末端序列的快速扩增与序列分析

为获得该基因的全长序列,根据 TaKaRa 公司的 RACE 试剂盒(Core Set Ver. 2.0: D314) 操作说明书,设计两条上游特异性引物,分别为: 3'-GSP1: 5'-ATATCTCAAATCTCCTCCTC-3', 3'-GSP2: 5'-GTAT-CATCACCATGGCCTC-3';下游引物 3'RACE Outer Primer 和 3'RACE Inner Primer 为试剂盒自带引物。采用巢式 PCR 扩增方式进行该基因 3'末端的扩增,扩增所得片段胶回收后连接到克隆载体 pGEM-T-easy 上,并送于公司测序。

利用 DNAMAN 软件对所得的该基因 3'末端序列及原有 EST 序列进行序列拼接,并采用 NCBI 的 rpsblast 进行氨基酸序列比对分析,采用 ExPASy 网站的 ProParam (<http://cn.expasy.org/tools/prot-param.html>) 进行等电点及分子量计算。

1.2.3 半定量 RT-PCR 分析 利用 DNAMAN 软件分别以棉花 Polyubiquitin 基因(*GhUBI*) 和 *GhCYP1* 基因 3'UTR 区的序列设计两对引物: UBI-F: 5'-GAGACGTAGTTAGAAAGGAAG-3'; UBI-R: 5'-AG-TACGTTCCCATTCCGGAAC-3'; GR3-F: 5'-GTGTTA-AGCTGGGATGTTGTC-3', GR3-R: 5'-GAAAACCAC-CAAACCCAGTG-3'。以棉花 Polyubiquitin 基因(*GhUBI*) 作为反应的内标,采用半定量 RT-PCR 技术对陆地棉 *GhCYP1* 基因进行表达分析,即用陆地棉叶、根、茎的 cDNA 作为模板,分别以上述两对引物进行相同循环数的扩增,扩增产物用于衡量 *GhCYP1* 基因在陆地棉各组织中的表达情况。

2 结果与分析

2.1 陆地棉总 RNA 的提取

在基因克隆操作中,植物组织 RNA 的提取是一个关键步骤,高质量 RNA 的获得是基因克隆成功的基础,本试验采用改良的 CTAB 法提取的陆地棉叶、根、茎总 RNA,由图 1 可以看出,28S,18S 核糖体 RNA 的带型比较整齐,无拖尾现象和基因组 DNA

的掺杂,说明 RNA 的质量比较好,可以进行后续的试验。

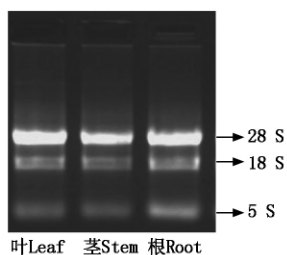


图1 陆地棉叶、茎、根总 RNA

Fig.1 Total RNA in leaf stem and root of cotton

2.2 陆地棉 *GhCYP1* 基因全长序列的克隆及序列分析

根据所在实验室利用 SSH 法所获得的陆地棉抗旱基因的 EST 序列设计引物,如图 2 所示,扩增出约 250 bp 的片段,该大小符合 EST 序列所提供的理论扩增大小,经测序和比对显示结果正确,说明该基因在此阶段的棉花幼嫩组织中有表达,另外,在 NCBI 比对发现该基因缺少 3' 末端。

为获得该基因的全长序列,采用 3' RACE 技术,通过巢式 PCR 扩增方式以提高扩增的特异性和灵敏度。结果如图 3 所示扩增出约 750 bp 的片段,经电泳回收测序表明,成功克隆出该基因的 3' 末端。

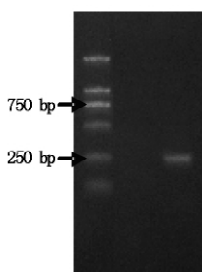


图2 EST 序列扩增结果

Fig.2 Amplification result of EST sequence

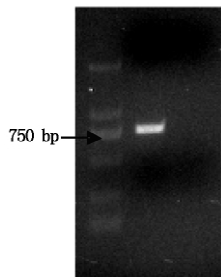


图3 3' RACE 扩增结果

Fig.3 Amplification result of 3' RACE

结合原有 EST 序列及 3' RACE 克隆得到的 *GhCYP1* 基因 3' 末端序列,分析知该基因的开放阅读框全长为 522 bp,编码 173 个氨基酸,分子量约为 18.15 kDa,等电点约为 8.76。选用 *Bam*H I 和 *Sac* I 两个酶切位点,以引物 GR2-F: 5'-GGATCCATG-

GCTTCAAATCCCAAGG-3', GR2-R: 5'-GAGCTCCTA-AGAGAGCTGTCCGCAG-3' 进行 PCR 扩增,如图 4 所示,扩增得到 *GhCYP1* 基因编码区全长序列。回收纯化目的基因片段,然后将目的基因片段连入 pGEM-T-easy 克隆载体中,图 5 所示为重组质粒 pGEMT-*GhCYP1* 质粒酶切鉴定图,说明该基因的编码区已正确连入克隆载体 pGEM-T-easy 中,且带有 *Bam*H I 和 *Sac* I 两个酶切位点,可用于后续试验。

Blast 分析表明,所克隆的基因序列与 Genbank 中已注册的一个核酸序列属同一基因,命名为陆地棉 *GhCYP1* (基因注册号为 GQ292530.1),序列比对分析结果如图 6 所示,陆地棉 *GhCYP1* 基因与拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、水稻 (*Oryza sativa*)、人 (*Homo sapiens*) 等的亲环蛋白基因高度同源,氨基酸同源性分别达到 75% ~ 86%, 74%, 70%, 都具有由 11 个连续氨基酸所组成的单结构域亲环蛋白的典型结构,且在保守区都具有 PPIase 活性所必需的 3 个氨基酸 (R、F、H) 以及与环孢素 A (CsA) 结合位点密切相关的氨基酸 (色氨酸)^[17],这也充分说明该基因在进化中的保守性是比较高的。

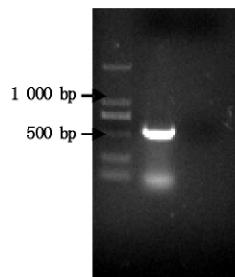


图4 *GhCYP1* 基因编码序列扩增结果

Fig.4 Amplification result of *GhCYP1* gene coding sequence

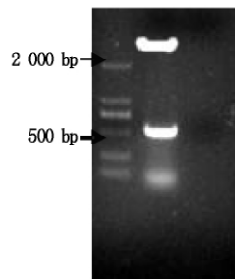


图5 pGEMT-*GhCYP1* 质粒酶切检测

Fig.5 Digested detection of pGEMT-*GhCYP1* plasmid

2.3 陆地棉 *GhCYP1* 基因的表达模式分析

采用半定量 RT-PCR 技术对 *GhCYP1* 基因在陆地棉叶、根、茎中的表达情况进行分析,如图 7 所示,可以看出 *GhCYP1* 基因在陆地棉叶、根、茎中均有表达,且在根、茎中的表达相对较高,根中为最高,这也暗示了该基因可能与植物根系吸水及矿物运输有关,从而在棉花适应干旱胁迫环境中发挥着某种关键作用。

GhCYP1	MAS.NEKVFEDMTIIGGQFAGRIVMSEFFAICTERTAEENFALCTGKGVGRSGKFLHYKSSSFHRV	64
AtROC3	MAT.NEKVFEDMTIVGGKSAGRIVMELYADITTEPTAEENFALCTGKGVGRSGKFLHYKSSSFHRV	64
AtCYP2	MAS.HEKVFEDMTIIGGAPAGRIVMELYADITTEPTAEENFALCTGKGVGRSGKFLHYKSSSFHRV	64
AtROC1	.MA.FEKVFEDMTIIGGQFAGRIVMELYADITTEPTAEENFALCTGKGVGRSGKFLHYKSSSFHRV	63
AtROC5	.MS.NEKVFEDMTISLGTIFIGRIEMELFADITTEPTAEENFALCTGKGVGRSGKFLHYKSSSFHRV	63
OsCYP2	MASNEKVFEDILIGKARAGRVVMELEADITTEPTAEENFALCTGKGVGRSGKFLHYKSSSFHRV	65
AtROC2	MA..NEKVFEDILIGKMKAGRVVMELEADITTEPTAEENFALCTGKGVGRSGKFLHYKSSSFHRV	63
hCYP1	MVN..ETVFEDLIAVDGEPLGRVSFELFADITTEPTAEENFALCTGKGVGRSGKFLHYKSSSFHRV	56

GhCYP1	IPNEMCQGGDFIAGNGTGGESIYGSKFEDENEIKKHTGPGILSMANAGFNGSQFFICTAKTEW	129
AtROC3	IPNEMCQGGDFIAGNGTGGESIYGSKFEDENEIKKHTGPGILSMANAGFNGSQFFICTAKTEW	129
AtCYP2	IPNEMCQGGDFIAGNGTGGESIYGSKFEDENEIKKHTGPGILSMANAGFNGSQFFICTAKTEW	129
AtROC1	IPNEMCQGGDFIAGNGTGGESIYGSKFEDENEIKKHTGPGILSMANAGFNGSQFFICTAKTEW	128
AtROC5	IPNEMCQGGDFIAGNGTGGESIYGSKFEDENEIKKHTGPGILSMANAGFNGSQFFICTAKTEW	128
OsCYP2	IPNEMCQGGDFIAGNGTGGESIYGSKFEDENEIKKHTGPGILSMANAGFNGSQFFICTAKTEW	130
AtROC2	IPNEMCQGGDFIAGNGTGGESIYGSKFEDENEIKKHTGPGILSMANAGFNGSQFFICTAKTEW	128
hCYP1	IPNEMCQGGDFIAGNGTGGESIYGSKFEDENEIKKHTGPGILSMANAGFNGSQFFICTAKTEW	121

GhCYP1	LDGRHVVFQGVVEGMDVVKAIEKVGSSSGRTSKFVVVADCGQLS....	173
AtROC3	LDGRHVVFQGVVEGLNVVDIEKVGSSSGRTSKFVVVADCGQLS....	173
AtCYP2	LDGRHVVFQGVVEGLDVVKAIEKVGSSSGRTSKFVVVADCGQLS....	174
AtROC1	LDGRHVVFQGVVEGLDVVKAIEKVGSSSGRTSKFVVVADCGQLS....	172
AtROC5	LDGRHVVFQGVVEGLDVVKAIEKVGSSSGRTSKFVVVADCGQLS....	172
OsCYP2	LDGRHVVFQGVVVDGYTVVEKMEQVGSSSGRTSKFVVVADCGQLADHA	178
AtROC2	LDGRHVVFQGVVVDGYTVVEKMEQVGSSSGRTSKFVVVADCGQLADHA	176
hCYP1	LDGRHVVFQGVVVDGYTVVEKMEQVGSSSGRTSKFVVVADCGQLS....	165

黑色长条指代由 11 个连续氨基酸所组成的单结构域亲环蛋白的典型结构; 黑色三角指代 PPIase 活性所必需的三个氨基酸; 黑色圆圈指代与环孢素 A (CsA) 结合位点密切相关的氨基酸。

A stretch of 11 amino acids typical of single domain Cyps is shown in black bar; Amino acids under black triangle represent necessarily required for PPIase catalysis activity; CsA binding site was marked with black round.

图 6 氨基酸序列比分析

Fig. 6 Alignment analysis of amino acid sequence

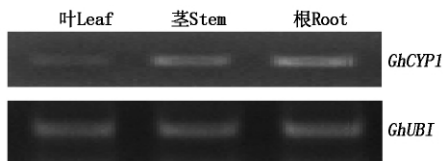


图 7 陆地棉 *GhCYP1* 基因的表达模式分析

Fig. 7 Analysis of cotton *GhCYP1* gene expression pattern

3 讨论

棉花作为一种重要的经济作物,虽属中等耐旱作物,但大量研究表明干旱仍是制约棉花生产的重要影响因子,因此,发掘棉花中耐旱相关基因,并通过基因工程等手段导入植物基因组,提高植物的抗旱能力具有重大意义。

近年来,植物亲环蛋白 (Cyclophilin) 基因在多种植物中相继分离出来,并被证明参与植物对各种生物及非生物逆境的响应过程,但多数研究主要集中在表达调控方面,推测在逆境胁迫环境中,亲环蛋白可能参与应激反应中的信号转导途径,从而避免相关蛋白遭受蛋白酶的降解或发生凝集^[2],或是充当分子伴侣的角色在逆境相关蛋白的折叠过程中发挥作用^[5,18,19],因为在干旱、高盐、低温胁迫等逆境诱导环境中,该类蛋白的表达量会有明显上升^[10,11,13]。而抑制性消减杂交法 (SSH) 又是一种分离差异表达基因的有效方法,本研究正是在应用 SSH-PCR 技术筛选到抗旱相关基因的 EST 序列基

础上,采用 RACE 技术,首次在耐旱陆地棉品种中分离克隆到一个亲环蛋白基因,序列分析表明该基因与拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、水稻 (*Oryza sativa*)、人 (*Homo sapiens*) 等的亲环蛋白基因高度同源,更加充分说明该类蛋白在进化中高度保守^[1],这可能也与其功能的多样性密不可分。

另外,在干旱、高盐等胁迫下最先响应的往往是植物的根,因为根是植物地上部获得水分及养分的主要来源,对植物的正常生长起到至关重要的作用,也已经发现很多抗旱相关基因在根中特异表达^[20]。本研究通过半定量 RT-PCR 技术对该基因在陆地棉中的表达模式进行了分析,结果发现该基因在根中的表达量最高,而这种表达的差异则也暗示了该基因可能与植物根系吸水及矿物运输有关,从而在棉花适应干旱胁迫环境中发挥着某种关键作用。

为进一步探索该基因的功能和作用机制,我们也正在将该基因过量表达于棉花或异源表达于烟草植株中,同时拟通过反义 RNA 技术获得功能缺失植株或对所获得的转基因植株给予其他的信号刺激来进行进一步的观察与性状鉴定,以期为进一步研究棉花 *GhCYP1* 基因的功能及其对逆境的响应提供更多的线索和依据。

参考文献:

[1] Galat A. Variations of sequences and amino acid composi-

- tions of proteins that sustain their biological functions: An analysis of the cyclophilin family of proteins [J]. Arch Biochem Biophys ,1999 ,371(2) : 149 – 162.
- [2] Gothel S F ,Marahiel M A. Peptidyl-prolyl cis-trans isomerases a superfamily of ubiquitous folding catalysts [J]. Cell Mol Life Sci ,1999 ,55(3) : 423 – 436.
- [3] Rao A ,Luo C ,Hogan P G. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function [J]. Annu Rev Immunol ,1997 ,15: 707 – 747.
- [4] Schreiber S L ,Crabtree G R. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506 [J]. Immunol Today ,1992 ,13(4) : 136 – 142.
- [5] Lee S P ,Hwang Y S ,Kim Y J *et al.* Cyclophilin a binds to peroxiredoxins and activates its peroxidase activity [J]. J Biol Chem 2001 ,276(32) : 29826 – 29832.
- [6] Lee J R ,Park S C ,Kim J Y *et al.* Molecular and functional characterization of a cyclophilin with antifungal activity from Chinese cabbage [J]. Biochem Biophys Res Commun 2007 ,353(3) : 672 – 678.
- [7] Gasser C S ,Gunning D A ,Budelier K A *et al.* Structure and expression of cytosolic cyclophilin/peptidyl-prolyl cis-trans isomerase of higher plants and production of active tomato cyclophilin in *Escherichia coli* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A ,1990 ,87(24) : 9519 – 9523.
- [8] Johnson J C ,Clarke B C ,Bhave M. Isolation and characterisation of cDNAs encoding protein disulphide isomerases and cyclophilins in wheat [J]. Journal of Cereal Science 2001 ,34(2) : 159 – 171.
- [9] Oh K ,Ivanchenko M G ,White T J *et al.* The diageotropica gene of tomato encodes a cyclophilin: a novel player in auxin signaling [J]. Planta 2006 ,224(1) : 133 – 144.
- [10] Sekhar K ,Priyanka B ,Reddy V D *et al.* Isolation and characterization of a pigeonpea cyclophilin (CcCYP) gene and its over-expression in *Arabidopsis* confers multiple abiotic stress tolerance [J]. Plant Cell and Environment 2010 ,33(8) : 1324 – 1338.
- [11] Marivet J ,Margis-Pinheiro M ,Frendo P *et al.* Bean cyclophilin gene expression during plant development and stress conditions [J]. Plant Mol Biol ,1994 ,26(4) : 1181 – 1189.
- [12] Luan S ,Lane W S ,Schreiber S L. pCyP B: a chloroplast-localized ,heat shock-responsive cyclophilin from fava bean [J]. Plant Cell ,1994 ,6(6) : 885 – 892.
- [13] Godoy A V ,Lazzaro A S ,Casalongue C A. Expression of a *Solanum tuberosum* cyclophilin gene is regulated by fungal infection and abiotic stress conditions [J]. Plant Science 2000 ,152(2) : 123 – 134.
- [14] Chen A P ,Wang G L ,Qu Z L *et al.* Ectopic expression of ThCYP1 ,a stress-responsive cyclophilin gene from *Thellungiella halophila* ,confers salt tolerance in fission yeast and tobacco cells [J]. Plant Cell Rep ,2007 ,26(2) : 237 – 245.
- [15] 窦道龙 ,王冰山 ,唐益雄 ,等. 棉花高质量总 RNA 的提取的一种有效方法 [J]. 作物学报 ,2003 ,29(6) : 478 – 479.
- [16] 李 晶 ,王亦学 ,吴家和 ,等. 一种简单高效提取棉花不同组织总 RNA 的方法 [J]. 山西农业科学 2009 ,37(5) : 17 – 19.
- [17] Zydowsky L D ,Etzkorn F A ,Chang H Y *et al.* Active site mutants of human cyclophilin A separate peptidyl-prolyl isomerase activity from cyclosporin A binding and calcineurin inhibition [J]. Protein Sci ,1992 ,1(9) : 1092 – 1099.
- [18] Johnson J C ,Bhave M. Characterisation and physical mapping of cyclophilin A genes and identification of new classes of cyclophilins in wheat [J]. Journal of Cereal Science 2004 ,40(2) : 137 – 150.
- [19] Wu H M ,Wensley E ,Bhave M. Identification and analysis of genes encoding a novel ER-localised Cyclophilin B in wheat potentially involved in storage protein folding [J]. Plant Science 2009 ,176(3) : 420 – 432.
- [20] 刘敏丽 ,张彦芳 ,冯晨静 ,等. 植物抗旱相关基因研究进展 [J]. 河北林果研究 2006 ,21(2) : 167 – 169.