

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2015.03.03

葡萄 *BRX* 基因家族生物信息学分析

李文芳,陈佰鸿*,毛娟,马宗桓,杨世茂

(甘肃农业大学园艺学院,兰州 730070)

摘要: *BRX* 基因家族是一类植物特有的转录因子家族,在拟南芥中参与调节根细胞的增殖与伸长。利用生物信息学方法对葡萄基因组中存在的 *BRX* 基因家族进行了电子克隆,并对其进行了基因组的定位、蛋白质的结构、理化性质、二级结构及亚细胞定位的预测与分析,并对其与其它植物进化的亲缘关系进行了研究。基因组定位结果发现:葡萄基因组中 6 个 *BRX* 基因集中分布在 3 条染色体上,其中 *VvBRX1* 和 *VvBRX2* 分布在第 2 条染色体上,*VvBRX3* 和 *VvBRX4* 分布在第 9 条染色体上,*VvBRX5* 和 *VvBRX6* 分布在第 11 条染色体上;编码蛋白的氨基酸数目为 360~560 个,*VvBRX5* 的相对分子量(61 884.4)和理论等电点(9.38)均最大,而 *VvBRX1* 的相对分子量(40 239.1)和理论等电点(6.23)均最小。研究显示,不同成员间氨基酸数目、氨基酸序列间存在一定的差异,但都为疏水性蛋白; α -螺旋和无规则卷曲为 6 个 *BRX* 氨基酸序列的主要组成部分;均不存在跨膜域及信号肽。基因结构分析表明,6 个 *BRX* 基因都含有外显子和内含子结构。亚细胞定位分析表明,6 个 *VvBRX* 基因均定位于细胞核。系统进化分析结果表明,*VvBRX1*、*VvBRX2* 基因与胡杨的亲缘关系最近,相似性达 96%;*VvBRX3*、*VvBRX4* 与蓖麻、麻疯树、柑橘、可可、大豆聚为一类,说明其进化关系较近;*VvBRX5* 与其它 *VvBRX* 基因明显分开;*VvBRX6* 基因与莲的亲缘关系最近。试验结果为葡萄 *BRX* 基因家族的克隆和功能分析奠定了一定的研究基础。

关键词: 葡萄; *BRX* 基因家族; 生物信息学分析

中图分类号: S663.1; Q343.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-5565(2015)03-158-07

Bioinformatics analysis of the *BRX* gene family in grape

LI Wenfang, CHEN Baihong*, MAO Juan, MA Zonghuan, YANG Shimao

(College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: *BRX* gene family is a class of transcriptional factors that present only in plant, and it plays an important role in the regulation of cell proliferation and root elongation in Arabidopsis. With the approaches of bioinformatics, *BRX* gene family present in the grape genome was performed in silico cloning, genome localization, protein structure, physical and chemical characteristics, secondary structure as well as subcellular localization prediction and analysis. Moreover, the evolutionary relationships of *BRX* gene family derived from other plants were predicted. Genome mapping results showed that: 6 *BRX* genes in grape genome were located on 3 chromosomes, *VvBRX1* and *VvBRX2* in chromosome 2, *VvBRX4* and *VvBRX3* in chromosome 9, *VvBRX6* and *VvBRX5* in chromosome 11. The encoded proteins contain 360-560 amino acids, the relative molecular weight (61 884.4) and the pI value (9.38) of *VvBRX5* were the maximum, while the relative molecular weight (40 239.1) and the pI value (6.23) of *VvBRX1* were the minimum. The study suggested that there were some differences between the amino acid sequences of different members, while they all were hydrophobic proteins. The 6 *BRX* amino acid sequences mainly contain alpha helix and random coil and did not have transmembrane domains and signal peptide. Gene structure analysis showed that the 6 *BRX* genes contained exons and introns structure. Subcellular localization analysis showed that six *VvBRX* genes are located in nucleus. Phylogenetic analysis showed that *VvBRX1* and *VvBRX2* had the closest relationship with *populus euphratica*, the homology was 96%. *VvBRX3* and *VvBRX4* were clustered a class

收稿日期:2015-03-15;修回日期:2015-06-05.

基金项目:甘肃省农牧厅农业科技创新项目(GNCX-2013-38);甘肃省自然科学基金(1308RJYA062);国家自然科学基金(31460500)。

作者简介:李文芳,女,本科生,研究方向:果树生理与生物技术;E-mail:1304784689@qq.com.

*通信作者:陈佰鸿,男,教授,研究方向:果树生理与生物技术;E-mail:bhch@gsau.edu.cn.

with *Ricinus communis*, *Jatropha curcas*, *Citrus sinensis*, *Theobroma cacao* and *Glycine max*, indicating that the evolutionary relationships were very closer. *VvBRX5* was significantly separated from other *VvBRX* genes. *VvBRX6* had the closest relationship with *Nelumbo nucifera*. These experimental results provide a significant foundation for further research on function analysis of the *BRX* gene family in grape genome.

Keywords: Grapevine; *BRX* gene family; Bioinformatics analysis

转录因子(Transcription factor, TF)又称反式作用因子(Trans-acting factor),是一组能够与顺式作用元件(启动子、增强子、调控序列和可诱导元件等)发生特异性结合,通过它们之间以及其它相关蛋白之间的相互作用,参与调节靶基因转录,并使之以特定的强度在特定的时间和空间表达的结合蛋白^[1]。该蛋白的作用与细胞分化、多细胞生物的形态发育、器官的建成以及对外界刺激的反应密切相关。所有转录因子结构均含有两个结构域——一个是DNA结合域(DNA binding domain),用于识别和结合顺式作用元件的目标位点,另一个是转录激活域(Activating domain),用来组织其它参与激活转录的附加蛋白^[2]。

BRX (*Brevis Radix*) 基因家族属于一类新的植物特有的转录因子家族。刘佳(2008)对水稻 *BRX* 基因家族的研究发现,这个家族的基因不仅仅参与调控多个激素途径和根的发育,同时也很有可能是一类新的与植物非生物胁迫相关的转录因子。拟南芥中 *BRX* 是由自然变异形成的终止突变产生的新基因家族,主要通过控制油菜素内酯和生长素途径来调节根细胞的增殖与伸长^[3]。拟南芥中包含 5 个 *BRX* 基因家族的同源基因,它们的蛋白序列均含有两个非常保守的 *BRX* 结构域,单个的 *BRX* 结构域是一个蛋白质相互作用的结构域,同时它也能在 PRAF (PH, RCC1 and FYVE) 家族找到。该 *BRX* 结构域行使着介导 *BRX* 和 PRAF 蛋白质家族在酵母(酿酒酵母)中的同型和异型相互作用的生物学功能,但是只有当两个 *BRX* 结构域同时存在时 *BRX* 功能才能正常运作^[4]。拟南芥 *BRX* 家族的 5 个基因的同源性虽然非常高,但是,他们并没有冗余的生物学功能^[4]。前人研究揭示,*BRX* 基因的功能与细胞分裂素(Cytokinin, CTK)具有紧密的联系,*BRX* 基因突变会导致主根的缩短,降低 CTK 对侧根抑制的敏感性^[5]。*BRX* 基因缺陷会导致油菜素内酯水平的下降,对主根的生长有很大影响,并且会间接影响到 CTK 条件下中柱鞘细胞对生长素的积累和响应,从而表现出侧根受抑不敏感的现象^[6]。此外,有研究发现,中柱鞘细胞在侧根起始的第一次不均等分裂前就具有了局部生长素的积累和响应^[5]。

葡萄(*Vitis vinifera* L.) 归于葡萄科葡萄属,是起

源最古老且是世界性重要果树之一,同时,也是继拟南芥、水稻和杨树后完成全基因测序的第 4 种开花植物,其基因组大小约为拟南芥基因组的 3 到 4 倍(约为 500 Mbp)^[7],具有较高的营养、食疗和经济价值,因此葡萄分子生物学的进一步研究将逐渐成为学术界研究的重点代表对象之一^[8]。本研究拟采用生物信息学工具与分析方法,对 NCBI 数据库中已注册的,来自蓖麻、大豆、葡萄、高粱、黄瓜、拟南芥、杨树的 *BRX* 家族中各基因编码的氨基酸序列进行基因组信息的挖掘与分析,进一步推测该基因家族的分子生物学功能,对于植物的遗传改良及非生物逆境胁迫方面具有深远的意义。

1 材料和方法

1.1 葡萄 *BRX* 基因家族成员的检索

在 NCBI (National center for biotechnology information) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 中通过 blastp 在线检索葡萄无冗余蛋白质数据库,再利用 Translate tool (<http://web.expasy.org/translate/>) 和 ScanProsite tool (<http://prosite.expasy.org/scanprosite/>) 进行基因序列的翻译和预测候选蛋白的 *BRX* 结构域,若该蛋白上同时存在两个 *BRX* 结构域,则认为该候选蛋白属于 *BRX* 蛋白家族,若未能检测出同时存在的两个 *BRX* 结构域或只有一个 *BRX* 结构域,则认为其不属于该家族。在此基础上通过 BLAST Server (http://www.genoscope.cns.fr/cgi-bin/blast_server/projet_ML/blast-result.pl?ref=dc34a3dd6f19ccaa693ad3f1b935f228) 寻找其对应的 cDNA 登录号和 DNA 序列,并将其定位于染色体上^[9]。

1.2 葡萄 *BRX* 基因家族结构分析

根据检索得到的 cDNA 和 DNA 序列,利用 GSDS 2.0 (Gene Structure Display Server) (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 在线预测葡萄 *BRX* 蛋白的内含子和外显子的组成^[10]。

1.3 葡萄 *BRX* 基因家族的理化性质分析

使用 ProtParam^[11] (<http://expasy.org/tools/protparam.html>) 在线预测该蛋白家族的氨基酸理化性质(包括氨基酸数目、分子量、理论等电点、脂溶指数

和不稳定指数);蛋白二级结构预测利用 HNN SECONDARY STRUCTURE PREDICTION METHOD^[12]程序 (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_hnn.html)完成;TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)进行蛋白质跨膜域分析;SignalP 4.1 server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)完成信号肽的分析^[13];WoLF PSORT (http://www.genscript.com/psort/wolf_psort.html)进行亚细胞定位分析^[14]。

1.4 葡萄 BRX 基因家族系统进化树构建

把 *VvBRX1*、*VvBRX2*、*VvBRX3*、*VvBRX4*、*VvBRX5*、*VvBRX6* 基因的 CDS 区以 FASTA 格式分别提交 NCBI 在线比对,选择与其同源性较高的物种:川桑 (*Morus notabilis*):*XM_010112136.1*、胡杨 (*Populus euphratica*):*XM_011029755.1*、桃 (*Prunus persica*):*XM_007210759.1*、蓖麻 (*Ricinus communis*):*XM_002521302.1*、柑橘 (*Citrus sinensis*):*KK784904.1*、可可 (*Theobroma cacao*):*XM_007024521.1*、白梨 (*Bretschneideri*):*XM_009374097.1*、莲 (*Nelumbo nucifera*):*XM_010263665.1*、麻疯树 (*Jatropha curcas*):*XM_012213513.1*、大豆 (*Glycine max*):*XM_003528399.2*,然后利用 MEGA5.0 和 Clustalx 软件构建系统发生树^[15]。

2 结果与分析

2.1 葡萄 BRX 挖掘和基因定位及蛋白理化性质分析

经葡萄基因 Blast-search (http://www.genoscope.cns.fr/cgi-bin/blast_server/projetML/blast.pl)对比检索,共得到 6 个候选的葡萄 BRX 氨基酸序列(见表 1)。同时在 GenBank 中搜索相应的 cDNA 登录号和 DNA 序列^[16],并进行染色体定位,结果表明 6 个葡萄 BRX 基因分布在 3 条(第 2、9、11 条)染色体上,分布的数量都为 2 个(见表 1)。

葡萄 BRX 蛋白家族的氨基酸数目分析结果显示:它们的长度在 360~560 个氨基酸之间,其中 *VvBRX5* 所含氨基酸数目最多(560 个),而 *VvBRX1* 最少(360 个);蛋白质的相对分子质量分析结果发现:*VvBRX5* 的相对分子质量最大(61 884.4),而 *VvBRX1* 最小(40 239.1);等电点的分析显示:*VvBRX1* 预测的等电点最低(6.23),而 *VvBRX5* 最高(9.38);脂溶指数(Aliphatic index)分析结果表明:6 个葡萄 BRX 翻译蛋白的脂溶指数均小于 100,说明它们都为疏水性蛋白,不稳定指数(Instability index)分析表明:6 个蛋白质的稳定指数在 45.52~57.66,归为稳定蛋白(见表 1)。

表 1 葡萄 BRX 挖掘和基因定位及蛋白理化性质分析

Table 1 Grape BRX mining and gene mapping and analysis of protein physicochemical properties

基因名称	蛋白质编号	蛋白质					基因组位置
		Length(aa)	MW	PI	Instability index	Aliphatic index	
<i>VvBRX1</i>	XM_002267443.1	360	40 239.1	6.23	45.52	46.61	chr2;14820631..14824363
<i>VvBRX2</i>	AM464123.2	424	48 133.1	8.21	46.34	51.98	chr2;14818988..14824363
<i>VvBRX3</i>	XM_002276132.1	371	41 704.2	6.78	56.39	57.90	chr9;1323356..1317725
<i>VvBRX4</i>	AM439221.2	363	40 771.1	6.78	54.34	58.10	chr9;1323356..1317725
<i>VvBRX5</i>	AM428373.1	560	61 884.4	9.38	54.98	56.12	chr11;1167242..1159008
<i>VvBRX6</i>	XM_002280057.2	371	41 967.5	8.27	57.66	56.04	chr11;1163176..1159231

注:蛋白质编号来自于 NCBI(Natuonal Center for Biotechnology Information)数据。

Notes:The number of protein from NCBI (Natuonal Center for Biotechnology Information) data.

2.2 BRX 基因家族的基因结构

葡萄 BRX 基因的结构分析表明,6 个 BRX 基因均有内含子和外显子,在第 2 条染色体上的 *VvBRX1* 和 *VvBRX2* 基因均有 6 个外显子和 5 个内含子;同在葡萄第 9 条染色体上的 *VvBRX3* 和 *VvBRX4* 中有 5 个外显子,分别被 4 个内含子分开;同在第 11 条染

色体上的 *VvBRX5* 和 *VvBRX6* 基因中均有 4 个外显子和 3 个内含子。且 *VvBRX1* 和 *VvBRX2*、*VvBRX3* 和 *VvBRX4*、*VvBRX5* 和 *VvBRX6* 基因有着非常一致的结构,相同位置的外显子和内含子的大小都相差无几,说明这些基因具有高度保守的结构域。(见图 1)。

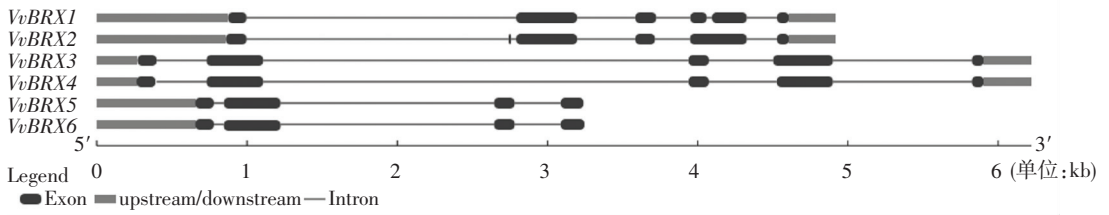


图1 *BRX* 基因外显子/内含子组成分析

Fig.1 Composition analysis of *BRX* gene exon / intron

2.3 葡萄 *BRX* 基因家族蛋白质结构预测分析及亚细胞定位

跨膜域的预测结果显示,葡萄6个 *BRX* 基因均不存在跨膜域,且无信号肽,因而可以推测为膜内蛋白。亚细胞定位分析显示:葡萄6个 *BRX* 基因均定位于细胞核(见表2)。

表2 葡萄 *BRX* 基因蛋白的亚细胞定位

Table 2 Subcellular localization of grape *BRX* gene protein

基因名称	肯定度			
	细胞核	叶绿体	细胞质	线粒体
<i>VvBRX1</i>	12	1	-	-
<i>VvBRX2</i>	12	1	-	-
<i>VvBRX3</i>	10	1	1	1
<i>VvBRX4</i>	10	1	1	-
<i>VvBRX5</i>	9.5	4	5.5	-
<i>VvBRX6</i>	9.5	4	5.5	-

2.4 *BRX* 基因家族蛋白质二级结构对比分析

葡萄6个 *BRX* 蛋白的二级结构主要由 α -螺旋、无规则卷曲和扩展链结构3种形式构成,其中,无规则卷曲> α -螺旋>扩展链结构(见表3)。

2.5 葡萄 *BRX* 基因家族氨基酸序列的同源性比较

葡萄 *BRX* 氨基酸序列的同源性比较结果发现(见图2),所有 *BRX* 氨基酸序列的同源性是60.35%,说明 *BRX* 基因家族的氨基酸序列同源性较高。所有 *BRX* 氨基酸序列两两比对发现,*VvBRX3* 与 *VvBRX4* 的氨基酸序列同源性最高,高达97.84%。*VvBRX1* 与 *VvBRX5* 的氨基酸序列同源性最低,低至49.91%。同在葡萄第2条染色体上的 *VvBRX1* 与 *VvBRX2* 的氨基酸序列同源性是81.22%,同在葡萄第9条染色体上的 *VvBRX3* 与 *VvBRX4* 的氨基酸序列同源性是97.84%,同在葡萄第11条染色体上的 *VvBRX5* 与 *VvBRX6* 的氨基酸序列同源性是64.64%。

表3 *BRX* 基因蛋白二级结构对比分析

Table 3 Comparative analysis of *BRX* gene protein secondary structure

基因名称	二级结构 Secondary structure		
	α -螺旋	无规则卷曲	扩展链结构
<i>VvBRX1</i>	94	224	42
<i>VvBRX2</i>	93	271	60
<i>VvBRX3</i>	125	213	33
<i>VvBRX4</i>	123	207	33
<i>VvBRX5</i>	144	341	75
<i>VvBRX6</i>	108	217	46

2.6 *BRX* 基因保守结构域的对比分析

保守结构域是蛋白质中能够折叠成特定三维结构的、在生物进化或者一个蛋白家族中具有不变或相同的一段局部保守区域,其结构亚单位称为模体(Motif),又称基序,组成这些模体(或基序)的氨基酸区段行使着特异的生物学功能,且不能被改变,并蕴含各自的遗传进化信息,通常决定一个基因家族^[17]。葡萄6个 *BRX* 基因的中间段和末尾段都含有非常保守的两个长56 aa的 *BRX* 结构域(见图3),从而构成了一个植物特异性转录因子大家族。这两个高度保守区应该是 *BRX* 基因主要功能的信息区,也是不同物种以及同一物种基因家族的同源性所在。

2.7 葡萄 *BRX* 基因的系统发生分析

系统发育树分析表明,葡萄的6个 *BRX* 基因可以明显分为两组,第11条染色体上的 *VvBRX5* 明显分开,说明其可能有其它功能;第9条染色体上的 *VvBRX3*、*VvBRX4* 与蓖麻、麻疯树、柑橘、可可、大豆聚为一类,说明其进化关系较近;第11条染色体上的 *VvBRX6* 基因与莲聚为一类;第2条染色体上的 *VvBRX1*、*VvBRX2* 基因与胡杨、川桑、桃聚为一类,其中与胡杨的亲缘关系最近,相似性达96%(见图4)。

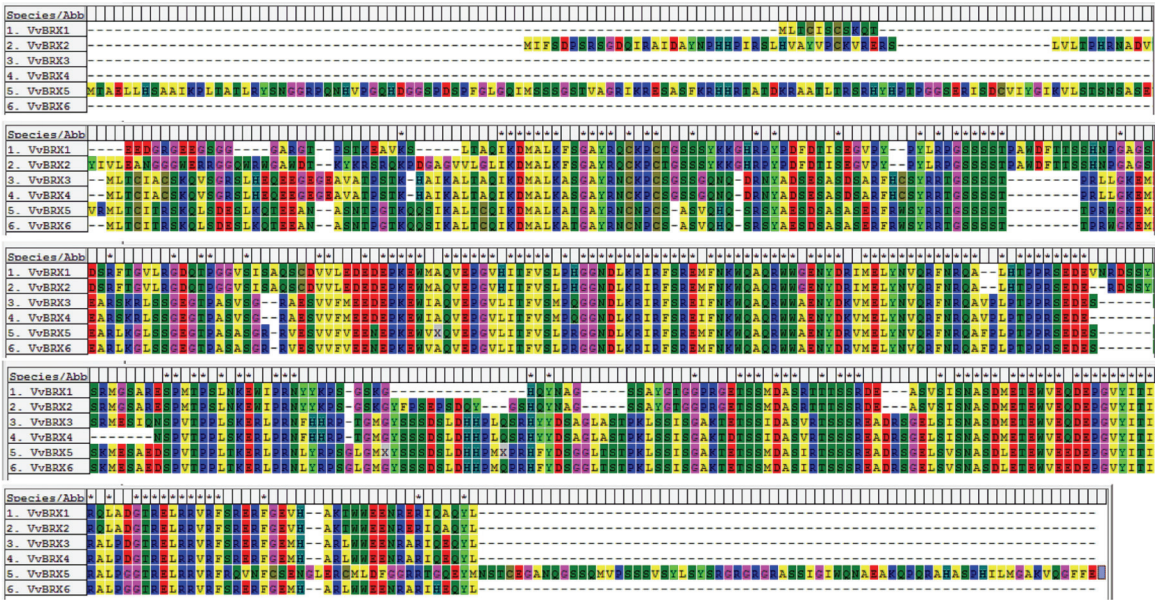


图2 葡萄 BRX 基因家族氨基酸序列的同源性比较

Fig.2 Homology comparison to the amino acid sequence of grapes BRX family genes



图3 利用 Scan Prosite 对 VvBRX 进行保守域搜索的结果

Fig.3 Scan Prosite use for VvBRX conservative domain search results

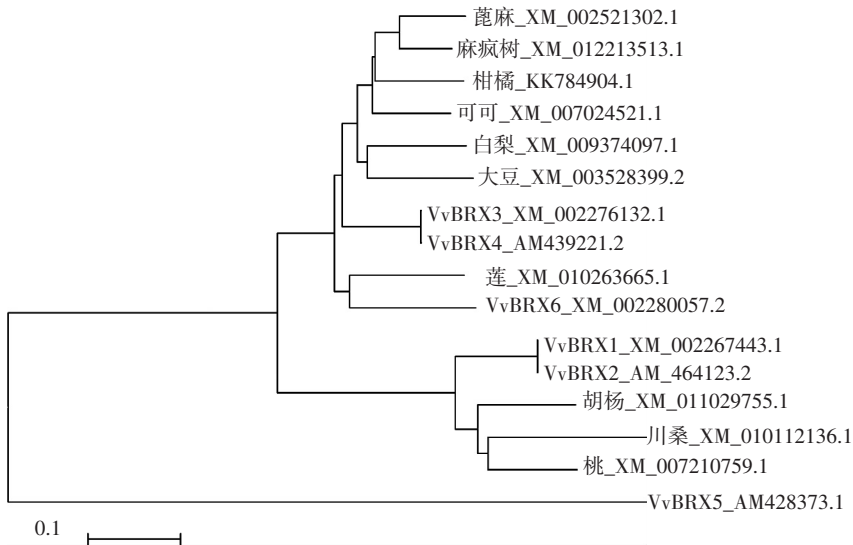


图4 植物来源的 BRX 基因序列系统发生树

Fig.4 Phylogenetic tree based on the BRX gene sequence from plant

3 结论与讨论

植物转录因子的研究是功能基因组研究的热点中的重点,也是生物科学的前沿领域之一。近年

来,相继从高等植物中分离出一系列调控非生物逆境胁迫(干旱、低温及高盐)、激素、病原等因子应答反应及与生长发育、代谢相关的转录因子基因,这些转录因子可以减少这些非生物逆境对植物造成的伤害,提高植物对多种逆境的适应和抗逆能力^[18]。因

此,对相关基因的研究不仅可以阐明植物对环境胁迫信号的应答机制,还能为作物抗逆性分子育种提供基因资源和一定的理论基础,并有望进一步通过基因克隆技术来获得抗逆性强的转基因材料^[19]。

葡萄是世界四大水果之一,它的根系在抗非生物逆境胁迫和提高产量等方面起着非常重要的作用。对葡萄中BRX基因家族进行多方面的分析鉴定,发现葡萄的BRX基因家族在根生长发育中起着非常重要的作用^[20],可能在葡萄的生长发育和抗逆中起着一定的调控作用。基因是染色体上具有控制生物性状的DNA片段^[21]。6个蛋白都为疏水性蛋白,且6个基因之间有很高的相似性,都含有外显子和内含子,功能域分析发现每条基因所翻译的蛋白结构中都有两个BRX结构域,说明它们都能够表达,这与刘佳(2008)对水稻BRX基因家族的研究结果一致。

总的来说,转录因子的数量庞大,种类繁多,一个转录因子可参与调控多个基因的转录和表达,而一个基因的转录和表达又可受多个转录因子的组合调控,从而形成复杂的调控网络。对生根相关BRX基因家族的研究任重而道远,相信随着实验技术和生物信息学的不断发展,以及对植物生根转录表达谱及相关BRX候选基因的深入了解,葡萄BRX基因家族与根生长的分子调控网络将会越来越清晰。此外,BRX基因家族除了与CTK作用于植物根系的生长外,对这个基因家族在应答非生物胁迫研究领域的生理与分子机制的进一步研究有助于我们更好地全面认识并完善植物逆境调控下的遗传网络系统。

参考文献

- [1] AALTO M K, HELENIUS E, KARIOLA T., et al. ERD15-An attenuator of plant ABA responses and stomatal aperture[J]. *Plant Science*, 2012, 182: 19-28.
- [2] 张艳馥,沙伟. 转录因子概述[J]. *生物学教学*, 2009, 34(10): 7-8.
ZHANG Yanfu, SHA Wei. Overview of transcription factors[J]. *Biology Teaching*, 2009, 34(10): 7-8.
- [3] 刘佳. 水稻BRX家族的鉴定及OsBRX4基因功能初探[D]. 武汉:华中农业大学, 2008.
LIU Jia. Identification of Rice BRX Family and Preliminary Function Analysis of Gene OsBRX4[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008.
- [4] LIU J, LIANG D C, SONG Y L, et al. Systematic identification and expression analysis of BREVIS RADIX-like homologous genes in rice[J]. *Plant Science*, 2010, 178(2): 183-191.
- [5] 李静. 拟南芥BRX基因在细胞分裂素介导的侧根发生抑制中作用的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2008.
LI Jing. Functional Analysis of AtBRX in Regulation of Cytokinin-mediated Inhibition of Lateral Root Initiation[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
- [6] LI X, MO X, SHOU H, et al. Cytokinin-mediated cell cycling arrest of pericycle founder cells in lateral root initiation of arabidopsis[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2006, 47: 1112-1123.
- [7] JAILLON O, AURY J M, NOEL B, et al. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla[J]. *Nature*, 2007, 449: 463-467.
- [8] 丛郁,杨顺瑛,宋志忠,等. 葡萄AMT基因家族生物信息学分析[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(25): 193-199.
CONG Yu, YANG Shunying, SONG Zhizhong, et al. Bioinformatics analysis of AMT protein family in grape[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(25): 193-199.
- [9] DENG W, NICKLE D C, LEARN G H, et al. ViroBLAST: a stand-alone BLAST web server for flexible queries of multiple databases and user's datasets[J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(17): 2334-2336.
- [10] HU B, JIN J P, GUO A Y, et al. GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server[J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(8): 1296-1297.
- [11] BICKMORE W A, SUTHERLAND H G E. Addressing protein localization within the nucleus[J]. *The EMBO Journal*, 2002, 21(6): 1248-1254.
- [12] MANN S, LI J, CHEN Y P P. A pHMM-ANN based discriminative approach to promoter identification in prokaryote genomic contexts[J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(2): e12-e12.
- [13] 颜培玲,潘学军,张文娥. 野生毛葡萄水通道蛋白基因VhPIP1的克隆及其在干旱胁迫下的表达分析[J]. *园艺学报*, 2015, 42(2): 221-232.
YAN Peiling, PAN Xuejun, ZHANG Wen'e. Cloning of aquaporin gene VhPIP1 in vitis heyneana and its expression under drought stress[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(2): 221-232.
- [14] 王明乐,王伟东,赵真,等. 茶树NADPH氧化酶基因的克隆、亚细胞定位与表达分析[J]. *园艺学报*, 2015, 42(1): 95-103.
WANG Mingle, WANG Weidong, ZHAO Zhen, et al. Molecular cloning, subcellular localization and expression analysis of NADPH oxidase gene from tea plant[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(1): 95-103.
- [15] WANG M, VANNOZZI A, WANG G T, et al. Genome and transcriptome analysis of the grapevine (*Vitis vinifera* L.) WRKY gene family [J]. *Citation: Horticulture Research*, 2014, 1: 1-16.

- [16] AOKI Y, TAKAHASHI S, TAKAYAMA D, et al. Identification of laticifer-specific genes and their promoter regions from a natural rubber producing plant *hevea brasiliensis*[J]. *Plant Science*, 2014, 225: 1–8.
- [17] CHEN J Q, YIN H, GU J P, et al. Genomic characterization, phylogenetic comparison and differential expression of the cyclic nucleotide-gated channels gene family in pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.)[J]. *Genomics*, 2015, 105(1):39–52.
- [18] LIU C F, ZOU J, CHEN X B. Advances in DREB transcription factors and plant abiotic stress tolerance[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2010, 10: 006.
- [19] ZHAO Y X, LIU P, XU Z S, et al. Analysis of specific binding and subcellular localization of wheat ERF transcription factor W17[J]. *Agricultural Sciences in China*, 2008, 7(6): 647–655.
- [20] SCACCHI E, SALINAS P, GUJAS B, et al. Spatio-temporal sequence of cross-regulatory events in root meristem growth [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(52): 22734–22739.
- [21] LÓPEZ-KLEINE L, PINZÓN A, CHAVES D, et al. Chromosome 10 in the tomato plant carries clusters of genes responsible for field resistance/defence to *phytophthora infestans*[J]. *Genomics*, 2013, 101(4): 249–255.