DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.01984

拟南芥 *AT2G14260* 基因功能及其表达特异性

王飞飞 李 勇 王学东 朱延明 才 华 纪 巍 柏 锡*

东北农业大学植物生物工程研究室, 黑龙江哈尔滨 150030

摘 要: 拟南芥 *AT2G14260* 基因编码脯氨酸亚氨基酸酶, 基因芯片表达谱数据显示该基因响应高盐、低温等非生物胁迫。为研究其功能和表达特性, 本研究采用野生型和突变体植株 *pip-1* 进行低温、干旱和盐胁迫处理, 结果显示在正常培养基中野生型与 *pip-1* 植株表型没有区别。而在逆境处理下 *pip-1* 植株的根比野生型明显短, 且在干旱胁迫下, 突变体的叶子比野生型植株明显变黄萎焉。在正常环境、冷、干旱、盐胁迫下, 野生型植株脯氨酸含量的平均值分别是突变体的 1.11、1.23、1.10 和 1.34 倍, 这说明 *AT2G14260* 基因对提高非生物胁迫的耐性具有一定的作用。同时分离了该基因的启动子, 构建了表达 *GUS* 基因的载体并转化拟南芥, 该启动子在正常环境中不表达。胁迫处理时从两叶期开始在根、叶、茎中表达, 到达花期后, 干旱处理下的花瓣、花枝和冷处理下的花柱头中也有表达。*GUS* 相对活性试验也证明对胁迫的响应能力。可见 *AT2G14260* 基因启动子是逆境胁迫诱导表达启动子, 同时具有组织表达特异性, 因此, *AT2G14260* 基因及其启动子在转基因工程育种中具有潜在的应用价值。

关键词: *AT2G14260*; 逆境胁迫诱导表达启动子; 组织特异性表达

Function and Expression Specificity of *Arabidopsis thaliana* Gene *AT2G14260*

WANG Fei-Fei, LI Yong, WANG Xue-Dong, ZHU Yan-Ming, CAI Hua, JI Wei, and BAI Xi*

Plant Bioengineering Laboratory, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

Abstract: The *AT2G14260* gene encodes proline iminopeptidase in *Arabidopsis thaliana*. Genechip expression profile indicate *AT2G14260* responses to abiotic stress, such as high salt or cold. To analyze the function and expression specificity, we compared the wild type with mutants *pip-1* under cold, drought and salt stresses. Under normal conditions, mutant plants showed similar growth performance with wild type plants. However, after stress treatments, mutant plants exhibited much shorter roots compared with wild type plants. In addition, the leaves of mutant plants were notably more yellow than wild-type leaves under drought stress. The average relative proline contents in wild type plants were 1.11, 1.23, 1.10, and 1.34 times of those in mutants. All these results showed that *AT2G14260* gene plays an important role in plant tolerance to abiotic stress. Meanwhile, we isolated the gene promoter and constructed plant vector in which the *GUS* gene was expressed by *AT2G14260* promoter, and then transformed into *Arabidopsis thaliana*. The results of the *GUS* staining revealed that the *GUS* gene did not express under normal conditions. After treatments, *GUS* gene expressed in the roots, stems and leaves of the transgenic seedlings at the two-leaf stage and the blooming stage, especially in the petals and flowers under drought stress or in the stigma under cold stress. Results of *GUS* relative activity measurement suggested this gene had the response ability to stress. Taken together, the promoter of *AT2G14260* is stress inducible and tissue specific. Thus, *AT2G14260* gene and its promoter have application potentials in genetic engineering.

Keywords: *AT2G14260*; Stress-inducible promoter; Tissue-specific expression

环境胁迫如冷、干旱和盐对作物产量有很大的影响, 其中由干旱和盐引起的渗透胁迫对植物的生长和产量影响最大。但植物通过长期的进化已形成

多种细胞机制来消除和减缓逆境胁迫, 其中可溶性物质脯氨酸的积累就是这种现象之一^[1-3]。拟南芥 *AT2G14260* 基因(Pip, proline iminopeptidase, 脯氨酸

本研究由国家自然科学基金项目(30940005), 黑龙江省教育厅科技项目(11521024)和东北农业大学博士启动基金项目(190106)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 柏锡, E-mail: baixi@neau.edu.cn, Tel: 0451-55190734

第一作者联系方式: E-mail: wangff08@gmail.com

Received(收稿日期): 2011-02-14; Accepted(接受日期): 2011-05-25; Published online(网络出版日期): 2011-07-28.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20110728.1003.017.html>

亚氨基肽酶)属于 N 端肽酶, 能特异性地从肽链 N 端分解出脯氨酸^[4-5]。因此推测 *AT2G14260* 基因可能影响植物对非生物胁迫的抗性。

本研究首先通过观察室温、冷、干旱和盐条件下 *AT2G14260* 基因突变体和野生型植株的表型, 确定 *AT2G14260* 基因对植株耐性的影响, 为了进一步研究 *AT2G14260* 基因表达与胁迫的关系, 我们构建了融合 *GUS* 基因的植物表达载体, 采用农杆菌介导法转化拟南芥, 通过对转基因拟南芥进行不同发育阶段的冷、干旱、盐胁迫下的 *GUS* 染色, 研究了该基因的表达特性与胁迫的关系, 并明确其诱导表达特异性和组织表达特异性, 从而为 *AT2G14260* 基因的功能分析奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料及菌种

采用的拟南芥为哥伦比亚生态型; pGEM-T 载体购自 Promega 公司; pCambia3301 载体由本实验室保存。突变体株系 *pip-1* (Salk_015443) 购自 NASC (European Arabidopsis Stock Centre) (<http://arabidopsis.info/>)。

1.2 T-DNA 插入突变体的鉴定

使用 PCR 扩增鉴定 T-DNA 插入突变纯合体基因型, 其中 *AT2G14260* 基因特异引物为 sp: 5'-ATGA ACTTGATCCTTGCATCGTTC-3', asp: 5'-TCATCCC ATAAGTGCTTTCATCTTT-3' 和 T-DNA 特异引物 sp: 5'-GCATGGCCAGAGGCAGAACTCA-3', asp: 5'-CT CCTTTCGCTTCTTCCTTCCTT-3'。采用基因特异引物 RT-PCR 鉴定 *AT2G14260* 基因敲除。使用 RNeasy plant mini-kit (Qiagen Germany) 试剂盒提取植株总 RNA, 及 SuperScript III 反转录试剂盒反转录成 cDNA。

1.3 野生型与突变体植株的耐性分析

在 1/2MS 琼脂固体培养基中添加 300 mmol L⁻¹ 甘露醇模拟干旱胁迫, 添加 150 mmol L⁻¹ NaCl 模拟盐胁迫, 4℃培养模拟冷胁迫。在 1/2MS 琼脂固体培养基上培养拟南芥野生型与 T-DNA 插入突变体 *pip-1* 植株 7 d, 然后进行冷、干旱、盐胁迫培养。参照陈吉宝等^[2]的方法测定植株幼苗的相对根长和脯氨酸含量。

1.4 *AT2G14260* 启动子克隆及其载体构建

根据 TAIR (The Arabidopsis Information Resource) (<http://www.Arabidopsis.com/>) 提供的序列设计 1 对基因启动子特异引物 sp: 5'-CTCTTAACTACATTTTT TCAATCGGCTATC-3' 和 asp: 5'-CAAAGAGAACGAT GCAAGGATCAAG-3'。CTAB 法提取野生型拟南芥基

因组 DNA, 用高保真酶(Primerstar, TaKaRa)从中扩增出 *AT2G14260* 启动子。扩增条件为 98℃ 预变性 2 min; 然后 98℃ 15 s, 55℃ 15 s, 72℃ 140 s, 共 30 个循环; 最后 72℃ 延伸 10 min。扩增产物经 1% 琼脂凝胶电泳分离, 回收扩增片段, 纯化后 3' 末端加 A, 插入 pGEM-T 载体, 热激转化大肠杆菌 DH5α 菌株感受态细胞, 送交测序, 并与拟南芥基因组序列进行 BLAST 比对。Pst I 和 Nco I 双酶切测序正确的转化子和 pCambia3301 载体, 16℃ 过夜连接, 获得融合 *GUS* 基因的植物表达载体, 采用 floral dip 法^[6], 将构建好的表达载体侵染野生型拟南芥, 用 50 μmol L⁻¹ 固沙草筛选阳性植株, 并通过 PCR 鉴定出转基因植株。

将 T₃ 转基因种子用 1% 次氯酸钠溶液消毒 5 min, 双蒸水清洗干净, 均匀播种在 1/2MS 培养基上。将生长 2、6 和 14 d 转基因植株分别转移至含 300 mmol L⁻¹ 甘露醇、150 mmol L⁻¹ NaCl 的培养基上和 4℃ 培养箱中进行幼苗期干旱、盐和冷胁迫处理, 2 d 后取样。当培养基中的植株长至四叶时移栽于小钵中培养。随着植株的逐渐长大, 取长势一致的 30 日龄和 45 日龄的转基因植株进行成苗期胁迫处理。(1) 干旱处理, 不浇水以模拟干旱, 7 d 后叶子萎蔫, 取样; (2) 盐处理, 在培养钵中一次性浇透 300 mmol L⁻¹ NaCl 溶液, 7 d 后叶片带褐色, 取样; (3) 冷处理, 置 4℃ 培养箱培养, 3 d 后取样染色。

1.5 GUS 染色及活性分析

根据 Jefferson 方法^[7], 分别取处理后植株的根、叶、花、果实进行 GUS 染色。同时, 取 45 日龄转基因植株的地上部分和地下部分 GUS 相对活性检测。用 VHX-600 (Japan) 和 Nikon 8700 显微镜 (Japan) 观察并拍照。以 4-methylumbelliferone MU mg⁻¹ 蛋白 min⁻¹ pmol⁻¹ 表示 GUS 活性。

2 结果与分析

2.1 突变体的鉴定

为了鉴定 *AT2G14260* 基因的功能, 选用野生型和 T-DNA 插入突变体植株 *pip-1*。通过 Interpro 软件预测到此基因具有 4 个外显子, 其插入片段被定位于基因的第 1 个外显子, 翻译起始位点下游 128 bp (图 1-A)。

以 PCR 鉴定突变体的基因型, 并且证明种子是纯合体。同时 RT-PCR 显示 *AT2G14260* 基因已被敲除 (图 1-B)。

2.2 *AT2G14260* 基因的耐逆表型分析

2.2.1 胁迫条件下突变体和野生型植株的表型

分别将 1/2MS 琼脂固体培养基上培养 7 d 的拟南芥野生型与 T-DNA 插入突变体 *pip-1* 植株转移

图 1 T-DNA 插入突变体的鉴定

Fig. 1 Identity of T-DNA insertion mutants

“△”代表 *pip-1* (SALK_015443) 中 T-DNA 插入位点。ATG 和 TAG 代表起始和终止密码子。白色盒代表外显子。小箭头代表 PCR 鉴定引物，大箭头代表 RT-PCR 的引物。

“△” represents T-DNA insertion sites in *pip-1* (SALK_015443). ATG and TAG indicate start and stop codons. White boxes indicate exons. The small arrowheads indicate primer locations for PCR, and the big ones for RT-PCR.

到含有 300 mmol L⁻¹ 甘露醇和 150 mmol L⁻¹ NaCl 的 1/2MS 琼脂固体培养基或置 4℃ 培养箱，通过观察 *pip-1* 和野生型植株的生长情况、测定相对根长、脯氨酸含量，以此研究 *AT2G14260* 基因的耐性。结果显示在 1/2MS 培养基中野生型和 *pip-1* 突变体生长没有明显的区别，在 300 mmol L⁻¹ 甘露醇模拟干旱培养基中突变体的叶子明显比野生型的变黄(图 2)。

2.2.2 胁迫条件下突变体和野生型植株的相对根长

图 3 显示了 T-DNA 插入突变体 *pip-1* 和野生型植株的相对根长(胁迫条件下的根长/对照条件下的根长)，发现在 4℃ 冷胁迫、300 mmol L⁻¹ 甘露醇及 150 mmol L⁻¹ NaCl 培养基中 *pip-1* 植株的根明显比野生型的短($P < 0.05$)，而在正常环境中培养的植株根长没有什么区别。这暗示 *AT2G14260* 在逆境中具有一定的耐性。

2.2.3 突变体和野生型植株在胁迫下的脯氨酸含量

用水杨酸法测量了正常条件(CK)和胁迫下(4℃、300 mmol L⁻¹ 甘露醇和 150 mmol L⁻¹ NaCl)突变体与野生型植株的脯氨酸含量。结果显示，野生型植株脯氨酸含量的平均值分别是突变体的 1.11、1.23、1.10 和 1.34 倍，胁迫条件下突变体 *pip-1* 脯氨酸含量显著低于野生型植株($P < 0.01$)(图 4)，且在盐胁迫下的脯氨酸含量最高，冷胁迫下次之，干旱下最少，说明 *AT2G14260* 基因的敲除，明显降低了拟南芥植株脯氨酸的积累量。

2.3 *AT2G14260* 基因的表达特异性分析

2.3.1 *AT2G14260* 基因启动子植物表达载体构建

为了研究 *AT2G14260* 基因的表达模式，通过构建基因启动子表达 GUS 动基因的植物表达载体(图 5)，

图 2 突变体和野生型植株在正常、冷、干旱和盐胁迫下的表型

Fig. 2 Phenotype of mutants and wild-type plants under control, cold, drought, and salt stress

A: 正常培养基; B: 4℃ 冷处理; C: 150 mmol L⁻¹ NaCl 处理; D: 300 mmol L⁻¹ 甘露醇模拟干旱处理。
A: normal medium; B: 4℃ cold stress; C: 150 mmol L⁻¹ NaCl stress; D: 300 mmol L⁻¹ mannitol drought stress.

图 3 突变体和野生型植株在不同培养基中的相对根长

Fig. 3 Relative root length of mutants and wild-type plants under different culture-medium

误差线代表标准误，每个样品设 3 次生物学重复，采用 *t*-test 进行显著性分析，标以不同小写字母者在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。

Error bar represents SE ($n=3$). Significant differences analyses were conducted using *t*-test method. Bars superscribed by different letters are significantly different at the 0.05 probability level.

农杆菌介导转化拟南芥，通过对转基因植株的 GUS 染色来研究。以野生型拟南芥基因组 DNA 为模板，根据所设计的引物经 PCR 扩增后，将扩增产物连入克隆载体 pGEM-T Vector，并送交鉴定正确的阳性克隆菌测序，通过与拟南芥基因组序列进行 BLAST 比对，结果表明此启动子位于 *AT2G14260* 基因翻译起始位点上游 1 464 bp，包含 105 bp 5'UTR。通过 *Pst* I 和 *Nco* I 双酶切测序正确的阳性克隆和载体 pCAMBIA3301，

图 4 突变体与野生型植株的脯氨酸含量

Fig. 4 Proline content in mutants and wild-type plants under stresses

误差线代表标准误, 每个样品设 3 次生物学重复, 采用 *t*-test 进行显著性分析, 标以不同小写字母者在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。

Error bar represents SE ($n=3$). Significant differences analyses were conducted using *t*-test method. Bars superscribed by different letters are significantly different at the 0.05 probability level.

连接得到融合 GUS 基因的植物表达载体。

2.3.2 GUS 组织定位 为了研究启动子在室温、冷、干旱和盐条件下不同发育阶段的活性, 构建了表达 GUS 基因的载体, 根据 floral dip 法侵染拟南芥, 用 $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ 固沙草筛选出 10 个转基因株系, 接着对 T₃ 代转基因植株进行幼苗期和成苗期及其开花期冷、干旱和盐胁迫处理。通过显微镜观察处理前后的转基因植株的 GUS 染色情况, 以确定启动子表达特异性。以野生拟南芥(wild-type)为对照。从图 6-B、C、D、H 中看出在室温中正常生长的转基因植株在二叶期、六叶期及成苗开花期没有着色。在冷、干旱和盐胁迫下, 种子萌发期没染上色(图 6-A), 但植株长到二叶期, 根叶开始表达(图 6-E), 四叶期、成苗期的根、叶中同样表达。当植株开始抽薹(30 日龄)时, 发现在不同胁迫条件下不同的器官中染色情况不一样, 在冷和盐下根、叶脉染色明显, 干旱下幼嫩的叶子染色, 随着干旱胁迫时间延长根也会染色(图 6-I, J, K)。随之植株开始开花(45 日龄), 冷、盐胁迫下植株的茎中 GUS 基因也有所表达(图 6-L, M, N); 在干旱下花瓣和花枝也染上色, 冷下花柱头上也有表达, 而在冷、盐和干旱下果实都没表达(图 6-O, P, Q)。

2.3.3 GUS 相对活性检测 为了检测转基因植株抗干旱、冷和盐胁迫能力, 我们分别提取了 45 日龄转基因植株的地上部分和地下部分的 GUS 蛋白, 进行了 GUS 相对活性鉴定, 结果显示无论地上还是地下部分 GUS 活性在盐处理后最大, 冷处理次之, 干旱处理最低; 同时胁迫下地上、地下部分的 GUS 相对活性, 平均值分别是 $1200 \mu\text{mol L}^{-1} \text{mg}^{-1}$ 、 $1500 \mu\text{mol L}^{-1} \text{mg}^{-1}$, 说明在胁迫下地上部分表达量高于地下部分。

3 讨论

了解植物的耐逆机制, 培育耐寒、耐冷、耐盐作物已成为农业生产发展的必然需要。而对耐逆机制的研究主要是通过人为诱变处理产生多种突变系, 再筛选出与植物抗逆性相关的突变体, 然后克隆并分离相应的突变基因, 最终通过对基因结构特点、表达模式、作用机理等方面的研究来了解它是如何参与植物抗逆反应的^[8]。本文在此研究方法的基础上通过观察野生型植株与 T-DNA 插入突变体 *pip-1* 植株在冷、干旱和盐逆境条件下的生长状况, 发现突变体的根、游离脯氨酸含量明显比野生型的短、低, 并且在干旱胁迫下, 突变体植株叶片明显发黄, 初步鉴定 *AT2G14260* 基因对逆境具有一定的耐性。

生物的生长发育和对外界环境的响应具有明显的有序性。有序性来源于基因的有序表达, 这要归功于启动子对基因的精确调控^[9], 特别是组织特异型表达启动子、诱导特异型表达启动子。因此研究启动子是研究基因时空表达特异性的首要条件。所以本文构建了 *AT2G14260* 基因启动子融合 GUS 瞬时表达载体来进行 *AT2G14260* 启动子活性的研究。从 GUS 染色结果显示, 在温室中生长的转基因植株未染上色, 而在冷、干旱和盐条件下 GUS 基因开始表达, 说明 *AT2G14260* 启动子是胁迫诱导型启动子。在胁迫条件下植株不同发育阶段染色结果不一样, 整个生长过程, 根、叶脉都染色。随着植株开花, 45 日龄植株在干旱下花瓣和花枝染上色; 由此看出此启动子同时也是一种组织特异型表达启动子。

图 5 植物表达载体的构建图谱

Fig. 5 Construction map of plant expression vector

图 6 转 *AT2G14260* 启动子植株在不同发育阶段不同胁迫下的 GUS 组织定位

Fig. 6 GUS histochemical localization of different cycle transgenic *AT2G14260* promoter plants under different stresses

A~D, H: 正常条件下生长的转基因植株在幼苗期及成苗期 GUS 基因没有表达。E~G: 在冷、干旱和盐胁迫后, 转基因植株在二叶期、四叶期和六叶期 GUS 表达。I~K: 当植株 30 日龄时, 转基因植株在冷、干旱和盐胁迫后的 GUS 表达情况。L~N: 在植株开花期, 转基因植株在冷、干旱和盐胁迫后的 GUS 表达情况。

A~D, H: *GUS* gene did not express at seedlings and mature stage of transgenic *Arabidopsis* under normal conditions. E~G: After cold, drought, salt treatments, *GUS* activity was found at the two-leaf stage, four-leaf stage and six-leaf stage. I~K: At 30 d, *GUS* expression of transgenic plants under cold, drought, and salt stress. L~Q: At bolting stage, *GUS* expression of transgenic plants under cold, drought, and salt stress.

图 7 45 日龄转基因植株的 GUS 相对活性

Fig. 7 GUS relative activities of 4 d transgenic lines

误差线代表标准误($n=3$), 每个样品设 3 次生物学重复, 采用 t -test 进行显著性分析, 标以不同小写字母者在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。Error bar represents SE ($n=3$). Significant differences analyses were conducted using t -test method. Bars superscribed by different letters are significantly different at the 0.05 probability level.

由于启动子存在不同的顺式元件, 因而其调控方式不同, 有的是组织特异性启动子, 如种子特异性启动子中存在 B-BOX 元件, RY 重复序列^[10-11], 有的是诱导型启动子, 如热诱导表达启动子中存在 HSE 元件^[12], 干旱响应启动子包含保守的干旱响应元件(DRE)和 ABA 应答因子(ABRE)^[13]等。利用 PLACE^[14]和 PlantCARE^[15]对 *AT2G14260* 启动子分析显示, 其中所含多个胁迫应答元件和组织特异型元件, 譬如根特异型元件 CANNTG; ACGT core 既是叶特异型元件又是盐诱导元件^[16], 表皮毛特异元件 MYC-site, T/G box^[17], 干旱诱导型元件 ABRELAtErd1 和 MycAtErd1^[18], 冷诱导型元件 LTRECOREATCOR 15 和 LTR 等, 这说明 *AT2G14260* 启动子的特异的表达特性与这些逆境胁迫相关元件、组织特异型表达的元件有很大关系。

启动子具有转录起始的特异性, 其表达特异性决定着基因表达特异性。 *AT2G14260* 启动子在正常环境不表达, 而在冷、干旱、盐下具表达活性, 亦即 *AT2G14260* 基因受到逆境胁迫的信号时才表达。同时 *AT2G14260* 基因属于 N 端肽酶, 能特异性地从肽链的 N-端分解出脯氨酸, 而脯氨酸在植物体内浓度的增加可更加保护细胞免受干旱、高盐、高温、冰冻、紫外线以及重金属等伤害, 所以 *AT2G14260* 基因对逆境的耐受性可能与分解出的脯氨酸含量增多有关。

4 结论

拟南芥 *AT2G14260* 基因显著促进冷、干旱、盐胁迫下植株脯氨酸含量的积累及根系的生长, 说明

该基因能够通过增加植株体内的脯氨酸含量来提高植株对非生物胁迫的耐性。该基因启动子是逆境胁迫诱导表达型启动子, 同时具有组织表达特异性, 意味着该基因的表达受到非生物胁迫的精确调控, 同时该基因在不同组织中可能有不同的功能。

References

- [1] Peng Z-H(彭志红), Peng K-Q(彭克勤), Hu J-J(胡家金), Xiao L-T(萧浪涛). Research progress on accumulation of proline under Osmotic stress in plants. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2002, 18(4): 80–83 (in Chinese with English abstract)
- [2] Chen J-B(陈吉宝), Zhao L-Y(赵丽英). Response of PvP5CS1 transgenic *Arabidopsis* plants to drought- and salt-stress. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2010, 36(1): 147–153 (in Chinese with English abstract)
- [3] Quan X-Q(全先庆), Zhang Y-J(张渝洁), Shan L(单雷), Bi Y-P(毕玉平). The roles of prolines in plant growth and the tolerance to abiotic stresses. *Lett Biotechnol* (生物技术通讯), 2007, 18(1): 159–162 (in Chinese with English abstract)
- [4] Li N, Wu J M, Zhang L F, Zhang Y Z, Feng H. Characterization of a unique proline iminopeptidase from white-rot basidiomycetes *Phanerochaete chrysosporium*. *Biochimie*, 2010, 92: 779–788
- [5] Yoshimoto T, Tsuru D. Proline iminopeptidase from *Bacillus coagulans*: purification and enzymatic properties. *J Biochem*, 1985, 97: 1477–1485
- [6] Clough S J, Bent A F. Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 1998, 16: 735–743
- [7] Jefferson R A, Kavanagh T A, Bevan M W. GUS fusions: beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. *EMBO J*, 1987, 6: 3901–3907
- [8] Van Buskirk H A, Thomaslow M F. *Arabidopsis* transcription factors regulating cold acclimation. *Physiol Planta*, 2006, 126: 72–80
- [9] Hu T-Z(胡廷章), Luo K(罗凯), Gan L-P(甘丽萍), Shi R-J(石汝杰). Classification and application of the plant gene promoters. *Hubei Agricultural Sciences*, 2007, 46: 149–151 (in Chinese with English abstract)
- [10] Baumlein H, Nagy I, Villarroel R, Inze D, Wobus U. Cis-analysis of a seed protein gene promoter: the conservative RY repeat CATGCATG within the legumin box is essential for tissuespecific expression of a legumin gene. *Plant J*, 1992, 2: 233–239
- [11] Dickson C D, Evans R P, Nielsen N C. RY repeats are conserved in the 5'-flanking regions of legume seed-protein genes. *Nucl Acids Res*, 1998, 16: 371–379
- [12] Diaz-Martin J, Almoguera C, Prieto-Dapena P, Espinosa J M, Jordano J. Functional interaction between two transcription factors involved in the developmental regulation of a small heat stress protein gene promoter. *Plant Physiol*, 2005, 139: 1483–1494

- [13] Busk P K, Pages M. Regulation of abscisic acid-induced transcription. *Plant Mol Biol*, 1998, 37: 425–435
- [14] Higo K, Ugawa Y, Iwamoto M, Korenaga T. Plant *cis*-acting regulatory DNA-elements (PLACE) database: 1999. *Nucl Acids Res*, 1999, 27: 297–300
- [15] Lescot M, Dehais P, Thijs G, Marchal K, Moreau Y, Van de Peer Y, Rouze P, Rombauts S. PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for *in silico* analysis of promoter sequences. *Nucl Acids Res*, 2002, 30: 325–327
- [16] Mehrotra R, Mehrotra S. Promoter activation by ACGT in response to salicylic and abscisic acids is differentially regulated by the spacing between two copies of the motif. *J Plant Physiol*, 2010, 167: 1214–1218
- [17] Shangguan X X, Xu B, Yu Z X, Wang L J, Chen X Y. Promoter of a cotton fibre MYB gene functional in trichomes of *Arabidopsis* and glandular trichomes of tobacco. *J Exp Bot*, 2008, 59: 3533–3542
- [18] Tran L S, Nakashima K, Sakuma Y, Simpson S D, Fujita Y, Maruyama K, Fujita M, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Isolation and functional analysis of *Arabidopsis* stress-inducible NAC transcription factors that bind to a drought-responsive *cis*-element in the *early responsive to dehydration stress 1* promoter. *Plant Cell*, 2004, 16: 2481–2498

科学出版社生物分社新书推介

《英语科技论文撰写与投稿(第二版)》

任胜利 著

2011 年 6 月出版

定价：¥ 35.00

书号：978-7-03-031305-8/H · 529

本书是科技论文写作与投稿的指南读物，书中全方位地分析和展示了科技论文写作的技巧与诀窍。从论文选题、科技写作的道德规范、拟投稿期刊的选择及作者署名与分工等方面阐述了科技论文写作前的准备工作，通过大量的实例分析介绍了论文题名和摘要撰写中应遵循的基本原则，分别从写作技巧、时态和语态的使用等角度介绍了科技论文正文的撰写，举例说明了致谢及图表制作的注意事项，总结了各主要参考文献体例的特点、格式及相关著录规范。本书还较为全面地介绍了国际单位制(SI)及其使用中应注意的问题，从选词、重要语法和文体等方面系统地阐述了科技英语写作的文法与表达，全面总结了英文标点符号的使用，从稿件录排、投稿信写作、在线投稿、校样改正等方面阐述了如何投稿及与编辑联系，综述了作者、编辑和审稿人在同行评议过程中的交流与互动。此外，还从 PPT 制作、会议讲演等方面系统地阐述了会议报告的准备与口头交流的注意事项。本书可作为理工科研究生的教学用书或自学教材；也可供科研人员和科技编辑的案头查阅和浏览。

欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书

联系人：科学出版社科学销售中心 周文宇 电话：010-64017301 E-mail: zhouwenyu@mail.sciencep.com

网上订购：<http://shop.sciencepress.cn> 卓越网 当当网

联系我们：010-64012501 <http://www.lifescience.com.cn> E-mail: lifescience@mail.sciencep.com

更多精彩图书请登陆网站，欢迎致电索要书目