

## 大豆种子特异性启动子研究进展

赵 艳<sup>1</sup>, 刘晓鑫<sup>2</sup>, 张庆林<sup>1</sup>, 王 英<sup>1</sup>, 李景文<sup>1</sup>, 王庆钰<sup>1</sup>

(1. 吉林大学 植物科学学院, 吉林 长春 130062; 2. 吉林省农业科学院 生物技术研究中心, 吉林 长春 130033)

**摘 要:**种子中的营养成分是植物基因工程改良的重要目标, 种子特异性启动子能够调控外源基因在种子中专业性表达, 利用高效特异性强的种子特异性启动子可以按照人们的意愿改进及提高种子中营养物质含量。因此, 明确大豆中种子特异启动子的调控机制及获得更多大豆种子特异性启动子对大豆改良研究及应用具有巨大的推动作用, 该文综述了种子特异性启动子顺式作用元件、相关转录因子的特点及大豆中种子特异性启动子在植物基因工程中研究应用的最新进展。

**关键词:**大豆; 种子特异性启动子; 顺式作用元件; 转录因子

**中图分类号:**S565.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2010)01-0151-06

## Advances of Studies on Seed-specific Promoters of Soybean

ZHAO Yan<sup>1</sup>, LIU Xiao-xin<sup>2</sup>, ZHANG Qing-lin<sup>1</sup>, WANG Ying<sup>1</sup>, LI Jing-wen<sup>1</sup>, WANG Qing-yu<sup>1</sup>

(1. College of Plant Science, Jilin University, Changchun 130062; 2. Center of Agri-Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, Jilin, China)

**Abstract:** The nutrient contents of plants seeds are the important target for plant genetic engineering. The seed-specific promoters can promote the exogenous genes to express specially in the seed, improve and raise the nourishment material content in the seed as desired. Thus, making the regulation mechanism of seed-specific promoters clearly and obtaining more seed-specific promoters from soybean will accelerate the research and application of soybean. It summarized the characteristics of cis-elements and transcription factors and the recent research advances of seed-specific promoters of soybean.

**Key words:** Soybean; Seed-specific promoters; Cis-elements; Transcription factors

大豆是重要的粮食作物和油料作物, 籽粒中含有丰富的蛋白质、脂肪和多种营养元素, 不仅是人类蛋白的主要来源, 医疗保健作用也非常明显。因此, 大豆的遗传研究、基因组研究一直受到重视。大豆基因组测序工作于2006年中期开始, 到2008年1月已经测序了大约1 300万个片断, 多达66 000个基因。大豆基因组较大, 调控元件及调控机制较为复杂, 调控元件的调控机制、作用将是大豆功能基因组学的主要研究内容。

启动子是基因表达调控的重要元件, 它与RNA聚合酶及反式作用因子的相互作用是启动子调控基因转录的实质。根据启动子的转录模式可将其分为3类: 组成型启动子、组织特异性启动子和诱导型启动子, 其中种子特异性启动子具有显著的组织 and 发育时期的特异性, 可以调控外源基因在植物种子中

高效表达。种子是粮食作物和油料作物的主要食用部分, 利用种子特异性启动子, 可以按照人们的意愿提高种子中营养物质含量, 改善其品质。因此, 对大豆中种子特异性启动子的研究, 有助于深入理解启动子调控大豆中基因转录的调控机制及种子特异表达方式的本质, 对植物基因工程的发展及人们的生产生活具有十分重要的意义。该文主要围绕种子特异性启动子顺式作用元件、相关转录因子的特点及大豆中种子特异性启动子在植物基因工程中研究应用等最新进展进行了综述。

### 1 大豆中已经克隆的种子特异性启动子及其应用

种子中含有丰富的碳水化合物, 特别是淀粉、蛋白质及脂肪。已克隆的种子特异性启动子也主要来

收稿日期: 2009-09-23

基金项目: 长春市科技计划资助项目(08GH10); 转基因生物新品种培育重大专项资助项目(2008ZX08004-003); 吉林省科技发展资助项目(20080204); 国家自然科学基金资助项目(30971808)。

第一作者简介: 赵艳(1981-), 女, 在读博士, 研究方向为植物种质资源与利用。E-mail: zhaoyan3053877@yahoo.com.cn。

通讯作者: 王庆钰, 教授, 博士生导师。E-mail: wqy414cn@yahoo.com.cn。

自于粮食作物及油料作物种子中的蛋白质、氨基酸、淀粉、脂类等合成代谢途径中相关的酶基因。谷蛋白和醇溶蛋白是谷类作物种子中所特有的蛋白质<sup>[1]</sup>,水稻的谷蛋白启动子可调控基因在发育的胚乳中特异性表达,在水稻的品质改良方面得到广泛应用<sup>[2]</sup>,玉米醇溶谷蛋白启动子能够调控报告基因只在胚乳外层中表达<sup>[3]</sup>,大豆不属于禾谷类作物,所以在大豆中不存在谷蛋白和醇溶蛋白基因的启动子。与淀粉合成有关的种子特异启动子有小麦的淀粉粒结合淀粉合成酶<sup>[4]</sup>和水稻的 ADP-葡萄糖焦磷酸化酶的启动子<sup>[5]</sup>,都表现出种子特异表达的特性,但大豆种子中碳的贮藏主要与三酰基甘油有关,而不是淀粉<sup>[6]</sup>,大豆中与淀粉合成有关的种子特异表达基因可能相对较少。

大豆中研究较深入的种子特异性启动子主要与种子中富含的蛋白质有关:如伴大豆球蛋白<sup>[7]</sup>、球蛋白<sup>[8]</sup>和油质蛋白的启动子,并在转基因中得到应用;已克隆的大豆种子特异性启动子有凝集素基因启动子及一些种子特异表达基因的启动子,如油酸去饱和酶<sup>[9]</sup>和脂肪氧化酶-3 的启动子。

### 1.1 伴大豆球蛋白基因启动子

伴大豆球蛋白( $\beta$ -conglycinin)是 7S 贮藏蛋白,在大豆种子中含量丰富,由  $\alpha$ 、 $\alpha'$  和  $\beta$  亚基组成,3 个亚基的启动子片段在序列结构上有很大的相似性,具有多种种子特异性启动子所特有的序列元件。 $\beta$ -conglycinin 启动子在增加转基因植物种子营养物质含量的研究中广泛应用,Joseph 等利用  $\beta$ -conglycinin 的  $\alpha'$  亚基启动子驱动植酸酶基因在大豆中表达,转基因大豆种子中植酸盐含量与对照相比减少 12.6% ~ 24.8%,植酸酶降低大豆中植酸,能够促进人和动物对矿物质的吸收,提高磷的利用率,从而降低磷的环境污染<sup>[10]</sup>。

Helene 等利用大豆  $\beta$ -conglycinin 种子特异性启动子介导琉璃苣  $\Delta^6$ -去饱和酶和拟南芥  $\Delta^{15}$  去饱和酶在大豆中共表达,大豆种子中十八碳四烯酸(STA)的含量有显著提高,这能够有效提高动物中二十碳五烯酸的转变,并有助于提高人们的健康<sup>[11]</sup>。编码油棕 7S 球蛋白的基因 *GLO7A*, 5' 端上游序列中也存在 2 个类似的 ABREs 基序和 1 个类似的种子特异表达的基序<sup>[12]</sup>, *GLO7A* 基因的启动子也可能是种子特异性启动子。

### 1.2 球蛋白基因启动子

球蛋白基因的启动子在许多植物中已经克隆,

如:棉花<sup>[13]</sup>、水稻<sup>[14]</sup>和菜豆,它们的球蛋白启动子都表现出高效的种子特异表达特性<sup>[15]</sup>。大豆中球蛋白积累的蛋白约占总种子蛋白的 40%。Ding 等对大豆球蛋白亚基 *G1* 基因启动子进行了深入的研究,利用该启动子介导人的成纤维细胞生长因子基因(*bFGF*)在大豆种子中得到了特异、大量表达,*G1* 启动子驱动下游 *gus* 基因在转基因大豆种子中得到特异表达,进一步确认了 *G1* 启动子的种子特异表达特性。同时,也表明大豆可作为用于药用蛋白表达的有益表达系统<sup>[8]</sup>。

### 1.3 油质蛋白基因启动子

油质蛋白可能在植物个体发育和成熟中起作用,油脂的积累与油质蛋白的合成在种子发育时期有重叠的阶段,但油脂的积累主要发生在油质蛋白积累之前。大豆中油质蛋白有 2 种不同的亚型:A 和 B。大豆油质蛋白基因 5' 上游序列与其液泡贮藏蛋白有相似性,上游区域有 RY repeat、G-box、Prolamin-box、SEF3 motif、SEF4 motif 和有助于提高种子基因表达的 CATGCAT 基序<sup>[16]</sup>。Cristina 等<sup>[17]</sup>将大豆油质蛋白 A 和 B2 亚型基因及启动子同时转入油菜中,在转基因油菜中的表达方式都是在种子中特异表达,在子叶发育的中期表达水平最高。拟南芥中油质蛋白基因的 5' 上游区域与 *gus* 融合后,在转基因芸薹胚中特异性表达<sup>[18]</sup>。

### 1.4 凝集素基因启动子

大豆中含有多种抗营养因子影响蛋白的营养品质,凝集素(lectin)是主要的抗营养因子。大豆中存在 2 种相关的凝集素基因 *Le1* 和 *Le2*<sup>[19]</sup>。真核生物启动子数据库中显示,大豆 *Le1* 基因在种子中表达,其启动子片段中含有几个典型的种子特异表达的元件,如:E-box、RY repeat、SEF1 motif 和 SEF4 motif。2001 年,Philip 等利用大豆的 *Le1* 启动子驱动  $\beta$ -casein 基因在转基因大豆种子中得到表达<sup>[20]</sup>。

已证明豌豆的凝集素基因(*psl*)启动子为种子特异性启动子,*psl* 启动子的 2 000 bp 片段调控基因在根、茎、叶中低水平表达,种子成熟中期的胚和胚乳中表达升高,萌发后显著下降。Sylvia 等对 *psl* 启动子进一步研究表明,包含必要 TGAC 基序的 22 bp 片段参与种子特异表达,表达方式与 2 000 bp 片段的表达方式相同,因此,22 bp 序列在凝集素基因的种子特异表达模式中起重要作用<sup>[21]</sup>。

### 1.5 油酸去饱和酶基因启动子

多不饱和脂肪酸是细胞膜和贮藏油脂的主要成

分,内质网上亚油酸、亚麻酸的合成依赖油酸去饱和酶(*FAD2*),它能够催化油酸的 C<sub>12</sub>与 C<sub>13</sub>之间形成双键。各种饱和、不饱和脂肪酸的比例也是影响种子油脂品质及其商品化应用的关键因素。拟南芥中 *FAD2* 基因是单拷贝的,但在芝麻、大豆、棉花、玉米、芸薹中至少有 2 个 *FAD2* 的亚型,一个为组成型表达,另一个与调控种子发育紧密联系。芝麻 *SeFAD2* 基因的启动子中包括一些种子特异表达元件,如:E-box、G-box、ABRE motif、RY repeat 和 Prolamin-box<sup>[22]</sup>。

大豆中 *FAD2-1* 基因为种子特异表达,决定种子贮藏油脂中多不饱和脂肪酸的含量,*FAD2-2* 基因为组成型表达,由稳定性及磷酸化作用不同,又可将 *FAD2-1* 基因分为 *FAD2-1A* 和 *FAD2-1B* 2 种<sup>[23]</sup>。Li 等对大豆中 *FAD2-1B* 基因进行研究发现,在正常的野生型酵母细胞中不存在亚油酸,但在含有大豆 *FAD2-1B* 基因载体转化酵母的细胞中能够积累一定量的亚油酸,表明该基因与多不饱和脂肪酸的合成密切相关。半定量 RT-PCR 分析表明 *FAD2-1B* 基因特异的在大豆种子中表达,5'端上游序列中包含几个种子特异表达基序<sup>[9]</sup>。

1.6 脂氧化酶-3 基因启动子

脂氧化酶(Lipoxygenase, Lox)具有催化顺,

顺-1,4-戊二烯结构的多元不饱和脂肪酸的双加氧反应,参与损伤、病原攻击、种子萌芽、果实熟化、植物衰老、脱落酸和茉莉酸合成等生理过程,在正常的植物生长和生殖生长过程中作为营养贮藏蛋白。大豆中有 9 个 *Lox* 基因,在不同的组织中表达<sup>[24]</sup>。种子中存在 3 种不同性质的脂肪氧化酶:Lox1、Lox2、Lox3<sup>[25]</sup>。真核生物启动子数据库中显示,*Lox3* 基因在大豆胚中特异性表达,启动子片段中广泛分布有多种与种子特异表达活性密切相关的元件,如:E-box、RY repeat、SEF1 motif、SEF3 motif 和 SEF4 motif。

2 种子特异性启动子的顺式作用元件及相关转录因子

2.1 种子特异性启动子的顺式作用元件

种子特异性启动子序列中有一些非常保守的基序,转录因子可能结合这些顺式作用元件后,激活基因的种子特异表达或抑制基因在非种子组织中的表达,一些种子特异表达基序并不存在于所有的大豆启动子中,可能是基因参与种子休眠、发育成熟等不同生理进程中所特有的种子特异表达的元件;有时几个顺式作用元件的组合才能形成有功能的启动子,如水稻的谷蛋白基因启动子中的 GCN<sub>4</sub>、AACA 和 ACGT3 个基序的组合才可以调控基因在胚乳中特异表

表 1 种子特异性启动子的顺式作用元件  
Table 1 Cis-elements in the seed-specific promoters

顺式作用元件 Cis-elements	共有序列 Consensus sequence	描述 Remarks	参考文献 References
RY repeat	CATGCA(TG)	广泛存在于单、双子叶植物种子特异表达基因启动子中,常多拷贝,对种子特异性基因的高水平表达十分重要	[27、28]
SEF1 motif	ATATTTAAWW	SEF1 的结合位点,能够增强启动子的转录活性	[7]
SEF3 motif	AVCCCA	胚特异蛋白 SEF3 的结合位点	[29]
SEF4 motif	RTTTTTC	胚特异蛋白 SEF4 的结合位点	[29]
E-box	CANNTG	常出现在参与三酰基甘油合成和植物种子特异表达基因的启动子中	[22]
B-box	ACGTGG	脱落酸的应答元件,与 G-box 以复合体的形式存在,是种子成熟阶段不可缺少的顺式元件之一	[30]
G-box	CACGTG	广泛存在于各种种子特异性启动子中,与邻近元件组合发挥作用,核心序列 ACGT 的侧翼序列可能在决定特异性结合方面起重要作用	[31]
CAAT-box	CCAAAT	广泛存在种子特异性启动子中	[26]
AACA	AACA	种子特异表达元件	[32]
CCAA	CCAA	种子特异表达元件	[33]
TATAA	TATAA	种子特异表达元件	[33]
GCN4	TGAGTCA	大多数种子储藏蛋白基因的启动子中都含有 GCN4 基序,是胚乳特异性表达必不可少的	[34]
Vicilin-box	GCCACCTC	可能参与种子中的转录调控	[35]
Prolamin-box	TGHAAAV	参与醇溶蛋白的表达调控,可影响基因的表达强度	[29]

H:T、A、C ;V:G、A、C; R:G、A; W:A、T

达<sup>[26]</sup>。一些较重要、较保守的种子特异表达基序在以上 6 个大豆启动子中基本共同存在,如 RY repeat、SEF4 motif、E-box、B-box、GT1、CAAT、AACA、CCAA、TATAA、AACAAACGT 和 Prolamin-box,这些元件可能在调控基因的种子特异表达中起重要作用(表 1)。

## 2.2 与种子特异性启动子顺式作用元件相关的转录因子

基因的所有顺式作用元件包括上游元件和增强

子都要和相应的转录因子结合,才能实现对基因转录的调控。转录因子在植物的生长发育、生物或非生物胁迫,根、茎、叶、花等组织的发育,ABA、乙烯应答、胚的发育、种子休眠等进程中,激活或抑制某些基因的转录,对基因的表达起着极其重要的作用,其中与种子贮藏蛋白基因表达、种子发育、休眠相关的 DNA 结合蛋白主要类型有:BZIP 家族、BHLH 家族、B3 型转录因子、MYB 家族和 WRKY 家族等多种 DNA 结合蛋白(表 2)。

表 2 与种子特异性启动子相关的转录因子

Table 2 Transcription factors related to seed-specific promoters

转录因子 Transcription factor familys	结合蛋白 Binding proteins	特点 Characterizations	参考文献 References
BZIP 家族 Basic leucine zipper family	bZIP 蛋白	能够结合 ABRE 和 G-box	[36]
	大豆的 GmbZIP(44,46,62,78)蛋白	参与 ABA 及逆境信号调控,能够结合 GCN4 的相似元件 (GTGACTCAT) 和 ABRE,但亲和性不同	[37]
	水稻 RISBZ1 蛋白	与 GCN4 特异结合	[38]
	ABI5(Absciscic acid-insensitive5)	结合 ACGT,种子蛋白积累的 ABA 信号	[39]
BHLH 家族 Basic helix-loop-helix family	bHLH 蛋白	能够与 G-box 特异结合	[40]
	芝麻的 SebHLH 蛋白	能够与 E-box 和 G-box 元件结合,bHLH 转录因子在贮藏脂类合成相关基因的转录调节中起重要的作用	[22]
B3 型转录因子 B3 domain transcription factor	FUS3(FUSCA3)	结合 RY 基序,推测能够调控种子贮存蛋白的直接表达,在种子成熟进程中起调控作用	[41,42]
	ABI3(Absciscic acid-insensitive3)	结合 RY 基序,推测能够调控种子贮存蛋白的直接表达	[43]
MYB 家族 MYB family	大豆的 GmMYB(76,92,177)蛋白	可能通过调控胁迫基因来忍耐胁迫,与顺式元件 TATAACG-GT TTTT 和 CCGGAA AAA AGGA 结合	[44]
	水稻的 OSMYB5 蛋白	可与 AACA 基序结合	[45]
WRKY 家族 WRKY family	大豆的 GmWRKY(13,27,54)3 个基因蛋白,保守序列 WRKYGQK	参与多种防御反应,结合 W-box(TTGAC)	[46]

## 3 展望

对启动子中顺式作用元件及与其相互作用转录因子的研究是启动子表达方式、表达效率和表达稳定性研究中必不可少的研究内容。与启动子缺失分析中已确定的一些种子特异表达顺式作用元件相比,对在种子特异表达中起作用的转录因子研究相对较少,转录因子与顺式作用元件是否存在着稳定的对应关系或在调控下游基因种子特异表达中是由一个或几个转录因子共同起作用,这些研究将会使种子特异性启动子的调控机制更加明确。大豆种子特异性启动子在植物基因工程应用中很少,主要原因是克隆的大豆种子特异表达基因上游序列少,并且已克隆的种子特异性启动子在表达特异性、高效

性及稳定性方面的研究还不是很全面,使其应用受到限制。大豆基因组的测序完成,为大豆中种子特异性启动子序列的获得带来方便,但有时基因上游序列不足以完成启动子功能,仍需克隆较长的启动子序列,并进行更详尽的调控机制的研究。

植物,尤其是以农作物的种子作为生物反应器一直是人们研究的重点及热点,种子特异性表达启动子是研究中必不可少的有利工具。近几年来种子特异性启动子在中显现出了极显著的效果,如玉米胚乳特异启动子驱动小麦基因在玉米中表达,降低了籽粒的硬度,有利于玉米的湿磨及家畜饲料<sup>[47]</sup>;水稻 *Ole18* 基因的启动子驱动 *RINO1* 基因在种子中特异表达,降低了水稻籽粒中植酸含量<sup>[48]</sup>; *napin* 基因启动子参与自我剪切载体在油菜种子

中特异表达,应用于建立无标记的安全转基因植物等<sup>[49]</sup>。但一些种子特异表达基因的上游序列表达的高效性或种子专一性还受其它因素影响,如:拟南芥 ABI3 转录因子的启动子为种子特异表达,但是当外源 ABA 存在时,则在根中表达<sup>[50]</sup>等,这些都是今后研究大豆种子特异表达启动子中需要注意的问题。有时使用来自本植物或近缘的其它植物的种子特异性启动子是必要的,可以降低同源转基因沉默,但是种子特异性启动子在非本植物中表达时易出现非种子特异表达,如当大麦和小麦的种子特异性启动子驱动 GFP 在水稻中表达,发现 GFP 也在根和叶中表达<sup>[34]</sup>。因此,研究大豆本身的种子特异性启动子应用于大豆中,对将大豆种子作为生物反应器并在其中表达并贮藏有价值的营养物质具有巨大推动作用。相信,随着实验技术方法的不断更新与完善,许多种子特异性启动子驱动下游基因种子特异表达的有效性 & 专一性调控、表达机制将会逐渐明确,将会有更多的大豆种子特异性启动子应用于植物基因工程中。

## 参考文献

- [1] 阎其涛,李建粤,米东,等. 重要谷类种子贮藏蛋白的特性及改良研究[J]. 西北植物学报,2004,24(4):754-759. (Yan Q T, Li J Y, Mi D, et al. Study on properties and improvement of seed storage proteins from cereal[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2004,24(4):754-759.)
- [2] Lui Q Q, Yao Q H, Gu M H. Endosperm-specific expression of the ferritin gene in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) results in increased iron content of milling rice[J]. Acta Genetica Sinica, 2004,31(5):518-524.
- [3] Russell D A, Fromm M R. Tissue-specific expression in transgenic maize of four endosperm promoters from maize and rice[J]. Transgenic Research, 1997,6(2):157-168.
- [4] Kluth A, Sprunck S, Becker D, et al. 5' deletion of a gbssI promoter region leads to changes in tissue and developmental specificities[J]. Plant Molecular Biology, 2002,49(6):669-682.
- [5] Qu L Q, Takaiwa F. Evaluation of tissue specificity and expression strength of rice seed component gene promoters in transgenic rice[J]. Plant Biotechnology Journal, 2004,2(2):113-125.
- [6] Joseph A White, Jim Todd. A New set of arabidopsis expressed sequence tags from developing seeds. The metabolic pathway from carbohydrates to seed oil[J]. Plant Physiology, 2000, 124(4):1582-1594.
- [7] Michiko Yoshino, Atsushi Nagamatdu, Ken-ichi Tsutsumi, et al. The regulatory function of the upstream sequence of the  $\beta$ -conglycinin  $\alpha$  subunit gene in seed-specific transcription is associated with the presence of the RY sequence[J]. Genes and Genetic Systems, 2006,81(2):135-141.
- [8] Ding S H, Huang L Y, Wang Y D, et al. High-level expression of basic fibroblast growth factor in transgenic soybean seeds and characterization of its biological activity[J]. Biotechnology Letters, 2006,28(12):869-875.
- [9] Li L, Wang X, Gai J, et al. Isolation and characterization of a seed-specific isoform of microsomal omega-6 fatty acid desaturase gene (FAD2-1B) from soybean[J]. DNA Sequence, 2008, 19(1):28-36.
- [10] Joseph M Chiera, John J Finer, Elizabeth A Grabau. Ectopic expression of a soybean phytase in developing seeds of Glycine max to improve phosphorus availability[J]. Plant Molecular Biology, 2004,56(6):895-904.
- [11] Helene Eckert, Brad LaVallee, Bruce J, et al. Co-expression of the borage  $\Delta^6$  desaturase and the Arabidopsis  $\Delta^{15}$  desaturase results in high accumulation of stearidonic acid in the seeds of transgenic soybean[J]. Planta, 2006, 224:1050-1057.
- [12] Morcillo F, Hartmann C, Duval Y, et al. Regulation of 7S globulin gene expression in zygotic and somatic embryos of oil palm[J]. Physiologia Plantarum, 2001, 112(2):233-243.
- [13] Sunilkumar G, Connell J P, Smith C W, et al. Cotton  $\alpha$ -globulin promoter: isolation and functional characterization in transgenic cotton, Arabidopsis and tobacco[J]. Transgenic Research, 2002, 11(4):347-359.
- [14] Hwang Y S, Yang D, McCullar C, et al. Analysis of the rice endosperm-specific globulin promoter in transformed rice cells[J]. Plant Cell Reports, 2002, 20(9):842-847.
- [15] Danny W-K Ng, Timothy C Hall. PvALF and FUS3 activate expression from the phaseolin promoter by different mechanisms[J]. Plant Molecular Biology, 2008, 66:233-244.
- [16] Daniel L Rowley, Eliot M Herman. The upstream domain of soybean oleosin genes contains regulatory elements similar to those of legume storage proteins[J]. Biochimica and Biophysica Acta, 1997, 1345(1):1-4.
- [17] Cristina Sarmiento, Joanne H E Ross, Eliot Herman, et al. Expression and subcellular targeting of a soybean oleosin in transgenic rapeseed. Implications for the mechanism of oil-body formation in seeds[J]. The Plant Journal, 1997, 11(4):783-796.
- [18] Plant A L, Van Rooijen G J, Anderson C P, et al. Regulation of an Arabidopsis oleosin gene promoter in transgenic Brassica napus[J]. Plant Molecular Biology, 1994, 25(2):193-205.
- [19] George M A, Bhidi S V, Thengane R J, et al. Identification of low lectin mutants in soybean[J]. Plant Breeding, 2008, 127:150-153.
- [20] Philip R, Darnowski D W, Maughan P J, et al. Processing and localization of bovine  $\beta$ -casein expressed in transgenic soybean seeds under control of a soybean lectin expression cassette[J]. Plant Science, 2001, 161:323-355.
- [21] Sylvia de Pater, Khanh Pham, Nam-Hai Chua, et al. A 22-bp fragment of the pea lectin promoter containing essential TGAC-like motifs confers seed-specific gene expression[J]. The Plant Cell, 1993, 5(8):877-886.
- [22] Mi Jung Kim, Jeong-Kook Kim, Jeong Sheop Shin, et al. The SeBHLH transcription factor mediates trans-activation of the *SeFAD2* gene promoter through binding to E- and G-box elements[J]. Plant Molecular Biology, 2007, 64(4):453-466.
- [23] Li L Y, Wang X L, Gai Y, et al. Molecular cloning and characterization of a novel microsomal oleate desaturase gene from soybean[J]. Journal of Plant Physiology, 2007, 164(11):1516-1526.

- [24] Liavonchanka A, Feussner I. Lipxygenases: Occurrence, functions and catalysis[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2006, 163(3): 348-357.
- [25] Hirotada Fukushima, David F Hildebrand. A simple and efficient system for green note compound biogenesis by use of certain lipxygenase and hydroperoxide lyase sources[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(17): 6877-6882.
- [26] Wu C Y, Washida H, Onodera Y, et al. Quantitative nature of the Prolamin-box, ACGT and AACA motifs in a rice glutelin gene promoter: minimal cis- element requirements for endosperm- specific gene expression[J]. *Plant Journal*, 2000, 23(3): 415-421.
- [27] Malinee Chatthai, Benjamin S Forward, Dmytro Yevtushenko, et al. 2S storage protein gene of Douglas-fir: characterization and activity of promoter in transgenic tobacco seeds[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004, 42(5): 417-23.
- [28] Moreno - Risueno M A, González N, Díaz I, et al. FUSCA3 from barley unveils a common transcriptional regulation of seed-specific genes between cereals and Arabidopsis[J]. *Plant Journal*, 2008, 53(6): 882-94.
- [29] Kyoung-Ji Chung, Seon-Kap Hwang, Bum-Soo Hahn, et al. Authentic seed-specific activity of the *Perilla* oleosin 19 gene promoter in transgenic Arabidopsis[J]. *Plant Cell Reports*, 2008, 27(1): 29-37.
- [30] In es Ezcurra1, Mats Ellerstr ml, Paul Wycliffe1, et al. Interaction between composite elements in the napA promoter: both the B-box ABA-responsive complex and the RY/G complex are necessary for seed-specific expression [J]. *Plant Molecular Biology*, 1999, 40(4): 699-709.
- [31] Chandrasekharan M B, Bishop K J, Hall T C, Module specific regulation of the beta-phaseolin promoter during embryogenesis[J]. *The Plant Journal*, 2003, 33(5): 853-866.
- [32] Washida H, Wu C Y, Suzuki A, et al. Identification of cis-regulatory elements required for endosperm expression of the rice storage protein glutelin gene GluB-1 [J]. *Plant Molecular Biology*, 1999, 40(1): 1-12.
- [33] Chamberland S, Daigle N, Bernier F. The legumin boxes and the 3' part of a soybean beta-conglycinin promoter are involved in seed gene expression in transgenic tobacco plants [J]. *Plant Molecular Biology*, 1992, 19(6): 937-949.
- [34] Furtado A, Henry R J, Takaiwa F. Comparison of promoters in transgenic rice[J]. *Plant Biotechnol J* 2008, 6(7): 679-693.
- [35] Michiko Yoshino1, Akira Kanazawa1, Ken-ichi Tsutsumi, et al. Structure and characterization of the gene encoding  $\alpha$  subunit of soybean  $\beta$ -conglycinin[J]. *Genes and Genetic Systems*, 2001, 76(2): 99-105.
- [36] Liao Y, Zhang J S, Chen S Y, et al. Role of soybean GmbZIP132 under abscisic acid and salt stresses [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2008, 50(2): 221-230.
- [37] Liao Y, Zou H F, Wei W, et al. Soybean *GmbZIP44*, *GmbZIP62* and *GmbZIP78* genes function as negative regulator of ABA signaling and confer salt and freezing tolerance in transgenic Arabidopsis [J]. *Planta*, 2008, 228(2): 225-240.
- [38] Yasuyuki Onodera, Akihiro Suzuki, Chuan-Yin Wu, et al. A rice functional transcriptional activator, RISBZ1, responsible for endosperm-specific expression of storage protein genes through GCN4 Motif[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(17): 14139-14152.
- [39] Finkelstein R R, Lynch T J. The Arabidopsis abscisic acid response gene ABI5 encodes a basic leucine zipper transcription factor[J]. *Plant Cell*, 2000, 12(4): 599-609.
- [40] Kawagoe Y, Campell B R, Murai N. Synergism between CACGTG (G-box) and CACCTG cis- elements is required for activation of the bean seed storage protein  $\beta$ -phaseolin gene[J]. *Plant Journal*, 1994, 5(6): 885-890.
- [41] Schallau A, Kakhovskaya I, Tewes A, et al. Phylogenetic footprints in fern spore- and seed- specific gene promoters[J]. *Plant Journal*, 2008, 53(3): 414-424.
- [42] Masaharu Suzuki, Donald R McCarty, Functional symmetry of the B3 network controlling seed development [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2008, 11(5): 548-553.
- [43] Mira Dj Milisavljevic, Miroslav M Konstantinovic, Jelena M Brkljacic, et al. Isolation and computer analysis of the 5' regulatory region of the seed storage protein gene from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(6): 2076-2080.
- [44] Liao Y, Zou H F, Wang H W, et al. Soybean GmMYB76, GmMYB92, and GmMYB177 genes confer stress tolerance in transgenic Arabidopsis plants [J]. *Cell Research*, 2008, 18(10): 1047-1060.
- [45] Suzuki A, Wu C Y, Washida H, et al. Rice MYB protein OSMYB5 specifically binds to the AACA motif conserved among promoters of genes for storage protein glutelin [J]. *Plant Cell Physiol*, 1998, 39(5): 555-559.
- [46] Zhou Q Y, Tian A G, Zou H F. Soybean WRKY-type transcription factor genes, GmWRKY13, GmWRKY21, and GmWRKY54, confer differential tolerance to abiotic stresses in transgenic Arabidopsis plants [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2008, 6(5): 486-503.
- [47] Zhang J, Martin J M, Beecher B, et al. Seed-specific expression of the wheat puroindoline genes improves maize wet milling yields [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2009, 7(8): 733-743.
- [48] Kuwano M, Mimura T, Talcaiwai F, et al. Generation of stable low phytic acid transgenic rice through antisense repression of the 1D-myo-inositol 3-phosphate synthase gene (RINO1) using the 18-kDa oleosin promoter [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2009, 7(1): 96-105.
- [49] Kopertekh L, Broer I, Schiemann J. Developmentally regulated site-specific marker gene excision in transgenic *B. napus* plants [J]. *Plant Cell Reports*, 2009, 28(7): 1075-1083.
- [50] Ng D W, Chandrasekharan M B, Hall T C. The 5' UTR negatively regulates quantitative and spatial expression from the ABI3 promoter [J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 54(1): 25-38.