

TcLr45 凝集素类受体蛋白激酶基因克隆与序列分析

刘春燕^{1,2}, 魏学军¹, 张娜¹, 郭楠¹, 杨文香¹, 闫红飞¹, 刘大群¹

(¹ 河北农业大学植物病理系/河北省农作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 保定 071001; ² 河北北方学院动物科技学院, 张家口 075131)

摘要: 在小麦抗叶锈近等基因系 TcLr45 中, 扩增出一条凝集素类受体蛋白激酶基因片段。以该序列为靶序列, 进行 3' 和 5' RACE-PCR, 获得该基因 cDNA 全长片段为 2347 bp, 该序列具有完整的开放阅读框, 共编码 730 个氨基酸, 命名为 *LecRK-LR45*。经软件分析, *LecRK-LR45* 具有典型的凝集素类受体蛋白激酶结构, 属于 L 类型。聚类分析结果表明, *LecRK-LR45* 与山羊草和小麦抗叶锈近等基因系 TcLr34 中的凝集素类受体蛋白激酶基因具有较近的亲缘关系, 与玉米、拟南芥的亲缘关系较远。该基因的克隆为研究小麦中凝集素类受体蛋白激酶的功能奠定了基础。

关键词: 小麦; 凝集素类受体蛋白激酶 (LecRKs); TcLr45; RACE

Cloning and Sequence Analysis of Lectin-like Receptor Kinases Gene in TcLr45

LIU Chun-yan^{1,2}, WEI Xue-jun¹, ZHANG Na¹, GUO Nan¹, YANG Wen-xiang¹, YAN Hong-fei¹, LIU Da-qun¹

(¹ Department of Plant Pathology, Agricultural University of Hebei / Biological Control Center for Plant Diseases and Plant Pests of Hebei Province, Baoding, 071001; ² College of Animal Science, Hebei North University, Zhangjiakou 075131)

Abstract: A fragment of lectin-like receptor kinases gene was amplified in wheat leaf rust near-isogenic line TcLr45. The full length cDNA was 2347bp, which obtained using 3' and 5' RACE-PCR, basing on the target sequence. This sequence had a full open reading frame (ORF), encoding 730 amino acids, named as *LecRK-LR45*. The *LecRK-LR45* had a typical structure of lectin-like receptor kinases and belonged to L type. Cluster analysis result indicated that *LecRK-LR45* had a closer genetic relationship with lectin-like receptor kinases gene of *Aegilops tauschii* and wheat (TcLr34), and farther with maize and *arabidopsis*. The cloning of this gene lied a foundation for researching the function of lectin-like receptor kinases in wheat.

Key words: Wheat; Lectin-like receptor kinases (LecRKs); TcLr45; RACE

植物蛋白激酶是由 250 ~ 300 个氨基酸残基组成的蛋白质域, 其磷酸化过程被证实参与到许多信号转导中, 包括光、病原体的入侵、高盐、激素、干旱、营养匮乏及低温分子应答等, 此外一些植物的新陈代谢和酶的调节, 也存在可逆磷酸化^[1]。随着植物蛋白激酶的不断发现, 其分类也在不断变化。目前, D. Melissa 等^[2]将植物蛋白激酶分为 AGC 家族、CAMK 家族、CK1 家族、CMGC 家族、STE 家族以及

其他类型家族。

植物类受体蛋白激酶 (RLKs, receptor-like protein kinases) 是由胞外结构域、跨膜结构域和胞内激酶域组成的蛋白质^[3]。大多数 RLK 定位在细胞质膜上^[4], 但胞质类受体激酶 (RLCK, receptor like cytoplasmic kinase) 亚族中的一些激酶定位于细胞质中^[5]。该类蛋白激酶参与植物生长发育以及对环境应答反应中的多种信号传导过程, 在植物的生命

收稿日期: 2012-08-15 修回日期: 2012-12-20 网络出版日期: 2013-04-02

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130402.1735.012.html>

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (2013CB127700); 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (200903035); 教育部博士点基金 (2010130212005); 河北省留学人员科技活动项目择优资助项目 (20120340); 河北省教育厅自然科学基金 (2011144)

作者简介: 刘春燕, 助教, 研究方向: 分子植物病理学。E-mail: LCY19850222@126.com

通信作者: 闫红飞, 副教授, 研究方向: 分子植物病理学。E-mail: Hongfeiyang2006@163.com

刘大群, 教授, 研究方向: 分子植物病理学。E-mail: ldq@hebau.edu.cn

活动过程中起重要作用^[6]。Y. Z. Haffani 等^[7]根据 RLKs 胞外结构域的不同将 RLKs 分为 15 类,包括 CRINKLY4-like、C-type lectin-like、CrRLK1-like、DUF26-like、extensin-like、legume (L)-lectin-like、LR10-like、LRR-like、LysM-like、PERK-like、RKF3-like、S-domain-like、thaumatin-like、URK1-like 和 WAK-like。

植物凝集素 (Lectin) 为含有一个或多个可与单糖或寡聚糖特异可逆结合的非催化结构域的植物蛋白^[8]。目前已经分离了几百种凝集素^[9]。C. Herve 等^[10]在拟南芥中发现具有胞外凝集素类结构的植物受体蛋白激酶,命名为凝集素类受体蛋白激酶 (LecRKs, lectin-like receptor kinases), LecRKs 与植物类受体蛋白激酶有类似结构,胞外的凝集素区域可与多种糖类相结合。A. Barre 等^[11]将凝集素类受体蛋白激酶分为 A、B、C 3 个类型。K. Bouwmeester 等^[12]根据胞外凝集素区域结构的不同,将 LecRKs 分为 G 型、C 型和 L 型。L 型凝集素类受体蛋白激酶胞外结构,类似于可溶解的豆类凝集素,推测该类凝集素类受体蛋白激酶的配体可能为低聚糖^[13]。目前所知,大多数的 LecRKs 都为 L 型,与 Barre 分类中的 B 型为同一类型。

LecRKs 在生物进程中的功能研究已明确:拟南芥中 *SGC* 可导致雄性不育,影响花粉生长^[14]; *LecRK-a1* 基因加速植物细胞壁的分裂。在蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula*) 中的 *MtLecRK1;1* 基因影响植物的结瘤作用^[15]。抗水稻稻瘟病 *Pi-d2* 基因编码 B 类凝集素类受体蛋白激酶^[16]; 从烟草中分离了 3 个 *NtlecRK*^[17], 能被激发子 (elicitor) 诱导; 在对水稻细菌性条斑病的研究中, 获得了凝集素激酶基因 *OsLecRK1*^[18]。

目前对于小麦中凝集素类受体蛋白激酶基因的报道较少, 仅在已克隆的小麦抗叶锈基因 *Lr34* 的序列中发现包含凝集素类受体蛋白激酶基因^[19], 其功能验证尚未见报道。本研究利用 *Lr34* 中凝集素类受体蛋白激酶基因序列设计引物, 以小麦抗叶锈近等基因系 TcLr45 为材料, 获得 TcLr45 中凝集素类受体蛋白激酶基因的部分片段, 再通过 RACE 技术获得凝集素类受体蛋白激酶基因的全长序列, 为该基因在小麦中功能作用的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

小麦抗叶锈近等基因系 TcLr45, 由河北农业大

学小麦锈病研究室提供。

1.2 方法

1.2.1 小麦总 RNA 的提取以及 cDNA 第 1 条链的合成 小麦 1 叶 1 心期时, 使用天根生化科技 (北京) 有限公司的 RNAPrep pure 植物总 RNA 提取试剂盒 (RNAPrep pure plant kit), 提取高质量的叶片总 RNA。用 1.2% 非变性琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的完整性, 紫外检测仪检测琼脂糖凝胶电泳结果。

cDNA 第 1 条链合成反应体系及程序参照 M-MLV 反转录酶 (TaKaRa 公司) 说明书。

1.2.2 TcLr45 中凝集素类受体蛋白激酶基因片段的获得 依据被克隆的小麦抗叶锈基因 *Lr34* 的凝集素类受体蛋白激酶基因序列 (gb | FJ436983), 利用软件 Primer 3.0 设计引物 LR45JM-R (5' - GATG-GAGCTTCAGCTTGGA - 3') LR45JM - F (5' - GT-GCCGAGCACAAC AAACCTA - 3')。反应体系 20 μ L, 包括 cDNA 模板 1 μ L, 10 \times Taq Buffer 2 μ L, 引物 (5 μ mol) 各 0.5 μ L, dNTPs (10 mmol) 0.5 μ L, 补水至 20 μ L。反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 56 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 8 min; 10 $^{\circ}$ C 保存。1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。

1.2.3 RACE 技术获得全长 cDNA

1.2.3.1 特异引物的设计 利用引物设计软件 Primer 5.0, 根据已获得的 TcLr45 中的凝集素类受体蛋白激酶基因的片段为靶序列, 严格按照 RACE 特异引物所需的要求, 设计 3'RACE 和 5'RACE 引物 (表 1)。

表 1 RACE 引物

Table 1 RACE Primers

引物名称 Primers name	引物序列 (5' - 3') Primers sequences
3'RACE1	GCACTATGGGATACCTCGCACCAGAAGT
3'RACE2	CCAGAACTTGTACGCACTGGGAAGG
5'RACE1	CCAGATTCTGTGGCGGAGACGACC
5'RACE2	CAAAGAAGGAGGCGGCAGCTAGCAC

1.2.3.2 RACE-PCR 参照 SMARTTM RACE cDNA Amplification Kit (Clontech 公司) 的使用说明书, 将所提取高质量的 RNA 反转录成 RACE cDNA。利用 BD AdvantageTM 2 PCR Enzyme System 和试剂盒中提供的 10 \times Universal Primer A Mix (UPM)

引物,以及所设计的特异引物分别以 5'RACE cDNA 和 3'RACE cDNA 为模板进行 PCR 扩增。扩增程序按照经典的 Touchdown-PCR 或巢式-PCR 进行。扩增产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

Touchdown-PCR: 94 °C 30 s, 72 °C 3 min, 5 个循环; 94 °C 30 s, 70 °C 30 s, 72 °C 3 min, 5 个循环; 94 °C 30 s, 68 °C 30 s, 72 °C 3 min, 25 个循环; 10 °C 保存。

巢式-PCR: 95 °C 1 min; 95 °C 30 s, 66 °C 3 min, 31 个循环; 68 °C 10 min; 10 °C 保存。以第 1 轮的扩增产物为模板(适量稀释),使用嵌套引物进行第 2 轮扩增,68 °C 退火,其程序与第 1 轮扩增相同。

1.2.4 凝集素类受体蛋白激酶基因生物信息学分析 将所获得的凝集素类受体蛋白激酶全长 cDNA 进行生物学分析,利用 NCBI(national center for biotechnology information) BLASTn 进行序列比对分析; DNAMAN 进行聚类分析; SMART 软件 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 进行蛋白结构分析; TM-HMM Server v. 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 进行跨膜结构推测; ProtScale 软件 (<http://web.expasy.org/protscale/>) 进行蛋白疏水性分析。

2 结果与分析

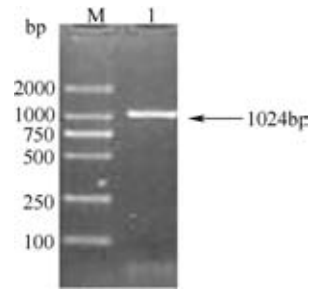
2.1 凝集素类受体蛋白激酶基因片段的获得

根据已克隆的小麦抗叶锈病基因 *Lr34* 的凝集素类受体蛋白激酶基因设计特异引物 LR45JMR/F, 在 *TcLr45* 的 cDNA 中扩增出单一条带, 片段大小约为 1 kb, 与预期片段一致。琼脂糖电泳检测如图 1 所示。将该片段回收、克隆测序, 序列长度为 1024 bp。BLASTn 比对分析, 与 *Lr34* 中的凝集素类受体蛋白激酶基因 (gb | FJ436983.1) 相似性为 80%。该序列编码 336 个氨基酸, BLASTp 比对分析, 与水稻凝集素类受体蛋白激酶 (dbj | BAC06925.1) 相似性为 81%, 与 *Lr34* 中的凝集素类受体蛋白激酶 (gb | ACL36482.1) 相似性为 79%。

2.2 RACE 技术获得基因全长 cDNA

2.2.1 3'RACE 扩增结果 以 3'cDNA 为模板, 利用所设计的特异引物 3'RACE2 及 Touchdown-PCR 程序对靶序列进行 3'端延伸, 扩增出 1 条约 600bp 的条带, 且在单引物对照中无扩增条带(图

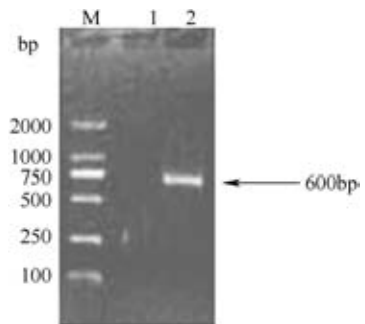
2)。将所扩增的片段回收、克隆、测序。所获得的 3'端的延伸序列长度为 598 bp, 该序列含有 30 bp 的 poly(A) 尾, 通过 DNAMAN 软件与靶序列进行拼接, 具有 248 bp 的重叠区, 拼接序列为 1374 bp。



M: DL2000 Marker; 1: *TcLr45*

图 1 引物 LR45JMR/F 在 *TcLr45* cDNA 中的扩增结果

Fig. 1 The amplification with primers LR45JMR/F in *TcLr45* cDNA



M: DL2000 Marker; 1: 单引物对照; 2: Touch-down PCR 产物

M: DL2000 Marker, 1: Single-band amplification product, 2: Touch-down PCR product

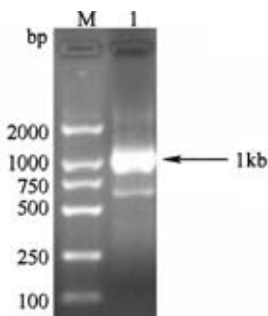
图 2 3'RACE 扩增产物

Fig. 2 The amplification result of 3'RACE PCR

2.2.2 5'RACE 扩增结果 利用设计的嵌套引物, 以 5'cDNA 为模板, 采用 Touchdown-PCR 并未获得能与靶序列拼接的 5'延伸序列, 因此改进为使用 Nested-PCR 进行延伸。第 1 轮扩增使用特异引物 5'RACE1, 第 2 轮扩增使用特异引物 5'RACE2, 扩增出约为 1 kb 左右的条带(图 3)。将该片段回收、克隆、测序, 序列长度为 1195 bp。通过 DNAMAN 软件将 5'延伸序列与靶序列拼接, 序列全长为 1997 bp, 具有 222 bp 的重叠区。

2.4 凝集素类受体蛋白激酶基因全长序列的生物信息学分析

利用 DNAMAN 软件将所获得的凝集素类受体



M: DL2000 Marker; 1: Nested-PCR 产物
M: DL2000 Marker, 1: Nested-PCR product

图 3 5' RACE 扩增

Fig. 3 The amplification result of 5' RACE

```

1 MYIILRTSKP VSRLIKASCN PLSADEILSI TVPINVRCSS EMVVSATGIW QETMPALLLL
61 LLLSMGGELV SCSSADEGQF AFQGFAAANL TLDGLAAVMP NGLLALTNFT LQTKGHAFNP
121 TPLRLLDVNG TTNSTAVARS FSTSFVFAIV SNYDGLSDQG LAFVVAPTTN LSTAIAGQYL
181 GLLNATNGTA SDHIFAVELD TIMNPEFRDI NSNHVGINVN SLISRKATPA GYYGDDGATF
241 RGLMLNSREP MQVWVDYDQG ARQLNVT LAPAQEPKPRYPL LSEIDLSTV LTDTMYVGFSS
301 SSSGVVSTHH YVLGWSFSLD GPATPLDFSK LPALPRVGSK HRPMLLALLL PLATVSHAA
361 VLAATSFFVW RRRRFAEVRE DWEDEFGPHR FAYKDLFRAT DGFKNGNLLG AGFGKVKYKG
421 VLPGSNLEIA VKRVSHDSRQ GIREFIAEVV TIGRLRHRNL AQLQGYCRRN GELLLVYDYM
481 ENGLDKYLY NNNGPTSDWP QRYWIIGVA SLLYLHEDW EQVVIHRDIK ASNVLLDKQM
541 NGRLGDFGLA RLYDHGTDAQ TTHVVGTMGY LAPELVRTGK ATPSTDVFAF GVFLLLEVCG
601 RPIESGQHN NRVLVDLWVL EHRNGSIID TVDPHLMGKF NTDEVTLVLK LGLLCAHPSP
661 NVRPHVQKVM QYLDGVQLVP DLPSTYMSYS MLALMENEGF DSYIMACPPS GMSICSVSDM
721 SSATVLLDGR

```

图 4 凝集素受体蛋白激酶基因 *LecRK-LR45* 编码氨基酸序列

Fig. 4 The deduced amino acid sequence of *LecRK-LR45*

SMART 软件分析表明, *LecRK-LR45* 具有典型的凝集素类受体蛋白激酶的结构域, 包括胞外凝集素结构域(76 ~ 318aa), 跨膜结构域(348 ~ 370aa) 和胞内丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶区域(403 ~ 673aa), 表明 *LecRK-LR45* 为凝集素类受体蛋白激酶, 且属于 B 类型(即 L 型), 结构如图 5 所示。



图 5 SMART 软件分析蛋白质结构

Fig. 5 Analysis protien structure with SMART software

TMHMM Server v. 2.0 软件对 *LecRK-LR45* 蛋白全长序列的跨膜结构域进行预测。预测结果表明, 全序列存在 6 个可能的跨膜信号, 其中第 6 个跨膜信号(348 ~ 370aa) 的分值最高, 是可能性最

蛋白激酶基因的部分 cDNA 片段及 3'端和 5'端延伸序列进行拼接, 获得该基因 cDNA 全长为 2347bp 的序列, 具有完整的开放阅读框(ORF), 从第 34 个碱基开始编码到第 2226 个碱基处终止编码, 共编码 730 个氨基酸(图 4), 将该凝集素类受体蛋白激酶基因命名为 *LecRK-LR45*。NCBI BLASTn 比对分析, 与已克隆 *Lr34* 中的凝集素类受体蛋白激酶基因(gb | FJ436983) 具有 79% 的相似性, 与水稻假定蛋白 Os07g0575600 (Os07g0575600) mRNA (NM_001066614.1) 具有 77% 的相似性, 与玉米凝集素类受体蛋白激酶 7 (LOC100281599) mRNA (NM_001154518.1) 的相似性为 67%。

高的跨膜结构域, 其 N 端位于胞外, 而 C 端位于胞内, 氨基酸序列为 LLLPLATVSHAAVLAATSFFVW (图 6)。

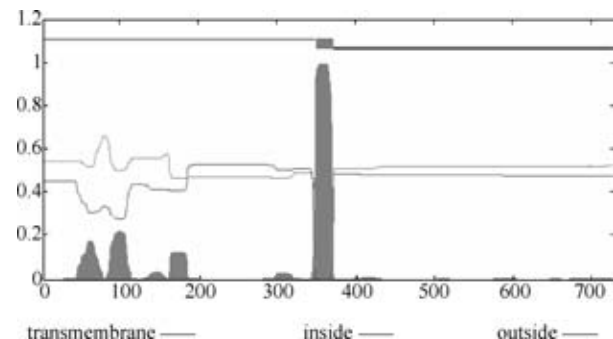


图 6 *LecRK-LR45* 蛋白的跨膜结构预测图

Fig. 6 Predicted transmembrane regions of *LecRK-LR45* protein

利用 ProtScale 工具对 *LecRK-LR45* 蛋白的疏水性分析发现, 在 300 ~ 400aa 之间有一个明显的疏水区域, 其他区域亲疏水性氨基酸较为均匀的分布在

整个序列中,且疏水性氨基酸略多于亲水性氨基酸,因此可以认为 *LecRK-LR45* 为疏水性蛋白。

DNAMAN 软件将已克隆的山羊草 (*Aegilops tauschii*)、小麦 (*Triticum aestivum*)、水稻 (*Oryza sativa Japonica*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 及玉米 (*Zea mays*) 中的凝集素类受体蛋白激酶基因与 *LecRK-LR45* 基因进行聚类分析,如图 7 所示。从图 7 中可以看出,*LecRK-LR45* 基因与山羊草、小麦和水稻中的凝集素类受体蛋白激酶基因具有较近的亲缘关系,与玉米、拟南芥的亲缘关系较远。

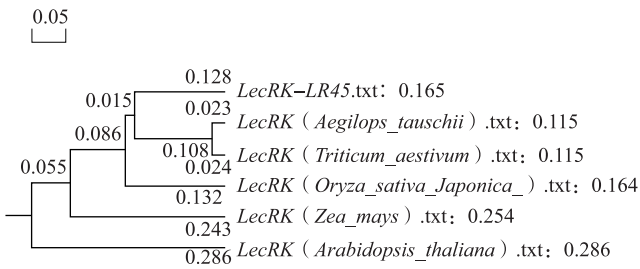


图 7 *LecRK-LR45* 基因聚类分析

Fig. 7 Cluster analysis of *LecRK-LR45* gene

3 讨论

类受体蛋白激酶基因是目前植物中发现数量最大的一类受体蛋白基因^[20]。RLKs 主要是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,通过丝/苏氨酸残基的磷酸化和脱磷酸化传递信号。一些植物类受体蛋白激酶与植物细胞对病原菌的防御性反应有关。已克隆的小麦抗叶锈基因 *Lr10*,属于 CC-NBS-LRR 类受体蛋白激酶结构^[21]。凝集素在植物保护上起着重要的作用,是目前发现唯一一类可以识别,并结合微生物(如细菌和真菌)外表或植物害虫肠胃表面的糖复合物的植物蛋白。该类受体蛋白激酶可能参与了植物的生物胁迫和非生物胁迫的信号转导,以及植物生长发育的调控。因此,本研究所克隆的小麦中的凝集素类受体蛋白激酶基因,为研究该类基因在小麦抗病过程中的作用奠定了基础。

RACE 技术是获得全长 cDNA 序列的一个常用手段。与经典的通过建立和筛选 cDNA 文库,进而获得 cDNA 全长的方法相比,该方法具有快捷、方便和高效等优点。王凯等^[22]应用 RACE 技术获得的小麦 *SGT1* 基因的 cDNA 全长;郭营等^[23]应用 DDRT-PCR 以及 RACE 技术获得了小麦抗黄矮病基因相关 cDNA 的片段;王海燕等^[24-25]应用 RACE 技术获得小麦抗叶锈基因 *Lr35* 的 LRR 类抗病相关基

因及其 cDNA 3'末端序列,并利用 5'RACE 技术获得了一个病程相关蛋白 1 基因 cDNA 片段的全长。G. Andrea 等^[26]利用 RACE 技术,将小麦 212bp 的序列延伸到 4121bp,获得了抗叶锈基因 *Lr19* 的候选基因。本研究根据该凝集素类受体蛋白激酶基因设计引物,对 *TcLr45* 的 cDNA 进行扩增,获得了 *TcLr45* 中的凝集素类受体蛋白激酶的部分片段。进而以所获得的序列为靶序列,进行 3'端和 5'端的延伸,最终在小麦抗叶锈近等基因系 *TcLr45* 中获得凝集素类受体蛋白激酶基因的全长 cDNA 序列,证实了使用 RACE 技术获得全长序列的高效性。

生物信息学(bioinformatics)已广泛应用于生物研究中,例如对基因遗传和物理图谱的处理,核苷酸和氨基酸序列分析,新基因的发现和蛋白质结构的预测等。采用生物信息学技术对拟南芥的谷胱甘肽过氧化物酶(GPX, glutathione peroxidase)家族的 8 个基因编码的蛋白质进行分析,为植物抵御氧化胁迫研究提供了理论依据^[27];利用生物信息学对水稻组蛋白脱乙酰化酶 HD2 HDACs 家族成员的生物学功能进行研究,发现这些蛋白可能参与植物的基因复制、信号转导、转录过程和免疫应答等过程^[28]。迄今为止,对于植物凝集素类受体蛋白激酶的研究较少,大部分基因的功能未知。本研究利用生物信息学方法对该基因 cDNA 全长序列进行分析。通过 BLAST 比对分析,确定该序列为凝集素类受体蛋白激酶基因,命名为 *LecRK-LR45*,该基因共编码 730 个氨基酸。*Lr34* 中的凝集素类受体蛋白激酶氨基酸序列长度为 667aa,水稻中的凝集素类受体蛋白激酶氨基酸长度为 697aa,比对结果发现 *LecRK-LR45* 为目前所报道的该类基因中最长的。利用 SMART 软件对该基因所翻译的蛋白质进行结构预测,该蛋白符合植物类受体蛋白激酶的结构,为 B 型凝集素类受体蛋白激酶(即 L 型)。NCBI BLASTp 比对结果发现,在丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶区域中含有一个 A-Loop(activation loop)结构,A-Loop 在底物蛋白的磷酸化以及自体磷酸化过程中起作用^[29]。ProScale 软件分析表明,*LecRK-LR45* 蛋白除了跨膜结构序列所形成的一个明显的疏水区域外,蛋白的其他区域没有明显的疏水区域,平均疏水性表明该蛋白为疏水性蛋白。与邓克勤^[30]对植物凝集素类受体蛋白激酶 *LecRK-b2* 的生物信息学分析发现不同,*LecRK-b2* 为亲水蛋白,说明植物凝集素类受体蛋白激酶在氨基酸组成上有明显的差异。聚类分析发现,*LecRK-LR45* 与玉米以及拟南芥的凝

集素类受体蛋白激酶基因的亲缘关系较远,与水稻、山羊草以及小麦中的凝集素类受体蛋白激酶基因的亲缘关系较近。目前所克隆出的凝集素类受体蛋白激酶基因中有些与植物的抗病性相关,本研究希望通过小麦中凝集素类受体蛋白激酶基因的克隆以及生物信息学分析为研究该类基因在小麦中的作用奠定基础。

参考文献

- [1] 张春宝,赵丽梅,赵洪锟,等. 植物蛋白激酶研究进展[J]. 生物技术通报,2011(10):17-23
- [2] Melissa D, Lehti-Shiu, Shiu S H. Diversity, classification and function of the plant protein kinase superfamily[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci,2012,367(1602):2619-2639
- [3] Stone J M, Walker J C. Plant protein kinase families and signal transduction[J]. Plant Physiol,1995,108:451-457
- [4] Shiu S H, Bleeker A B. Plant receptor-like kinase gene family: diversity, function, and signalling[J]. Signal Transduction Knowledge Environment,2001,2001(113):re22
- [5] Jurca M E, Bottka S, Feher A. Characterization of a family of *Arabidopsis* receptor-like cytoplasmic kinases (RLCK class VI)[J]. Plant Cell Rep,2008,27:739-748
- [6] 石翠翠,高雷更,惠颖,等. 植物类受体蛋白激酶的研究进展[J]. 河北师范大学学报:自然科学版,2010,34(2):216-220
- [7] Haffani Y Z, Silva N F, Goring D R. Receptor kinase signalling in plants[J]. Canadian Journal of Botany,2004,82(1):1-15
- [8] Peumans W J, Van Damme E J. Lectins as plant defense proteins[J]. Plant Physiol,1995,109(2):347-352
- [9] 高莹,瞿礼嘉,陈章良. 植物凝集素的分子生物学研究[J]. 生物技术通报,2000(5):18-22
- [10] Herve C, Dabos P, Galaud J P, et al. Characterization of an *Arabidopsis thaliana* gene that defines a new class of putative plant receptor kinases with an extracellular lectin-like domain[J]. J Mol Biol,1996,258:778-788
- [11] Barre A, Herve C, Lescure B, et al. Lectin receptor kinases in plants[J]. Criti Rev Plant Sci,2002,21:379-399
- [12] Bouwmeester K, Govers F. *Arabidopsis* L-type lectin receptor kinases: phylogeny classification, and expression profiles[J]. J Exp Bot,2009,60(15):4383-4396
- [13] Andre S, Siebert H C, Nishiguchi M, et al. Evidence for lectin activity of a plant receptor-like protein kinase by application of neoglycoproteins and bioinformatic algorithms[J]. Biochim Biophys Acta,2005,1725:222-232
- [14] Wan J, Patel A, Mathieu M, et al. A lectin receptor-like kinase is required for pollen development in *Arabidopsis*[J]. Plant Mol Biol,2008,67:469-482
- [15] Navarro-Gochicoa M T, Camut S, Timmers A C J, et al. Characterization of four lectin-like receptor kinases expressed in roots of *Medicago truncatula*. Structure, location, regulation of expression, and potential role in the symbiosis with *Sinorhizobium meliloti*[J]. Plant Physiol,2003,133:1893-1910
- [16] Chen X, Shang J, Chen D, et al. A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance[J]. Plant J,2006,46:794-804
- [17] Sasabe M, Naito K, Suenaga H, et al. Elicitor-responsive lectin-like receptor kinase genes in BY-2 cells[J]. DNA Seq,2007,18(2):152-159
- [18] 杨晓坡. 水稻 *OsLecRK1* 基因功能研究初探[D]. 厦门:厦门大学,2007
- [19] Tomas W, Simon G K, Evans S L, et al. Analysis of intraspecific diversity in wheat and barley genomes identifies breakpoints of ancient haplotypes and provides insight into the structure of diploid and hexaploid triticeae gene pools[J]. Plant Physiol,2009,149:258-270
- [20] 张兆沛,王志伟,张慧蓉. 植物类受体蛋白激酶研究概况[J]. 山西农业科学,2009,37(8):75-78
- [21] Feuillet C, Travella S, Stein N, et al. Map-based isolation of the leaf rust disease resistance gene *Lr10* from the hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) genome[J]. Plant J,1997,11(1):45-52
- [22] 王凯,张增艳,黄璜,等. 小麦 *SGT1* 基因的克隆与表达特性的分析[J]. 麦类作物学报,2007,27(6):952-956
- [23] 郭莹,许云峰,蒋方山,等. 小麦抗黄矮病基因相关 cDNA 片段的克隆[J]. 西北植物学报,2008,28(4):645-650
- [24] 王海燕,杨文香,张汀,等. 小麦 LRR 类抗病相关基因及其 cDNA 3'末端的克隆与分析[J]. 植物病理学报,2007,37(3):317-320
- [25] 王海燕,刘大群,杨文香,等. TcLr35 小麦中病程相关蛋白 1 基因的克隆及分析[J]. 植物遗传资源学报,2007,8(1):16-20
- [26] Andrea G, Robert M D K, Carla C. A candidate for *Lr19*, an exotic gene conditioning leaf rust resistance in wheat[J]. Funct Integr Genomic,2009,9(3):325-334
- [27] 周立敬,周宜君,高飞,等. 拟南芥谷胱甘肽过氧化物酶的生物信息学分析[J]. 中央民族大学学报:自然科学版,2010,19(2):11-16
- [28] 符稳群,林莹,黄惠玲,等. 水稻组蛋白脱乙酰化酶 HD2 HDACs 蛋白质的生物信息学分析[J]. 漳州师范学院学报:自然科学版,2009,22(4):92-98
- [29] Shah K, Vervoort J, de Vries S C. Role of threonines in the *Arabidopsis* receptor kinase AtSERK1 activation loop in phosphorylation[J]. J Biol Chem,2001,276(44):41263-41269
- [30] 邓克勤. 植物凝集素类受体蛋白激酶 LecRK-b2 的生物信息学分析及基因功能研究[D]. 长沙:湖南大学,2009