



大豆 *GmNAC46* 生物信息学、转录自激活及组织表达分析

杨梦诗¹, 倪志勇², 于月华¹

(1. 新疆农业大学 农学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆农业大学 生命科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要: NAC 转录因子是一类广泛存在于植物中且为植物所特有的转录因子超家族, 不仅调控植物的生长发育等方面, 同时也响应植物受到的生物及非生物胁迫。为了研究大豆中 NAC 转录因子的功能, 利用 PCR 的方法从大豆中克隆 *GmNAC46* 基因, 采用生物信息学方法对该基因及编码的蛋白质进行分析, 采用酵母单杂交实验分析转录因子的自激活活性, 采用 qRT-PCR 的方法分析基因的组织特异性表达。结果表明: *GmNAC46* 基因开放阅读框长 1 218 bp, 编码 405 个氨基酸, 蛋白质分子量为 45.872 kD, 等电点为 4.88。GmNAC46 蛋白在 4~156 位氨基酸处含有 1 个高度保守的 NAC 结构域, 属于亲水性蛋白, 定位于细胞核中。GmNAC46 蛋白与野生大豆的 NAC 蛋白亲缘关系较近。酵母单杂交实验结果表明, 转录因子 GmNAC46 具有转录自激活活性。组织特异性表达模式分析表明, *GmNAC46* 基因在大豆根、茎、叶、子叶中都表达, 在根中表达量最高。

关键词: 大豆; *GmNAC46*; 基因克隆; 生物信息学分析; 转录激活; 组织表达

Bioinformatics, Autoactivation, and Tissue Expression Analysis of Soybean *GmNAC46*

YANG Meng-shi¹, NI Zhi-yong², YU Yue-hua¹

(1. College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 2. College of Life Sciences, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: NAC transcription factors are a superfamily of transcription factors that exist widely in plants and are unique to plants. They not only regulate plant growth and development, but also respond to biological and abiotic stresses. In order to study the function of NAC transcription factors in soybean, the *GmNAC46* gene was cloned from soybean by PCR, bioinformatics method was used to analyze the gene and its encoded protein, the autoactivation activity of transcription factors was analyzed by yeast single hybrid experiment. The tissue-specific expression of the gene was analyzed by qRT-PCR. The results showed that: The open reading frame was 1 218 bp, and encoding 405 amino acids, the molecular weight of the protein was 45.872 kD, and the isoelectric point was 4.88. GmNAC46 protein contained a highly conserved NAC domain at amino acids 4-156, which was a hydrophilic protein and was localized in the nucleus. GmNAC46 protein was closely related to NAC protein of wild soybean. The results of yeast single hybridization experiment showed that *GmNAC46* had transcriptional activation activity. Tissue specific expression pattern analysis showed that *GmNAC46* was expressed in root, stem, leaf and cotyledon, and the highest expression level was found in roots.

Keywords: soybean; *GmNAC46*; gene cloning; bioinformatics analysis; transcriptional activation; tissue expression

大豆 (*Glycine max* L. Merr.) 的种植起源于中国, 在我国有悠久的栽培历史。大豆作为一种重要的粮油兼用作物^[1], 在我国的农业生产种植中占有极其重要的地位。同时大豆也是日常生活中蛋白质和食用油脂的重要来源之一, 也是生长发育过程中需水量较多、对水分含量较为敏感的一类农作物^[2]。除此之外, 大豆在动物饲料、工业产品的生产中也发挥作用。近些年来, 随着经济的发展, 对于大豆的需求日益增多, 但由于种植面积减少以及自然环境变化等因素的影响, 国产大豆的总量远远满足不了国内需求。研究大豆生长发育过程中的抗逆机制, 进而培育出抗逆高产的品种是亟待解决

的问题。

转录因子是一类与靶基因启动子特定区域结合进而调控下游基因转录翻译的蛋白质^[3], 目前研究发现的转录因子有 NAC、MYB 等, 在植物体受到自然环境中各种各样的非生物胁迫时, 这些转录因子在植物抗逆的过程中发挥着重要的作用。

NAC 转录因子家族是植物特有的一类转录调控因子, 其名称是由矮牵牛的 NAM、拟南芥的 ATAF1/2 及 CUC2 结合共同命名的, NAC 转录因子的共同特征是: N 端是由 150 个左右氨基酸组成的一个高度保守的 NAC 结构域, C 端是一个多样化的转录结构激活域^[4]。目前许多 NAC 基因已经被克

收稿日期: 2022-07-19

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2022D01E14, 2021D01A93); 国家自然科学基金 (32160446, 31860295)。

第一作者: 杨梦诗 (1998—), 女, 硕士研究生, 主要从事作物抗逆分子育种研究。E-mail: 1623003790@qq.com。

通讯作者: 于月华 (1981—), 女, 博士, 高级实验师, 主要从事作物抗逆分子育种研究。E-mail: yuyuehua1213@sina.com;

倪志勇 (1981—), 男, 博士, 教授, 主要从事植物逆境分子生物学研究。E-mail: nizhiyong@126.com。

隆出来,如拟南芥中有 117 个编码 NAC 转录因子的基因,水稻中有 151 个^[5]。许多研究表明,NAC 家族转录因子不但可以通过激素信号通路参与植物的生长发育,比如根的生长和植物衰老等过程,而且参与植物对病虫害、杂草等的生物胁迫应答以及盐碱、干旱环境等非生物逆境胁迫的非生物应答过程^[6]。过表达水稻 *OsNAC2* 能够增强水稻对乙烯的敏感性,进而影响种子的萌发和生长^[7];过表达水稻胁迫响应基因 *SNAC1* 可以显著提高转基因水稻的抗旱性^[8];在水稻根中过表达 *OsNAC10* 基因可以提高水稻在干旱条件下的耐旱性和产量^[9]。

前人研究表明,大豆全基因组中含有 152 个编码 NAC 转录因子的基因,一些大豆 NAC 转录因子在大豆抗逆及生长发育过程中发挥重要的调节作用。在大豆根中过表达 *GmNAC4* 基因,在干旱条件下植株体中丙二醛含量降低,脯氨酸的含量增加,抗旱性增强^[10];在拟南芥中过表达 *GmNAC4* 基因,种子萌发率和根的长度都相对增加^[11];在烟草中过量表达 *GmNAC2* 基因烟草对干旱、高盐等非生物胁迫敏感,抗逆性下降,将 *GmNAC2* 基因沉默,烟草植株的抗逆性增强^[12];在拟南芥中过表达大豆 *GmNAC11* 和 *GmNAC20* 基因,过表达 *GmNAC11* 植株的耐盐性明显提高,而过表达 *GmNAC20* 植株不仅耐盐性和耐寒性提高,同时侧根形成也受到促进^[13]。本研究从大豆中克隆 *GmNAC46*,并对其进行生物信息学分析、转录自激活活性及组织特异性表达模式分析,旨在为进一步研究该基因的生物学术功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆栽培品种为 Williams 82;DL2000 Marker、*Taq* DNA 聚合酶、大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞购自北京全式金生物有限公司;限制性内切酶 *Sal* I、*Eco*R I、*T*₄ DNA 连接酶购于 Fermentas 公司;引物合成、测序由生工生物工程有限公司完成;酵母 YPDA 培养基粉末、酵母单缺培养基粉末 SD (Trp-)、酵母三缺培养基粉末 SD (Trp-/His-/Ade-) 购于北京泛基诺生物有限公司;克隆载体 pMD18-T Vector 购买于 TaKaRa 公司;TRizol、普通 DNA 产物纯化试剂盒、质粒 DNA 小量抽提试剂盒订购于北京天根生化有限公司;其它化学药品均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 大豆叶片 RNA 的提取和 cDNA 第一链的合成 将水培 20 d 左右大豆的叶片置于液氮中速冻研磨,用 TRizol 试剂盒 (Invitrogen) 提取叶片组织总 RNA^[14],使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量,

使用 NanoDrop One 测定 RNA 浓度,使用 First strand cDNA Synthesis 试剂盒 (Thermo Fisher) 将叶片总 RNA 反转录生成 cDNA 第一链。

1.2.2 *GmNAC46* 基因的克隆 根据 Phytozome V10.3 数据库中大豆基因组数据中的 Glyma. 07G048000.1 基因序列,使用 DNAMAN 8.0 设计引物 *GmNAC46-F* (5'-ATGGATGATGATATTGTAGGAC-TCGGTT-3') 和 *GmNAC46-R* (5'-TTAATTTTCCCA-TCTCCATGAAGTGG-3'),以大豆叶片 cDNA 第一链为模板,使用 *Taq* DNA 酶 (Transgen),PCR 扩增基因的开放阅读框 (ORF)。PCR 程序为:94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 90 s, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。扩增产物使用琼脂糖凝胶电泳进行鉴定,用普通 DNA 产物纯化试剂盒纯化回收 PCR 产物,连接至 pMD18-T 载体后转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,经菌液 PCR 检测后的阳性克隆送至上海生工生物工程有限公司进行测序。

1.2.3 *GmNAC46* 基因的生物信息学分析 利用 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>),以 *GmNAC46* 编码的氨基酸为参考序列,比对并下载其他物种的氨基酸序列,利用 DNAMAN 软件进行多序列比较,利用 MEGA 4.1 软件构建系统发生树。用 Protparam (<http://www.expasy.org/tools/protparam>) 在线网站预测 *GmNAC46* 蛋白的分子质量、等电点及理化性质;使用 BioEdit 软件的 Kyte&Doolittle 方法计算蛋白质序列的疏水性分布;使用在线工具 LocTree (<https://www.rostlab.org/services/loctree2/>) 预测该蛋白的亚细胞定位。使用 SOPMA (<https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsaautomat.pl?page=npsasopma.html>) 预测 *GmNAC46* 蛋白二级结构;使用 SWISS-Model (<http://swissmodel.expasy.org/>) 在线程序预测分析蛋白三级结构。

1.2.4 酵母单杂交 根据载体 pGBKT7 的序列图谱,设计带有 *Eco*R I 和 *Sal* I 酶切位点的同源重组引物,PCR 扩增 *GmNAC46* 的 ORF 序列,引物及序列为 *GmNAC46-BKF* (5'-TGGCCATGGAGGCCGAATTCATGGATGATGATATTGTAGGACTCG-3') 和 *GmNAC46-BKR* (5'-TGCGGCCGCTGCAGGTTAATTTTCCCATCTCCATGAAG-3')。纯化回收带有同源重组臂的 *GmNAC46* 的 ORF 序列,将载体质粒经 *Eco*R I 和 *Sal* I 双酶切回收,与基因使用博迈德生物公司 2 \times Seamless Cloning Mix 同源重组试剂盒进行同源重组,然后转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,经菌液 PCR 检测后的阳性克隆送至生工生物工程有限公司进行测序。

提取测序正确的 *GmNAC46*-pGBKT7 的质粒,与对照的 pGBKT7 空载体分别转化酵母菌株 AH109,涂布单缺 SD (Trp-) 营养型缺陷培养基^[15],待长出单菌落后,挑取单菌落稀释后涂布三缺 SD (Trp-/

His-/Ade-) 营养缺陷型培养基,在 30 ℃ 培养箱倒置培养 2~3 d 后,观察菌落的生长情况。

1.2.5 *GmNAC46* 组织特异性表达 分别取水培 20 d 后的 Williams 大豆的根、茎、叶、子叶组织,经液氮速冻后研磨提取 RNA 并反转录为 cDNA 后,以 *CYP2* 作为内参基因,采用 qRT-PCR 方法分析 *GmNAC46* 基因的表达式。qRT-PCR 引物为 nGmNAC46-qF(5'-GATCTTTGCGATGTGGAACCTTG-3') 和 (nGmNAC46-qR: 5'-AAGGTCCTAACTTCACG-GTCTACTCCAG-3')。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法^[16] 对荧光定

量的数据进行计算分析,使用 GraphPad Prism 5 软件进行统计制图。

2 结果与分析

2.1 *GmNAC46* 基因克隆及序列分析

从大豆 cDNA 中扩增出 *GmNAC46* 基因,该基因的 cDNA 全长 1 776 bp,开放阅读框长 1 218 bp,编码 405 个氨基酸。结构域预测发现 *GmNAC46* 中含有 1 个 NAC 结构域(图 1),该结构域位于第 4~156 个氨基酸的位置,该蛋白为 NAC 蛋白。

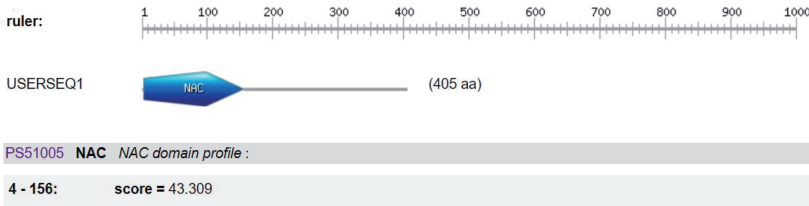


图 1 大豆 *GmNAC46* 蛋白的功能结构域分析

Fig. 1 Functional domain analysis of soybean *GmNAC46* protein

2.2 蛋白序列同源性及进化分析

多序列比对结果显示:*GmNAC46* 与野大豆的氨基酸序列有较高的相似性,为 99.75%,与木豆、

赤豆、赤小豆、绿豆的相似性次之,分别为 63.06%、57.52%、56.65%、57.38%(图 2)。如图 3 所示,*GmNAC46* 与野大豆处于同一分支,亲缘关系较近。

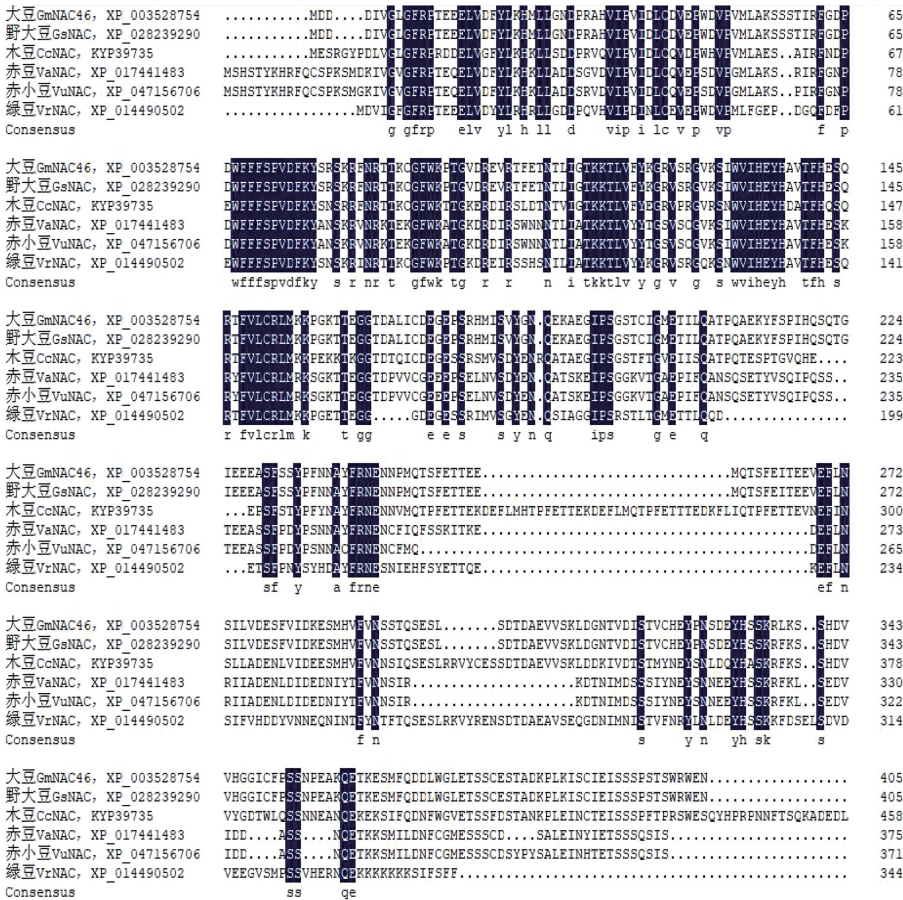


图 2 *GmNAC46* 蛋白与其他 NAC 蛋白多序列比对

Fig. 2 Multiple sequence alignment of *GmNAC46* protein with other NAC proteins

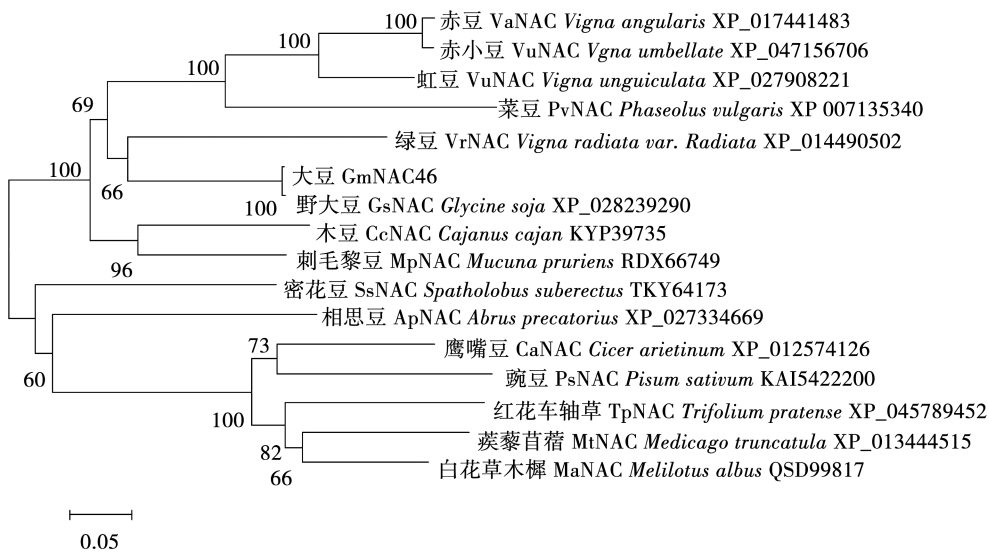


图3 GmNAC46 蛋白与其他 NAC 蛋白系统进化树分析

Fig.3 Phylogenetic tree analysis of GmNAC46 protein and other NAC proteins

2.3 大豆 GmNAC46 蛋白基本性质分析

GmNAC46 蛋白分子量为 45.872 kD,等电点为 4.88,由 20 种氨基酸组成,酸性氨基酸 64 个,碱性氨基酸 39 个,其中丝氨酸含量最多,为 11.6%,脂肪系数为 64.42,不稳定系数为 49.01,属于不稳定

蛋白。GmNAC46 蛋白无卷曲螺旋结构,定位于细胞核,符合转录因子一般定位于细胞核的结论。蛋白序列的亲疏水性分布结果显示:其总平均亲水性 (GRAVY)为 -0.515,可见该蛋白是亲水性较强的蛋白(图 4)。

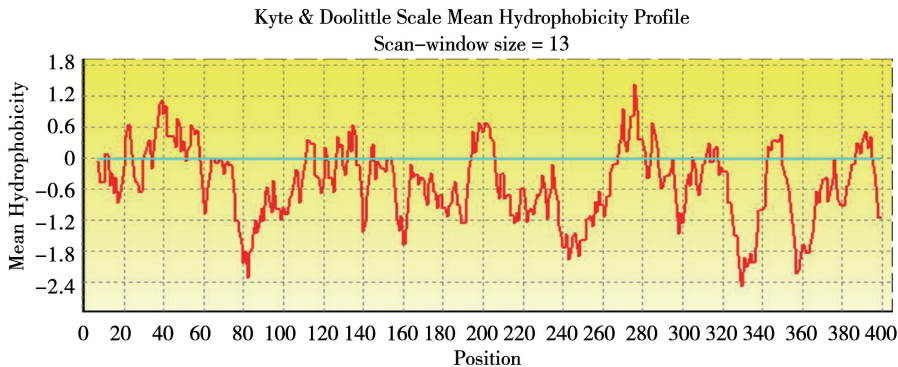
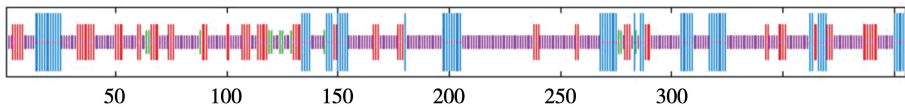


图4 GmNAC46 蛋白亲疏水性分析

Fig.4 Hydrophobicity analysis of GmNAC46 protein

GmNAC46 蛋白的二级结构中 α -螺旋占 17.28%、 β -转角占 2.96%,无规则卷曲占 59.75% (图 5)。三级结构预测结果显示,GmNAC46 蛋白的模型与水稻 NAC1 最相似,相似度达 41.13% (图 6)。



注:最长竖线为 α -螺旋;次长竖线为延伸带;第三长竖线为 β -转角;最短竖线为无规则卷曲。
Note:The longest vertical line means comb-screw; The second vertical line means extension belt; The third vertical line means corner; The shortest vertical line means random curl.

图5 GmNAC46 蛋白的二级结构

Fig.5 Secondary structure prediction of GmNAC46 protein



图6 GmNAC46 蛋白三级结构

Fig. 6 Tertiary structure of GmNAC46 protein

2.4 GmNAC46 的转录自激活活性分析

在单缺 SD (Trp-) 营养型缺陷培养基上, *GmNAC46*-pGBKT7 和 pGBKT7 空载两者均能正常生长,表明 pGBKT7 质粒和 *GmNAC46*-pGBKT7 质粒均转化至酵母中。在三缺 SD (Trp-/His-/Ade-) 的培养基上,转化 *GmNAC46*-pGBKT7 质粒的酵母菌落能够正常生长,而转化 pGBKT7 质粒的酵母菌落不能够正常生长(图7),表明 *GmNAC46* 具有转录自激活活性。

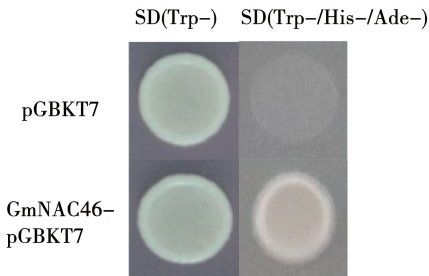


图7 GmNAC46 转录因子的转录激活活性分析

Fig. 7 Transcriptional activity of GmNAC46 transcription factor

2.5 GmNAC46 组织特异性表达分析

如图8所示, *GmNAC46* 基因在大豆的根、茎、叶、子叶中均有表达,其中,在根中的表达量最高,子叶次之,叶片中表达量最低。结果表明该基因可能主要在根中发挥调控作用。

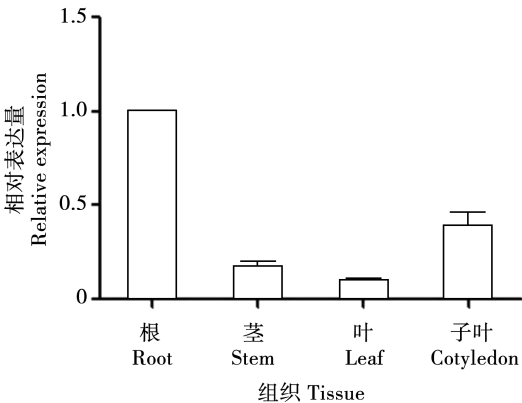


图8 GmNAC46 基因的组织特异性表达

Fig. 8 Tissue specific expression of GmNAC46 gene

3 讨论

NAC 转录因子包含 NAM、ATAF1/2 和 CUC2 重要组成部分,是转录因子家族中最重要的成员之一,许多的 NAC 基因仅含有 1 个 NAM 结构域,仅有少部分 NAC 基因有 2 个 NAM 结构域^[17];利用在线程序发现 *GmNAC46* 转录因子中含有一个保守的结构域,符合 NAC 转录因子的一般特性;同时利用在线网站预测到 *GmNAC46* 转录因子定位在细胞核中,符合转录因子的一般规律。

前人研究证明,大豆 NAC 家族成员基因大部分都具有转录自激活活性。Tran 等^[18]从大豆基因中克隆出了 31 个 *GmNAC* 转录因子,并对它们进行了酵母单杂实验,发现其中的 28 个都具有转录自激活活性,同时对这些大豆 NAC 基因的表达进行分析,它们在不同的器官中呈双向表达,说明它们在植物的生长发育过程中具有不同的功能。另外一些转录因子,如 *GmNAC23*^[19]、*GmNAC115*^[15]也具有转录自激活活性。这些研究说明大豆 NAC 转录因子大家族在植株体内,因其 C 端多变的转录激活域可能具有不同的转录调控机制。本研究发现 *GmNAC46* 也具有转录自激活活性,其转录激活区域有待进一步研究确定。

不同 NAC 转录因子在植物组织中的表达具有特异性。目前研究发现大豆中共有 152 个 NAC 蛋白,王洋等^[20]对这 152 个 NAC 蛋白的组织特异性表达情况进行了分析,其中主要在大豆根茎叶等营养器官中表达的 NAC 基因所占比例最大,在豆荚等器官中相对较少。如与大豆 *GmNAC4* 基因同源的拟南芥 *ANAC055* 基因,在叶片中的表达量最高,花和茎次之^[21];大豆 *GmNAC2/5* 这两个基因都在开花后 40 d 的未成熟大豆种子中的表达量最高,在根中的表达量次之,在叶片和茎中的表达量最低^[12]。对转 *GmNAC8* 基因拟南芥不同部位中 *GmNAC8* 基因表达分析的结果表明,该基因在根、茎、叶、花、荚中都有表达,茎、叶中的表达量最高,推测该基因可能在叶片中发挥响应胁迫调控作用^[22]。这些研究结果进一步表明了大豆 NAC 家族基因在植物生长发育中起到调节作用。本研究中,qRT-PCR 实验的结果表明 *GmNAC46* 在所检测的组织中都有表达量,在根中的表达量高于其他组织,表明基因可能主要在根中发挥调控作用,其具体生物学功能有待进一步研究。

4 结论

本研究从大豆中克隆出 *GmNAC46* 基因,其开放阅读框长 1 218 bp,编码 405 个氨基酸,*GmNAC46* 蛋白含有 1 个高度保守的 NAC 结构域。*GmNAC46*

与野生大豆的 NAC 蛋白处于同一分支上,亲缘关系较近。转录活性试验结果表明,转录因子 *GmNAC46* 具有转录自激活活性。*GmNAC46* 基因在大豆的多个组织中都有表达,在根中的表达量最高。本研究为进一步分析 *GmNAC46* 在大豆中的生物学功能和作用机制奠定基础。

参考文献

[1] 杨超. 大豆植株再生和遗传转化技术体系的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2009. (YANG C. Study on the technology system of soybean plant regeneration and genetic transformation [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009.)

[2] 刘莎莎, 柏新富, 冯春晓, 等. 干旱条件下土壤盐分对大豆生长及光合作用的影响[J]. 大豆科学, 2017, 36(6): 921-926. (LIU S S, BAI X F, FENG C X, et al. Effects of soil salinity on growth and photosynthesis of soybean under drought conditions [J]. Soybean Science, 2017, 36(6): 921-926.)

[3] 胡浩, 鹿瑞昭, 王怡, 等. 大豆 *GmbZIP27* 基因的克隆及表达分析[J]. 分子植物育种, 2022, 7(12): 1-11. (HU H, LU R Z, WANG Y, et al. Cloning and expression analysis of *GmbZIP27* gene in soybean [J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 7(12): 1-11.)

[4] 田雪瑶, 周洁, 王保松, 等. 柳树 NAC 基因的克隆与表达模式分析[J]. 南京林业大学学报, 2020, 44(1): 119-124. (TIAN X Y, ZHOU J, WANG B S, et al. Cloning and expression pattern analysis of NAC gene in Willow[J]. Journal of Nanjing Forestry University, 2020, 44(1): 119-124.)

[5] 张凤芝. 小麦 *tae-miR164* 及其靶基因的克隆与表达分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2018. (ZHANG F Z. Cloning and expression analysis of *tae-mir164* and its target gene in wheat[D]. Henan: Henan Agricultural University, 2018.)

[6] 张慧珍, 白雪芹, 曾幼玲. 植物 NAC 转录因子的生物学功能[J]. 植物生理学报, 2019, 55(7): 915-924. (ZHANG H Z, BAI X Q, ZENG Y L. Biological functions of plant NAC transcription factors [J]. Plant Physiology, 2019, 55(7): 915-924.)

[7] 余江涛. *OsNAC2* 参与多种激素途径介导水稻种子萌发和幼苗形成[D]. 上海: 上海师范大学, 2022. (YU J T. *OsNAC2* is involved in multiple hormonal pathways that mediate rice seed germination and seedling formation [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2022.)

[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 United States of America, 2006, 103(35): 12987-12992.

[9] JEONG J S, KIM Y S, BAEK K H, et al. Root-specific expression of *OsNAC10* improves drought tolerance and grain yield in rice under field drought conditions[J]. Plant Physiology, 2010, 153(1): 185-197.

[10] 张莹莹. 大豆转录因子 *GmNAC4* 基因的克隆及功能研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2021. (ZHANG Y Y. Cloning and functional study of soybean transcription factor *GmNAC4* gene [D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2021.)

[11] QUACH T N, PHAN L S, BABU V, 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.

[12] 金杭霞. 大豆转录因子 *GmNAC2* 和 *GmNAC5* 功能验证[D]. 南京: 南京农业大学, 2011. (JIN H X. Functional verification of soybean transcription factors *GmNAC2* and *GmNAC5* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.)

[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 for Cell & Molecular Biology, 2011, 68(2): 302-313.

[14] 白玉翠, 王萍, 倪志勇, 等. 大豆 *GmNF-YA11* 基因克隆及特征分析[J]. 大豆科学, 2019, 38(5): 719-725. (BAI Y C, WANG P, NI Z Y, et al. Cloning and characterization of *GmNF-YA11* gene from soybean[J]. Journal of Soybean Science, 2019, 38(5): 719-725.)

[15] 倪志勇, 于月华, 陈全家, 等. 大豆 *GmNAC115* 基因克隆及特征分析[J]. 大豆科学, 2016, 35(5): 754-759. (NI Z Y, YU Y H, CHEN Q J, et al. Cloning and characterization of *GmNAC115* gene in soybean [J]. Soybean Science, 2016, 35(5): 754-759.)

[16] 万会娜, 于月华, 王怡, 等. 大豆 *GmNAC131* 基因的生物信息学及表达分析[J]. 大豆科学, 2021, 40(2): 186-194. (WAN H N, YU Y H, WANG Y, et al. Bioinformatics and expression analysis of *GmNAC131* gene in soybean [J]. Soybean Science, 2021, 40(2): 186-194.)

[17] 邹嘉欣, 吕楠, 朱梦丽, 等. NAC 家族生物信息学分析[J]. 生物技术通讯, 2015, 26(1): 68-73. (ZOU J X, LYU N, ZHU M L, et al. Bioinformatics analysis of NAC family [J]. Biotechnology Letters, 2015, 26(1): 68-73.)

[18] TRAN L P, 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.

[19] 王萍, 于月华, 白玉翠, 等. 大豆 *GmNAC23* 基因的克隆及特征分析[J]. 华北农学报, 2019, 34(1): 46-53. (WANG P, YU Y Y, BAI Y C, et al. Cloning and characterization of soybean *GmNAC23* gene [J]. Acta Agriculturae Boreali-sinica, 2019, 34(1): 46-53.)

[20] 王洋, 柏锡. 大豆 NAC 基因家族生物信息学分析[J]. 大豆科学, 2014, 33(3): 325-333. (WANG Y, BAI X. Bioinformatics analysis of soybean NAC gene family [J]. Soybean Science, 2014, 33(3): 325-333.)

[21] 胡文韬. 大豆 *NAC4* 和 *NAC27* 基因的克隆及其对拟南芥和水稻的遗传转化[D]. 南昌: 南昌大学, 2016. (HU W T. Cloning of *NAC4* and *NAC27* genes from soybean and their genetic transformation to *Arabidopsis thaliana* and rice [D]. Nanchang: Nanchang University, 2016.)

[22] 方义生, 刘宝红, 陈水莲, 等. 大豆转录因子 *GmNAC8* 的克隆及耐旱性功能分析[J]. 中国油料作物学报, 2017, 39(1): 1-12. (FANG Y S, LIU B H, CHEN S L, et al. Cloning and drought tolerance of soybean transcription factor *GmNAC8* [J]. Chinese Journal of Oil Crops, 2017, 39(1): 1-12.)