

低锌与正常供锌条件下玉米基因表达差异的研究

吕萌萌, 王景安

(天津师范大学 化学与生命科学学院, 天津 300384)

摘要: 利用抑制差减杂交(Suppression subtractive hybridization, SSH) 技术分离玉米低锌与正常供锌条件下表达有差异的 cDNA 片段。以低锌培养的玉米幼苗为试验方, 正常供锌的玉米幼苗为对照方, 建立正向差减文库; 以正常供锌的玉米幼苗为试验方, 以低锌诱导培养的玉米幼苗为对照方, 建立反向差减文库。正、反向文库分别收集低锌和正常供锌条件下特异表达的 cDNA 片段。在 2 个文库中, 各随机挑选 30 个克隆进行测序。序列分析表明, 在正向差减文库中, 分离得到的基因多与抗病防御、信号转导、细胞生长与分裂等方面相关; 在反向差减文库中, 分离得到的基因多与细胞组织发生及代谢等方面有关。

关键词: 抑制差减杂交; 玉米; 低锌

中图分类号: Q786 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000- 7091(2007)04- 0094- 05

Research on Differential Expressed Genes in Maize under Low-zinc and Zinc-sufficiency Conditions

LU Meng-meng, WANG Jing-an

(College of Chemistry and Biology, Tianjin Normal University, Tianjin 300384, China)

Abstract: Suppression subtractive hybridization(SSH) was performed to isolate the differentially expressed cDNA fragments under low-zinc and zinc-sufficiency conditions. In the forward subtracted library, the cDNA of maize seedlings treated with low-zinc was used as tester and the cDNA of maize seedlings treated with zinc-sufficiency was used as driver. In the reverse subtracted library, the cDNA of maize seedlings treated with zinc-sufficiency was used as tester and the cDNA of maize seedlings treated with low-zinc was used as driver. The cDNA fragments differentially expressed under low-zinc and zinc-sufficiency conditions were collected in the forward and reverse subtracted library, respectively. Thirty clones were randomly picked to sequence in each library. The sequencing results shows: the function of isolated genes in the forward subtracted library mostly relates to disease resistance/defense, signal transduction, cell growth/division and so on. While the function of isolated genes in the reverse subtracted library mostly relates to cell/tissue generation, metabolism and so on.

Key words: Suppression subtractive hybridization; Maize; Low-zinc

土壤缺锌是造成植物锌营养缺乏的主要原因。根据联合国粮农组织的一份报告, 全世界大约 30% 的耕地缺锌, 在石灰质土壤、半干旱土壤中缺锌更为严重^[1]。然而, 锌是植物生长的必需元素, 对于植物体内的蛋白质代谢、核酸代谢、维持生物膜的稳定性、植物的光合作用、激素合成以及其他元素的吸收等方面有着重要的作用^[2]。植物缺锌的表现一般为: 脉间失绿, 叶片枯萎黄化, 叶片小且常呈畸形, 丛簇状生长。节间缩短, 茎生长受到抑制, 形成矮化

苗。开花成熟期推迟, 严重时开花不正常, 落花落果严重, 果实发育受阻, 产量大幅度降低^[3]。

植物对于缺锌环境有着自己的调节机制。在形态学方面, 植物通过改变根系的形态特征, 比如增加根系长度、根毛密度来增大吸收面积以保证根系在缺锌环境下仍能保持较高的吸收率^[3]。另外, 还有报道指出在缺锌时, 植物会出现亚细胞区室化现象, 使其在缺锌时能够有效地从根部转运锌至叶片, 以维持植株体内有生理活性的锌含量。近年来, 科学

收稿日期: 2007- 04- 02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30571109)

作者简介: 吕萌萌(1983-), 女, 天津人, 在读硕士, 主要从事植物营养生理和植物分子生物学研究

通讯作者: 王景安(1957-), 男, 河北丰润人, 教授, 博士, 主要从事生物化学与分子生物学教学与科研工作。

家们对于植物在缺锌情况下调节机制的研究已经深入到分子水平, 已经确认了一些与植物锌利用有关的调控因子^[4,5]。Singh 和 Foster 等^[6,7]分别做了相似的试验, 证明在某些抗缺锌植物中可能存在一个单显性基因控制着锌积累。但是, 究竟是哪些基因在植物抗缺锌中起了关键作用, 这些基因的表达是如何进行调控的, 又涉及哪些网络代谢途径等, 目前还知之甚少。此外, 关于缺锌和正常供锌的玉米在基因差异表达方面的研究也少有报道。

抑制差减杂交(Suppression subtractive hybridization, 简称 SSH)技术自 Diatchenko 等^[8]建立以来, 已在水稻^[9]、小麦等^[10]多种植物的差异基因分离中得到应用, 该方法可以有效富集差异表达基因。本研究采用 SSH 法, 建立与玉米低锌胁迫有关的差异 cDNA 文库, 获得一些相关差异基因的 cDNA 片段, 以期从分子生物学水平上揭示低锌胁迫时玉米的调控机制及危害机理。

1 材料和方法

1.1 材料和处理

供试玉米品种为沈单 10。选择饱满一致的玉米种子, 浸种 12 h 后, 均匀播在铺以无菌水浸湿滤纸的培养皿中, 置于恒温箱, 28℃左右催芽, 待发芽 5~7 d 后(芽长 5~6 cm, 根长 8~10 cm), 去胚乳, 用去离子水冲洗干净。选取高度一致的幼苗分别进行低锌和正常供锌处理。营养液配方为: K_2SO_4 750 $\mu\text{mol/L}$, $MgSO_4$ 650 $\mu\text{mol/L}$, KCl 100 $\mu\text{mol/L}$, $Ca(NO_3)_2$ 2 000 $\mu\text{mol/L}$, KH_2PO_4 250 $\mu\text{mol/L}$, H_3BO_3 1 $\mu\text{mol/L}$, $MnSO_4$ 1 $\mu\text{mol/L}$, $CuSO_4$ 0.1 $\mu\text{mol/L}$, $(NH_4)MoO_4$ 0.005 $\mu\text{mol/L}$, $FeEDTA$ 100 $\mu\text{mol/L}$ 。锌以 $ZnSO_4$ 的形式供给, 低锌处理和正常供锌处理浓度分别为 0.01 和 1 $\mu\text{mol/L}$ 。pH 6.0 左右。

1.2 RNA 的提取和分离

在处理 48 h 后, 分别取低锌处理和正常供锌的玉米幼苗各 3 g。采用改进的异硫氰酸胍一步法提取总 RNA^[11], 检测各 RNA 样品的浓度、纯度和完整性。利用 Oligotex mRNA 分离试剂盒(Qiagen 公司)从总 RNA 中分离 polyA⁺ RNA, 最后溶于适当体积的 DEPC 处理水中, 利用紫外分析仪分析其浓度, 利用琼脂糖凝胶电泳鉴定其完整性。

1.3 抑制差减杂交(SSH)

各取低锌和正常供锌的 mRNA 约 2 μg , 利用 cDNA 双链合成试剂盒(Takara 公司)进行 cDNA 双链合成。SSH 过程采用 Diatchenko 的方法进行^[8]。正向抑制差减杂交以低锌诱导的玉米幼苗为试验方, 正

常供锌的玉米幼苗为对照方; 反向抑制差减杂交以正常供锌的玉米幼苗为试验方, 以低锌诱导的玉米幼苗为对照方。

1.4 抑制差减 cDNA 文库的构建及插入片段的检测

将 SSH 的 PCR 扩增产物纯化后, 取适量与 pGEM-T Easy 载体(Promega 公司)连接, 然后热激转化感受态细胞 DH5 α , 通过蓝白斑筛选, 将含有插入片段的白斑菌落转化子挑入 96 孔板中, 形成抑制差减 cDNA 文库。分别建成正向文库和反向文库。随机挑取文库部分克隆, 对菌液进行 PCR 扩增, 电泳检测扩增的插入片段。

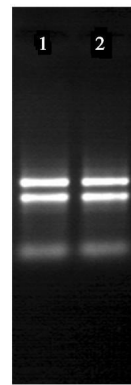
1.5 阳性克隆的测序及序列分析

在正向文库和反向文库中各挑选 30 个克隆送交上海生工进行测序。用 BLASTn 和 BLASTx 软件对所得结果在 Genbank 的核酸和蛋白质数据库中进行同源比对分析, 推测克隆中 EST 序列的可能功能。

2 结果与分析

2.1 总 RNA 和 mRNA 的检测

采用琼脂糖凝胶电泳法检测提取的总 RNA, 其 28 S 条带的亮度约为 18 S 条带的 1.5~2 倍, 表明 RNA 完整性好, 如图 1 所示; 采用 Eppendorf 公司的核酸分析仪检测 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的比值约为 1.94, 说明总 RNA 纯度比较高。纯化后的 mRNA 经琼脂糖凝胶电泳呈现弥散条带, 无 18 S 和 28 S rRNA 带型特征, 表明分离得到的 mRNA 质量满足 cDNA 合成要求。



1. 低锌玉米; 2. 正常供锌玉米

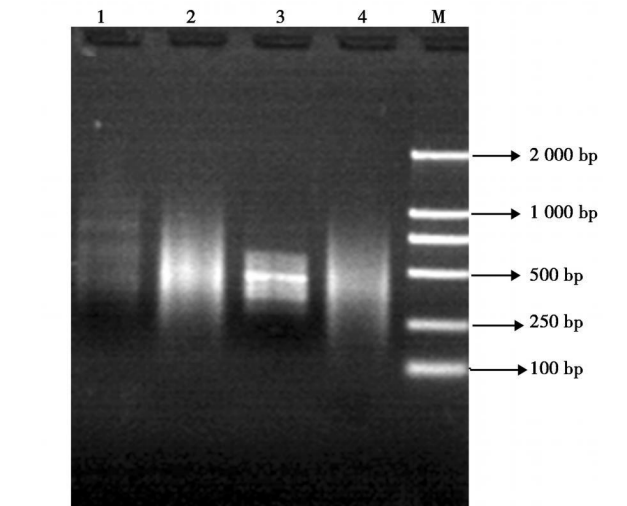
1. Maize total RNA under low-zinc condition;
2. Maize total RNA under zinc-sufficiency condition
图 1 玉米幼苗总体 RNA 电泳

Fig. 1 Electrophoresis of maize total RNA

2.2 抑制差减杂交后第二次 PCR 产物分析

抑制差减杂交后, 用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳分析第二次 PCR 扩增产物。由图 2 知, 正、反向未差减的 cDNA 为 0.2~1.2 kb 左右的弥散条带, 而差减

后的 cDNA 弥散条带范围缩小,并在某些区域有富集。表明差减杂交后,试验方和对照方的一些共有 cDNA 片段被扣除掉,同时差异基因得到富集。



M. DL2000 marker; 1. 正向差减杂交;2. 正向未差减杂交;
3. 反向差减杂交;4. 反向未差减杂交
M. DL2000 marker; 1. Secondary PCR product for forward-subtracted cDNA fragments; 2. Secondary PCR product for forward-unsubtracted cDNA fragments; 3. Secondary PCR product for reverse-subtracted cDNA fragments; 4. Secondary PCR product for reverse-unsubtracted cDNA fragments

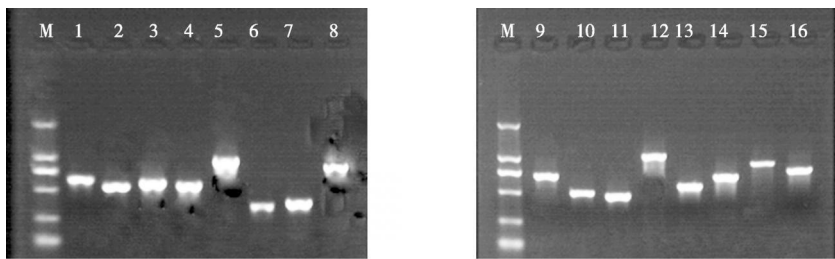
图 2 抑制差减杂交后的第 2 次 PCR 产物分析
Fig. 2 Electrophoresis of secondary PCR products after SSH

2. 3 差减 cDNA 文库的构建及阳性克隆的筛选
通过 T/A 克隆和蓝白斑筛选,构建了玉米低锌

诱导与正常供锌的正、反向差减文库。在正向文库中,随机挑选 760 个白色克隆进行 PCR 扩增,在反向文库中,随机挑选 510 个白色克隆进行 PCR 扩增,扩增条带即为插入的 cDNA 片段(图 3, 4)。每一泳道只有 1 条带,且集中于 0. 2~ 0. 7 kb,个别片段大于 1 kb,说明连接、转化效果较好。

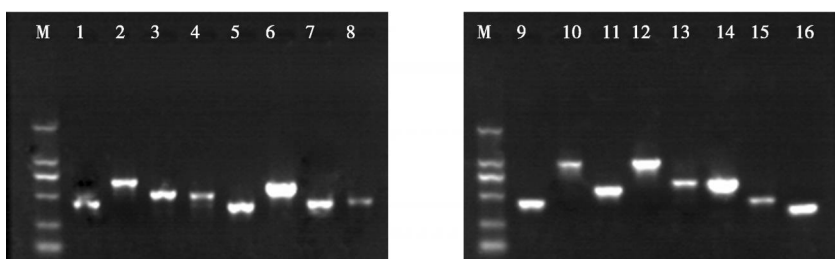
2. 4 阳性克隆的序列
在 2 个文库中,各随机挑选 30 个克隆进行测序。将 DNA 测序结果去除载体序列及冗余的 cDNA 后,共得到 42 个理论上的差异片段。应用 BLAST 软件在 Genebank 中进行核酸和蛋白质同源性的比较和功能分析,部分克隆及同源基因可能编码的蛋白质见表 1, 2。

应用抑制差减杂交分离低锌诱导的上调/下调表达基因,目的是为了分析玉米低锌受害的机理。为了进一步了解功能已知的 EST (Expressed sequence tags, 简称 EST) 所涉及的基因种类,按照 Bevan 等^[12]植物基因功能分类标准,将 ESTs 的 BLAST 比较结果进行归类。结果表明:低锌培养的玉米幼苗特异表达或表达增强的基因可能与信号转导、蛋白质的加工与贮藏、细胞组织发生、DNA 合成、基因转录等有关。而同正常供锌浓度培养相比较,低锌培养时不表达或表达减弱的基因可能与细胞组织发生及能量代谢等方面有关。



M. DL2000 marker; 1~ 16. 随机挑选的克隆
M. DL2000 marker; 1~ 16. Random picked clones of the forward-subtracted cDNA library

图 3 正向差减 cDNA 文库外源插入片段的检测
Fig. 3 PCR analysis of some randomly picked clones from the forward-subtracted library



M. DL2000 marker; 1~ 16. 随机挑选的克隆
M. DL2000 marker; 1~ 16. Random picked clones of the reverse-subtracted cDNA library

图 4 反向差减 cDNA 文库外源插入片段的检测
Fig. 4 PCR analysis of some randomly picked clones from the reverse-subtracted library

表 1 正向差减文库部分 cDNA 片段在 Genebank 中同源比对结果

Tab.1 Homologies of some forward-subtracted library cDNA fragments to sequences in the Genebank						
基因编号 Gene number	片段大小/ bp Fragment size	同源基因的物种 Species of homological genes	同源基因片段编码的蛋白 Proteins encoded by homological genes	同源基因的 Genebank 序列号 Genebank number of homological genes	同源性 (aa/ aa) Homology (aa/ aa)	E - value
EST1	554	<i>Oryza sativa</i>	Ribosomal protein, chloroplast like	(dbj) BAD81162. 1	72% (89/ 122)	3e- 23
EST2	488	<i>Oryza sativa</i>	AMP-binding enzyme family protein	(gb) ABC22526. 1	82% (134/ 162)	3e- 76
EST3	244	<i>Oryza sativa</i>	Unknown protein	(gb) AAV44064. 1	61% (47/ 77)	3e- 16
EST4	771	<i>Oryza sativa</i>	Copine I-like	(dbj) BAD87218. 1	86% (174/ 202)	7e- 93
EST5	688	<i>Oryza sativa</i>	Transducin family protein, putative	(gb) ABF98847. 1	85% (195/ 229)	6e- 108
EST6	456	<i>Oryza sativa</i>	Kelch repeat-containing F-box family protein, putative	(gb) ABF94218. 1	86% (129/ 150)	3e- 74
EST7	203	<i>Oryza sativa</i>	Putative cell division protein FtsH3	(dbj) BAD25580. 1	75% (47/ 62)	2e- 18
EST8	452	<i>Zea mays</i>	14-3-3-like protein	(gb) AAT06575. 1	89% (86/ 96)	4e- 44
EST9	521	<i>Oryza sativa</i>	Putative slicing factor	(gb) AA038832. 1	77% (111/ 144)	2e- 62
EST10	544	<i>Zea mays</i>	Ras-related protein, Rab-2 A	(sp) P49103	99% (179/ 180)	1e- 98
EST11	777	<i>Oryza sativa</i>	Unknown protein	(dbj) BAC79162. 1	74% (50/ 67)	6e- 20
EST12	678	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Nucleic acid binding	(ref) NP 173576. 3	48% (65/ 134)	1e- 24
EST13	387	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Zinc ion binding	(ref) NP 173115. 1	75% (98/ 129)	3e- 40
EST14	625	<i>Oryza sativa</i>	Lysine ketoglutarate reductase	(dbj) BAD87361. 1	82% (140/ 170)	2e- 84
EST15	497	<i>Oryza sativa</i>	Glutaredoxin- C4, chloroplast precursor	(sp) Q6K953	81% (84/ 103)	2e- 40
EST16	295	<i>Zea mays</i>	Aluminum-induced protein	(gb) AAB86493. 2	100% (31/ 31)	4e- 04
EST17	281	<i>Malicago truncatula</i>	Cyclin-like F-box	(gb) ABE94572. 1	56% (54/ 95)	7e- 25
EST18	320	<i>Oryza sativa</i>	Ribosomal protein-like	(dbj) BAD37986. 1	58% (30/ 51)	5e- 10
EST19	673	<i>Arabidopsis Thaliana</i>	Nucleotide binding	(ref) NP 196957. 1	82% (183/ 222)	2e- 105

表 2 反向差减文库部分 cDNA 片段在 Genebank 中同源比对结果

Tab.2 Homologies of some reverse-subtracted library cDNA fragments to sequences in the Genebank						
基因编号 Gene number	片段大小/ bp Fragment size	同源基因的物种 Species of homological genes	同源基因片段编码的蛋白 Proteins encoded by homological genes	同源基因的 Genebank 序列号 Genebank number of homological genes	同源性 (aa/ aa) Homology (aa/ aa)	E - value
EST31	471	<i>Oryza sativa</i>	Cellulose synthase-like protein	(gb) AAL25133. 1	91% (114/ 125)	2e- 64
EST32	570	<i>Oryza sativa</i>	Unknown protein	(dbj) BAD82642. 1	93% (176/ 189)	9e- 102
EST33	335	<i>Oryza sativa</i>	Putative isovaleryl- CoA dehydrogenase	(gb) AAT39231. 1	93% (120/ 128)	3e- 66
EST34	386	<i>Pisumsatium</i>	Auxin binding protein(ABP-44)	(emb) CAB55555. 1	86% (111/ 128)	2e- 60
EST35	403	<i>Zea mays</i>	NADP-dependent malic enzyme	(gb) AAK91502. 1	96% (129/ 133)	2e- 69
EST36	442	<i>Oryza sativa</i>	Alpha-L-arabinofuranosidase G-termminus family protein	(gb) ABA96372. 2	96% (142/ 147)	1e- 82
EST37	268	<i>Zea mays</i>	Ribosomal protein S4	(gb) AAS48726. 1	100% (69/ 69)	1e- 33
EST38	363	<i>Oryza sativa</i>	Putative tonneau 2	gb) AAU44034. 1	95% (60/ 63)	8e- 31
EST39	495	<i>Arabidopsis Thaliana</i>	Tonneau 2	(gb) AAG35778. 1	88% (56/ 63)	2e- 29
EST40	386	<i>Malicago Truncatula</i>	Acyl- CoA dehydrogenase	(gb) ABE89542. 1	89% (114/ 128)	1e- 62

3 讨论

SSH 技术应用于差异基因的分离, 有着独特的优势: 首先, 操作相对简便且效率高, 一次 SSH 反应可同时分离几十或上百个差异表达基因; 其次, 假阳性率低, 较之 DDRT-PCR 技术高达 70% 的假阳性率, SSH 技术阳性率高达 94%^[13]; 再次, 灵敏度高, SSH 过程中的均等化和富集目标片段的步骤保证了低丰度 mRNA 的检出。

本试验进行差减杂交的材料是低锌和正常供锌

处理 48 h 的玉米幼苗。我们在先前曾报道过, 一定浓度的低锌比完全缺锌对玉米的伤害更重^[14], 但是对于低锌危害的分子机理还了解甚少。本研究正是希望通过分离、分析低锌与正常供锌之间的差异表达基因, 对低锌危害所引发的植物体内分子调节机制进行探索。目前, 利用 SSH 技术分离低锌诱导表达的 cDNA 片段还不多见。考虑到植物逆境胁迫反应的复杂性和派生性, 选取 48 h 作为胁迫时间是希望能够得到低锌危害最原初的触发基因。

在随机测序得到的正向文库序列中, 通过软件

推测其功能可能与抗病防御、信号转导、细胞生长与分裂、蛋白质合成、能量代谢等相关。例如, 序列 EST8 属于抗病防御相关序列, 它与玉米的 14-3-3 相关蛋白在 96 个氨基酸的读码框中一致性达到 89%。有报道指出, 14-3-3 蛋白在植物中可能通过增强或削弱转录因子之间的蛋白-蛋白互作来实现胁迫和发育调控方面的作用^[15]。序列 EST4 属于细胞生长与分裂相关序列, 与水稻的 Copine I 类似物在 202 个氨基酸读码框内一致性达到 86%, Copine 蛋白可能与胞壁重建相关^[16]。序列 EST5 和 EST10 属于信号转导基因, EST5 与水稻转导素家族假定蛋白在 229 个氨基酸读码框内一致性达到 85%, EST10 与玉米 Ras 相关蛋白 Rab-2-A 在 180 个氨基酸读码框中一致性达到 99%。转导素(Transducin, Gt) 属于 G 蛋白家族, Ras 蛋白属于小 G 蛋白家族, 研究表明, 植物内 G 蛋白通过与质膜表面受体偶联, 在细胞跨膜信号传导中发挥着重要的作用, 调控许多细胞反应过程, 如植物对激素、干旱和病原物的反应等。另有研究表明, G 蛋白还有可能通过调控胞内肌动蛋白纤维的极理化聚集和重组参与植物的抗逆反应^[17]。由此证明, 玉米在低锌胁迫下, 与抗逆、信号转导、细胞生长相关基因等会被激发表达从而参与形成适应低锌环境的调节机制。

在随机测序得到的反向文库序列中, 推测其基因功能多与细胞组织发生和代谢有关。例如, 序列 EST31, 与水稻纤维素合成酶蛋白类似物 OsCs1F3 在 125 个氨基酸读码框中有 91% 的一致性。这种纤维素合成酶相似蛋白不含有植物的 β -1, 4 糖苷转移酶基因, 但属于第二糖苷转移酶家族, 同植物根毛的伸长及根毛区细胞壁的抗张强度有关, 此类蛋白质可能在根毛区细胞壁合成中发挥着重要作用, 其功能是催化某一类型细胞或组织中的细胞壁物质的合成^[18]。另外, EST38 序列与水稻的假定的 Tonneau2 在 63 个氨基酸读码框中有 95% 的一致性; EST39 序列同拟南芥的 tonneau2 在 63 个氨基酸读码框中有 88% 的一致性。tonneau2 基因编码的磷酸酯酶 2A 调节亚基对于控制植物皮层骨架起着重要的作用^[19]。序列 EST34, 与豌豆的生长素结合蛋白(ABP44) 在 128 个氨基酸读码框中有 86% 的一致性。许多研究表明, 已发现的生长素结合蛋白通过生长素调节过程中的信号转导途径, 参与生长素调节的植物生长发育过程: 其在细胞中的含量既关系到细胞的相对生长, 又直接影响细胞对生长素的敏感性^[20]。由此可见, 在低锌诱导时, 与细胞生长发

育相关的基因会受到抑制, 说明锌对维持植物体的生长发育有着关键作用, 一旦锌浓度不足, 会引发一系列生长过程受阻。

参考文献:

- [1] Sillanpää M. Micronutrients and the Nutrient Status of Soils: A global Study [M]//FAO, Soils Bulletin Rome: FAO, 1982.
- [2] 徐晓燕, 杨肖娥, 杨玉爱. 锌在植物中的形态及生理作用机理研究进展[J]. 广东微量元素科学, 1999, 6(11): 1-4.
- [3] 孙桂芳, 杨光穗. 土壤-植物系统中锌的研究进展[J]. 华南热带农业大学学报, 2002, 8(2): 22-30.
- [4] Gitan R S, Luo H, Rodgers J, *et al.* Zinc-induced inactivation of the yeast ZRT1 zinc transporter occurs through endocytosis and vacuolar degradation[J]. Biol Chem, 1998, 273: 28617-28624.
- [5] Gitan R S, Shababi M, Kramer M, *et al.* A cytosolic domain of the yeast Zrt1 zinc transporter is required for its post-translational inactivation in response to zinc and cadmium[J]. Biol Chem, 2003, 278: 39558-39564.
- [6] Singh S P, Wetemmann D T. A single dominant gene controlling resistance to soil zinc deficiency in common bean[J]. Crop Sci, 2002, 31: 23-29.
- [7] Forster S M, Moraghan J T, Grafton K F. Inheritance of seed Zn accumulation in navy bean[J]. Annu Rpt Bean Improv Coop, 2002, 45: 30-31.
- [8] Diachenko L, Lau Y F, Campbell A P, *et al.* Suppression subtractive hybridization: A method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries[J]. Proc Natl Acad Sci, 1996, 93: 6025-6030.
- [9] Chen X, Yuan H, Chen R, *et al.* Isolation and characterization of triacontanol-regulated genes in rice (*Oryza Sativa* L.): possible role of triacontanol as a plant growth stimulator[J]. Plant Cell Physiol, 2002, 43(8): 869-876.
- [10] 骆蒙, 孔秀英, 刘越, 等. 小麦抗病基因表达谱中的文库构建与筛选方法研究[J]. 遗传学报, 2002, 29(9): 814-819.
- [11] 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2001.
- [12] Bevan M, Bancroft I, Bent E, *et al.* Analysis of 1.9 Mb of contiguous sequence from chromosome 4 of *Arabidopsis thaliana*[J]. Nature, 1998, 391: 485-488.
- [13] Von Tein O D, Thies W G, Hofman M A. A high throughput screening for rarely transcribed differentially expressed genes[J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(13): 2598-2602.
- [14] 王景安, 张福锁. 一定的低锌比缺锌对玉米危害更大[J]. 自然科学进展, 2002, 12(2): 205-207.
- [15] 金谷雷, 汪旭升, 朱军. 水稻 14-3-3 蛋白家族的生物信息学分析[J]. 遗传学报, 2005, 32(7): 726-732.
- [16] 王晓文, 范文红, 范明. Copines 蛋白家族的研究进展[J]. 国外医学生理、病理科学与临床分册, 2005, 25(2): 153-155.
- [17] 宋水山, 杨文香, 李亚宁, 等. 植物 G 蛋白与植物防卫反应[J]. 中国生物工程杂志, 2006, 26(3): 73-77.
- [18] 李春秀, 齐力旺, 王建华, 等. 植物纤维素合成酶基因和纤维素的生物合成[J]. 生物技术通报, 2005, 4: 5-11.
- [19] 王立德, 廖红, 王秀荣, 等. 植物根毛的发生、发育及养分吸收[J]. 植物学通报, 2004, 21(6): 649-659.
- [20] 吴顺, 萧浪涛, 鲁旭东. 植物的生长素结合蛋白[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(2): 241-245.