

倭竹族 14-3-3 非 ϵ 类基因编码区单核苷酸多态性

许在恩, 俞 瑜, 李兵娟, 陈虹君, 郭小勤

(浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300)

摘要: 为研究倭竹族 Shibataeae 中 14-3-3 非 ϵ 类基因的结构及其编码区单核苷酸多态性, 分别从倭竹族 5 个不同属的代表种中获得 14-3-3b, 14-3-3c, 14-3-3e, 14-3-3f 的基因全长。这些基因均包含 5 个外显子和 4 个内含子, 编码序列(CDS)大小为 771~789 bp。14-3-3b, 14-3-3c, 14-3-3e 和 14-3-3f 编码区序列中分别有 21, 19, 26 和 17 个单核苷酸多态性(SNP)位点, SNP 频率分别为 1SNP/38 bp, 1SNP/41 bp, 1SNP/30 bp, 1SNP/46 bp, 基因核苷酸多样性(π)值分别为 0.012 17, 0.011 83, 0.015 21, 0.010 38。同一基因在不同竹种间氨基酸序列一致性均达 99%以上, 毛竹 *Phyllostachys edulis* Pe14-3-3b, Pe14-3-3c, Pe14-3-3e, Pe14-3-3f 蛋白的理化性质非常相似, 均为亲水性蛋白, 含量较多的是丙氨酸(ala), 谷氨酸(glu), 亮氨酸(leu), 等电点为 4.75~4.90, 这 4 个蛋白的二级结构也非常相似, α -螺旋结构含量最高, 无规则卷曲其次, β -转角和延伸链很少。上述研究为进一步探索竹类植物 14-3-3 生物学功能奠定基础。图 3 表 3 参 27

关键词: 分子遗传学; 倭竹族; 竹类植物; 14-3-3 基因家族; 单核苷酸多态性

中图分类号: S795; Q75 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2016)01-0080-08

Single nucleotide polymorphism of non- ϵ 14-3-3 genes in Shibataeae

XU Zaien, YU Yu, LI Bingjuan, CHEN Hongjun, GUO Xiaojin

(The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: To study the structure and single nucleotide polymorphism (SNP) of non- ϵ 14-3-3 in Shibataeae, homologue genes from five bamboo species, *Hibanobambusa tranquillans*, *Indosasa shibataeoides*, *Phyllostachys edulis*, *Shibataea chinensis*, and *Sinobambusa tootsik* were cloned with gDNA and cDNA sequences being compared. Results showed five exons and four introns with CDS sequence lengths (in bp) of 789, 771, 789, and 786, respectively. There were 21, 19, 26, and 17 SNP sites in 14-3-3b, 14-3-3c, 14-3-3e, and 14-3-3f coding regions, with SNP frequencies (in bp) of 1SNP/38, 1SNP/41, 1SNP/30, and 1SNP/46, respectively. Nucleotide diversity (π) for SNP's was 0.015 21, 0.012 17, 0.010 98, and 0.009 16, in that order. The amino acid sequence identity for these same genes in different species was 99%. Four 14-3-3 putative proteins were hydrophilic, and their isoelectric point was distributed from 4.75 to 4.90 with the amino acids Ala, Ser, and Gly being abundant. Also, α -helixes and random coils in these proteins were the most plentiful; whereas, β -turns and extended strands were few. These results lay a foundation for deeper studies with biological functions of 14-3-3 in bamboo. [Ch, 3 fig. 3 tab. 27 ref.]

Key words: molecular genetics; Shibataeae; bamboo; 14-3-3 gene family; single nucleotide polymorphism (SNP)

1976 年, MOORE 从牛脑组织中分离出一种可溶性蛋白, 并依据其经二乙氨基纤维素柱(DEAE

收稿日期: 2015-03-04; 修回日期: 2015-04-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30901155); 浙江省自然科学基金资助项目(Y307499)

作者简介: 许在恩, 从事植物分子生物学研究。E-mail: 413832642@qq.com。通信作者: 郭小勤, 副教授, 博士, 从事植物生物技术研究。E-mail: xqguo@zafu.edu.cn

cellulose)层析后分离组分的片段数目和在淀粉凝胶电泳中迁移的位置而命名为 14-3-3 蛋白^[1]。14-3-3 蛋白是一类多基因家族蛋白, 存在 7 个 14-3-3 亚型, 用希腊字母命名分别为 β , ϵ , γ , η , δ , τ , ζ , 根据蛋白核心区域构建进化树, 将它们分为 ϵ 类和非 ϵ 类^[2]。在拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 和水稻 *Oryza sativa* 中, 14-3-3 基因家族分别有 13 个和 8 个成员, 序列中间区域同源性较高(51%), N 端同源性较低(14%), C 端极不保守^[3-4]。随后在不同物种中对该基因家族研究发现, 序列核心结构的高度保守赋予 14-3-3 蛋白一些普遍的功能^[5-6]: 参与调控植物生长发育^[7-8]、细胞信号传导^[9]、响应逆境胁迫等生命代谢过程^[10-11], 但不同成员之间表达模式存在差异, 基因功能出现分化^[12], 如 14-3-3 在细胞信号传导过程中对 *Inhibitor of NF- κ B(I κ B)* 的作用^[13], 水稻 14-3-3c 蛋白是 *Heading date 3a(Hd3a)* 的细胞内受体^[14], 负调控水稻开花; 人的 14-3-3 ϵ 和 14-3-3 ζ 能对 DNA 损伤做出反应^[15]。倭竹族 Shibataeae 包括倭竹属 *Hibbanobambusa*, 刚竹属 *Phyllostachys*, 唐竹属 *Sinobambusa*, 大节竹属 *Indosasa*, 阴阳竹属 *Shibataea*, 在地下茎类型、花序类型和叶解剖特征方面都表明这是一个自然的类群^[16]。因此研究倭竹族中 14-3-3 基因家族对于进一步认识倭竹族有很大的帮助。本研究从倭竹族 5 个不同属的代表种中分别获得 *14-3-3b*, *14-3-3c*, *14-3-3e* 和 *14-3-3f* 的基因全长, 分析单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点, 并对毛竹 *Phyllostachys edulis* 非 ϵ 类 14-3-3 蛋白进行理化性质分析及二级结构预测。

1 材料与方法

1.1 植物材料

选取倭竹族的 5 个不同属的代表种进行试验: 毛竹(刚竹属, 浙江农林大学翠竹园), 鸡毛竹 *Hibbanobambusa tranquillans*(倭竹属, 浙江农林大学翠竹园), 白纹阴阳竹 *Shibataea chinensis*(阴阳竹属, 浙江农林大学翠竹园), 摆竹 *Indosasa shibataeoides*(大节竹属, 浙江省临安市太湖源), 唐竹 *Sinobambusa tootsik*(唐竹属, 浙江省临安市太湖源)。所采集的试验材料均通过形态学鉴定, 采集后用液氮速冻, 保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱, 以备基因组 DNA 的提取。

1.2 菌株、载体和试剂

大肠埃希菌 *Escherichia coli* DH-5 α (TaKaRa, 中国大连)菌株由浙江农林大学智能实验楼竹子课题组保存。载体 pM19-T(Simple) Vector(TaKaRa, 中国大连)购自宝生物工程(大连)有限公司。聚合酶链式反应试剂、胶回收试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.3 基因组 DNA 提取

用改进的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法提取 5 种竹子的基因组 DNA^[17]。用质量浓度为 1.0% 的普通琼脂糖凝胶电泳与紫外分光光度法检测提取 DNA 的完整性和纯度。

1.4 引物设计和目的基因的克隆

根据公布毛竹基因组数据库的 14-3-3 基因的核酸序列设计引物(表 1), 由上海生工生物工程有限公司合成。

表 1 扩增各基因的引物序列

Table 1 Primer sequences used for cloning the target genes

基因名称	基因序列号	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>14-3-3b</i>	PH01000041	AACTCACCGTTGTTTACCCC	CGGCTTTACTGCCCTC
<i>14-3-3c</i>	PH01000008	AAATGTCGCGGGAGGAG	CCATTGATTATCCTCCCACT
<i>14-3-3e</i>	PH01000146	AATCTCCAGTTTGATCTTC	GCAGCGTCTCCTACAGC
<i>14-3-3f</i>	PH01000142	ATGTCTACTGCTGAGGCAACC	TAGATAACGCAGCCCTACTGT

聚合酶链式反应(PCR)反应体系总体积为 20.0 μL , 其中含 100 ng 模板 DNA; 上游引物、下游引物各 1.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP; 2 \times 16.67 nkat *Taq* DNA 聚合酶; 2.0 μL 10 \times PCR 反应缓冲液(内含 MgCl_2)。程序分别为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 35 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。各竹种至少重复 2 次, 以确保扩增结果的可靠性。扩增产物在质量浓度为 10.0 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 琼脂糖凝胶上电泳, 稳压 150 V, 30 min。对电泳分离后的目的片段纯化回收。

1.5 序列测定、SNP分析及系统进化关系分析

将回收的目的基因连接到 pMD19-T(simple)载体上, 转化, 挑取单克隆进行 PCR 检测, 分别选取 20 个阳性克隆进行测序, 所得准确序列用 DNAMAN, Dnasp5 和 MEGA 5.0 等软件进行分析。

1.6 毛竹 14-3-3 非 ϵ 类基因生物信息学分析

用 ProtParam 软件分别对一级结构中氨基酸残基组成、蛋白质分子质量和亲/疏水性及等电点等特性的在线分析。用 NetPhos 2.0 预测 14-3-3 蛋白中的磷酸化位点。用 SOPMA 软件在线预测分析蛋白中的 α -螺旋(α -helix, H), β -转角(β -turn, T), 无规则卷曲(random coil, C)以及延伸链(extended strand, E)。

2 结果与分析

2.1 5 个竹种 14-3-3 非 ϵ 类基因组全长的获得和序列分析

利用 4 对引物对 5 个竹种进行 PCR 扩增, 克隆 20 个基因, 分别命名为 *Pe14-3-3b*, *Pe14-3-3c*, *Pe14-3-3e*, *Pe14-3-3f*, *Ht14-3-3b*, *Ht14-3-3c*, *Ht14-3-3e*, *Ht14-3-3f*, *Sc14-3-3b*, *Sc14-3-3c*, *Sc14-3-3e*, *Sc14-3-3f*, *St14-3-3b*, *St14-3-3c*, *St14-3-3e*, *St14-3-3f*, *Is14-3-3b*, *St14-3-3c*, *St14-3-3e*, *St14-3-3f*, 所有基因序列大小见表 2。各基因在不同竹种中的变异程度不同, 以测序竹种毛竹中各基因为参照序列, *14-3-3b* 基因在白纹阴阳竹和摆竹中均有插入序列, 而在鸡毛竹和唐竹中均有缺失, 且在鸡毛竹中缺失最多。*14-3-3c* 基因在摆竹、鸡毛竹和唐竹中均有缺失。*14-3-3e* 在唐竹中有插入序列, 而在其他 3 个竹种中均缺失 1~6 bp。*14-3-3f* 基因在鸡毛竹中有插入序列, 而在其他竹种中均存在序列缺失, 且序列缺失均约 100 bp, 且这些插入缺失序列均在非翻译区。由此可见: 扩增的 4 个基因在本族中的变异程度不同, *14-3-3f* 基因在本族中的变异幅度最大, 其次为 *14-3-3b*, 再次为 *14-3-3e*, 最后为 *14-3-3c*, 说明 *14-3-3c* 基因在本族中进化趋势更一致些。

将基因组序列与 cDNA 序列进行比对发现, 5 个竹种中所有 *14-3-3b*, *14-3-3c*, *14-3-3e* 及 *14-3-3f* 均有 5 个外显子和 4 个内含子(表 3), 外显子序列所占比例均低于 50%。从内含子剪接位点的保守性看, 这些内含子均遵循 GT-AG 法则。对 4 个基因编码序列(coding sequence, CDS)进行比对, 显示 *14-3-3b*, *14-3-3c*, *14-3-3e*, *14-3-3f* 基因在不同竹种中的一致性均达到 95%以上, 表明各竹种间的 14-3-3 基因高度同源。因此只放 *14-3-3b* 比对结果来代表 *14-3-3b*, *14-3-3c*, *14-3-3e*, *14-3-3f* 的比对结果(图 1)。

表 2 不同竹种中 14-3-3 基因家族的基因组长度

Table 2 Length of 14-3-3 genes in different bamboo species

竹种	基因组长度/bp			
	<i>14-3-3b</i>	<i>14-3-3c</i>	<i>14-3-3e</i>	<i>14-3-3f</i>
白纹阴阳竹(Ht)	2 195(+3)	1 934(+0)	2 129(-1)	1 915(-105)
摆竹(Is)	2 195(+3)	1 932(-2)	2 129(-1)	1 911(-109)
毛竹(Pe)	2 192	1 934	2 130	2 020
鸡毛竹(Sc)	2 122(-70)	1 930(-4)	2 124(-6)	2 023(+3)
唐竹(St)	2 156(-36)	1 932(-2)	2 160(+36)	1 921(-99)

说明: 括号中的数字表示以毛竹为参考序列, 该基因在所对应的竹种中插入(正号表示)和缺失(负号表示)的序列。

2.2 14-3-3 非 ϵ 类基因序列的 SNP 多样性分析

由于在非翻译区序列存在比较多的片段缺失和插入, 因此, 只对 *14-3-3b*(789 bp), *14-3-3c*(771 bp), *14-3-3e*(789 bp), *14-3-3f*(786 bp)CDS 序列进行 SNP 分析(表 3)。*14-3-3b*, *14-3-3c*, *14-3-3e*, *14-3-3f* 分别检测到 21, 19, 26 及 17 个 SNPs, 其出现频率分别为 1SNP/38 bp, 1SNP/41 bp, 1SNP/30 bp, 1SNP/46 bp。经 Dnasp5 推算, 14-3-3 家族基因的编码区都是 14-3-3 保守结构区, 这表明 14-3-3 基因在编码区域受到较强的选择压力。

运用 Dnasp5 软件对核苷酸多样性指数 π 分析显示, $\pi_{14-3-3f}=0.009 16$ 明显低于其他基因, 其次 $\pi_{14-3-3c}=0.010 98$, $\pi_{14-3-3b}=0.012 17$, 且在 *14-3-3e* 中表现出最高的多态性指数 $\pi_{14-3-3e}=0.015 21$ (表 3)。14-3-3 基因编码区内, 非同义突变 SNPs 是同义突变的 SNPs 的 3~6 倍。对 14-3-3 基因 83 个 SNP 位点进行突变类型分析显示, 61 个位点发生转换, 22 个位点发生颠换, 大部分是 AG 和 CT 之间的变换, 其中 14-

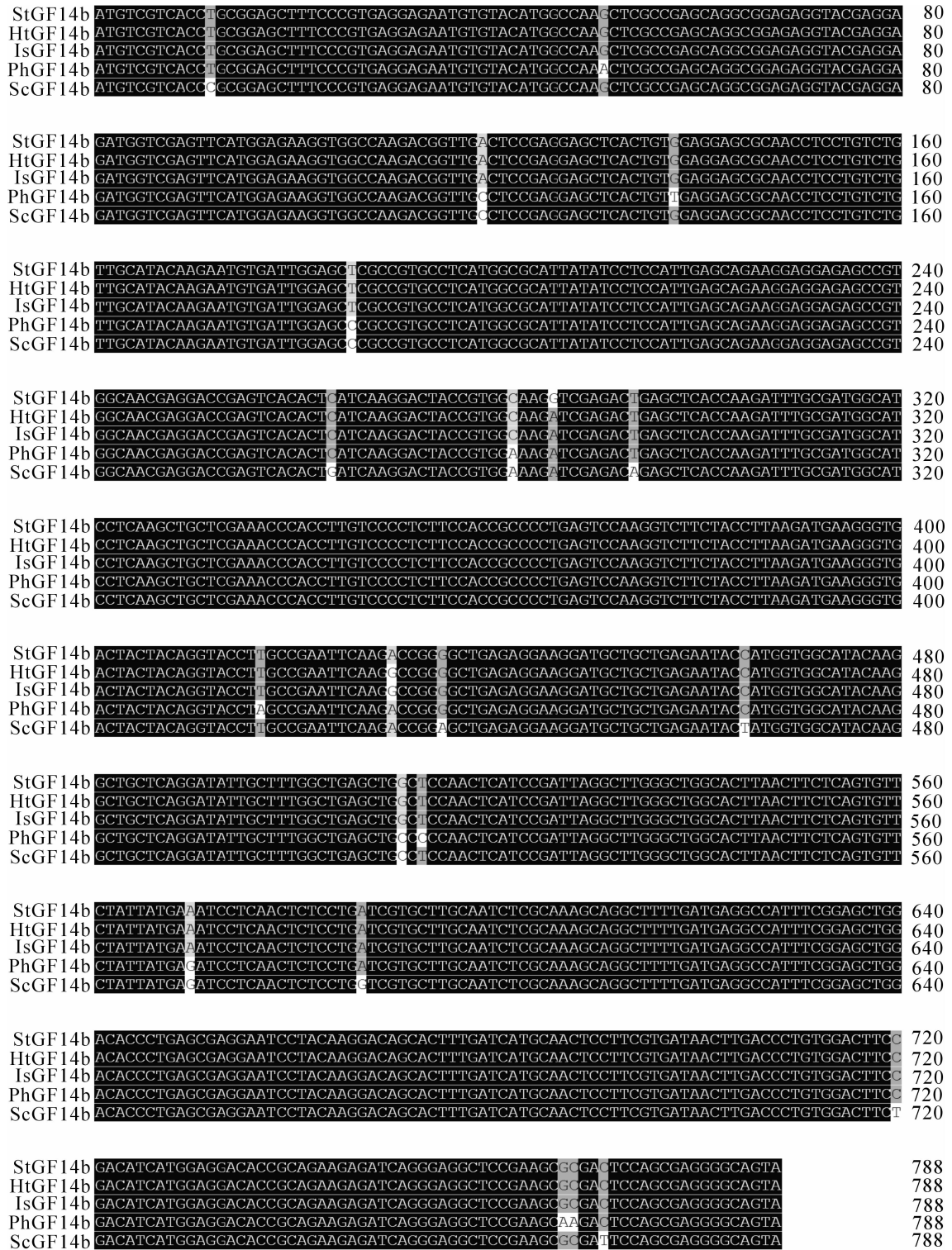


图 1 14-3-3b 的编码序列比对

Figure 1 Alignment of 14-3-3b CDS sequences

3-3b 的 SNP, 13 个位点发生转换, 8 个位点发生颠换; 14-3-3c 的 SNP, 16 个位点发生转换, 3 个位点发生颠换; 14-3-3e 的 SNP, 19 个位点发生转换, 7 个位点发生颠换; 14-3-3f 的 SNP, 13 个位点发生转换, 4 个位点发生颠换。

2.3 14-3-3 非 ϵ 类基因系统发生树分析

利用 MEGA 5.0 软件, 对各竹种中所获基因蛋白序列构建系统进化树(图 2)。结果显示: 双子叶植物拟南芥所有的 14-3-3 基因聚类在一起, 而单子叶植物竹子和水稻的基因聚成另一大类, 进一步分类,

表3 不同竹种中 14-3-3 基因的 SNP 多态性

基因	外显子 数量	CDS 序列 长度/bp	外显子 比例/%	SNP 数量	多态性频率/ (SNP/bp)	转换型 SNP	颠换型 SNP	同义 SNPs	非同义 SNPs	核苷酸多样性	
										π	θ_w
14-3-3b	5	789	36	21	1/38	13	8	5	16	0.012 17	0.012 78
14-3-3c	5	771	39	19	1/41	16	3	3	16	0.010 98	0.011 83
14-3-3e	5	789	37	26	1/30	19	7	4	22	0.015 21	0.015 82
14-3-3f	5	786	41	17	1/46	13	4	3	14	0.009 16	0.010 38

说明： π 和 θ_w 为核苷酸多样性指数。

所有竹子的 14-3-3b 和水稻的 GF14-b(OsGF14b)聚成一个小分支，14-3-3e，14-3-3c 和 14-3-3f 也是同样的结果，且 14-3-3b 和 14-3-3e 的同源性最高，其次与 14-3-3c，最后与 14-3-3f。以上结果也暗示 14-3-3 基因家族各基因在单双子叶植物中发生不同程度的进化，在单子叶植物中，14-3-3 基因家族各基因进化程度存在差异，基因间的进化程度快于物种的进化程度。

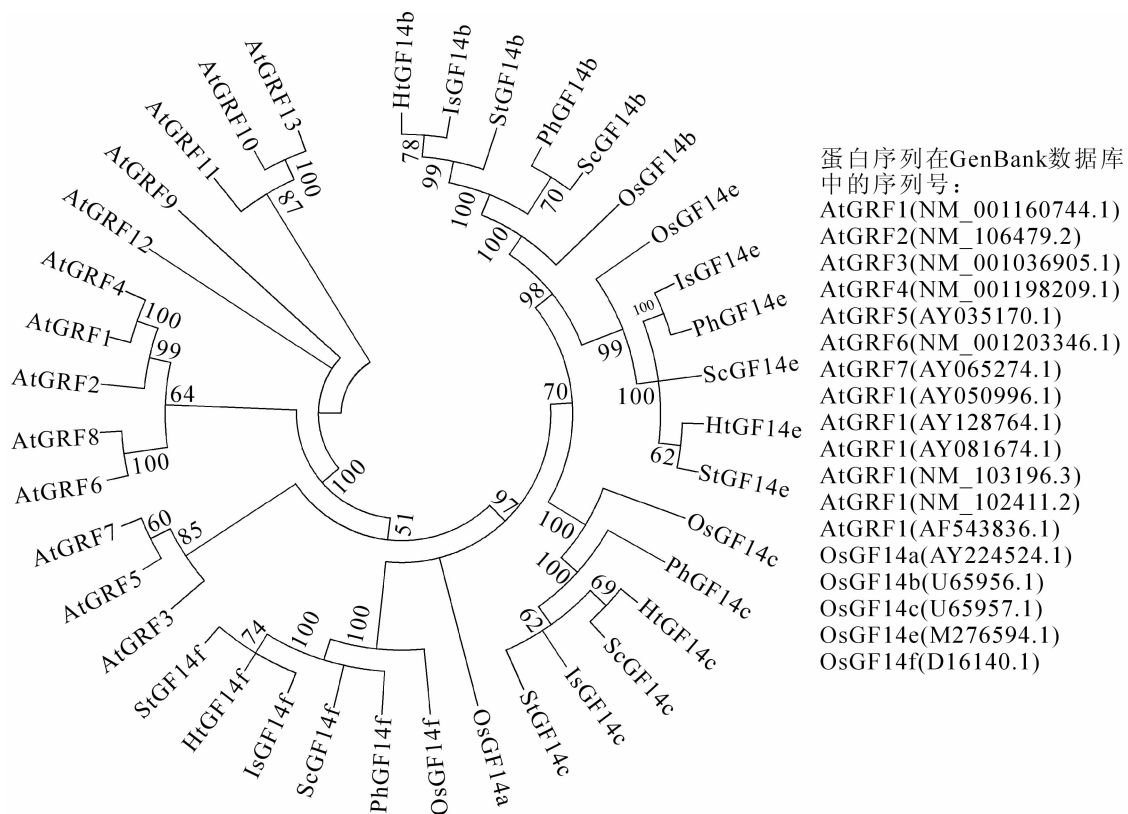


图2 14-3-3 蛋白的进化树分析

Figure 2 Phylogenetic tree based on the complete amino acid sequences of 14-3-3 protein in arabidopsis, rice and bamboo

2.4 毛竹 Pe14-3-3 非 ϵ 类基因的生物信息学分析

由上述结果可以看出：倭竹族各竹种间 14-3-3b，14-3-3c，14-3-3e，14-3-3f 基因同源性 95% 以上，因此，以毛竹 14-3-3b，14-3-3c，14-3-3e，14-3-3f 基因为代表进行的生物信息学分析。

2.4.1 毛竹 Pe14-3-3 非 ϵ 类基因家族蛋白的理化性质分析 用 ExPASy 在线分析 14-3-3 基因家族各蛋白的理化性质，结果显示：蛋白间理化性质比较相似，分子量为 26~30 kDa，均为酸性等电点，谷氨酸、丙氨酸和亮氨酸含量高，等电点均小于 5，不稳定指数均高于 40，属于不稳定蛋白，平均疏水性值均为负值，为亲水性蛋白。磷酸化位点预测结果显示：总的可能被磷酸化的位点数 19~24 个，多肽链中丝氨酸磷酸化位点，苏氨酸磷酸化位点，以及酪氨酸磷酸化位点的数目各不相同，其中，Pe14-3-3b 和 Pe14-3-3f 可能被磷酸化的位点多达 22 和 24 个，说明被磷酸化的可能性比较高。

2.4.2 毛竹 Pe14-3-3 非 ϵ 类基因二级结构分析 用 SOPMA 软件分析 Pe14-3-3 蛋白的二级结构。结果显

示(图 3), 各蛋白中 α -螺旋含量最高, 大于 60%, 无规则卷曲含量约占 15%~23%, β -转角含量最低, 仅在 2.34%~4.76%, 延伸链约为 10%。4 个蛋白中 α -螺旋和无规则卷曲散布于整个蛋白结构, β -转角零星分布其中, 多在蛋白质分子的表面, 以改变多肽链的方向。其中 Pe14-3-3c 蛋白 N 端 α -螺旋的含量明显比其他 3 个少, Pe14-3-3e 中 β -转角的含量最高(4.76%), 推测其多肽链转变方向更多, 结构可能更为复杂。

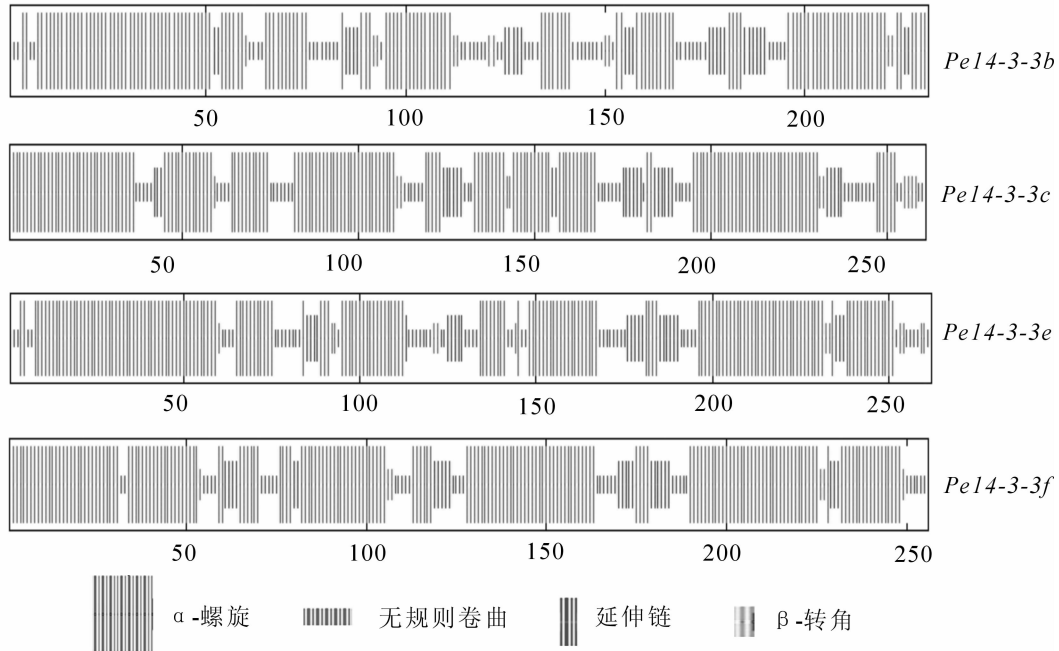


图 3 Pe14-3-3 家族基因二级结构的分布

Figure 3 Predicted secondary structure among Pe14-3-3 family

3 讨论

14-3-3 基因家族是一类酸性的, 可溶性蛋白, 蛋白序列约 250 个氨基酸, 通常以同源二聚体或异源二聚体存在^[18]。研究发现: 大豆 *Glycine max* 中有 18 个 14-3-3 基因, 16 个基因表达^[19], 水稻中有 8 个 14-3-3 基因, 且每个基因都表达^[5], 拟南芥中有 13 个 14-3-3 基因, 12 个基因表达^[12]。14-3-3 蛋白广泛存在于所有真核生物中, 参与调控细胞内各种生命代谢过程, 如 14-3-3 蛋白对代谢过程的调节, 14-3-3 蛋白与植物的胁迫响应等。基于公布的毛竹基因组数据库^[20], 本研究采用本地 Blast 在毛竹基因组数据库中发现了 8 个 14-3-3 基因, 同时在 cDNA 库中也找到了 8 个 cDNA 序列, 表明 8 个 14-3-3 基因均表达, 但基因组序列上的 8 个基因与 cDNA 8 条序列不能完全匹配。本课题组在雷竹中也检测到了 *14-3-3b*, *14-3-3c*, *14-3-3e*, *14-3-3f* 的表达(另文发表)。根据毛竹 8 个基因的序列设计引物, 从倭竹族 5 个不同属的代表种白纹阴阳竹、摆竹、毛竹、鸡毛竹和唐竹中分别克隆了其中 4 个基因, *14-3-3b*, *14-3-3c*, *14-3-3e*, *14-3-3f*, 这 4 个基因均属于非 ϵ 类, 同一基因在各竹种间序列同源性非常高, 系统进化树显示, 14-3-3 基因的直系同源基因同源性大于旁系同源基因, 表明进化过程中竹种间基因的变化比较小。

从表 3 的数据看, 同一基因在不同竹种间的变异程度不同, *14-3-3c* 基因的变异程度最小, 各竹种间仅有 2~4 bp 的变异。而 *14-3-3f* 基因的变异程度最大, 与毛竹中 *Pe14-3-3f* 相比, 摆竹中 *Is14-3-3f* 缺失 109 bp, 表明 *14-3-3c* 基因受到的选择压力更大^[21]。深入分析序列发现, 插入或缺失的序列均存在非编码区, 表明该家族的基因在不同竹种中的功能还比较保守。然而通过对编码区序列比对发现, 各基因在不同竹种间存在比较多的 SNP 位点, 其中 82% 的 SNP 位点会导致氨基酸变异, 表明该家族基因既有一定的保守性, 也会发生一定的变异。从核苷酸多样性指数 π 数值看, *14-3-3f* 最低, 而 *14-3-3e* 最高, 表明这几个基因的多态性指数还存在一定差异。

竹类植物中存在丰富的 SNP 位点^[22], SNP 位点的频率因研究样本及所研究基因而有差异, 如tetra-

tricopeptide-like helical domain-containing protein 在刚竹属不同竹种间可达 1 SNP/6.3 bp^[23], PPO 基因在紫竹 *Ph. nigra* 不同栽培类型间达 1 SNP/10.5 bp^[24]。本研究中 14-3-3 基因在不同属间频率平均为 1 SNP/37.8 bp。不同物种间 SNP 位点的频率差异也非常大, 苹果 *Malus pumila* 中每 149 bp 就有 1 个 SNP 位点^[25], 核桃 *Juglans regia* 中 CBF 基因中每 40 bp 就有 1 个 SNP 位点^[26], 茶树 *Camellia sinensis* 中每 18.5 bp 就有 1 个 SNP 位点^[27]。

从氨基酸序列的一级结构看, 14-3-3b, 14-3-3c, 14-3-3e 和 14-3-3f 蛋白的理化性质的差异并不大, 等电点在 4.75~4.90, 平均疏水性型在 -0.433~0.489, 脂肪指数在 85.33~88.31, 主要由谷氨酸、丙氨酸和亮氨酸组成, 总的可能被磷酸化的位点数达 19~24 个, 表明该家族参与磷酸化的信号转导过程。二级结构表明 α -螺旋含量最高, β -转角含量最低, 而 Pe14-3-3e 中 β -转角的含量最高(4.76%), Pe14-3-3c 的最低(2.34%), 推测, Pe14-3-3e 的多肽链转变的方向更多, 结构可能更复杂。在 Pe14-3-3c 和 Pe14-3-3f 的蛋白结构多肽链的 C 端, 有一大段 α -螺旋结构, 推测 Pe14-3-3c 和 Pe14-3-3f 的蛋白在此处存在下游基因结合位点。

4 参考文献

- [1] MOORE B W. *Specific Acidic Proteins of the Nervous System* [M]. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1967: 343 – 359.
- [2] 金谷雷, 汪旭升, 朱军. 水稻 14-3-3 蛋白家族的生物信息学分析[J]. 遗传学报, 2005, **32**(7): 726 – 732.
JIN Gulei, WANG Xushen, ZHU Jun. Bioinformatic analysis of the 14-3-3 gene family in rice [J]. *Acta Genet Sin*, 2005, **32**(7): 726 – 732.
- [3] WANG Wenfu, SHAKES D C. Molecular evolution of the 14-3-3 protein family [J]. *J Mol Evol*, 1996, **43**(4): 384 – 398.
- [4] 刘妍婧, 王彩玲, 陆海, 等. 杨树 14-3-3 基因家族的分子进化及表达模式研究[J]. 北京林业大学学报, 2010, **23**(3): 1 – 7.
LIU Yanjing, WANG Cailing, LU Hai, et al. Molecular evolution and expression pattern of the *Populus* 14-3-3 gene family [J]. *J Beijing For Univ*, 2010, **23**(3): 1 – 7.
- [5] LAMBECK I, CHI J C, KRIZOWSKI S, et al. Kinetic analysis of 14-3-3-inhibited *Arabidopsis thaliana* nitrate reductase [J]. *Biochemistry*, 2010, **49**(37): 8177 – 8186.
- [6] XU Weifeng, SHI Weiming, JIA Liguang, et al. TFT6 and TFT7, two different members of tomato 14-3-3 gene family, play distinct roles in plant adaption to low phosphorus stress [J]. *Plant Cell Environ*, 2012, **35**(8): 1393 – 1406.
- [7] MAYFIELD J D, FOLTA K M, PAUL A L, et al. The 14-3-3 proteins mu and upsilon influence transition to flowering and early phytochrome response [J]. *Plant Physiol*, 2007, **145**(4): 1692 – 1702.
- [8] SCHOONHEIM P J, SINNIGE M P, CASARETTO J A, et al. 14-3-3 adaptor proteins are intermediates in ABA signal transduction during barley seed germination [J]. *Plant J*, 2007, **49**(2): 289 – 301.
- [9] SCHOONHEIM P J, COSTA PEREIRA D D, DE BOER A H. Dual role for 14-3-3 proteins and ABF transcription factors in gibberellic acid and abscisic acid signalling in barley (*Hordeum vulgare*) aleurone cells [J]. *Plant, Cell Environ*, 2009, **32**(5): 439 – 447.
- [10] CHEN Fang, LI Qun, SUN Liangxian, et al. The rice 14-3-3 gene family and its involvement in responses to biotic and abiotic stress [J]. *DNA Res*, 2006, **13**(2): 53 – 63.
- [11] 黄麟, 许剑涛, 付涵予, 等. 松材线虫和拟松材线虫 14-3-3 蛋白基因全长 cDNA 克隆与分析[J]. 安徽农业科学, 2012, **39**(36): 22368 – 22373.
HUANG Lin, XU Jiantao, FU Hanyu. Full-length cDNA cloning and sequences analysis of 14-3-3 genes generated from *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* [J]. *J Anhui Agri Sci*, 2012, **39**(36): 22368 – 22373.
- [12] YAO Yuan, DU Ying, JIANG Lin, et al. Molecular analysis and expression patterns of the 14-3-3 gene family from *Oryza sativa* [J]. *J Biochem Mol Biol*, 2007, **40**(3): 349 – 357.
- [13] FUJITA N, SATO S, KATAYAMA K, et al. Akt-dependent phosphorylation of p27Kip1 promotes binding to 14-3-3 and cytoplasmic localization [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277**(32): 28706 – 28713.
- [14] TAOKA K, OHKI I, TSUJI H, et al. 14-3-3 proteins act as intracellular receptors for rice Hd3a florigen [J]. *Nature*,

- 2011, **476**(7360): 332 – 335.
- [15] BLASIUS M, WAGNER S A, CHOUDHARY C, *et al.* A quantitative 14-3-3 interaction screen connects the nuclear exosome targeting complex to the DNA damage response [J]. *Genes & Dev*, 2014, **28**(18): 1977 – 1982.
- [16] 胡成华, 汤敬杉. 倭竹族花序演化的探讨[J]. 广西植物, 1991, **11**(2): 141 – 145.
HU Chenghua, TANG Jingshan. Studies on morphological evolution of inflorescence in *Shibataeae nakai* [J]. *Guihaia*, 1991, **11**(2): 141 – 145.
- [17] LIU Hailan, GUO Xiaoqin, WU Jiasheng. Development of universal genetic markers based on single-copy ortholog (Cos II) genes in Poaceae [J]. *Plant Cell Rep*, 2013, **32**(3): 379 – 388.
- [18] AITKEN A. 14-3-3 proteins on the MAP [J]. *Trends Biochem Sci*, 1995, **20**(3): 95 – 97.
- [19] ROSENQUIST M, ALSTERFJORD M, LARSSON C, *et al.* Data mining the *Arabidopsis* genome reveals fifteen 14-3-3 genes expression is demonstrated for two out of five novel genes [J]. *Plant Physiol*, 2001, **127**(1): 142 – 149.
- [20] PENG Zhenhua, LU Ying, LI Lubin, *et al.* The draft genome of the fast-growing non-timber forest species moso bamboo (*Phyllostachys heterocycla*) [J]. *Nat Genet*, 2013, **45**(4): 456 – 461.
- [21] BAUCHET G, MUNOS S, SAUVAGE C, *et al.* Genes involved in floral meristem in tomato exhibit drastically reduced genetic diversity and signature of selection [J]. *BMC Plant Biol*, 2014, **14**(1): 279.
- [22] GAO Z M, LI C L, PENG Z H. Generation and analysis of expressed sequence tags from a normalized cDNA library of young leaf from Ma bamboo (*Dendrocalamus latiflorus* Munro) [J]. *Plant Cell Rep*, 2011, **30**(11): 2045 – 2057.
- [23] 李兵娟, 肖国辉, 许在恩, 等. 新开发的禾本科通用性分子标记的检测与评估[J]. 浙江农林大学学报, 2014, **31**(4): 508 – 514.
LI Bingjuan, XIAO Guohui, XU Zaien, *et al.* Universal genetic markers for the Poaceae family [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 2014, **31**(4): 508 – 514.
- [24] 肖国辉, 王弋, 娄永峰, 等. 紫竹不同栽培类型 PPO 基因片段克隆及其 SNP 分析[J]. 浙江农林大学学报, 2013, **30**(4): 511 – 516.
XIAO Guohui, WANG Yi, LOU Yongfeng, *et al.* Cloning and SNP analysis of PPO genes with cultivars of *Phyllostachys nigra* [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 2013, **30**(4): 511 – 516.
- [25] CHAGNÉA D, GASICB K, CROWHURST R N, *et al.* Development of a set of SNP markers present in expressed genes of the apple [J]. *Genomics*, 2008, **92**: 353 – 358.
- [26] 徐丽, 陈新, 张力思, 等. 核桃 *JrCBF* 基因的克隆与表达和单核苷酸多态性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2014, **15**(2): 320 – 326.
XU Li, CHEN Xin, ZHANG Lisi, *et al.* Molecular cloning, expression and single nucleotide polymorphisms analysis of transcription factor gene *JrCBF* in *Juglans regia* L [J]. *J Plant Genet Resour*, 2014, **15**(2): 320 – 326.
- [27] 张丽群, 韦康, 王丽鸳, 等. 茶树 CHS 基因结构及编码区单核苷酸多态性分析[J]. 中国农业科学, 2014, **47**(1): 133 – 144.
ZHANG Liqun, WEI Kang, WANG Liyuan, *et al.* The structure and single nucleotide polymorphism analysis of chalcone synthase genes in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. *Sci Agric Sin*, 2014, **47**(1): 133 – 144.