



# 大豆 *GmbZIP33* 基因启动子的克隆及瞬时表达分析

白丽娟<sup>1,2</sup>, 刘 薇<sup>3</sup>, 王志莉<sup>4</sup>, 王文婷<sup>1,2</sup>, 吴存祥<sup>2</sup>, 冯永君<sup>1</sup>

(1. 北京理工大学 生命学院, 北京 100081; 2. 中国农业科学院 作物科学研究所, 北京 100081; 3. 山东省农业科学院 作物研究所, 山东 济南 250100; 4. 香港中文大学 生命科学院, 香港 999077)

**摘 要:** 启动子作为基因调控的重要元件, 决定着下游基因表达的时空和强度特性。为研究大豆 *GmbZIP33* 基因启动子功能, 在前期克隆获得 *GmbZIP33* 基因 (*Glyma. 03G219300. 1*) 序列的基础上, 通过 N-PCR (nested PCR) 技术克隆了 *GmbZIP33* CDS 上游启动子区序列 (2 316 bp)。利用 PlantCARE 在线分析软件进行顺式作用元件的预测, 发现该序列上除含有 TATA-box 和 CAAT-box 等核心调控元件外, 同时包括与抗逆、光响应、激素响应、蔗糖应答元件和多个与组织特异性表达相关的元件。为研究 *GmbZIP33* 启动子的表达调控特性, 构建了该启动子调控报告基因 *GUS* 表达的载体, 并利用农杆菌介导的花序浸染法将其转入拟南芥中, 发现该启动子驱动下的 *GUS* 基因在不同组织 (莲座叶、花、荚果和根) 的维管束中均特异性表达; 对转基因拟南芥进行实时荧光定量 PCR 检测发现, *GUS* 基因在花中表达量最高, 荚果中次之, 表明 *GmbZIP33* 基因可能受到多种因素和蔗糖的调节并参与花荚发育的调控。

**关键词:** 大豆; 拟南芥; *GUS*; 维管组织特异性启动子

## Cloning of *GmbZIP33* Promoter from Soybean and Its Transient Expression Analysis in *Arabidopsis thaliana*

BAI Li-juan<sup>1,2</sup>, LIU Wei<sup>3</sup>, WANG Zhi-li<sup>4</sup>, WANG Wen-ting<sup>1,2</sup>, WU Cun-xiang<sup>2</sup>, FENG Yong-jun<sup>1</sup>

(1. School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China; 2. Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China; 3. Crop Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 4. School of Life Science, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China)

**Abstract:** Promoter, as an important element in regulating gene expression, determines the temporal, spatial and intensity characteristics of the downstream gene expression. To study the promoter function of soybean *GmbZIP33* gene, we cloned 2 316 bp upstream region of *GmbZIP33* CDS as the promoter by N-PCR (nested PCR) technique on the basis of previous cloned *GmbZIP33* gene sequence, and predicted its cis-acting elements by using PlantCARE online analysis software. It was found that besides the core regulatory elements of TATA-box and CAAT-box, there were also stress resistance response, light response, hormone response, sucrose response elements and tissue-specific expression elements. A vector to regulate the expression of reporter gene *GUS* was constructed and transformed into *Arabidopsis thaliana* by *Agrobacterium*-mediated floral-dip method to study the expression characteristics of *GmbZIP33* promoter. Histochemical staining of transgenic *Arabidopsis* showed that *GUS* gene driven by this promoter was specifically expressed in vascular bundles of different tissues (rosette leaf, flower, pod and root). Real-time fluorescence quantitative PCR of the *GUS* gene in these four tissues of transgenic *Arabidopsis* showed that it was most expressed in flower, followed by in pod, suggesting that *GmbZIP33* gene might be regulated by many factors and sucrose, and showing the possibility of roles in flower and pod development regulation.

**Keywords:** Soybean; *Arabidopsis thaliana*; *GUS*; Vascular tissue specific promoter

碱性亮氨酸拉链 (bZIP) 转录因子是真核生物转录因子中分布最广泛、最保守的一类蛋白, 它包含有一个碱性区域和亮氨酸拉链区, 保守的碱性区负责与特异的 DNA 序列结合, 而保守的亮氨酸拉链区则赋予其具有两亲性的特性<sup>[1]</sup>。在拟南芥中发现了 75 个 bZIP 转录因子, Jakoby 等<sup>[1]</sup> 根据碱性结构域等特性将其分为 A、B、C、D、E、F、G、H、I 和 S 共

10 个亚家族, 它们在植物生长<sup>[2]</sup>、种子成熟与发芽<sup>[3]</sup>、花发育<sup>[4]</sup>、植物衰老<sup>[5]</sup>、形态发生与光信号<sup>[6]</sup>、病菌防御<sup>[7]</sup> 以及响应各种生物或非生物胁迫<sup>[8-9]</sup> 等方面发挥着重要作用。

大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.] 是我国重要的粮食和油料作物。根据生物信息学分析, 在大豆中预测存在 143 个 bZIP 转录因子 ([收稿日期: 2019-02-27](http://plant-</a></p></div><div data-bbox=)

基金项目: 国家自然科学基金 (31271636, 31870090)。

第一作者简介: 白丽娟 (1993 -), 女, 硕士, 主要从事大豆发育生物学研究。E-mail: bailijuan1030@163.com。

通讯作者: 吴存祥 (1969 -), 男, 博士, 研究员, 主要从事大豆栽培、育种研究。E-mail: wucunxiang@caas.cn;

冯永君 (1973 -), 男, 博士, 教授, 主要从事植物内生菌研究。E-mail: fengyj@bit.edu.cn。

tfdb. cbi. pku. edu. cn/), Liao 等<sup>[10]</sup>将其中的 131 个 bZIP 转录因子分成了 10 个亚家族,然而这些亚家族的功能尚不明确。*GmbZIP60* 的转录能被盐和 ABA 所诱导<sup>[11]</sup>。Nan 等<sup>[12]</sup>发现,大豆 bZIP 转录因子 GmFDL19 可通过与 GmFT2a、GmFT5a 互作调控大豆开花。过表达 *GmbZIP123* 的转基因拟南芥种子脂质含量升高,同时,在这些转基因种子中也发现了较高水平的葡萄糖、果糖和蔗糖<sup>[13]</sup>。这些初步的研究结果表明,探索 bZIP 转录因子的功能对于理解大豆开花和产量形成非常重要。

启动子通常位于基因上游,是 RNA 聚合酶识别结合从而启动基因转录的一段 DNA 序列<sup>[14]</sup>。对于高等植物启动子来说,除含有精确起始转录的 TA-TA-box 核心区外,还包括能够调控基因表达的上游调控区,即调控转录起始频率的 CAAT-box, GC-box, 和一些决定启动子表达方式的特有顺式作用元件,如激素应答元件、光响应元件、胁迫应答元件、蔗糖应答元件等。研究基因启动子可明确其启动表达特点,并为进一步解析基因功能提供理论基础。然而,目前关于大豆 S-bZIP 亚家族基因启动子的研究鲜有报道。

本实验室前期通过酵母单杂交技术筛选到与基因 *GmNMHC5*<sup>[15]</sup> 启动子区相结合的转录因子 *GmbZIP33*。序列比对发现其属于 S-bZIP 亚家族,而在拟南芥中该亚族成员受蔗糖的特异性调控。为进一步明确 *GmbZIP33* 在大豆中的作用,本研究克隆了基因 *GmbZIP33* 的启动子,通过启动子序列元件分析、转基因拟南芥 GUS 组织化学染色和荧光定量 GUS 基因的表达,旨在明确该基因启动子的表达模式,从而为探讨 *GmbZIP33* 基因的功能提供一定理论和分子基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 大豆品种自贡冬豆和拟南芥品种哥伦比亚野生型由中国农业科学院作物科学研究所农村农业部大豆生物学重点实验室提供。

1.1.2 菌株与质粒 大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 、农杆菌 GV3101 由本实验室保藏;植物表达载体质粒 pGFP-GUS 由本实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 大豆 *GmbZIP33* 基因启动子片段的克隆 将 *GmbZIP33* 基因的碱基序列输入大豆基因组 phytozome 数据库 (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>), 找到 *GmbZIP33* 所在的染色体以及 *GmbZIP33* 基因的 CDS 序列,选取 CDS 上游2 500

bp 左右序列进行 *GmbZIP33* 启动子片段序列分析。

参照植物基因组提取试剂盒(江苏康为世纪生物科技有限公司)的说明书,从自贡冬豆的叶片组织中提取大豆基因组 DNA,根据巢氏 PCR 技术(N-PCR),进行两轮反应克隆。PCR 扩增条件均为 94℃ 预变性 2 min;98℃ 变性 10 s;55℃ 退火 30 s;68℃ 延伸 90 s,30 个循环。利用 Primer Premier 5.0 软件设计的相应特异性引物如下,其中第二轮的引物根据同源重组原则进行设计,引物合成由华大基因公司完成。上游引物 F1: 5'-TTCTAATAATCTA-ATATGGCCATT-3';下游引物 R1: 5'-GCTAACT-TCATCGGTCAGATCCTCC-3';上游引物 F2: 5'-GACCTGCAGGCATGCAAGCTTCTTTGACCAGTGAA-GGCAAGATGTT-3';下游引物 R2: 5'-TAGAAATT-TACCCTCAGATCTACCATTTCGAGAAGGAGATTT-TTTATTTG-3'。

将第一轮 PCR 扩增后的纯化产物作为第二轮 PCR 的模版,第二轮的扩增产物经过琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒(天根生化科技有限公司)回收后,其产物利用同源重组试剂盒(北京全式金生物技术有限公司)与带有酶切位点 *Hind* III 和 *Bgl* II 的线性 pGFPGUS 载体连接。连接产物转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ ,通过菌液 PCR 鉴定获得重组质粒,由擎科生物技术有限公司完成测序。

1.2.2 植物报告载体的构建及遗传转化 将 *GmbZIP33* 基因启动子片段替代 pGFPGUS 中 *GUS* 基因前的 35S 启动子构建新的表达载体,采用电击法将测序正确的重组质粒 p*GmbZIP33*pro-GUS 和对照质粒 pGFPGUS 分别转入农杆菌 GV3101 感受态中,利用农杆菌介导的花序浸染法,将植物表达载体 p*GmbZIP33*pro-GUS 和对照载体 pGFPGUS 的 T-DNA 区整合入野生型拟南芥的基因组 DNA 中,获得的 T<sub>0</sub> 代种子种于含有 50 mg·mL<sup>-1</sup>潮霉素(hpt)的选择培养基中,直至获得 T<sub>2</sub> 代转化幼苗。T<sub>2</sub> 代转基因植株用于进一步分析。

1.2.3 转基因拟南芥植株的 GUS 组织化学染色 待培养筛选到的 T<sub>2</sub> 代转化植株生长至生殖生长期,取莲座叶、花、荚果、根组织于非扩散型 GUS 染液(北京奥博来科技有限责任公司)中,37℃ 过夜孵育,75% 酒精洗涤脱色 5~6 次,在连接有数码相机的 OLYMPUS 体视显微镜下观察染色部位并拍照记录。

1.2.4 转基因拟南芥植株基因组 DNA 的 PCR 检测 利用植物基因组提取试剂盒(江苏康为世纪生物科技有限公司)从转基因拟南芥的莲座叶、花、荚果、根 4 部分组织中提取基因组 DNA,将其作为模

版,以 *GmbZIP33* 启动子和 *GUS* 基因的特异性引物进行 PCR 扩增,其中,测序正确的植物表达载体为阳性对照,野生型植株和 ddH<sub>2</sub>O 为阴性对照。启动子的引物序列为: *GmbZIP33*proF: 5'-CTTTGAC-CAGTGAAGGCAAGATGTT-3'; *GmbZIP33*proR: 5'-ACCATTTCCGAGAAGGAGATTTTTT-3'; *GUS* 基因的引物序列为: GUSF, 5'-GAACTGGTGAACGACG-GACT-3'; GUSR, 5'-CCATCACATTGCTCGCTTCG-3'。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离鉴定阳性植株。

1.2.5 转基因拟南芥植株不同组织中 *GUS* 相对表达量检测 利用 Trizol Kit 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司)分别提取转基因植株不同组织中的总 RNA,并根据反转录试剂盒(天根生化科技有限公司)进行 mRNA 的反转录,将反转录产物稀释 4 倍,并保存于 -20℃ 冰箱中备用。参照实时荧光定量 PCR 试剂盒(TaKaRa 公司)的说明,以 *AtACTIN* 作为内参基因,实时荧光定量 PCR 检测莲座叶、花、荚果、根中 *GUS* 基因的相对表达量,扩增条件为 94℃ 预变性 2 min; 94℃ 变性 30 s, 58℃ 复性 40 s、72℃ 延伸 40 s,进行 40 个循环。试验设置 3 次重复,每次重复 3 株植株。扩增结束后,分析目的基因 *GUS* 与内参基因 *AtACTIN* 扩增得到的 CT 值,采用公式  $2^{-\Delta\Delta CT}$  计算外源目的基因的相对表达量。

利用 NCBI 中查找到的 *GUS* 序列,按照实时荧光定量 PCR 引物设计原则设计的引物为:上游引物,5'-CGAAGCGAGCAATGTGATGG-3';下游引物,5'-GATCCGCAAGACGCATCAAC-3'。

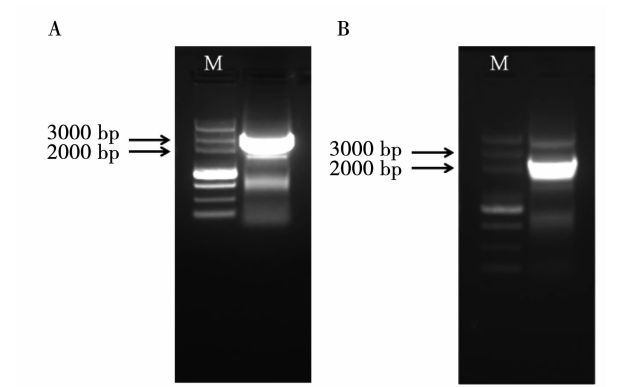
## 2 结果与分析

### 2.1 大豆 *GmbZIP33* 基因启动子片段的获得

采用巢氏 PCR 技术,分两轮 PCR 精确克隆 *GmbZIP33* 启动子片段,琼脂糖凝胶电泳结果如图 1 所示,其中图 1A 为第一轮利用外引物扩增得到的大豆 *GmbZIP33* 基因启动子片段,大小为 2 500 bp,图 1B 为第二轮利用内引物扩增到的大豆 *GmbZIP33* 基因启动子片段,大小为 2 316 bp。

### 2.2 大豆 *GmbZIP33* 基因启动子的序列分析

利用 PlantCARE 在线软件(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html>)分析克隆得到的 *GmbZIP33* 启动子序列,该启动子区域除包含 RNA 聚合酶结合位点的 TATA-box 和调控转录频率的 CAAT-box 核心顺式作用元件外,还包括光响应元件、胁迫响应元件、激素应答元件、蔗糖应答元件和调控组织特异表达所需的顺式作用元件,如 GATABOX 基序、NTBBF1ARROLB 基序(表 1)。



A:第一轮扩增结果;B:第二轮扩增结果;M: DL2000 plus DNA 分子标准量。  
A: The first round amplification; B: The second round amplification; M: DL2000 plus DNA marker.

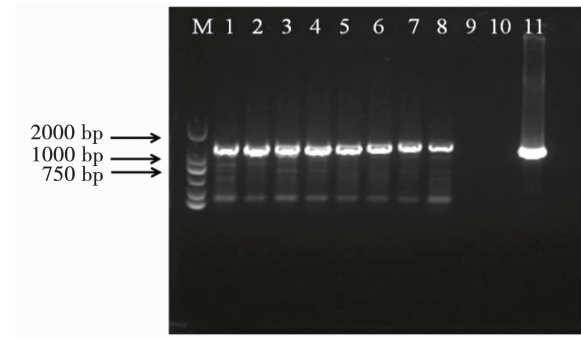
图 1 大豆 *GmbZIP33* 启动子的克隆  
Fig. 1 The cloning of soybean *GmbZIP33* promoter

表 1 应用 PlantCARE 软件预测的 *GmbZIP33* 启动子部分顺式作用元件  
Table 1 Cis-acting regulatory elements of *GmbZIP33* promoter sequence analysed by PlantCARE

位点 Locus	信号序列 Signal sequence	位点功能 Locus function
TATABOX	TATA	RNA 聚合酶结合位点, 保证转录起始
CAATBOX	CAAT	启动子增强子区普通顺式作用元件
GT1CONSENSUS	GRWAAW	光响应元件
GT1GMSCAM4	GAAAAA	病原体和盐诱导元件
MYB1AT	WAACCA	脱水应答元件
MYB2AT	TAACTG	渗透胁迫应答元件
T/GBOXATPIN2	AACGTG	茉莉酸响应元件
GARE1OSREP1	TAACAGA	赤霉素应答元件
SURE2STPAT21	AATACTAAT	蔗糖应答元件
GATABOX	GATA	组织特异表达 GATA 基序
NTBBF1ARROLB	ACTTTA	维管束组织特异表达和生长素诱导

### 2.3 转基因拟南芥 PCR 检测

提取 T<sub>2</sub> 代转基因拟南芥的叶片基因组 DNA,利用特异性引物分别扩增 *GmbZIP33* 启动子片段和对照载体 pGFPGUS 上的报告基因 *GUS* 片段(大小分别为 1 240 和 1 216 bp)。琼脂糖凝胶电泳结果表明,获得 8 株转 p*GmbZIP33*pro-*GUS* 拟南芥阳性植株(图 2),同时获得阳性对照的 pGFPGUS 植株 8 株(图 3)。



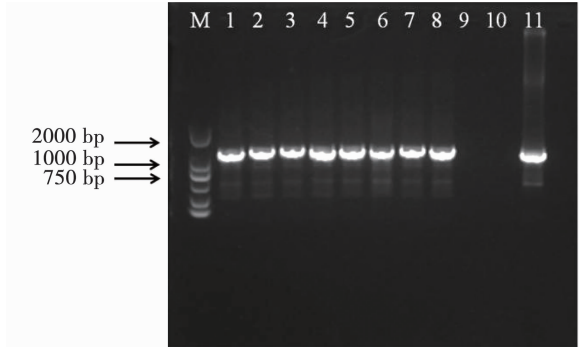
M:DL2000 DNA 分子标准量;1~8:转 pGmbZIP33pro-GUS 拟南芥植株;9:野生型拟南芥阴性对照;10:ddH<sub>2</sub>O 阴性对照;11:阳性对照。

M:DL2000 DNA marker; 1-8:Transformed pGmbZIP33pro-GUS *Arabidopsis* plants; 9: WT negative control; 10:ddH<sub>2</sub>O negative control; 11:Positive control.

图2 转 pGmbZIP33pro-GUS 拟南芥植株的 PCR 鉴定  
Fig.2 PCR identification of pGmbZIP33pro-GUS transgenic *Arabidopsis* plants

2.4 不同组织中 GUS 的相对表达量

取 T<sub>2</sub> 代转化植株的莲座叶、花、荚果、根组织,进行非扩散型 GUS 染液染色,通过表达载体 pGmbZIP33pro-GUS 上 GUS 基因在植物体内的表达情况,以 pGFPGUS 转基因拟南芥为对照,定性检测 GmbZIP33 基因启动子的表达模式,结果显示4部分组织均被不同程度地染成蓝色(图4)。E-H 代表转 pGFPGUS 的拟南芥不同组织 35S 强启动子驱动下的 GUS 基因表达情况,染色颜色较深,呈组成型表达;而 A~D 显示,转 pGmbZIP33pro-GUS 的拟南芥

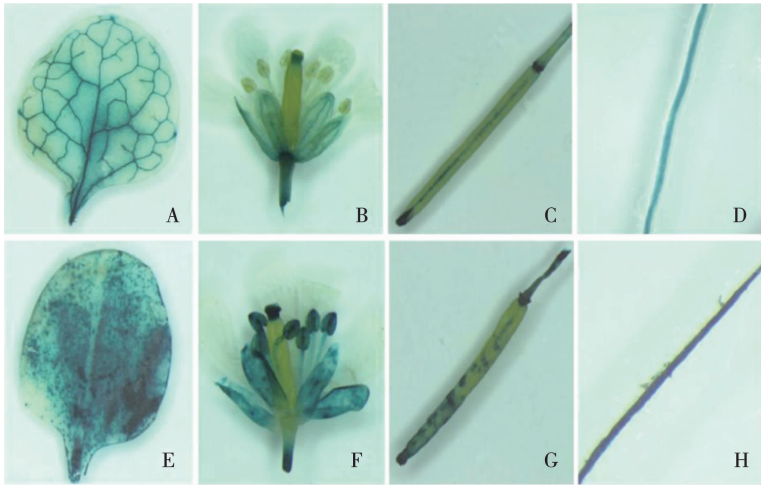


M:DL2000 DNA 分子标准量;1~8:转 pGFPGUS 拟南芥植株;9:野生型阴性对照;10:ddH<sub>2</sub>O 阴性对照;11:阳性对照。

M:DL2000 DNA marker; 1~8:Transformed pGFPGUS*Arabidopsis* plants; 9:WT negative control; 10:ddH<sub>2</sub>O negative control; 11:Positive control.

图3 转 pGFPGUS 拟南芥植株的 PCR 鉴定  
Fig.3 PCR identification of pGFPGUS transgenic *Arabidopsis* plants

不同组织 GmbZIP33 启动子驱动下的 GUS 基因表达部位呈现一定的区域性,无论是莲座叶、花、荚果还是根的染色部位均局限在维管组织中,染色颜色较浅。荧光定量 PCR 结果表明,35S 启动子的启动活性远强于 GmbZIP33 基因启动子活性。不同组织之间进行比较发现,GmbZIP33 基因启动子的启动活性在花中最强,荚果中次之(图5)。表明 GmbZIP33 启动子属于维管组织特异性启动子,且其在花、荚中的表达调控效率相对较高。



A~D:转 pGmbZIP33pro-GUS 拟南芥;E~H:转 pGFPGUS 拟南芥;A 和 E:莲座叶;B 和 F:花;C 和 G:荚果;D 和 H:根。

A-D: *Arabidopsis thaliana* transformed with pGmbZIP33pro-GUS;E-H: *Arabidopsis thaliana* transformed with pGFPGUS as control;A 和 E: Rosette leaf; B 和 F: Flower; C 和 G: Pod; D 和 H: Root.

图4 GmbZIP33 基因启动子在 T<sub>2</sub> 代转基因拟南芥不同组织部位的表达调控  
Fig.4 The expression regulation of GmbZIP33 gene promoter in different tissues of T<sub>2</sub> generation transgenic *Arabidopsis thaliana*

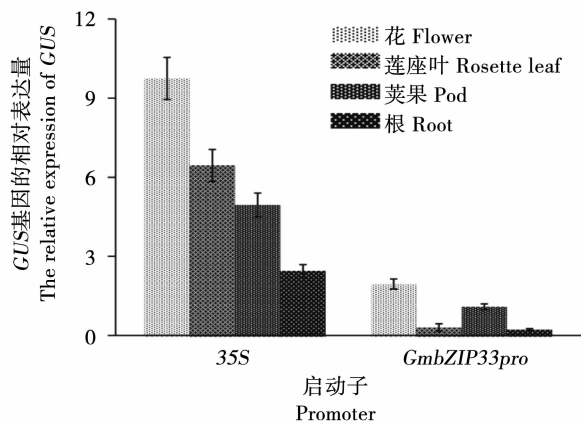


图5 转基因拟南芥不同组织部位的 *GUS* 基因相对表达量  
Fig. 5 Relative expression of *GUS* gene in different tissues of transgenic *Arabidopsis thaliana*

3 讨论

启动子作为基因表达调控过程中的重要元件,调控其下游基因表达的时空和强度特性,本研究发  
现 *GmbZIP33* 基因启动子上含有调控基因表达的核心元件,如依赖于 RNA 聚合酶 II 转录起始所必要的 TATA-box,具有增强基因转录作用的 CAAT-box,此外,还存在光调控元件、激素响应元件、胁迫响应元件等,表明 *GmbZIP33* 基因的表达可能受到光照、激素、干旱和盐胁迫等多种因素的影响。

蔗糖是植物运输碳水化合物的主要形式,在源器官细胞中合成的蔗糖通过维管组织向库细胞中运输<sup>[16]</sup>。同时,它能调控基因的表达,进而影响植物的生长发育过程。有研究发现,拟南芥 S-bZIP 亚族转录因子基因的 5' 端包含了多个参与蔗糖转录后抑制的上游开放阅读框(uORFs),表明该亚族成员受到蔗糖的调控。ATB2 转录因子在拟南芥中受蔗糖特异性信号调控,当外部蔗糖浓度超过 25 mmol·L<sup>-1</sup>时,其翻译受到抑制,并且由 ATB2 启动子驱动下的 *GUS* 基因在子叶、幼叶和根尖的维管束组织中特异表达<sup>[17]</sup>。*AtbZIP2* 的翻译也受到蔗糖的抑制<sup>[18]</sup>。同时,S-bZIP 转录因子在植物体内还参与了多个糖代谢途径,如 *AtbZIP1* 能够响应糖信号并且是多个糖响应基因的调控子,*AtbZIP11* 受蔗糖调控并能够调控海藻糖代谢,*AtbZIP53* 蛋白参与响应低能信号的代谢过程<sup>[19-21]</sup>。烟草中过表达缺失 5' 端 uORFs 的基因 *tbs17* 后,导致烟草叶片中蔗糖的大量积累<sup>[22]</sup>。在本研究中,也发现 *GmbZIP33* 基因启动子序列上含有蔗糖响应元件以及多个与组织特异性表达相关的元件,并且 *GUS* 组织化学染色发现受该基因启动子调控的 *GUS* 基因均在各组织的维管束中表达较高,与蔗糖转运部位具很高的一致性,

因而 *GmbZIP33* 很可能参与了植物体内糖代谢过程。

有研究表明,S-bZIP 家族基因在调控花发育过程中起重要作用<sup>[4]</sup>。本研究发现,与其它组织相比 *GmbZIP33* 基因启动子在转基因拟南芥的花荚中也具有较高的启动活性,因此该基因可能也参与了花荚发育过程。下一步研究可以对 *GmbZIP33* 基因本身进行拟南芥和大豆的遗传转化,同时对大豆进行蔗糖和其它激素的处理并检测该基因对外源激素和蔗糖的响应情况,进而深入挖掘 *GmbZIP33* 的功能。

4 结论

本试验克隆了大豆中 S-bZIP 家族基因 *GmbZIP33* 的启动子,其上存在光调控元件、激素响应元件、胁迫响应元件等,表明 *GmbZIP33* 基因的表达可能受到光照、激素、干旱和盐胁迫等多种因素的影响。其表达定位情况与蔗糖转运部位具一致性,具有显著的维管组织特异性,这与 *GmbZIP33* 基因所在亚族可能受到蔗糖特异性调控的研究高度一致。同时,实时荧光定量结果表明,*GmbZIP33* 基因启动子驱动下的 *GUS* 在花中表达量最高,说明 *GmbZIP33* 基因很可能参与了花荚的发育调控。这些结果为证明 *GmbZIP33* 基因参与蔗糖信号的调控及其在花荚器官的发育中发挥作用提供了理论依据和新的研究思路。

参考文献

[1] Jakoby M, Weissshaar B, Droge-Laser W, et al. bZIP transcription factors in *Arabidopsis*[J]. Trends in Plant Science, 2002, 7 (3):106-111.  
[2] Ramachandran S, Hiratsuka K, Chua N H. Transcription factors in plant growth and development[J]. Current Opinion in Genetics

and Development, 1994, 4(5):642-646.

[3] Iglesias-Fernández R, Barrero-Sicilia C, Carrillo-Barral N, et al. *Arabidopsis thaliana* ZIP44: A transcription factor affecting seed germination and expression of the mannanase-encoding gene *AtMAN7*[J]. The Plant Journal, 2013, 74(5):767-780.

[4] Chuang C F, Running M P, Williams R W, et al. The *PERIANTH-IA* gene encodes a bZIP protein involved in the determination of floral organ number in *Arabidopsis thaliana*[J]. Genes and Development, 1999, 13(3):334-344.

[5] Smykowski A, Fischer S M, Zentgraf U. Phosphorylation affects DNA-binding of the senescence-regulating bZIP transcription factor GBF1[J]. Plants, 2015, 4(3):691-709.

[6] Holm M, Ma L G, Qu L J, et al. Two interacting bZIP proteins are direct targets of COP1-mediated control of light-dependent gene expression in *Arabidopsis*[J]. Genes and Development, 2002, 16(10):1247-1259.

[7] Lim C W, Baek W, Lim S, et al. Expression and functional roles of the pepper pathogen-induced bZIP transcription factor CabZIP2 in enhanced disease resistance to bacterial pathogen infection[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2015, 28(7):825-833.

[8] Alves M S, Soares Z G, Vidigal P M, et al. Differential expression of four soybean bZIP genes during *Phakopsora pachyrhizi* infection[J]. Functional and Integrative Genomics, 2015, 15(6):685-696.

[9] Zhu M, Meng X, Cai J, et al. Basic leucine zipper transcription factor SlbZIP1 mediates salt and drought stress tolerance in tomato [J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1):83.

[10] 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.

[11] Xu L, Xu Z, Liu X, et al. The subcellular localization and ectopic expression analysis in *Arabidopsis* of soybean *GmbZIP60* gene [J]. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 2015, 24(1):9-17.

[12] Nan H, Cao D, Zhang D, et al. GmFT2a and GmFT5a redundantly and differentially regulate flowering through interaction with and upregulation of the bZIP transcription factor GmFDL19 in soybean[J]. PLoS One, 2014, 9(5):e97669.

[13] Song Q X, Li Q T, Liu Y F, et al. Soybean *GmbZIP123* gene enhances lipid content in the seeds of transgenic *Arabidopsis* plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(14):4329-4341.

[14] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学[M]. 3版. 北京:高等教育出版社, 2002:572-573. (Wang J Y, Zhu S G, Xu C F. Biochemistry [M]. 3rd Edition. Beijing: Higher Education Press, 2002:572-573.)

[15] Liu W, Han X D, Zhan G, et al. A novel sucrose-regulatory MADS-box transcription factor GmNMHC5 promotes root development and nodulation in soybean [ *Glycine max*( L. ) Merr. ] [J]. International Journal of Molecular Science, 2015, 16(9):20657-20673.

[16] Sauer N. Molecular physiology of higher plant sucrose transporters [J]. FEBS letters, 2007, 581(12):2309-2317.

[17] Fred R, Nathalie G, Anne K, et al. Sucrose-specific signaling represses translation of the *Arabidopsis* *ATB2bZIP* transcription factor gene[J]. The Plant Journal, 1998, 15(2):253-263.

[18] Anika W, Nico E, Barry W, et al. A conserved upstream open reading frame mediates sucrose-induced repression of translation [J]. The Plant Cell, 2004, 16(7):1717-1729.

[19] Kang S G, Price J, Lin P C, et al. The *Arabidopsis* bZIP1 transcription factor is involved in sugar signaling, protein networking, and DNA binding[J]. Molecular Plant, 2010, 3(2):361-373.

[20] Ma J K, Hanssen M, Lundgren K, et al. The sucrose-regulated *Arabidopsis* transcription factor bZIP11 reprograms metabolism and regulates trehalose metabolism[J]. New Phytologist, 2011, 191(3):733-745.

[21] Dietrich K, Weltmeier F, Ehlert A, et al. Heterodimers of the *Arabidopsis* transcription factors bZIP1 and bZIP53 reprogram amino acid metabolism during low energy stress [J]. The Plant Cell, 2011, 23(1):381-395.

[22] Thaler S K, Berberich T, Lee S S, et al. Deregulation of sucrose-controlled translation of a bZIP-Type transcription factor results in sucrose accumulation in leaves[J]. PLoS One, 2012, 7(3):e33111.