

葡萄 F-box 基因 *VvSLY1* 的克隆与表达分析

王西成, 吴伟民, 王壮伟, 赵密珍, 周蓓蓓, 钱亚明

(江苏省农业科学院果树研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 南京 210014)

摘要: SLEEPY1 (SLY1) 属于 F-box 蛋白, 是 SCF 复合体的主要组成元件之一, 在赤霉素信号转导过程中发挥着重要的调节作用。本研究以夏黑葡萄为试材, 利用电子克隆和 RT-PCR 技术克隆获得一个 F-box 蛋白基因全长 cDNA 序列, 命名为 *VvSLY1*。该基因全长为 1096 bp, 包含 1 个 555 bp 的完整开放阅读框 (ORF), 编码 184 个氨基酸。序列比对和结构域分析结果表明, 该 *VvSLY1* 包含 F-box 蛋白家族的 LGG 和 LSL 保守结构域。进化树分析结果显示, *VvSLY1* 与可可亲缘关系最近。qRT-PCR 分析结果表明, 在果实快速膨大发育阶段, 外源赤霉素 GA₃ 处理会促进该基因的上调表达。

关键词: 葡萄; F-box 蛋白; *VvSLY1* 基因; 克隆; 基因表达

Cloning and Expression Analysis of F-box Gene *VvSLY1* in *Vitis vinifera* L.

WANG Xi-cheng, WU Wei-min, WANG Zhuang-wei, ZHAO Mi-zhen, ZHOU Bei-bei, QIAN Ya-ming

(Institute of Pomology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014)

Abstract: SLEEPY1 (SLY1) is the member of F-box family proteins and serves as the main component in SCF complex. Previous studies suggested that this protein was an important regulatory element involved in the signaling network of gibberellin. In this study, a full-length coding sequence of F-box gene, designated *VvSLY1*, was isolated from grapevine cultivar 'Summer Black' (*Vitis vinifera* L.). We obtained a 1096 bp fragment that contains a complete open reading frame of 555 bp that encodes for 184 amino acids. By sequence alignment and motif analysis, the *VvSLY1* gene contains the LGG and LSL that are typical domains of F-box protein. Phylogenetic analysis showed that the *VvSLY1* protein was closely grouped with the *Theobroma cacao* protein. qRT-PCR revealed an up-regulation of *VvSLY1* under gibberellin treatment during the period of the fast expansion development of fruit.

Key words: *Vitis vinifera* L.; F-box protein; *VvSLY1* gene; clone; gene expression

F-box 蛋白广泛存在于真核生物中, 通过泛素化介导途径参与了许多生物学过程, 因其最初发现于细胞周期蛋白 Cyclin F 而得名^[1]。作为一种非常重要的 E3 泛素连接酶 SCF 复合体的亚基, 该蛋白可选择性的结合降解蛋白, 参与泛素化蛋白降解途径, 进而实现对多种代谢过程的调控, 如: 信号转导、细胞循环、基因转录、雄性不育、免疫反应及细胞的程序化死亡等^[2-4]。

赤霉素 (GA, Gibberellin) 是一种重要的植物生长调节物质, 自 20 世纪 60 年代以来, 国内外葡萄专家围绕其在葡萄生产中的应用开展了大量的研究工作, 发现外源 GA 的合理使用不仅可以有效拉长果穗, 改变果实糖、酸含量, 同时对于葡萄果实的膨大发育也具有明显的促进作用^[5-7]。*SLEEPY1* (*SLY1*) 是 GA 信号转导途径中的正调控因子, 其编码的 F-box 蛋白在 GA 信号转导途径中发挥着非常重要

收稿日期: 2018-01-11 修回日期: 2018-03-16 网络出版日期: 2018-06-12

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180611.1841.001.html>

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK20160587); 江苏省农业科技自主创新资金项目 (CX(16)1013); 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-29-11)

第一作者研究方向为葡萄种质资源收集、评价及相关分子生物学研究。E-mail: wxcown@163.com

通信作者: 吴伟民, 研究方向为葡萄栽培与育种。E-mail: 5wm@163.com

的调控作用,SLY1 蛋白已成为继 DELLA 蛋白之后研究 GA 信号转导的又一热点^[8-10]。已有研究发现,拟南芥中的 *SLY1* 和水稻中的 *GID2* 系直系同源基因^[11],在缺失 F-box 蛋白的拟南芥 *sly1* 和水稻 *gid2* 突变体中,由于 DELLA 蛋白无法通过泛素化途径降解,使得植株体内积累了大量的 DELLA 蛋白,并最终导致上述突变体的半矮化表型^[9,11-12]。

目前,已从拟南芥、水稻等植物中鉴定出相关的 *SLY1/GID2* 基因^[8,13]。在葡萄上,有关 *VvSLY1* 基因的研究也取得了一定的进展,Acheampong 等^[14]通过生物信息学技术预测了 *SLY1* 基因的序列,且对其时空表达特点进行了初步分析,但并未对该基因序列进行克隆验证。果实大小作为重要的园艺性状,在长期的生产实践中被人们选择并保留下来,然而有关该基因在果实膨大发育过程中作用的研究尚未见报道^[15]。鉴于 GA 在葡萄果实膨大发育过程中的重要作用,以及 *SLY1* 在 GA 信号转导过程中的重要功能,本研究以夏黑葡萄为试材,利用电子克隆和 RT-PCR 技术,从中获得了一个 *VvSLY1* 基因全长 cDNA 序列,并对其进行了生物信息学和表达模式分析,以探明 *VvSLY1* 基因在葡萄果实膨大发育过程中的功能,同时也为优良葡萄新品种选育奠定理论基础。

表 1 *VvSLY1* 基因克隆与表达所用引物

Table 1 Primers used for cloning and expression analysis of *VvSLY1*

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	引物功能 Primer function	引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	引物功能 Primer function
P1	GCAGGACTGCAGCTGACTGACTACT30VN	cDNA 合成	R3	GGTGGTAGAGCTCGCAGGACTGCAGCTGACTG	
F1	ATGAAGCGACCTTTTGTGTC	ORF 扩增	F4	TTCTCCGCCACTCTACAT	qRT-PCR
R1	TCATCTCCCTCTGTTGTGAAATTC		R4	AGATTCTCGTCCAGATTCAC	
F2	AAAAGGATAAAGAGGAAGGTGGG	5'扩增	UBI-F	GCTCGCTGTTTTCAGTTCTAC	内参基因
R2	GTTGCCGACGCCGATATTA		UBI-R	AACATAGGTGAGGCCGCACTT	
F3	GCCCCAGGCTTCCTCATCAT	3'扩增			

1.4 *VvSLY1* 基因的克隆

根据 GeneBank 中登录的拟南芥 *AtSLY1* 基因的 cDNA 序列 (GeneBank 登录号: NM_118554.3), 参照王西成等^[16]的电子克隆方法, 分离获得葡萄 *VvSLY1* 基因全长 cDNA 序列。首先以合成的 cDNA 为模板, 利用引物 F1/R1 进行 PCR 扩增, 获得其完整 ORF 序列。然后再利用引物 F2/R2, 以及 F3/R3 进行 *VvSLY1* 基因 5'和 3'非编码区 (UTR) 序列的扩增 (表 1)。反应体系均为 25 μ L: 10 \times PCR buffer (Mg^{2+} plus) 2.5 μ L, dNTP Mixture (10 mmol/L)

1 材料与方法

1.1 材料及处理

本研究以 5 年生夏黑葡萄为试材, 样品取自江苏省农业科学院溧水植物科学基地内的江苏省果树种质资源圃。试验于 2015 年 5 月进行, 采用 50 mg/L 的 GA_3 溶液对花后 1 周的夏黑葡萄幼果进行持续浸蘸 5 s 处理, 清水处理作为对照, 处理后 1 周开始, 每周取样 1 次, 直至果实成熟。样品采集后分两部分保存, 一部分置于冰盒内进行果实单果质量的测定; 另一部分迅速置于液氮中速冻, 后转移至 $-80^{\circ}C$ 冰箱中保存备用。

1.2 单果质量的测定

随机从每个处理中取 10 粒果实, 利用电子天平完成其总质量的测定, 并求得单果质量。

1.3 RNA 的提取及 cDNA 合成

葡萄各个组织中总 RNA 的提取均采用北京华越洋生物科技有限公司生产的 Quick RNA isolation Kit 进行。以总 RNA 为模板, 参照 Invitrogen 公司生产的 SuperScriptTM III First-Strand Synthesis System 反转录试剂盒说明, 并将其中的随机引物换成 P1, 进行 cDNA 第 1 链的合成 (表 1)。

2 μ L, 上、下游引物各 1 μ L, cDNA 2 μ L, Ex-Taq 酶 (5 U/L) 0.25 μ L, ddH₂O 补足至 25 μ L。PCR 扩增程序: 94 $^{\circ}C$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}C$ 变性 30 s, 61 $^{\circ}C$ 退火 45 s, 72 $^{\circ}C$ 延伸 1 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}C$ 延伸 10 min。1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测分离扩增产物, DNA 凝胶回收试剂盒回收目的片段, 并连接至 pMD-19T simple 载体克隆, 然后提取质粒, 交由上海美吉生物医药科技有限公司 (<http://www.majorbio.com>) 进行测序。

1.5 生物信息学分析

首先利用 ProtParam (<http://web.expasy.org/>)

protparam/)对该基因编码蛋白的分子量和等电点进行计算。运用 SOPMA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/secpred_sopma.pl) 软件预测氨基酸序列的二级结构。PrediSi (<http://www.predisi.de/>) 预测基因的信号肽。使用 DNAMAN5.22 软件进行氨基酸序列比对,采用 MEGA5.1 软件包中的邻接法(NJ, Neighbor-joining)构建系统发育树,校验参数 Bootstrap 重复 1000 次。利用 SoftBerryProtComp 9.0(<http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic>) 进行亚细胞定位预测。通过 Conserved Domains Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 进行蛋白保守域分析。通过 WebLogo (<http://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi>) 生成 logo 图谱,展示保守结构域各位点的保守性。

1.6 *VvSLY1* 基因表达分析

利用 Bio-Rad iQ5 荧光定量 PCR 仪,采用实时荧光定量 PCR 技术(qRT-PCR)对 *VvSLY1* 基因的时空表达特性进行分析。以 F4/R4 为 *VvSLY1* 基因的扩增引物,UBI(XM_002266714)为内参引物(表1),PCR 反应体系为 20 μ L;cDNA 模板 1 μ L,上

游和下游引物各 0.8 μ L,反应 MIX(Toyobo)10 μ L, ddH₂O 7.4 μ L。反应程序:95 $^{\circ}$ C 变性 1 min;95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,60 $^{\circ}$ C 退火 20 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,共 40 个循环;每个样品设置 3 次重复,相关数据采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行处理,以确定 *VvSLY1* 基因的相对表达水平^[17-18]。

2 结果与分析

2.1 *VvSLY1* 基因全长 cDNA 序列的克隆

以葡萄根、茎、叶、花、卷须和果实的混合 cDNA 为模板,利用引物 F1 和 R1 进行 PCR 扩增,获得了长度为 555 bp 的开放阅读框(ORF, open reading frame)片段。利用引物 F2 和 R2,以及 F3 和 R3 进行 PCR 扩增,分别获得长度为 584 bp、436 bp 的基因 5'和 3'端序列。测序完成后对所获得的 ORF、5'端和 3'端序列进行拼接,最终获得长度为 1097 bp 的基因全长 cDNA 序列,该基因命名为 *VvSLY1*。分析表明,该基因 cDNA 序列包含一个 555 bp 的完整 ORF,编码 184 个氨基酸,5'和 3'非编码区长度分别为 302 bp 和 240 bp(图1)。

```

1 AAAAGGATAAAGAGGAAGGTGGGGAGAGAATGGTAAATTGAAGAGAGAAGTATGAGGAA
61 GAGCATTCAITGCTTATCTTGTCTACCCGAAATGTGTCAAACCTGCGGATAGCCCATAA
121 GTTAAAGCCCCTCCTCCTTCTCCTCCACCTGCAACCGCCTCGTTATTCCTCTTCTCC
181 GCCACTCTACATTCATTTTCTCTCTTTCTTTTCCCTTTTTCACCTTTGCCTCTTTT
241 ATTGATTCAITTAATAGATCATCCAAAACAGTCCCGGATTGGGAATTCATTTCTTTGT
301 CC
303 ATGAAGCGACCTTTTGTGCGGACGATGATCTGGAAGCGCAGATCAGAAGATGAAGAAT
M K R P F V A D D D L E S A D Q K M K N
363 CCAAAGCTTGAAGATGATGAAGAGGACGGGAGGTTAGGGGAGAGACAACGGGTTTGTG
P K L E D D E E D G E V R G E T T G F V
423 AATCTGGACGAGAATCTGCTGTACGAGGTGCTCAAGCACGTGGACGACGTACTCTGGCC
N L D E N L L Y E V L K H V D A R T L A
483 ATCGCTGGGTGCGTTAGCAAGCTCTGGCACAGAACGTCCAGGACGAGCGGCTCTGGGAG
I A G C V S K L W H R T S Q D E R L W E
543 CTGATCTGTACCAGACACTGGGCTAATATCGGCTGCGGCAACCAACAGGTCCGATCTGTG
L I C T R H W A N I G C G N Q Q V R S V
603 GTCCTCGCTCTCGGAGGTTTTCTGCTCTCCACTCTCTTACCTCTGGCCGCTGTCCAAG
V L A L G G F R R L H S L Y L W P L S K
663 CCCCAGGCTTCCTCATCTCTTCGCCCGCTCGTCATCGTGGCCGTCGACTGCATATCG
P Q A S S S S S P P S S S W P S T A L S
723 CCTCCGTTTGGCCGATTCGATGATGCGGCCCAAGTTCCCAACTCGCTGGGGAAGAGAC
P P F A P H S M M R P K F P T R W G K D
783 GAGGTCCATCTTCCCTGTCTCTCTCAATTCTGTTACTACGAAAAGATGAATTCAAC
E V H L S L S L L S I R Y Y E K M N F N
843 AACAGAGGGAGATGA
N R G R *
858 ATTGTCATGATCATACCCCTTACTACTCTATAATCGCCCTAAATTGGCTTTGTTCTCTC
918 TTTTTCACGATTGTAATCTATATCGGCTTGCTCAACCAGATCCGCTCCTTCTCTAT
978 GAATTAATTGTTCTTTCTTTCTGATTCTGAGTTTGTGTATAAAATGAGATAATGAAA
1038 ATTGCTTTGCATTGTAATGTTAATCTTAATATGCACAAAAA

```

图1 葡萄 *VvSLY1* 基因 cDNA 及其推导的氨基酸序列

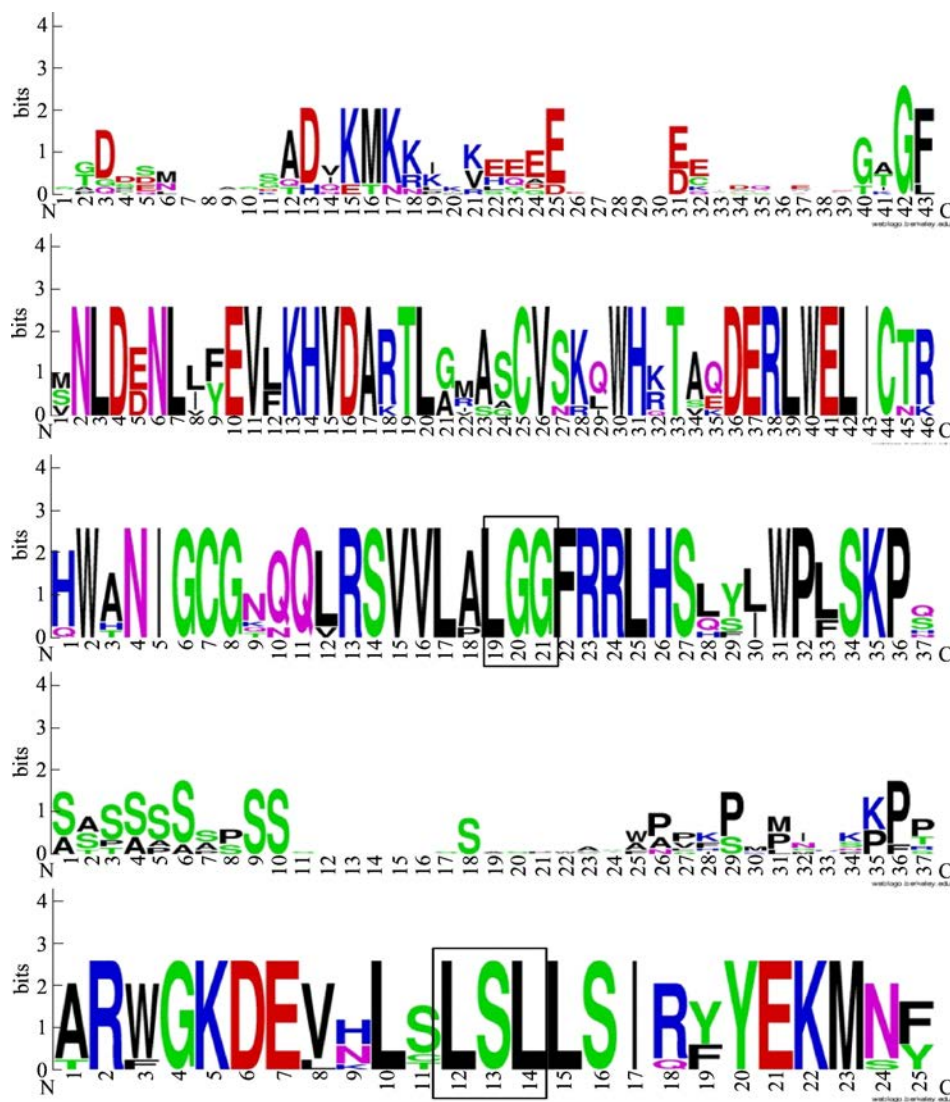
Fig.1 The cDNA sequence and its deduced protein sequence of grape *VvSLY1*

2.2 VvSLY1 基因序列及结构分析

利用 ProtParam 对 *VvSLY1* 基因编码蛋白分析发现,该蛋白质的分子量为 21.01 kD,理论等电点(pI)为 7.77,分子式为 $C_{929}H_{1447}N_{267}O_{275}S_8$,负电荷氨基酸残基总数(Asp + Glu)为 23,正电荷氨基酸残基总数(Arg + Lys)为 24,不稳定系数为 54.00,属不稳定性蛋白,亲水性平均值为-0.599,为亲水性蛋白。SOPMA 预测该基因编码蛋白的二级结构结果表明,*VvSLY1* 氨基酸序列含有 35.87%的 α 螺旋、

11.41%的延伸链、2.72%的 β 转角和 50.00%的不规则卷曲。PrediSi 分析结果显示该蛋白不含信号肽,是一类膜蛋白。SoftBerryProtComp 9.0 亚细胞定位预测表明,该 *VvSLY1* 位于细胞核上。

利用 Conserved Domains Database (CDD) 鉴定 *VvSLY1* 蛋白保守结构域,并在 WebLogo 中进行标注。在线搜索结果表明,该基因编码蛋白对应的登陆号为 pfam00646,含有 F-box 蛋白家族的结构域,为 F-box 蛋白(图 2)。



实线框表示 F-box 蛋白的保守序列 LGG 和 LSL

Wire-frame represents the conserved sequence LGG and LSL of F-box protein

图 2 *VvSLY1* 氨基酸序列 Logo 图谱分析

Fig. 2 The sequence logo analysis of *VvSLY1* by WebLogo

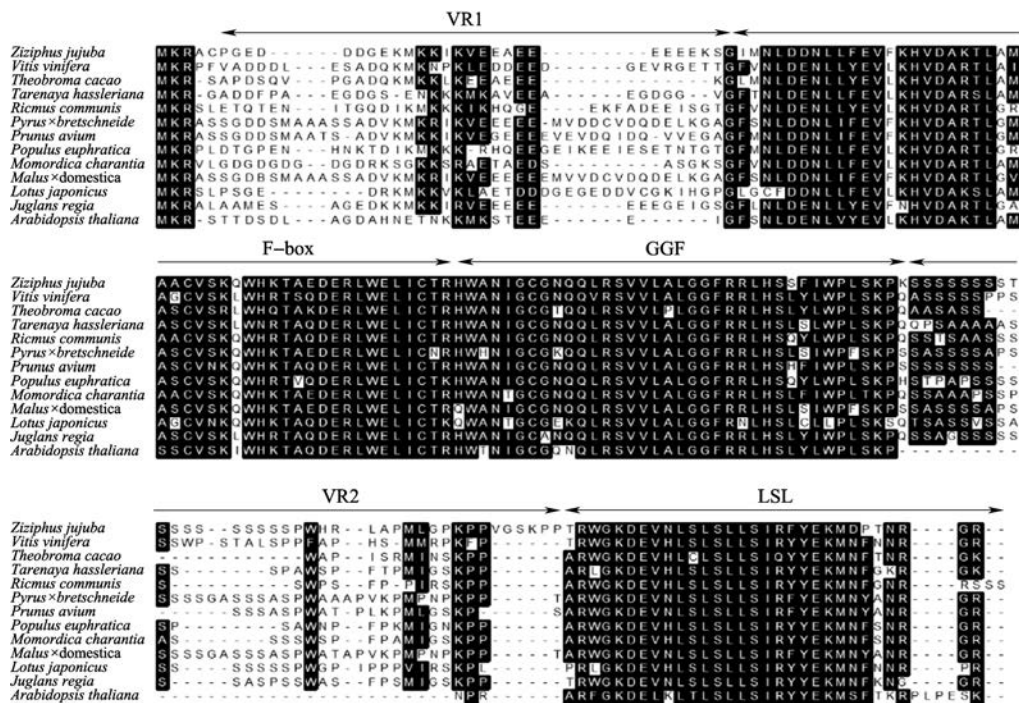
2.3 VvSLY1 氨基酸同源序列和系统进化分析

利用 DNAMAN5.22 软件对 *SLY1* 基因编码的氨基酸序列进行同源性比对发现,葡萄与其他物种 *SLY1* 氨基酸序列同源性在 63.41% ~ 76.67%

之间。其中,与可可的同源性最高,为 76.67%;与百脉根的同源性最低,为 63.41%;而与蓖麻、核桃、醉蝶花、胡杨、拟南芥、苹果、苦瓜、酸枣、甜樱桃、梨等的同源性则介于两者之间,分别为 75.48%、

72.29%、71.88%、67.61%、67.44%、67.38%、66.85%、66.48%、66.48%和64.13%(图3)。氨基酸序列分析结果表明,该氨基酸序列与其他物

种具有高度保守的 F-box、GGF、LSL 等功能域,进一步说明 *VvSLY1* 为 F-box 蛋白。



GGF 和 LSL 为保守残基,VR1 和 VR2 为可变区域

GGF and LSL refer to conserved residues,VR1 and VR2 refer to variable region

图 3 *VvSLY1* 与其他植物氨基酸序列同源性分析

Fig. 3 Multiple sequence comparison of *VvSLY1* and its homologs

进一步利用 MEGA5.1 软件对 *VvSLY1* 氨基酸序列和其他物种 *SLY1*/*GID2* 氨基酸序列构建系统进化树。结果表明,13 种不同植物被聚为两大类群,其中

与胡杨、可可、蓖麻、醉蝶花、拟南芥和核桃亲缘关系较近,被聚为一类;而与苹果、甜樱桃、白梨、酸枣、苦瓜和百脉根的亲缘关系较远,被分为另一类(图4)。

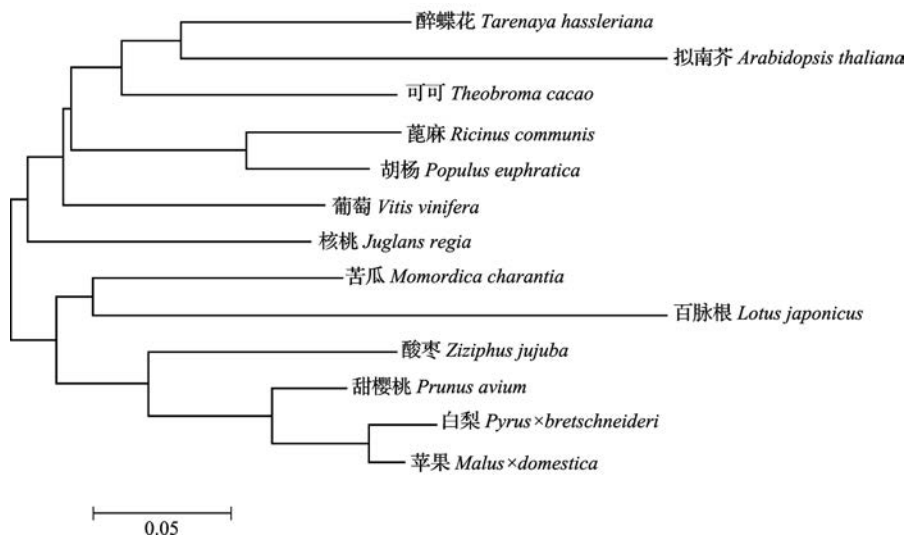


图 4 *VvSLY1* 与其他植物 *SLY1* 氨基酸系统进化分析

Fig. 4 Phylogenetic tree of *VvSLY1* and its homologs

2.4 GA_3 处理对葡萄果实大小的影响

果实质量测定结果表明,处理与对照果实的生长都呈线性增长趋势,外源 GA_3 处理会促进不同发育时期果实单果质量的增加,对于果实的膨大发育

具有积极的促进作用(图 5)。这与葡萄果实生长发育呈双 S 型曲线的实际情况并不完全一致,究其原因可能与果实取样量偏少有关。

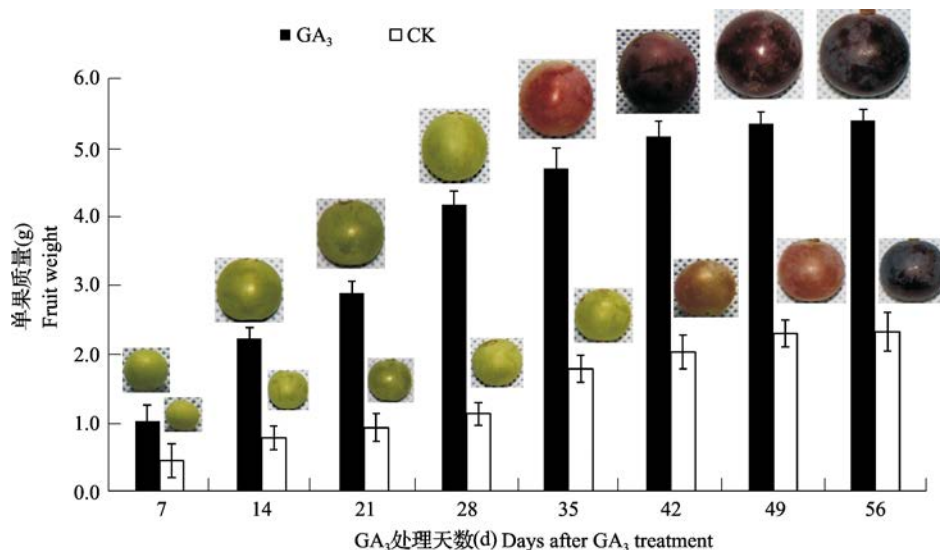


图 5 GA_3 处理与对照果实单果质量

Fig. 5 Fruit weight of grape fruit after GA_3 treatment

2.5 $VvSLY1$ 基因的表达分析

本研究利用 qRT-PCR 技术,对 $VvSLY1$ 基因在葡萄根、茎、幼叶、花、幼果和卷须等不同组织中的表达水平进行了检测分析。结果表明, $VvSLY1$ 在葡萄不同组织器官中均能表达,但表达水平存在一定差异。该基因在根、茎和幼叶中的表达水平较高,但在花、幼果和卷须中的表达水平相对较低(图 6)。究其原因可能在于 $SLY1$ 基因是 GA 信号转导中的正向调节因子,当组织中 GA 含量较高时,会促进 $SLY1$ 基因的表达。

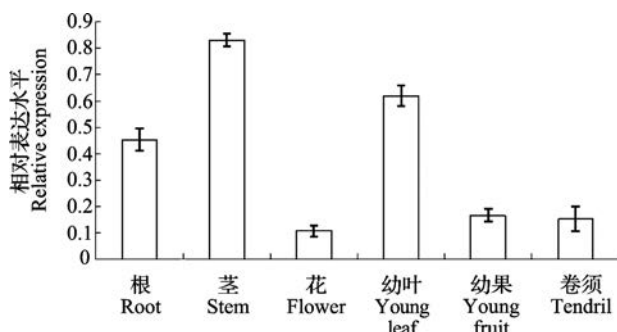


图 6 $VvSLY1$ 在葡萄不同组织中的表达

Fig. 6 Relative expression of $VvSLY1$ gene in different tissues of grape

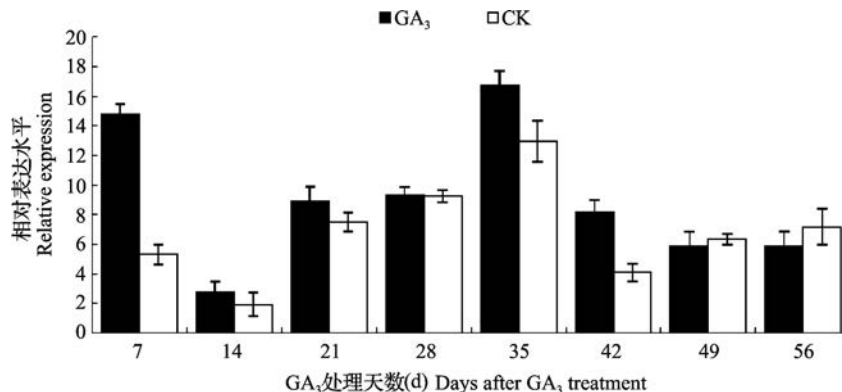
2.6 外源 GA_3 处理对葡萄果实中 $VvSLY1$ 基因表达的影响

为检测 $VvSLY1$ 基因在 GA_3 处理与对照果实中的表达情况,本研究分别选取不同发育时期 GA_3 处理与对照果实样品进行 qRT-PCR 检测。结果表明, $VvSLY1$ 基因在果实整个发育过程中的表达水平总体呈现出先降低后升高再降低的变化趋势。外源 GA_3 处理可有效提高 $VvSLY1$ 基因在果实发育前期(处理后 7 ~ 21 d)和中后期(处理后 35 ~ 42 d)的表达水平,但对处理后 28 d、49 d 和 56 d 时果实中的表达水平并未产生促进作用(图 7)。

3 讨论

果实膨大发育是一个受不同基因调控的复杂过程,但到目前为止,有关果实膨大基因的研究仍主要集中在与细胞分裂和细胞膨大相关基因研究方面,如细胞周期依赖激酶基因($CDKs$)、细胞周期蛋白基因($Cyclins$)、扩张蛋白基因($Expansins$)和木葡聚糖内糖基转移/水解酶基因($XTHs$)等^[19-21]。

近年来,有关葡萄果实膨大发育相关基因也取得了一定进展,发现扩张蛋白编码基因 $EXPI$ 、 $EXP2$ 以及 $VvEXPA14$ 、 $VvEXPA18$ 可能在果实发育过程中

图7 *VvSLY1* 基因在 GA₃ 处理与对照果实中的表达水平Fig. 7 Expression of *VvSLY1* gene in GA₃ treated and control fruits

发挥着积极的作用^[22-23]。同时, bHLH 类转录因子 *VvCEB1* 也被证明与葡萄果实膨大发育过程密切相关, 该转录因子可通过影响细胞膨大相关基因的表达水平, 进而实现对果实发育的调控^[24]。

SLY1 基因作为 E3 泛素连接酶 SCF 复合体中的一个亚基, 其最早分离于拟南芥 *slY1-2* 和 *slY1-10* 突变体; 同年, *SLY1* 直系同源基因 *GID2* 也从水稻中成功克隆。与 DELLA 蛋白编码基因相比, *SLY1/GID2* 基因功能研究范围较窄, 主要集中在株高方面^[25]。尽管目前对于 *SLY1* 基因表达与果实膨大发育之间存在何种关系尚不得而知, 但鉴于 GA 功能的发挥是建立在 DELLA 蛋白降解的基础之上, 而 *SLY1* 作为 SCF^{SLY1} 复合体的一个组分, 介导了 GA 诱导 DELLA 蛋白的降解^[26]。因此推测 GA 对葡萄果实膨大发育的调控可能是通过诱导 *SLY1* 基因的表达, 进而引发 DELLA 蛋白的降解实现的。

本研究从夏黑葡萄中分离获得了葡萄 *VvSLY1* 基因的全长 cDNA 序列, 序列分析结果表明, 该基因与胡杨、可可、蓖麻、拟南芥、苹果、甜樱桃、白梨的同源性均在 64% 以上, 说明该基因在进化过程中具有一定的保守性。同时, 蛋白结构域分析结果表明, 该蛋白含有 F-box 蛋白所特有的 LGG 和 LSL 保守残基, 进一步说明葡萄 *VvSLY1* 为 F-box 类蛋白^[11]。qRT-PCR 分析结果表明, 该基因在葡萄根、茎、花、幼叶、幼果和卷须中均有表达, 具有组成型基因表达的特点。与对照相比, 在果实快速膨大发育阶段 (GA₃ 处理后 7~42 d), 外源 GA₃ 处理对该基因的表达主要表现为促进作用, 据此分析认为 *VvSLY1* 基因作为正向调控因子, 可能通过信号转导途径影响着 GA 功能的发挥, 进而在 GA₃ 诱导果实膨大发育过程中发挥着一定的作用^[9], 但有关其具体功能仍

有待于进一步研究。

总之, 本研究不仅明确了 *VvSLY1* 基因的结构特点, 丰富了其表达规律, 同时对于揭示外源 GA₃ 处理促进葡萄果实膨大发育分子机理研究也具有积极的参考意义。

参考文献

- [1] Risseuw E P, Daskalchuk T E, Banks T W, Liu E, Cotelesage J, Hellmann H, Estelle M, Somers D E, Crosby W L. Protein interaction analysis of SCF ubiquitin E3 ligase subunits from *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 2003, 34(6): 753-767
- [2] Sasaki A, Itoh H, Gomi K, Ueguchi-Tanaka M, Ishiyama K, Kobayashi M, Jeong D, An G, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M. Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant. *Science*, 2003, 299: 1896-1898
- [3] Dill A, Thomas S G, Hu J, Steber C M, Sun T. The *Arabidopsis* F-box protein SLEEPY1 targets gibberellin signaling repressors for gibberellin-induced degradation. *The Plant Cell*, 2004, 16: 1392-1405
- [4] Cui H R, Zhang Z R, Lv W, Xu J N, Wang X Y. Genome-wide characterization and analysis of F-box protein-encoding genes in the *Malus domestica* genome. *Molecular Genetics and Genomics*, 2015, 290: 1435-1446
- [5] Tian S, Wang Y, Du G, Li Y. Changes in contents and antioxidant activity of phenolic compounds during gibberellin-induced development in *Vitis vinifera* L. 'Muscat'. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, 33(6): 2467-2475
- [6] 杨玉艳, 王建楼, 鲁井云, 秦旭冬, 李天忠, 胡建芳. '峰后' 葡萄果实发育与赤霉素 (GA₃) 处理以及 *VvSEP3* 基因表达的关系. *中国农业大学学报*, 2012, 17(1): 72-79
- [7] Wang X, Zhao M, Wu W, Korir N K, Qian Y, Wang Z. Comparative transcriptome analysis of berry-sizing effects of gibberellin (GA₃) on seedless *Vitis vinifera* L. *Genes & Genomics*, 2017, 39: 493-507
- [8] Strader L C, Ritchie S, Soule J D, McGinnis K M, Steber C M. Recessive-interfering mutations in the gibberellin signaling gene *SLEEPY1* are rescued by overexpression of its homologue, *SNEEZY*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101: 12771-12776
- [9] Arizumi T, Lawrence P K, Steber C M. The role of two F-box proteins, SLEEPY1 and SNEEZY, in *Arabidopsis* gibberellin signaling. *Plant Physiology*, 2011, 155: 765-775
- [10] 岳川, 曾建明, 曹红利, 王新超, 章志芳. 高等植物赤霉素代谢

- 及其信号转导通路. 植物生理学报, 2012, 48(2): 118-128
- [11] McGinnis K M, Thomas S G, Soule J D, Strader L C, Zale J M, Sun T, Steber C M. The *Arabidopsis* *SLEEPY1* gene encodes a putative F-box subunit of an SCF E3 ubiquitin ligase. The Plant Cell, 2003, 15: 1120-1130
- [12] Fu X, Richards D E, Fleck B, Xie D, Burton N, Harberd N P. The *Arabidopsis* mutant *sleepy1^{gar2-1}* protein promotes plant growth by increasing the affinity of the SCF^{SLY1} E3 ubiquitin ligase for DEL-*LA* protein substrates. The Plant Cell, 2004, 16: 1406-1418
- [13] Gomi K, Sasaki A, Itoh H, Uequchi-Tanaka M, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M. GID2, an F-box subunit of the SCF E3 complex, specifically interacts with phosphorylated SLR1 protein and regulates the gibberellin-dependent degradation of SLR1 in rice. The Plant Journal, 2004, 37(4): 626-634
- [14] Acheampong A K, Zheng C, Halaly T, Giacomelli L, Takebayashi Y, Jikumaru Y, Kamiya Y, Lichter A, Or E. Abnormal endogenous repression of GA signaling in a seedless table grape cultivar with high berry growth response to GA application. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 850
- [15] Acheampong A K, Hu J, Rotman A, Zheng C, Halaly T, Takebayashi Y, Jikumaru Y, Kamiya Y, Lichter A, Sun T, Or E. Functional characterization and developmental expression profiling of gibberellin signalling components in *Vitis vinifera*. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(5): 1463-1476
- [16] 王西成, 吴伟民, 房经贵, 钱亚明, 王晨, 宋长年, 赵密珍. 葡萄赤霉素受体基因 *VvGID1A* 的分离、亚细胞定位及表达分析. 园艺学报, 2013, 40(5): 839-848
- [17] 姜志昂, 彭建营, 孙建设. 苹果 *MdKS*、*MdKOA1* 基因克隆与表达分析. 植物遗传资源学报, 2014, 15(2): 362-368
- [18] 冯延芝, 张琳, 袁德义, 龙洪旭, 刘敏, 张日清, 陈圣林. 菲油果 *LEAFY* 基因的表达模式及启动子克隆. 植物遗传资源学报, 2014, 15(4): 831-837
- [19] Heng W, Yang J, Hou Z, Li F, Jia B, Liu P, Liu L, Ye Z, Zhu L. Characterization and expression analysis of *PbEXP* genes in the epidermis of pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). Plant Growth Regulation, 2018, 84: 1-9
- [20] Opazo M C, Lizana R, Stappung Y, Davis T M, Herrera R, Moya-Leon M A. XTHs from *Fragaria vesca*: genomic structure and transcriptomic analysis in ripening fruit and other tissues. BMC Genomics, 2017, 18: 852
- [21] Cui L, Li J, Zhang T, Guo Q, Xu J, Lou Q, Chen J. Identification and expression analysis of D-type cyclin genes in early developing fruit of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Molecular Biology Reporter, 2014, 32: 209-218
- [22] Ishimaru M, Smith D L, Gross K C, Kobayashi S. Expression of three expansin genes during development and maturation of Kyoho grape berries. Journal of Plant Physiology, 2007, 164: 1675-1682
- [23] Suzuki H, Oshita E, Fujimori N, Nakajima Y, Kawagoe Y, Suzuki S. Grape expansins, *VvEXPA14* and *VvEXPA18* promote cell expansion in transgenic *Arabidopsis* plant. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2015, 120(3): 1077-1085
- [24] Nicolas P, Lecourieux D, Gomès E, Delrot S, Lecourieux F. The grape berry-specific basic helix-loop-helix transcription factor *Vv-CEB1* affects cell size. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(4): 991-1003
- [25] Ariizumi T, Lawrence P, Steber C. The role of two F-Box proteins, *SLEEPY1* and *SNEEZY*, in *Arabidopsis* gibberellin signaling. Plant Physiology, 2011, 155: 765-775
- [26] Hartweck L M. Gibberellin signaling. Planta, 2008, 229: 1

欢迎订阅 2019 年《山西农业科学》

《山西农业科学》是山西省农业科学院主办的大农业学术性期刊, 中国科技核心期刊。主要栏目有: 生物技术、遗传育种、耕作栽培、生理生化、资源与环境、植物保护、畜牧兽医、贮藏与加工、农业经济、质量与安全、信息技术、文献综述等。主要读者对象为: 农业研究机构科研人员、农业院校师生、涉农部门农业技术推广工作者。

月刊, 每期定价 8.00 元, 全年 96.00 元。国内统一刊号 CN14-1113/S, 邮发代号 22-24。

地址: 太原市龙城大街 81 号

邮编: 030031

电话: 0351-7089783

E-mail: sxnykx@126.com

欢迎订阅 2019 年《天津农业科学》

《天津农业科学》是天津市农业科学院信息研究所主办的综合性学术期刊, 为美国化学文摘 CA 收录期刊、中国核心期刊 (遴选) 数据库收录期刊, 中国学术期刊综合评价数据统计源期刊, 全国优秀农业期刊。开设栏目有: 植物生理与生物技术、作物栽培与设施园艺、植物保护、土壤肥料与节水灌溉、畜牧兽医与水产养殖、园林绿化、贮藏加工、农产品安全、农业经济与信息技术、农业科研管理、三农问题研究、农业区划等。

月刊, 每期定价 5 元, 全年 60 元。国际刊号: ISSN 1006-6500, 国内刊号: CN: 12-1256/S。

地址: 天津市南开区白堤路 268 号农科大厦 1905 室

邮编: 300192

电话/传真: 022-23678601

E-mail: tjnykx@163.com

网址: tjnykx.paperopen.com