

大豆 *GmNAC115* 基因克隆及特征分析

倪志勇,于月华,陈全家,曲延英

(新疆农业大学农学院,新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要:NAC 转录因子在植物发育和逆境应答中具有重要的作用。本研究从大豆中克隆了 1 个 NAC 基因 *GmNAC115*。该基因 cDNA 全长 1 383 bp,开放阅读框长 912 bp,编码 303 个氨基酸,预测分子量约为 34.278 kD,pl8.37。推测的氨基酸序列中含有 1 个高度保守的 NAM 结构域。*GmNAC115* 基因组包含 3 个外显子和 2 个内含子。进化树分析发现 *GmNAC115* 和 *PvNAC* 为 1 个分支。转录活性分析结果表明,*GmNAC115* 转录因子具有转录激活功能。SDS-PAGE 电泳分析表明,pET-28a-*GmNAC115* 最佳诱导表达条件为在 37℃ 下 1.0 mmol·L⁻¹ IPTG 诱导 2 h。组织特异性表达模式分析表明在检测的所有组织中 *GmNAC115* 都有表达,在根中表达量最高,在种子中表达量最低。

关键词:大豆; *GmNAC115*; 克隆; 转录激活

中图分类号:Q78; S565.1 文献标识码:A DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2016.05.0754

Cloning and Characterization of *GmNAC115* Gene in Soybean

NI Zhi-yong, YU Yue-hua, CHEN Quan-jia, QU Yan-ying

(College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: NAC(NAM, ATAF, and CUC)-domain proteins play important roles in plant development and stress responses. A gene coding for NAC, designated as *GmNAC115* was isolated from soybean. The full length *GmNAC115* cDNA is 1 383 bp, including an ORF of 912 bp. This cDNA sequence encoded a polypeptide of 303 amino acid residues with a predicted molecular mass of 34.278 kD and a basic isoelectric point of 8.37, and a highly conserved NAM domain in the encoded putative protein. The genomic DNA of *GmNAC115* contains three exons and two introns. Phylogenetic analysis indicated that *GmNAC115* clustered with *PvNAC*. Transcriptional activation ability assay showed that the *GmNAC115* transcription factor had transcriptional activation functions. SDS-PAGE indicated that the best expression quantity of the pET-28a-*GmNAC115* was induced with 1.0 mmol·L⁻¹ IPTG for 2 h at 37℃. Tissue-specific expression profiles showed that *GmNAC115* expressed almost in all detected tissues, and its expression level was relatively high at root and low at seed.

Keywords: Soybean; *GmNAC115*; Cloning; Transcriptional activation

NAC(NAM, ATAF1/2 和 CUC2)基因家族是植物特有的一类转录因子^[1],其 N 端具有保守的 NAC 结构域,C 端序列具有转录活性调控区。在单子叶和双子叶植物中的许多 NAC 基因已经被克隆,例如水稻(*Oryza sativa* L.)^[2]、谷子(*Setaria italica* L.)^[3]、花生(*Arachis hypogaea* L.)^[4]、大豆(*Glycine max* L. Merr.)^[5]和拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)^[6]。水稻和拟南芥基因组中分别包含 151 和 117 个 NAC 基因^[7]。前人研究表明在植物发育、激素控制、抵御生物和非生物胁迫中 NAC 家族基因具有重要的功能^[1]。一些受逆境诱导的 NAC 转录因子能增强植物对高盐、干旱和低温胁迫的忍耐能力。过表达水稻 *SNAC1* 基因明显增强转基因水稻对干旱胁迫的忍耐能力^[8]。水稻 *SNAC2* 基因受干

旱、盐、冷、伤害和 ABA 胁迫诱导表达,过表达该基因的转基因植物增强对低温和盐胁迫的耐受能力^[9]。

大豆基因组中含有 152 个编码 NAC 转录因子的基因^[10],目前已经鉴定了一些大豆 NAC 基因的功能,例如,过表达 *GmNAC2* 基因导致转基因烟草对干旱、盐和低温敏感^[11]。过表达 *GmNAC004* 的转基因拟南芥植物相比野生型植物增加侧根数量和长度,且在中度水分胁迫条件下,转基因植株能够维持高的侧根数和长度^[12]。过表达 *GmNAC20* 基因能够增强转基因拟南芥对盐和低温的忍耐能力,且能够促进侧根形成^[13]。过表达 *GmNAC11* 基因提高转基因拟南芥的耐盐能力^[13]。克隆并揭示更多的大豆 NAC 基因的生物学功能,将有助于更好地理解

NAC 基因家族在大豆发育进程中的作用。本研究从大豆中克隆了 1 个 NAC 转录因子基因 *Gm-NAC115*, 分析了该基因的表达模式、转录激活活性并在大肠杆菌中表达该基因的蛋白, 为进一步研究该基因的生物学功能奠定试验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆栽培品种 Williams 82 由中国农业科学院作物科学研究所作物种质资源中心抗逆研究课题组提供。在温室内, 水培 25 d 后取叶片组织, 液氮速冻, 保存于 -80℃ 冰箱。

1.2 方法

1.2.1 大豆叶片 RNA 的提取和 cDNA 第一链的合成 采用 Trizol 试剂盒(Invitrogen)提取大豆叶片组织总 RNA。按照 First strand cDNA Synthesis 试剂盒(Thermo Fisher)推荐的反应体系, 将提取叶片总 RNA 反转录合成 cDNA 第一链。

1.2.2 *GmNAC115* 基因的克隆 根据 Phytozome V 10.3 数据库中大豆基因组数据中的 Glyma15g40510.1 基因序列设计 1 对引物, nGmNAC115-F: 5'-ATGAGCAACATAAGCATGGTAGAG-GC-3' 和 nGmNAC115-R: 5'-CCACATCAGTAATTGT-TCCACATGTG-3', 以合成大豆栽培品种 Williams 82 叶片的 cDNA 第一链为模板, 按 TransStart Taq DNA 酶(Transgen)说明书体系, 采用 PCR 方法扩增基因的开放阅读框(ORF)。PCR 程序为: 94℃ 5 min, 94℃ 30 s, 62℃ 45 s, 72℃ 1 min, 共 35 个循环; 72℃ 10 min。PCR 产物连接到 pGM-T(Tiangen)载体, 菌液 PCR 检测后的阳性克隆送上海美季公司测序。

1.2.3 生物信息学分析 利用 DNAMAN 软件和 Blast 检索 GenBank 进行多重序列比较和同源性分析。利用 Clustalx 1.83 软件和 MEGA 4.1 软件构建系统发生树。用 ProtParam (<http://www.expasy.org/tools/protparam>) 在线预测蛋白的分子质量、等电点及基本性质; 利用 Plant-mPLoc 程序 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) 对蛋白的亚细胞定位进行预测分析。在 Phytozome V 10.3 数据库中获得 *GmNAC115* 基因的染色体定位和在大豆不同组织中 *GmNAC115* 基因的数字表达谱信息。

1.2.4 *GmNAC115* 酵母表达载体构建及转录激活活性分析 使用带有 *Eco*R I 和 *Bam*H I 酶切位点的

引物扩增 *GmNAC115* 的 ORF 序列, 引物序列为, 115-F: 5'-ATAGAATTCATGAGAACATAAGCATGG-TAGAGG-3', 115-R: 5'-TATGGATCCTCACTAATTGT-TCCACATGTGGG-3', 下划线表示酶切位点。凝胶回收带有酶切位点 *GmNAC115* 的 ORF 序列, 双酶切后亚克隆至 pGBKT7 载体中, 通过测序验证载体构建的正确性。将 *GmNAC115*-pGBKT7 和 pGBKT7 质粒转化酵母菌株 AH109, 涂布单缺 SD/-Trp 和三缺 SD/-Trp/-His/-Ade 营养缺陷型培养基, 30℃ 培养 2~3 d 后, 观察菌落的生长情况。将三缺平板上生长的菌落转印到滤纸上, 进行显色反应。

1.2.5 *GmNAC115* 原核表达载体的构建和在大肠杆菌中的表达 为了检测 *GmNAC115* 蛋白能否在大肠杆菌中表达, 使用带有正向 *Bam*H I 和反向 *Sac* I 酶切位点的引物 *GmNAC115-28F*: 5'-ATAGGATCCATGAGAACATAAGCATGGTAGAG-3' 和 *GmNAC115-28R*: 5'-TATGAGCTCTCACTAATTGTCCACATGTGGG-3'(下划线表示酶切位点), 扩增 *GmNAC115* 的 ORF 序列, 按照 TransStart-Taq(北京, TransGen)推荐体系和程序进行 PCR 扩增。PCR 产物纯化后经双酶切, 亚克隆至含有 HIS 标签的 pET-28a 载体上, 通过菌液 PCR 和测序(上海美季)对重组质粒进行检测。

用浓度分别为 0.5, 1.0, 1.5 和 2.0 mmol·L⁻¹ 的 IPTG, 37℃ 诱导融合蛋白表达, 6 h 后收集菌液。用浓度为 1.0 mmol·L⁻¹ 的 IPTG, 37℃ 诱导融合蛋白表达, 于 2, 4, 6 h 后收集菌液。以未加 IPTG 诱导的重组菌液, 诱导和未诱导空载体菌液做为对照。用 SDS-PAGE(5% 浓缩胶, 12% 分离胶), 分析融合蛋白表达结果。

2 结果与分析

2.1 *GmNAC115* 基因克隆及序列分析

根据 Phytozome 数据库中大豆基因组数据中的 Glyma15g40510.1 基因序列, 通过 RT-PCR 方法从大豆叶片 cDNA 中获得了 1 个含有 NAM 结构域的 NAC 转录因子, 命名为 *GmNAC115*。序列分析表明 *GmNAC115* 全长 cDNA 为 1 383 bp, 5' 端非编码区 117 bp, 3' 非编码区为 354 bp。其中编码区长 912 bp, 编码 303 个氨基酸, 预测分子量约为 34.278 kD, pI 8.37。*GmNAC115* 基因组 DNA 长度为 4 800 bp, 由 3 个外显子和 2 个内含子组成, 内含子的长度分别为 2 660 和 757 bp。该基因定位与大豆第 15 号

染色体 Chr15:48295488-48300322 (reverse)。氨基酸序列分析发现 GmNAC115 含有 1 个 NAM 结构域, 位于第 12 ~ 134 个氨基酸(图 1)。在第 275 ~ 293 个氨基酸存在 1 个由 SLKGSPSLGEGSSESYLSE 氨基酸组成的低复杂组成区域(图 1)。

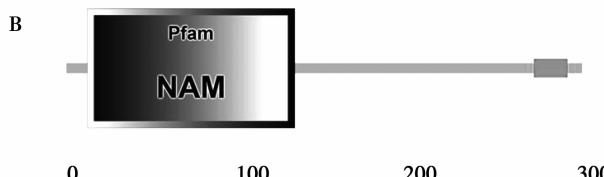
氨基酸多序列比对分析发现 GmNAC115 与菜豆 PvNAC (*Phaseolus vulgaris*, XP_007149262), 沙冬青 AmNAC (*Ammopiptanthus mongolicus*, AHE80970), 鹰嘴豆 CaNAC (*Cicer arietinum*, XP_004488843), 荚蒾首蓿 MtNAC (*Medicago truncatula*, XP_003595973) 和杨树 PtNAC (*Populus trichocarpa*, XP_002310688) 的氨基酸一致性分别为 92.41%、87.54%、85.99%、

85.76% 和 76.39%。进化树分析表明 GmNAC115 与菜豆 PvNAC 亲缘关系较近, 聚在一个分支(图 2)。

2.2 *GmNAC115* 基因的表达模式分析

在 Phytozome V 10.3 数据库中获得 *GmNAC115* 基因在大豆不同组织中的表达数据,发现 *GmNAC115* 基因在大豆不同组织中均有表达,在根中 *GmNAC115* 基因的 FPKM 值最大,达到 50.821。在种子中 *GmNAC115* 基因的 FPKM 值最小,为 0.081(表 1)。以上结果表明 *GmNAC115* 基因可能参与大豆这些组织的发育过程。

A	PvNAC	MSNISMFEAKLFFGFRFHPREEEIVCYIMKRLTND\$ILIMIDWDINKCEFWIIPFTACVGKCKWYFYTO	70
	AmNAC	MSNISMFEAKLFFGFRFHPREEEIVCYIMKRVTS\$SDSILIMIDWDINKCEFWIIPFTACVGKCKWYFYTO	70
	CaNAC	MSNISMFEAKLFFGFRFHPREEEIVCYIMKRVTS\$SDSILIMIDWDINKCEFWIIPFTACVGKCKWYFYTO	70
	MtNAC	MSNISMFEAKLFFGFRFHPREEEIVCYIMKRVTS\$SDSILIMIDWDINKCEFWIIPFTACVGKCKWYFYTO	70
	PtNAC	MSNISMFEAKLFFGFRFHPREEEIVCYIMKASHDS\$ILIMIDWDINKCEFWIIPFTACVGKCKWYFYTO	70
	GmNAC115	MSNISMFEAKLFFGFRFHPREEEIVCYIMKVA\$ND\$ILIMIDWDINKCEFWIIPFTACVGKCKWYFYTO	70
	PvNAC	RDRKYATGIRTNFAIASGYWKATGKDPR\$ILRKTLTVCGRMKTLVIFYQGRAFKRKIDBWMHEFRDEGHGP	140
	AmNAC	RDRKYATGIRTNFAIASGYWKATGKDPR\$ILRKTLTVCGRMKTLVIFYQGRAFKRKIDBWMHEFRDEGHGP	140
	CaNAC	RDRKYATGIRTNFAIASGYWKATGKDPR\$ILRKTLTVCGRMKTLVIFYQGRAFKRKIDBWMHEFRDEGHGP	140
	MtNAC	RDRKYATGIRTNFAIASGYWKATGKDPR\$ILRKTLTVCGRMKTLVIFYQGRAFKRKIDBWMHEFRDEGHGP	140
	PtNAC	RDRKYATGIRTNFAIASGYWKATGKDPR\$ILRKTLTVCGRMKTLVIFYQGRAFKRKIDBWMHEFRDEGHGP	140
	GmNAC115	RDRKYATGIRTNFAIASGYWKATGKDPR\$ILRKTLTVCGRMKTLVIFYQGRAFKRKIDBWMHEFRDEGHGP	140
	PvNAC	EKISSSEKDWVICRVEFYNS.REVSAKP.SMGSCYDTGSSSLIAIMESYISPRQAFHAD.EFECVFCFS	207
	AmNAC	EKISSSEKDWVICRVEFYNS.REVSAKS.SMGSCYDTGSSSLIAIMESYISPRQAFHAD.EFECVFCFS	208
	CaNAC	EKISSSEKDWVICRVEFYNS.REBIAAKP.SMGSCYDTGSSSLIAIMESYISPRQAFHAD.EYECVFCFS	207
	MtNAC	EKISSSEKDWVICRVEFYNS.REVATAKPSMSYCDTGSSSLIAIMESYISPRQAFHAD.EYECVFCFS	208
	PtNAC	EKTSEFSEKDWVICRVEFYNTREVAAK.P.SIRSCYDTGSSSLIAIMESYISPRQAFHAD.EHECVFCFS	208
	GmNAC115	EKISSSEKDWVICRVEFYNS.REVSAKP.FMGSCYDTGSSSLIAIMESYISPRQAFHAD.EFECVFCFS	207
	PvNAC	IESCNQANEIFNEMTT.MERKLIA.....TTYGCAPNLG.YCIDEFISCRKVIRAVINQITKMRN	266
	AmNAC	IENQNTNPFFNHMTTIMEPKLHN..N....ATTYGGHNFNG.SCIDPEFISCRQVLTAVINQLSNMERN	271
	CaNAC	IESCNQNPFIIFNN...NMEKRLELYNNNNNNNANTGCCAHNLGNYSIDLPEFISCRKVIRAVINTLSKMRN	273
	MtNAC	MESCNQTFNPIYNNNITTMEPKLHNLLANNNN...ASTRGKQAFHDL.EYECVFCFS	271
	PtNAC	IESTQCNQFNEYITCMEVNHLITKG.....TGFBCCVHMNITTH\$A85CUTKVIRAVINHFMNESRN	272
	GmNAC115	IESTQCNQFNPMEAT.MERKLHN..HA..TAYGCAPNLG.YCIDEFISCRKMRAVINQITKMRN	270
	PvNAC	.PINQ.....SLIKGS.TSGEGSSSESYLSVCGMHEHMWNNY	299
	AmNAC	.PEFNC.....SLIKGS.BSGEGSSSESYLSVCGMHEHMWNNY	304
	CaNAC	NPLNNNNNNNNQCSLIKGS.BSGEGSSSESYLSVCGMHEHMWNNY	314
	MtNAC	.PINC.....CNIKGSSESLSIGEGSSSESYLSVCGMHEHMWNNF	306
	PtNAC	..AN.....TIKGS.BSGEGSSSESYLSVCGMENLNRHY	302
	GmNAC115	.PINC.....SLIKGS.BSGEGSSSESYLSVCGMHEHMWNNY	303



图中序列依次为:菜豆 PvNAC (*Phaseolus vulgaris*, XP_007149262); 沙冬青 AmNAC (*Ammopiptanthus mongolicus*, AHE80970); 鹰嘴豆 CaNAC (*Cicer arietinum*, XP_004488843); 荚蒾苜蓿 MtNAC (*Medicago truncatula*, XP_003595973); 杨树 PtNAC (*Populus trichocarpa*, XP_002310688)。

The accession number of each appended protein is as follows: PvNAC (*Phaseolus vulgaris*, XP_007149262); AmNAC (*Ammopiptanthus mongolicus*, AHE80970); CaNAC (*Cicer arietinum*, XP_004488843); MtNAC (*Medicago truncatula*, XP_003595973); PtNAC (*Populus trichocarpa*, XP_002310688).

图 1 大豆 GmNAC115 和其它植物 NAC 蛋白序列比对 (A) 及其保守域分析 (B)

Fig. 1 The alignment of protein sequences GmNAC115 from soybean and other plants (A) and the structure of the conserved regions of GmNAC115 protein (B)

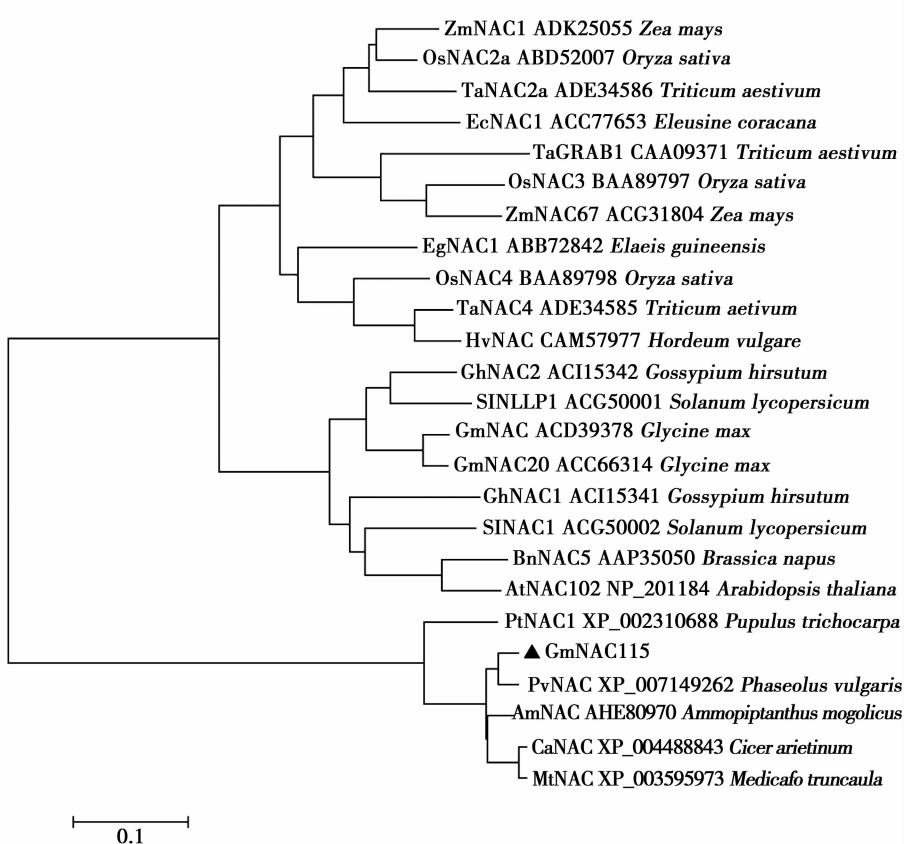


图2 NAC蛋白进化树分析

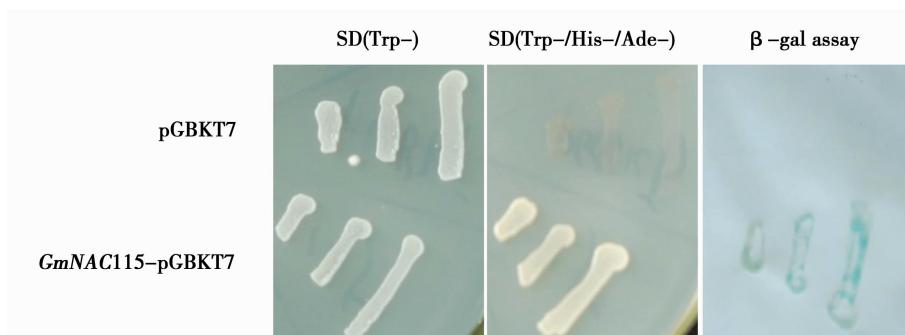
Fig. 2 Phylogenetic analysis of NAC-domain-containing proteins

表1 不同组织中大豆 *GmNAC115* 基因的表达模式Table 1 Expression profile of *GmNAC115* gene in different tissues

组织样本 Tissue sample	百万外显子的碱基片段 Fragments per kilo base of exon per million fragments mapped (FPKM)	
花 Flower	37.939	
叶 Leaf	25.112	
根瘤 Nodule	28.995	
豆荚 Pod	1.285	
根 Root	50.821	
根毛 Root_hairs	12.899	
茎顶端分生组织 Sam	3.049	
种子 Seed	0.081	
茎 Stem	10.673	

2.3 *GmNAC115* 的转录激活活性分析

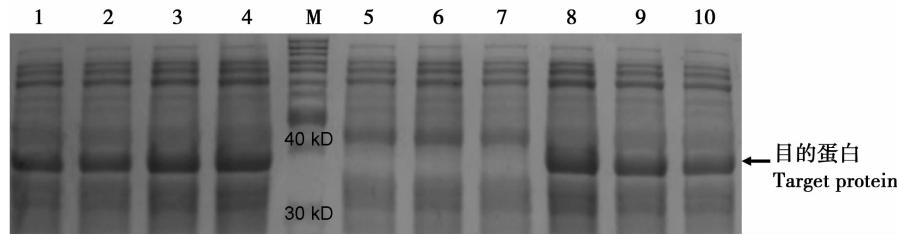
将 pGBKT7 和 *GmNAC115*-pGBKT7 转化酵母菌株 AH109 后, 观察酵母菌落的生长情况, 发现在单缺 SD/-Trp 营养型缺陷培养基上, 转化 pGBKT7 和 *GmNAC115*-pGBKT7 的酵母菌落都能正常生长, 说明上述 2 个质粒均已转化到酵母中。在三缺 SD/-Trp/-His/-Ade 营养型缺陷培养基上, 对照 pGBKT7 的酵母菌落不能正常生长, 而转化 *GmNAC115*-pGBKT7 的酵母菌落能够正常生长。在转印滤纸上添加 X-gal, 转化 *GmNAC115*-pGBKT7 的酵母菌落显蓝, 说明 *GmNAC115* 能够激活 *LacZ* 报告基因, 以上结果说明 *GmNAC115* 转录因子具有转录激活活性(图 3)。

图3 *GmNAC115* 转录因子的转录激活活性分析Fig. 3 Analysis of transactivation activity of *GmNAC115* transcription factor

2.4 GmNAC115 基因在大肠杆菌中的表达

IPTG 终浓度为 0.5, 1.0, 1.5 和 2.0 mmol·L⁻¹, 37℃ 分别诱导 6 h 后收集菌液, SDS-PAGE 电泳分析表明, 在 4 个不同浓度 IPTG 诱导下, 均能诱导出

大小约为 35 kD 的 His-GmNAC115 融合蛋白(图 4)。用 1.0 mmol·L⁻¹, 37℃ 分别诱导 2, 4 和 6 h 后收集菌液, SDS-PAGE 电泳分析表明, 诱导 2 h 蛋白表达量最大(图 4)。



M: 蛋白质分子量 marker; 1 ~ 4: pET-28a-GmNAC115 经 IPTG 诱导, IPTG 诱导终浓度分别为 0.5, 1.0, 1.5 和 2.0 mmol·L⁻¹; 5: pET-28a 空载体未诱导; 6: pET-28a 空载体经 1.0 mmol·L⁻¹ IPTG 诱导 6 h; 7: pET-28a-GmNAC115 未诱导; 8 ~ 10: pET-28a-GmNAC115 经 1.0 mmol·L⁻¹ IPTG 诱导 2, 4 和 6 h。

M: Protein marker; 1-4: pET-28a-GmNAC115 was induced by 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mmol·L⁻¹ IPTG; 5: pET-28a without IPTG induction; 6: pET-28a was induced by 1.0 mmol·L⁻¹ IPTG treatment for 6 h; 7: pET-28a-GmNAC115 without IPTG induction; 8-10: pET-28a-GmNAC115 was induced by 1.0 mmol·L⁻¹ IPTG treatment for 2, 4 and 6 h.

图 4 IPTG 终浓度和诱导培养时间对 His-GmNAC115 蛋白表达的影响

Fig. 4 Effect of final concentration and induction time with IPTG on expression of His-GmNAC115 protein

3 结论与讨论

本研究克隆了一个具有 NAM 保守结构域的 NAC 转录因子基因 GmNAC115, GmNAC115 具有 3 个外显子和 2 个内含子, Meng 等^[14] 研究发现 GmNAC1-GmNAC6 都含有 2 个内含子, 表明这些 GmNAC 具有保守的基因组结构。进化树分析表明 GmNAC115 与 CaNAC 基因聚在一个大类, 前人研究发现 CaNAC 基因(XP_004488843) 参与鹰嘴豆对干旱胁迫的应答^[15], 而且 Le 等^[16] 构建 152 个大豆 NAC 基因与拟南芥和水稻非生物胁迫应答 NAC 基因的进化树, 发现 GmNAC115 属于非生物胁迫应答亚类, 这些研究结果暗示 GmNAC115 基因可能参与大豆对非生物胁迫的应答, 下一步将通过转化模式植物和大豆来研究该基因在非生物胁迫应答中的功能。

前人研究表明许多大豆 NAC 家族成员基因具有转录激活子功能, 例如 GmNAC11 和 GmNAC35 具有转录激活能力^[17]。然而 GmNAC20 不具有转录激活能力, 在其 N 端区域鉴定了一个转录抑制区 NARD^[17]。这些研究说明大豆 NAC 家族蛋白可能具有不同的转录调控机制。酵母单杂交是常用的分析转录因子是否具有转录自激活活性的方法, Tran 等^[5] 利用酵母单杂系统发现 31 个 GmNAC 转录因子中有 28 个具有转录自激活活性。Pinheiro 等^[10] 分析 GmNAC1 ~ GmNAC6 转录激活活性发现

GmNAC2, GmNAC3, GmNAC4 和 GmNAC5 具有转录激活功能。本研究发现 GmNAC115 具有转录自激活活性, 下一步将进一步分析转录激活区的定位。

大豆 NAC 转录因子包含 152 个基因, 这些 NAC 基因呈现的表达模式各不相同, 例如, GmNAC2/3/4/6 基因在多种组织中都有表达, 而 GmNAC1 和 GmNAC5 仅在少数组织中表达; GmNAC2, GmNAC3 和 GmNAC4 受渗透胁迫诱导; GmNAC3 和 GmNAC4 受 ABA, JA 和盐胁迫诱导^[10]。31 个 GmNAC 基因在不同的组织中表达各异, 其中 9 个 GmNAC 基因受干旱胁迫诱导^[5]。本研究通过数字化表达谱分析发现 GmNAC115 基因在检测的组织中均有表达, 表明该基因可能参与这些组织的发育过程, 下一步将采用荧光定量 PCR 或 northern 杂交技术分析 GmNAC115 基因的表达模式。

转录因子一般通过结合下游基因启动子区域的顺式作用元件来调控下游基因的表达, 研究转录因子与顺式作用元件结合常用的试验方法有体内的酵母单杂交试验和体外的凝胶阻滞试验, 凝胶阻滞试验需要纯化转录因子蛋白质。大肠杆菌原核表达系统是表达目标蛋白的常用体系, 本研究采用该系统在大肠杆菌中诱导表达了 GmNAC115 蛋白, 下一步将鉴定蛋白的可溶性, 纯化 GmNAC115 蛋白, 为研究 GmNAC115 蛋白与顺式作用元件的结合奠定基础。

参考文献

- [1] Olsen A N, Ernst H A, Leggio L L, et al. NAC transcription factors: Structurally distinct, functionally diverse [J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(2):79-87.
- [2] Kusano H, Asano T, Shimada H, et al. Molecular characterization of *ONAC300*, a novel NAC gene specifically expressed at early stages in various developing tissues of rice [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2005, 272(6): 616-626.
- [3] Puranik S, Bahadur R P, Srivastava P S, et al. Molecular cloning and characterization of a membrane associated NAC family gene, *SiNAC* from foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.] [J]. Molecular Biotechnology, 2011, 49(2): 138-150.
- [4] Liu X, Hong L, Li X Y, et al. Improved drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* overexpressing a NAC transcriptional factor from *Arachis hypogaea* [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2011, 75(3): 443-450.
- [5] Tran L S, Quach T N, Guttikonda S K, et al. Molecular characterization of stress-inducible *GmNAC* genes in soybean [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2009, 281(6): 647-664.
- [6] Jensen M K, Kjaersgaard T, Nielsen M M, et al. The *Arabidopsis thaliana* NAC transcription factor family: Structure-function relationships and determinants of ANAC019 stress signalling [J]. Biochemical Journal, 2010, 426(2): 183-196.
- [7] Nuruzzaman M, Manimekalai R, Sharoni A M, et al. Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice [J]. Gene, 2010, 465(1-2): 30-44.
- [8] Hu H, Dai M, Yao J, et al. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC(NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 2006, 103(35): 12987-12992.
- [9] Hu H, You J, Fang Y, et al. Characterization of transcription factor gene *SNAC2* conferring cold and salt tolerance in rice [J]. Plant Molecular Biology, 2008, 67(1-2): 169-181.
- [10] Pinheiro G L, Marques C S, Costa M D, et al. Complete inventory of soybean NAC transcription factors: Sequence conservation and expression analysis uncover their distinct roles in stress response [J]. Gene, 2009, 444(1-2): 10-23.
- [11] Jin H, Huang F, Cheng H, et al. Overexpression of the *GmNAC2* Gene, an NAC transcription factor, reduces abiotic stress tolerance in tobacco [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013, 31(2): 435-442.
- [12] Quach T N, Tran L S, Valliyodan B, et al. Functional analysis of water stress-responsive soybean *GmNAC003* and *GmNAC004* transcription factors in lateral root development in *Arabidopsis* [J]. PLoS One, 2014, 9(1): e84886.
- [13] Hao Y J, Wei W, Song Q X, et al. Soybean NAC transcription factors promote abiotic stress tolerance and lateral root formation in transgenic plants [J]. Plant Journal, 2011, 68(2): 302-313.
- [14] Meng Q, Zhang C, Gai J, et al. Molecular cloning, sequence characterization and tissue-specific expression of six NAC-like genes in soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Journal of Plant Physiology, 2007, 164(8): 1002-1012.
- [15] Ha C V, Esfahani M N, Watanabe Y, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the CaNAC family members in chickpea during development, dehydration and ABA treatments [J]. PLoS One, 2014, 9(12): e114107.
- [16] Le D T, Nishiyama R, Watanabe Y, et al. Genome-wide survey and expression analysis of the plant-specific NAC transcription factor family in soybean during development and dehydration stress [J]. DNA Research, 2011, 18(4): 263-276.
- [17] Hao Y J, Song Q X, Chen H W, et al. Plant NAC-type transcription factor proteins contain a NARD domain for repression of transcriptional activation [J]. Planta, 2010, 232(5): 1033-1043.

欢迎订阅 2017 年《中国生态农业学报》

《中国生态农业学报》由中国科学院遗传与发育生物学研究所和中国生态经济学会主办,中国科学院主管,科学出版社出版。系中国期刊方阵双效期刊、中国科技精品期刊、百种中国杰出学术期刊、中文核心期刊、RCCSE 中国权威学术期刊,为中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊全文数据库、中国学术期刊文摘、中国科学引文数据库、中国科技论文与引文数据库、CNKI 中国期刊全文数据库源刊,并被国际农业生物学文摘(CABI)、美国化学文摘(CA)、哥白尼索引(IC)、美国乌利希国际期刊指南等国际数据库及检索单位收录。荣获第三届、四届全国农业优秀期刊一等奖和首届北方优秀期刊奖,中国北方优秀期刊,连续多届获得河北省优秀期刊奖。

《中国生态农业学报》主要报道全球环境变化与农业、农业生态系统与生态农业理论基础、农田生态系统与农业资源、生态农业模式和技术体系、农业生态经济学、农业环境质量及环境保护、农业有害生物的综合防治等领域创新性研究成果。适于从事农业生态学、生态学、生态经济学以及环境保护等领域科技人员、高等院校有关专业师生,农业及环境管理工作者和基层从事生态农业建设的技术人员阅读与投稿。

《中国生态农业学报》国内外公开发行,国内刊号 CN13 - 1315/S, 国际刊号 ISSN1671 - 3990。月刊, 国际标准大 16 开本, 160 页, 每期定价 35 元, 全年 420 元。邮发代号:82 - 973, 全国各地邮局均可订阅。漏订者可直接汇款至编辑部补订(需另加邮资 50.00 元/年)。

地址:(050022) 河北省石家庄市槐中路 286 号 中科院遗传发育所农业资源研究中心《中国生态农业学报》编辑部

电话:(0311) 85818007 传真:(0311) 85815093

网址:<http://www.ecoagri.ac.cn> E-mail:editor@sjziam.ac.cn 公众微信号:zgstnyxb