

矮牵牛 *PMADS9* 基因启动子的克隆及分析

郭余龙¹, 闫明旭^{1,2}, 陈君¹, 马婧¹, 李名扬¹

(¹西南大学园艺园林学院/南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆 400716; ²重庆城市管理职业学院, 重庆 401331)

摘要:矮牵牛 *PMADS9* 基因是 MADS-box 基因 AGL15 亚家族的成员。该亚家族基因可能具有调控开花时间、抑制花器官衰老脱落和促进体胚形成等功能。本文应用 YADE 和 hiTAIL-PCR 等方法, 克隆了 *PMADS9* 基因 5' 端翻译起始位点上游 1853bp 的启动子区域序列 (FJ798977); RACE 分析发现该基因至少有 4 个转录起始位点, 2 个位于编码区第一外显子内。启动子调控元件分析显示, *PMADS9* 启动子富集花粉和种子发育过程中特异表达元件和与环境应答相关的元件; AGL15 同源基因启动子存在非常保守的 RY-repeat 元件, 启动子的保守性与物种的遗传距离不一致; 推测 *PMADS9* 启动子翻译起始位点上游 200~400bp 和 800~1000bp 区域具重要功能。

关键词:矮牵牛; 启动子; *PMADS9*; 转录起始位点

Cloning and Characterization of the *PMADS9* Gene Promoter from Petunia

GUO Yu-long¹, YAN Ming-xu^{1,2}, CHEN Jun, MA Jing¹, LI Ming-yang¹

(¹Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions, Ministry of Education/ College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716;
²Chongqing City Management College, Chongqing 401331)

Abstract: Gene *PMADS9* is a member of the AGL15 subfamily in MADS-box genes. The *Arabidopsis* AGL15 subfamily genes have been reported to act as inhibitors of flower senescence, repressors of floral transition and enhancers of somatic embryo development. Using YADE method and hiTAIL-PCR, we isolated 1853bp sequences upstream of the putative translation start of the *PMADS9* gene from petunia. The results of 5'RLM-RACE analysis showed that the *PMADS9* gene has at least four TSSs, and two of them are located in the first exon. *Cis*-regulatory elements of the *PMADS9* promoter predicted by PLACE and PlantCARE are related with seed and pollen development and environmental response. Analysis of promoter sequences from AGL15-clade MADS-box genes by FootPrinter showed that very conserved RY-repeat motifs were exist among them, and the conversation of promoters between Solanaceae and the selected 5 species of Rosids is higher than that between Brassicaceae and the same selected species, even though Solanaceae is less closely related to Rosids than Brassicaceae. Furthermore, the results also suggested that regions of 200-400bp and 800-1000bp upstream of the ATG were functionally important.

Key words: Petunia; Promoter; *PMADS9*; Transcription start site

基因的表达是其功能实现的基础, 表达模式的变化是植物进化的动力。基因的表达模式主要由转录起始位点上游与转录调控因子结合的启动

子区域决定。对启动子的研究有助于认识植物多样性, 同时为利用生物技术改变基因的表达模式提供可能。

收稿日期: 2010-05-08 修回日期: 2010-11-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30671481)

作者简介: 郭余龙, 副研究员, 研究方向为生物技术与花卉育种。E-mail: yulong@swu.edu.cn

闫明旭 (并列第一作者), 讲师, 从事观赏植物生物学研究。E-mail: mingxuyan@163.com

通讯作者: 李名扬, 教授, 博导, 主要从事细胞工程与花卉育种研究。E-mail: limy@swu.edu.cn

矮牵牛 (*Petunia hybrida*) *PMADS9* 基因是 *AGL15* 亚家族的一员^[1]。拟南芥中 *AGL15* 亚家族有 *AGL15* 和 *AGL18* 两个成员。分析显示 *AGL15* 在种子发育过程中表达量高,种子萌发后的发育过程中有低水平的表达^[2-3]。

超量表达 *AGL15* 或 *AGL18* 能够提高合子胚产生次级胚、茎尖产生体胚的能力,并能使胚性愈伤组织长期维持体胚发生能力^[4-5],其转基因植株表现开花延迟、授粉受精后花萼花瓣宿存^[6-7]。对 *agl15agl18* 双突变体的分析也证实 *AGL15* 亚家族基因有调控开花时间和促进体胚发生的作用^[5,7]。矮牵牛是重要的观赏植物,在条件适宜时可周年开花,并且存在授粉受精后花萼宿存的现象,与拟南芥明显不同,推测 *PMADS9* 与拟南芥 *AGL15* 基因的功能可能存在差异。在研究 *PMADS9* 表达情况时发现,它在雌蕊中的表达量比种子中更高,与 *AGL15* 基因有差异。因此,本研究克隆了 *PMADS9* 启动子序列,对其转录调控元件及其与其他物种 *AGL15* 同源基因启动子的关系进行了分析。

1 材料与方法

1.1 *PMADS9* 启动子序列克隆及鉴定

植物材料为南方山地园艺教育部重点实验室选育的矮牵牛自交系 A01。取成株叶片用 CTAB 法提取基因组 DNA,经 RNA 酶处理、酚-氯仿多次抽提纯化。YADE (Y-shaped adaptor dependent extension, 依靠 Y 形接头延伸未知序列) 法和 hiTAIL-PCR (high-efficiency thermal asymmetric interlaced PCR, 高效热不对称 PCR) 的实验原理和操作流程参见文献^[8-9]。所有目的扩增产物经回收、克隆测序后,通过比较序列重叠来鉴定序列是否正确,然后根据重叠群两端的序列设计引物扩增全长序列、测序确认序列的正确性。

1.2 *PMADS9* 转录起始位点的鉴定

通过 5'RLM-RACE (RNA ligase-mediated rapid amplification of cDNA ends) 确认转录起始位点 (TSS, transcription start site), 具体操作按 GeneRacer™ 试剂盒 (Invitrogen) 的说明进行。用成株矮牵牛各器官提取的总 RNA 混合样 3 μg 进行 RACE 反转录操作,取 1 μl RACE cDNA 作模板进行 PCR 扩增。

1.3 *PMADS9* 启动子转录元件分析

应用在线分析工具 PLACE (<http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/>) 和 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 对启

动子序列进行分析,寻找转录调控元件。

1.4 *AGL15* 直向同源基因启动子序列的获取及系统发育足迹分析

矮牵牛 *PMADS9* 启动子序列来自本研究;拟南芥^[2-3]、油菜^[2-3]、毛果杨^[10]、番茄^[11]和葡萄^[12]等物种的基因编码区和上游调控区序列根据文献报道的登录序列结合对相应数据库的搜索获取。黄瓜,番木瓜和木薯的序列从 phytozome 数据库 (<http://www.phytozome.net/>) 中获取。具体步骤为,先以 AtAGL15 蛋白质序列在 phytozome 中对双子叶植物各物种预测的蛋白质逐一进行 BLASTP 搜索,每种物种获取同源性最高的 4 条序列,再将这些序列与拟南芥的 MADS-box 基因进行初步的进化树分析,然后选取 *AGL15* 亚家族基因做进一步分析,确认 *AGL15* 的直向同源基因,并从 phytozome 获取这些基因的上游调控序列。每个基因取翻译起始位点上游 1.2 kb 启动子序列 (*BnAGL15.1* 为 986 bp; *BnAGL15.2* 为 1069 bp)。进行 FootPrinter^[13] 分析时,“Subregion size” 设为 100 bp,“Subregion change cost” 设为 1;元件长度 (motif size) 和允许的突变数 (maximum number of mutations) 据不同数据组进行调整。

2 结果与分析

2.1 序列克隆

用矮牵牛 *PMADS9* 基因序列 (AY370526) 在 NCBI 网站对 nr 数据库进行 blastn 搜索,发现登录序列 AY370510 含有一段 *PMADS9* 基因的 5' 端上游序列,但这段序列仅包含了从翻译起始密码子开始的 539 bp 序列,比通常认为的植物基因的启动子短。因此,设计合成了用 YADE 法进行染色体步移的引物,用 *EcoRI*、*EcoRV* 和 *BamHI* 分别酶切矮牵牛基因组 DNA,并与相应的接头连接,然后进行 PCR 扩增,经两轮 PCR 反应后,用 *EcoRV* 或 *BamHI* 酶切连接接头的模板没有理想的扩增带,而用 *EcoRI* 酶切后扩增出约 800 bp 的条带 (图 1A)。回收该条带,测序表明序列的 3' 端与预期的序列吻合。随后,在拼接序列的两端设计引物进行 PCR 扩增,进一步验证延伸出去的序列是 5' 端上游序列。经过 YADE 步移后,获得了 *PMADS9* 翻译起始位点上游共 1053 bp 序列。由于此长度依然较短,继续用 YADE 步移遇到困难,用 hiTAIL-PCR 进行了进一步延伸。

经 3 轮扩增后,引物 LAD1-1、LAD1-2 和 LAD1-3 分别与特异引物配对扩增都得到明显的扩增带

(图 1B),分别回收 LAD1-2 和 LAD1-3 的扩增产物,测序结果表明 LAD1-2 的产物不是目的扩增产物, LAD1-3 的扩增序列能与已知序列拼接。随后根据延伸得到的序列设计上游引物,据 ORF 区序列设计

下游引物,PCR 扩增 25 循环后得到一条约 2kb 的条带(图 1C),克隆测序表明,该片段 1994bp,含推测的翻译起始位点上游 1853bp 序列(图 2)。序列已在 GenBank 中登录,登录号为 FJ798977。

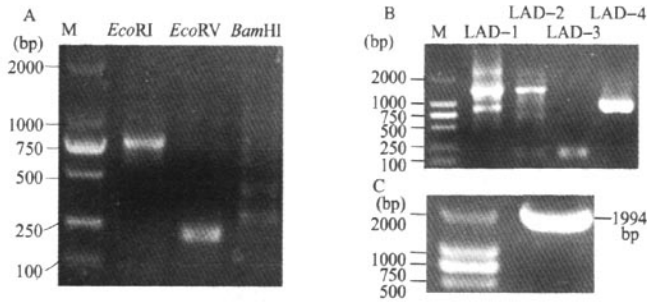


图 1 *PMADS9* 基因启动子克隆

Fig. 1 Cloning of the *PMADS9* gene promoter

A: YADE 法扩增 5' 端上游序列, B: hiTAIL-PCR 扩增 5' 端上游序列, C: 全长启动子序列扩增

A: Amplification of the 5'-upstream sequence by YADE method, B: Amplification of the 5'-upstream sequence by hiTAIL-PCR, C: Amplification of the full length promoter

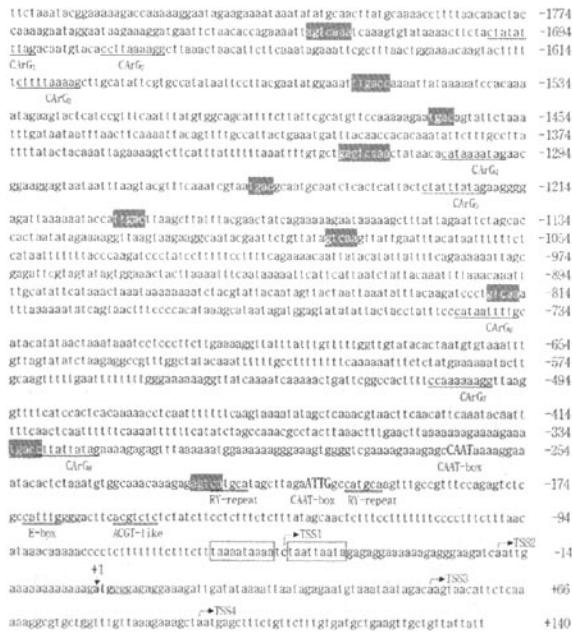


图 2 矮牵牛 *PMADS9* 基因启动子序列

Fig. 2 The promoter sequence of the *PMADS9* gene from *Petunia hybrid*

推测的翻译起始位点标记为 +1, TSS 指示 5' RLM-RACE 确定的转录起始位点。图中只标示了 PLACE 预测的部分元件。

方框内为可能的 TATA-box 所在位置, CAAT-box 标记为大写字母, W-box 用阴影显示, 其余元件用文字在图中标明

Nucleotides are numbered on the right, with the putative translation start site designated as +1. The transcriptional start sites (TSS)

determined by 5' RLM-RACE are marked with bent arrows. Only parts of functional elements predicted by PLACE are showed;

the potential TATA-box regions in box, the CAAT-boxes by uppercase letters, the W-boxes in shadow, and others indicated in the figure

2.2 *PMADS9* 转录起始位点分析

为确定 *PMADS9* 的转录起始位点(TSS), 本研

究进行了 5' RLM-RACE 扩增(图 3)。将目的片段克隆后, 挑取 6 个克隆进行序列测定。测序结果表

明: *PMADS9* 至少有 4 个 TSS, 分别位于推测的翻译起始位点上游 51bp (TSS1), 18bp (TSS2) 和下游 53bp (TSS3), 97bp (TSS4) 处 (图 2), 两个起始位点位于第一外显子区。长期以来, 只有具有最长 5' 端的 cDNA 被假定为真正的全长转录本, NCBI 在构建 RefSeq 数据库时也是这样。但最近对哺乳动物和拟南芥等物种启动子的详细研究显示, 一个基因常有多个启动子, 一个启动子又常具有多个 TSS 形成一簇, 在不同组织中, TSS 是选择性使用的^[14-15]。另一方面, 5' RLM-RACE 是获得真正全长 cDNA 序列公认的传统方法。因此, 测定的这 4 个 TSS 可能代表了 *PMADS9* 基因转录起始的真实情况。

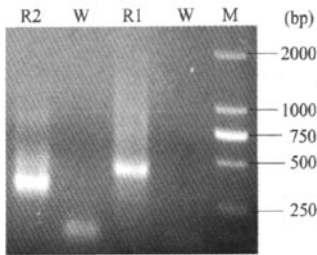


图 3 *PMADS9* 基因 5'RACE 扩增结果

Fig. 3 5'RACE amplification of the *PMADS9*

gene from *Petunia hybrid*

M: DNA 分子量标记, R1: 第 1 轮 PCR 扩增, R2: 第 2 轮 PCR 扩增, W: 水对照; M: Marker, R1: External round of PCR, R2: Internal round, W: Water control

RACE 结果表明, *PMADS9* 有基因内部转录起始位点 (TSS3 和 TSS4) 存在, 从这两位点起始的转录产物若无选择性剪接, 是不可能翻译成蛋白的。这两位点的使用是否具有组织特异性, 以及转录产物是否具有某种调控功能是令人感兴趣的。拟南芥和哺乳动物也有大量的外显子内转录起始位点, 它

们多出现在那些表达量高、特异性表达的基因中, 可能产生一类新的功能尚不清楚的 mRNA^[14-15]。目前, 关于此现象的研究报道尚不多见。

2.3 *PMADS9* 启动子上游调控元件分析

将克隆的翻译起始位点上游的序列提交 PLACE 和 PlantCARE 进行在线分析, 结果表明 TSS2 上游 33bp 前后的两段 T/A 富集区 (图 2) 包含多个已报道过的其他物种基因的 TATA-box 序列, 但在 TSS1 上游 100bp 内没有与 TATA-box 序列相似的区域, 可能有其他转录起始机制存在。CAAT 盒是一个植物启动子中常见的元件, 通常位于 TSS 上游 80 ~ 300bp 处^[16]。克隆的 *PMADS9* 启动子中, 在上游距 TSS1 156bp 和 214bp 处各有一个 CAAT 元件, 它们可能促进转录起始 (图 2)。

PLACE 分析表明, *PMADS9* 基因 5' 调控区至少有 8 个潜在的 MADS 蛋白结合位点 CArG (C-A/T-rich-G), 其中 2 个是规范的 CC-(A/T)₆-GG 型 (CArG₂ 和 CArG₇, 图 2), 6 个是 *AGL15* 偏好结合的 C-(A/T)₈-G 型^[17]。拟南芥 *AGL15* 基因 5' 调控区有 3 个 CArG, 两个为 C-(A/T)₈-G 型, 它们与 *AGL15* 结合, 自主调节 *AGL15* 的表达水平^[3]。共同具有的 CArG 元件暗示, *AGL15* 亚家族基因在不同物种中具有相同的反馈调节模式, 表达水平自主调节。

除上述元件外, PLACE 在线预测还表明, *PMADS9* 启动子存在大量种子和花粉发育过程中表达所需的调控元件, 以及与环境应答反应有关的顺式调控元件, 如: W-box (10 个, 图 2)、光应答元件、GT-1、ARR1、与干旱和病原菌感染等生物或非生物胁迫反应相关的其他元件等; 从真双子叶 C₃ 植物鉴定的元件统计结果见表 1。运用 PlantCARE 数据库预测的结果与 PLACE 的有相同的趋势。

表 1 PLACE 和 PlantCARE 预测的 *PMADS9* 启动子上游调控元件

Table 1 Regulatory elements of the *PMADS9* promoter predicted by PLACE and PlantCARE

位点功能 Function of site	环境应答 Environmental aresponsive			激素应答 Hormone responsive	组织特异性 Tissue specific			其他 Others
	光 Light	逆境 Stress	一般性应答* General response		花粉 Pollen	种子 Seed	其他 Others	
PLACE	27	42	47	6	26	16	8	8
PlantCARE	21	14		5		5		2

* 一般性应答元件与光、多种逆境环境应答等途径有关

The general response factors are those involved putatively in more than one response path

2.4 *AGL15* 直向同源基因启动子分析

由于转录因子结合位点 (TFBS) 通常较短 (5 ~ 12bp), 且能允许 1bp 甚至更多的碱基变异而不丧失其功能, 利用 PLACE 和 PlantCARE 对启动子序列

扫描常可发现上百个潜在的“TFBS”, 但其中多数并不具备生物学功能^[18]。与序列扫描互补的一个预测启动子中 TFBS 的方法是系统发育足迹法 (phylogenetic footprinting), 该方法认为启动子中的 TBS 序

列在自然选择中更加保守,那些在直向同源基因的调控区序列中保守的区域可能对启动子发挥调控功能是很重要的^[13]。因此,为了鉴定 *PMADS9* 启动子中重要的元件和区域,利用 FootPrinter 对 *AGL15* 直向同源基因启动子序列进行了分析。

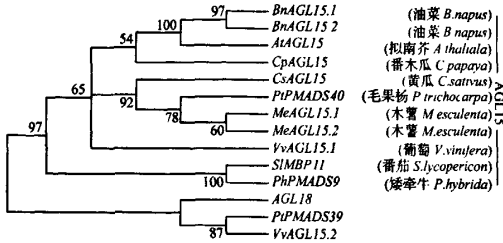


图 4 *AGL15* 亚家族基因进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of plant *AGL15* subfamily genes

取全长氨基酸序列使用 MEGA4.1 软件进行分析,比对采用 ClustalW,建树用邻接法,参数皆为默认值。500 次重复自展值大于 50% 的标示在节点处

经文献检索和数据库搜索后选取了亲缘关系远近不同的 9 个物种的 11 个 MADS-box 基因,它们可靠地与 *AGL15* 聚于一支(图 4),这些基因编码区序列的进化关系与来源物种间的亲缘关系(据 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>)基本一致。FootPrinter 分析发现:这 11 个启动子中都有 1 个长度为 9bp 的保守元件,而当长度设定为 8bp 时则增加至 4 个(图 5a)。在遗传距离较远的 9 个物种的同源基因都存在保守的超过 8bp 长度的元件暗示,这些元件在基因表达调控中发挥重要作用。这几个元件主要分布在近翻译起始位点 200~400bp 区间。分析这几个元件的序列发现,它们都有 CATGCA 序列,即“RY repeat”元件,它是种子发育过程中特异表达所需的元件^[19]。

为了进一步分析不同物种 *AGL15* 直向同源基因启动子区元件的保守性,首先将所有的启动子序列一对一配组分析,将元件长度设为 12bp,每元件允许的突变数为 1 或 2 bp。发现启动子的保守性与物种遗传距离间有时是不一致的。例如,当允许的突变数为 1 时,木薯的两个基因 *MeAGL15.1* 和 *MeAGL15.2* 的启动子之间有 85 个保守元件,是所有配组中最高的;但油菜 *BnAGL15.1* 和 *BnAGL15.2* 的启动子的保守元件(34 个)却低于番茄 *SIMBP11* 与矮牵牛 *PMADS9*(57 个)、杨树 *PMADS40* 与木薯 *MeAGL15.2*(49 个)以及番木瓜 *CpAGL15* 与番茄 *SIMBP11*(48 个)等不同属间和更远亲缘关系物种间的数目。另外,油菜/拟南芥—杨树/番木瓜/木薯/黄瓜/葡萄

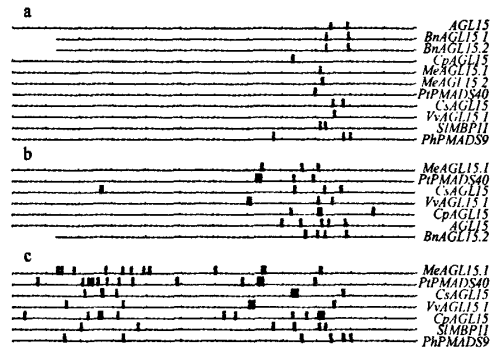


图 5 FootPrinter 鉴定的 *AGL15* 直向同源基因启动子的保守元件

Fig. 5 Conserved motifs detected by FootPrinter in the promoters of *AGL15* orthologous genes

a: 所有 11 个启动子中存在的保守元件;

b: 蔷薇分支物种翻译起始位点上游 200~400bp 区域保守;

c: 茄科和蔷薇分支非十字花科物种在翻译起始位点上游 200~400bp 和 800~1000bp 两区域保守

启动子间的保守元件平均数为 18 个,低于番茄/矮牵牛—杨树/番木瓜/木薯/黄瓜/葡萄间的 28 个,但前者同属蔷薇分支(rosids),它们之间的距离比后者更近。当允许的突变数为 2 bp 时,保守元件的数目大为增加,有的启动子间共有元件数超过了 FootPrinter 在线分析系统的上限,但遗传距离与启动子间保守性的关系与允许的突变数为 1 时相似。

由于发现以上十字花科和茄科物种间启动子的差异,将蔷薇分支中十字花科两物种的启动子置换成茄科两物种进行对比分析,为了保证两组数据中启动子序列总数的一致,每物种只取一个基因的启动子序列。当元件的长度设为 9,允许突变为 2 时,蔷薇分支 7 物种基因的启动子在距翻译起始位点 200~400bp 区间有较多的保守元件(图 5b)。而将蔷薇分支中十字花科两物种换成茄科两物种后,7 物种的启动子在翻译起始位点上游 200~400bp 和 800~1000bp 两区域皆有保守元件(图 5c)。

3 讨论

由于园艺作物所涉及的性状和种类相当丰富,研究者感兴趣的大多数物种尚难在近期内完成全基因组测序,通过已知序列克隆旁邻序列的技术对园艺植物分子生物学研究具有重要价值。本研究采用了两种技术以获得 *PMADS9* 基因启动子序列。YADE 法是一种改进的接头 PCR 技术^[8],该技术虽然使得扩增的特异性有所提高,但由于接头 PCR 技术需要进行酶切和连接反应,对 DNA 的质量要求较高,操

作步骤较多,更重要的是其使用成功率受序列中酶切位点的限制。克隆全长序列后分析,实验中没能用该方法实现二次步移可能就是由于选用的内切酶不合适。TAIL-PCR 是一种仅仅进行 PCR 就可克隆已知序列旁邻区的技术,操作简单^[20],模板 DNA 只需用常规方法提取即可。最近经过改进后的 hiTAIL-PCR 抑制了短片段的扩增,进一步提高了扩增效率^[9],应用该方法成功实现了 *PMADS9* 启动子的二次步移。hiTAIL-PCR 是克隆已知序列旁邻区的较为有效的方法。

研究真双子叶植物 AP3 亚家族 MADS-box 基因启动子时发现,当分析的启动子数超过 4 时就不能发现长度超过 8bp 的共有保守元件^[10]。对 9 物种的 11 个 *AGL15* 直向同源基因启动子的分析显示,它们之间都在近翻译起始位点 200 ~ 400bp 区间存在长度超过 8bp 的保守元件,这说明这几个元件是相当保守的,它们可能具有进化意义,对基因功能及其相关的物种适应性是必需的;这几个保守元件都包含 CATGCA (RY-repeat) 序列。研究表明,2 个 RY-like 与 1 个 ACGT-like 组合是双子叶植物种子贮藏蛋白基因调控区的保守模式^[19];拟南芥中,LEC2 蛋白结合 *AGL15* 启动子中的两个 RY-repeat,调控 *AGL15* 基因的表达^[21]。因此,*PMADS9* 启动子序列中的两个 RY-repeat 可能对 *PMADS9* 的功能是必需的;它们可能与下游的两个与之相关的 E-box 和 ACGT-like 元件(图 2)一起共同调控 *PMADS9* 在种子发育过程中的表达。对启动子中保守元件的分析表明,茄科植物 *AGL15* 直向同源基因启动子与非十字花科蔷薇分支物种的距离更近,它们在 200 ~ 400bp 和 800 ~ 1000bp 两区域皆有保守元件。对 MADS-box 基因表达谱的研究也发现,番茄和葡萄 *AGL15* 直向同源基因有相似的表达模式,在花和果实发育过程中表达量高^[11-12],因此,*PMADS9* 启动子 800 ~ 1000bp 区域的功能是值得注意的。

参考文献

- [1] Vandenbussche M, Zethof J, Souer E, et al. Toward the analysis of the petunia MADS box gene family by reverse and forward transposon insertion mutagenesis approaches: B, C, and D floral organ identity functions require *SEPALLATA*-like MADS box genes in petunia [J]. *Plant Cell*, 2003, 15: 2680-2693
- [2] Heck G R, Perry S E, Nichols K W, et al. AGL15, a MADS domain protein expressed in developing embryos [J]. *Plant Cell*, 1995, 7: 1271-1282
- [3] Zhu C, Perry S E. Control of expression and autoregulation of *AGL15*, a member of the MADS-box family [J]. *Plant J*, 2005, 41: 583-594
- [4] Harding E W, Tang W, Nichols K W, et al. Expression and maintenance of embryogenic potential is enhanced through constitutive expression of *AGAMOUS-like 15* [J]. *Plant Physiol*, 2003, 133: 653-663
- [5] Thakare D, Tang W, Hill K, et al. The MADS-domain transcriptional regulator *AGAMOUS-LIKE 15* promotes somatic embryo development in Arabidopsis and Soybean [J]. *Plant Physiol*, 2008, 146: 1663-1672
- [6] Fernandez D E, Heck G R, Perry S E, et al. The embryo MADS domain factor AGL15 acts postembryonically: inhibition of perianth senescence and abscission via constitutive expression [J]. *Plant Cell*, 2000, 12: 183-197
- [7] Adameczyk B J, Lehti-Shiu M D, Fernandez D E. The MADS domain factors *AGL15* and *AGL18* act redundantly as repressors of the floral transition in Arabidopsis [J]. *Plant J*, 2007, 50: 1007-1019
- [8] 肖月华, 罗明, 方为国, 等. 利用 YADE 法进行棉花基因组 PCR 步行 [J]. *遗传学报*, 2002, 29: 62-66
- [9] Liu Y G, Chen Y L. High-efficiency thermal asymmetric interlaced PCR for amplification of unknown flanking sequences [J]. *Bio Tech*, 2007, 43: 649-656
- [10] Bodt S D, Theissen G, de Peer Y V. Promoter analysis of MADS-box genes in eudicots through phylogenetic footprinting [J]. *Mol Biol Evol*, 2006, 23(6): 1293-1303
- [11] Hileman L C, Sundstrom J F, Litt A, et al. Molecular and phylogenetic analyses of the MADS-box gene family in tomato [J]. *Mol Biol Evol*, 2006, 23: 2245-2258
- [12] Díaz-Riquelme J, Lijavetzky D, Martínez-Zapater J M, et al. Genome-wide analysis of MIKCC-type MADS box genes in grapevine [J]. *Plant Physiol*, 2009, 149: 354-369
- [13] Blanchette M, Tompa M. FootPrinter: a program designed for phylogenetic footprinting [J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31: 3840-3842
- [14] Carninci P, Sandelin A, Lenhard B, et al. Genome-wide analysis of mammalian promoter architecture and evolution [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(6): 626-635
- [15] Yamamoto Y Y, Yoshitau T, Sakurai T, et al. Heterogeneity of Arabidopsis core promoters revealed by high-density TSS analysis [J]. *Plant J*, 2009, 60: 350-362
- [16] Edwards D, Murray J A H, Smith A G. Multiple genes encoding the conserved CCAAT-box transcription factor complex are expressed in Arabidopsis [J]. *Plant Physiol*, 1998, 117: 1015-1022
- [17] Tang W, Perry S E. Binding site selection for the plant MADS domain protein AGL15 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 28154-28159
- [18] Wray G. A., Hahn M W, Abouheif E, et al. The evolution of transcriptional regulation in eukaryotes [J]. *Mol Biol Evol*, 2003, 20: 1377-1419
- [19] Fauteux F, Strömvik M V. Seed storage protein gene promoters contain conserved DNA motifs in Brassicaceae, Fabaceae and Poaceae [J]. *BMC Plant Biol*, 2009, 9: 126-136
- [20] Liu Y G, Whittier R F. Thermal asymmetric interlaced PCR: automatable amplification and sequencing of insert end fragments from *PI* and *YAC clones* for chromosome walking [J]. *Genomics*, 1995, 25: 674-681
- [21] Braybrook S A, Stone S L, Park S, et al. Genes directly regulated by *LEAFY COTYLEDON2* provide insight into control of embryo maturation and somatic embryogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 3468-3473

矮牵牛PMADS9基因启动子的克隆及分析

作者: 郭余龙, 闫明旭, 陈君, 马婧, 李名扬, GUO Yu-long, YAN Ming-xu, CHEN Jun, MA Jing, LI Ming-yang
作者单位: 郭余龙, 陈君, 马婧, 李名扬, GUO Yu-long, CHEN Jun, MA Jing, LI Ming-yang (西南大学园艺园林学院/南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆, 400716), 闫明旭, YAN Ming-xu (西南大学园艺园林学院/南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆, 400716; 重庆城市管理职业学院, 重庆, 401331)
刊名: 植物遗传资源学报 **ISTIC** **PKU**
英文刊名: JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES
年, 卷(期): 2011, 12(2)

参考文献(21条)

1. Edwards D;Murray J A H;Smith A G Multiple genes encoding the conserved CCAAT-box transcription factor complex are expressed in Arabidopsis[外文期刊] 1998(3)
2. Yamamoto Y Y;Yoshitsugu T;Sakurai T Heterogeneity of Arabidopsis core promoters revealed by high-density TSS analysis[外文期刊] 2009
3. Carninci P;Sandelin A;Lenhard B Genome-wide analysis of mammalian promoter architecture and evolution[外文期刊] 2006(06)
4. Blanchette M;Tompa M FootPrinter:a program designed for phylogenetic footprinting[外文期刊] 2003(13)
5. Díaz-Riquelme J;Lijavetzky D;Martínez-Zapater J M Genome-wide analysis of M1KCC-type MADS box genes in grapevine 2009
6. Braybrook S A;Stone S L;Park S Genes directly regulated by LEAFY COTYLEDON2 provide insight into control of embryo maturation and somatic embryogenesis[外文期刊] 2006
7. Liu Y G;Whittier R F Thermal asymmetric interlaced PCR:automatable amplification and sequencing of insert end fragments from P1 and YAC clones for chromosome walking[外文期刊] 1995
8. Hileman L C;Sundstrom J F;Litt A Molecular and phylogenetic analyses of the MADS-box gene family in tomato[外文期刊] 2006(11)
9. Bodt S D;Theissen G;de Peer Y V Promoter analysis of MADSbox genes in eudicots through phylogenetic footprinting[外文期刊] 2006(06)
10. Fauteux F;Str(O)mvik M V Seed storage protein gene promoters contain conserved DNA motifs in Brassicaceae, Fabaceae and Poaceae[外文期刊] 2009
11. Wray G A;Hahn M W;Abouheif E The evolution of transcriptional regulation in eukaryotes[外文期刊] 2003(9)
12. Tang W;Perry S E Binding site selection for the plant MADS domain protein AGL15[外文期刊] 2003
13. Heck G R;Perry S E;Nichols K W AGL15, a MADS domain protein expressed in developing embryos[外文期刊] 1995
14. Vandenbussche M;Zethof J;Souer E Toward the analysis of the petunia MADS box gene family by reverse and forward transposon insertion mutagenesis approaches:B,C, and D floral organ identity functions require SEPALLATA-like MADS box genes in petunia[外文期刊] 2003(11)
15. Liu Y G;Chen Y L High-efficiency thermal asymmetric interlaced PCR for amplification of unknown

flanking sequences 2007

16. 肖月华;罗明;方为国 利用YADE法进行棉花基因组PCR步行[期刊论文]-遗传学报 2002(1)
17. Adamczyk B J;Lehti-Shiu M D;Fernandez D E The MA DS domain factors AGL15 and AGL18 act redundantly as repressors of the floral transition in Arabidopsis[外文期刊] 2007(6)
18. Fernandez D E;Heck G R;Perry S E The embryo M ADS domain factor AGL15 acts postembryonically:inhibition of perianth senescence and abscission ia constitutive expression[外文期刊] 2000
19. Thakare D;Tang W;Hill K The MADS-domain transcriptional regulator AGAMOUS-LIKE 15 promotes somatic embryo development in A rabidopsis and Soybean[外文期刊] 2008
20. Harding E W;Tang W;Nichols K W Expression and maintenance of embryogenic potential is enhanced through constitutive expression of AGAMOUS-like 15[外文期刊] 2003(2)
21. Zhu C;Perry S E Control of expression and autoregulation of A GL15,a member of the MADS-box family 2005

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201102017.aspx