

# 拟南芥鼠李糖合成酶基因 *AtRHM1* 启动子区葡萄糖应答调控元件的鉴定

季秦梅<sup>1,2†</sup>, 王金凤<sup>2,3†</sup>, 姜凌<sup>2,3</sup>, 沈颂东<sup>1</sup>, 范云六<sup>2,3</sup>, 张春义<sup>2,3</sup>

1 苏州大学生命科学学院, 苏州 215006

2 中国农业科学院生物技术研究所植物生物技术研究室, 北京 100081

3 国家农作物基因资源与遗传改良重大科学工程, 北京 100081

**摘要:** 植物中, UDP-L-鼠李糖是细胞壁骨架的主要成分, 由鼠李糖合成酶催化底物 UDP- $\alpha$ -D-葡萄糖合成。本实验从拟南芥基因组中分离了鼠李糖合成酶基因 *AtRHM1* 1058 bp 的启动子序列并对启动子 5'端进行了不同长度的缺失。将全长启动子及不同缺失启动子与 *GUS* 报告基因进行融合后转化野生型拟南芥, 获得了一系列转基因植株。启动子缺失分析结果表明, *AtRHM1* 基因在转录水平上受葡萄糖的诱导, 参与葡萄糖应答反应的顺式调控元件位于启动子的-931 bp~-752 bp 区域。

**关键词:** 鼠李糖合成酶基因(*RHM1*), 启动子缺失, 葡萄糖应答, 顺式调控元件

## Identification of Glucose-responsive Elements in the Promoter of UDP-L-rhamnose Biosynthesis Gene *RHM1* in *Arabidopsis thaliana*

Qinmei Ji<sup>1,2†</sup>, Jinfeng Wang<sup>2,3†</sup>, Ling Jiang<sup>2,3</sup>, Songdong Shen<sup>1</sup>, Yunliu Fan<sup>2,3</sup>, and Chunyi Zhang<sup>2,3</sup>

1 School of Life Sciences, Soochow University, Suzhou 215006, China

2 Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

3 National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, NCFRI, Beijing 100081, China

**Abstract:** In plants, UDP-L-rhamnose is one of the major components of cell wall skeleton. Rhamnose synthase plays a key role in rhamnose synthesis which converts UDP-D-glucose into UDP-L-rhamnose in plants. In this study, we isolated the 1058 bp promoter region of the rhamnose synthase gene *AtRHM1* from *Arabidopsis* genome by PCR, and created a series of deletions of *AtRHM1* promoter ranging from -931 bp to +127 bp. The full length of the promoter and its deletion derivatives fused with *GUS* reporter gene were introduced into wild-type *Arabidopsis* by *Agrobacterium*-mediated transformation respectively. The GUS staining and GUS enzymatic activity assay showed that the expression of *AtRHM1* is induced at transcriptional level by glucose and the regulatory elements involved in the glucose response are located in the region of -931 bp ~ -752 bp which contains three G-box motifs.

**Keywords:** rhamnose synthase gene (*RHM1*), promoter deletion, glucose response, cis-regulatory elements

**Received:** January 11, 2008; **Accepted:** March 14, 2008

**Supported by:** the National Natural Science Foundation of China (No. 30470173).

**Corresponding author:** Chunyi Zhang. Tel: +86-10-62135337; Fax: +86-10-62135337; E-mail: chunyi.zhang@163.com

国家自然科学基金资助 (No. 30470173)。

† They are the co-first authors.

L-鼠李糖是植物细胞壁果胶多聚糖的重要组成部分之一,也存在于不同的次生代谢产物中,包括花色苷、类黄酮和三萜<sup>[1-5]</sup>。在模式植物拟南芥中,由鼠李糖合成酶(Rhamnose synthase, RHM)催化底物 UDP- $\alpha$ -D-葡萄糖生成 UDP-L-鼠李糖。拟南芥 RHM 酶蛋白家族包含 RHM1, RHM2 和 RHM3 三个成员<sup>[6]</sup>。体外酶活分析表明,拟南芥 RHM1 酶蛋白能够将 UDP-D-葡萄糖转化为 UDP-L-鼠李糖<sup>[7]</sup>。*AtRHM2* 基因的突变导致拟南芥种皮粘液中鼠李糖和半乳糖醛酸含量的减少,进一步证实了 RHM 蛋白具有鼠李糖合成酶的功能<sup>[8,9]</sup>。拟南芥中与细胞壁形成有关的 *LRX1* 基因突变导致拟南芥根毛变短且有分枝,而 *RHM1* 基因的突变可以使 *lrx1* 突变体根毛的表型恢复成野生型, *rhm1* 突变体根细胞壁的鼠李糖含量与野生型相比没有显著区别,表明 *RHM1*, *RHM2* 和 *RHM3* 这三个基因功能冗余<sup>[7,10]</sup>。目前,有关植物 *RHM1* 基因启动子不同区段的功能分析未见任何报道。

糖在生物体内既可以作为能源物质参与细胞代谢途径,也可以作为信号分子调控某些基因的表达<sup>[11-14]</sup>。例如,拟南芥蛋白激酶基因 *AtCIPK14* 和 *AtSR2* 均受蔗糖的诱导<sup>[15,16]</sup>。已有研究表明,糖调控基因的启动子中存在一些保守的顺式调控元件<sup>[15]</sup>。在马铃薯 *patatin-1* 基因的启动子中,存在蔗糖应答调控元件 SURE-1 (AA/TAA)<sup>[17]</sup>; 在拟南芥 *BiP* 基因启动子中存在 P-UPRE 元件(ATTGGTCCACGTCATC),糖饥饿能够诱导由 P-UPRE 驱动的 *GUS* 基因的表达<sup>[18]</sup>; 甘薯 $\beta$ -淀粉酶基因中存在与糖调控相关的 SP8 和 TGGACGG 元件<sup>[19,20]</sup>; 大麦糖诱导基因 *iso1* 启动子中存在富含 A/T 的序列元件<sup>[21,22]</sup>; G-box (CACGTG)也可以作为糖调控元件存在于一些糖调节基因启动子中<sup>[23]</sup>,例如玉米淀粉分支酶基因 *SBE1* 受糖的诱导,该基因启动子中与糖调节作用相关的重要区域存在 G-box<sup>[24]</sup>; 水稻 $\alpha$ -淀粉酶基因  *$\alpha$ -Amy3* 受糖调控,该基因启动子中的 G-box 参与糖应答反应<sup>[25]</sup>。

本实验室在对拟南芥 *RHM1* 基因的功能进行研究过程中发现,该基因启动子区内存在 7 个可能的 G-box 元件。为此,本研究首先对拟南芥 *RHM1* 基因的启动子对葡萄糖的应答反应模式进行了研究,然后利用启动子缺失分析技术对该启动子区内的葡萄

糖应答调控元件进行了定位,发现含有三个 G-box 的-931 bp~-752 bp 区域是该启动子参与葡萄糖应答反应的重要区域。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 植物实验材料

拟南芥(*Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia)由中国农科院生物技术研究所植物代谢工程实验室提供。

#### 1.1.2 菌种和质粒载体

大肠杆菌(*E. coli*)菌株 TOP10、DH5 $\alpha$ 、农杆菌菌株 LBA4404 等由中国农科院生物技术研究所植物代谢工程实验室提供。

#### 1.1.3 载体

Gateway 载体 pKGWFS7 由比利时根特大学植物系统生物学系提供, pDONOR221 Gateway 载体购自 Invitrogen 公司。

#### 1.1.4 工具酶和化学试剂

各种限制性内切酶购自 New England Biolabs 公司, Taq PCR 聚合酶购自全式金生物技术公司,高保真聚合酶和 DNase I 购自 TaKaRa 公司。X-gluc、4-MU、4-MUG 购自 Promega 公司;其他化学药品均为国产分析纯试剂。

#### 1.1.5 测序及引物合成

由北京奥科生物公司、上海博亚生物技术有限公司和上海生工生物技术有限公司完成。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 植物表达载体的构建

载体构建采用 Gateway®技术(Invitrogen)。将从拟南芥基因组 DNA 中扩增出的 1058 bp 片段(*RHM1* 基因转录起始位点上游 931 bp,下游 127 bp)作为 *AtRHM1* 基因(*At1g78570*)启动子的全长序列,根据 G-box 在该启动子上的分布,利用不同的特异性引物扩增出不同长度缺失的启动子片段,分别克隆到入门载体 pDONR221 上,获得重组质粒并进行序列测定。将鉴定正确的重组质粒与 pKGWFS7 表达载体重组,将启动子片段与 *GUS* 报告基因进行转录水平的融合,获得相应的融合基因并分别命名为 Prhm, Pd1, Pd2 和 Pd3 (图 1)。启动子特异性 5'端(FW)引物序列(包含 12bpAttB 重组序列)如下。

Prhm: 5'-AAAAAGCAGGCTTTTCTTTCTCAC  
CGGCGATTCTCTCTCTC-3'

Pd1: 5'-AAAAAGCAGGCTTCCAAGGCGTCTTT  
AGATGTT-3'

Pd2: 5'-AAAAAGCAGGCTCGTTACTTCAACT  
TCATA-3'

Pd3: 5'-AAAAAGCAGGCTTACCTACCCGCTA  
TTGTAAA-3'

3'端(RV)引物(包含 12bpAttB 重组序列)为:

5'-AGAAAGCTGGGTGGAGAAGACAATTGG  
AAAATTC-3'

第二轮 PCR 反应所用的引物均为 AttB1 adapter 和 AttB2 adapter。第一轮 PCR 反应条件: 94°C 预变性 3 min, 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸, 1 min/kb 目的片段, 10 个循环, 最后 72°C 延伸 10 min。第二轮 PCR 反应条件: 94°C 预变性 3 min, 94°C, 30 s; 45°C, 30 s; 72°C, 1 min/kb 目的片段, 5 个循环; 94°C, 30 s; 55°C, 30 s; 72°C, 1 min/kb 目的片段, 30 个循环; 72°C, 10 min。

### 1.2.2 抗性植株 PCR 检测

提取转基因植株基因组 DNA 进行 PCR 检测,引物序列为 FW: 与扩增不同缺失启动子 5'端第一轮引物相同, RV: 5'-TGAAGCTCAGGGTCAGCTTG-3', 其中 RV 是 pKGWFS7 载体上引物。PCR 条件: 94°C 预变性 5 min, 94°C 变性 30 s, 56°C 退火 30 s, 72°C 延伸 70 s, 32 个循环, 72°C 延伸 10 min,电泳检测。

### 1.2.3 RNA 的提取及半定量 RT-PCR

将生长于 1/2MS 培养基上萌发后 7 d 的野生型拟南芥幼苗(22°C, 16 h 光照)分别移至浸有 6%甘露醇和 6%葡萄糖溶液(m/V)的滤纸上,分别在处理 0 h、12 h 时收集材料提取 RNA, 反转录成 cDNA (操作按 U-GENE 生物公司 RNA 提取试剂盒, TOYOBO 反转录试剂盒说明书进行)并进行半定量 RT-PCR, 引物序列如下:

*AtRHMI*:

FW: 5'-GAGACTATCCGTGCCAATGTA-3'

RV: 5'-TAATAACTCGTCCAACACAGTC-3'

*AtACTIN2*:

FW: 5'-ATGTCTCTTACAATTTCCCG-3'

RV: 5'-CCA ACAGAGAGAAGATGACT-3'

半定量 PCR 程序为: 94°C 预变性 5 min, 94°C 变性 30 s, 53°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s, 32 个循环, 72°C 延伸 10 min。

### 1.2.4 GUS 染色及活性荧光定量分析

将拟南芥 *GUS* 转基因幼苗浸入 *GUS* 染色液中

(100.0 mmol/L 磷酸缓冲液, 0.5 mmol/L 高铁氰化钾、0.5 mmol/L 亚铁氰化钾、1.0 mmol/L X-Gluc)37°C 下染色过夜, 75%乙醇脱色后, 在体视镜 (Nikon Digital Camera DXM1200F)下观察。*GUS* 活性荧光定量分析参照 Jefferson<sup>[26]</sup>等人方法。*GUS* 活性单位为 nmol MU/min/mg 蛋白。

## 2 结果与分析

### 2.1 *RHMI* 启动子序列结构特征预测分析

根据拟南芥 *RHMI* 的基因组 DNA 序列 (*Atlg78570*)推测出其启动子序列, 设计引物进行 PCR 扩增, 将扩增到的 1058 bp DNA 片段(转录起始位点上游 931 bp 至下游 127 bp)作为全长启动子。根据序列特征推测该启动子的 TATA box 和 CAAT box 分别位于距转录起始位点上游 74 bp 和 123 bp 处。利用 PlantCARE 数据库进行序列分析<sup>[27]</sup>, 预测在 *RHMI* 基因启动子区内存在 7 个 G-box、1 个 GC-box、3 个 ABRE 以及一个 WUN 等顺式调控元件(图 1)。

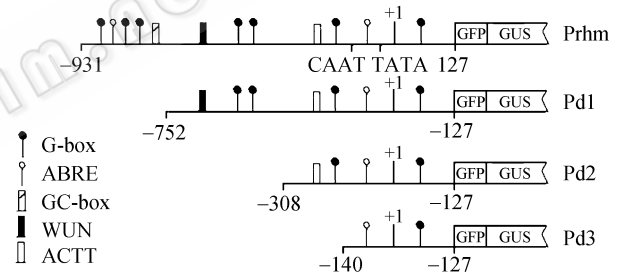


图 1 *RHMI* 启动子顺式元件预测分析及其系列缺失启动子与 *GUS* 基因融合示意图

Fig. 1 *AtRHMI* promoter analysis and structure of *GUS* fusion constructs

Prhm represents *RHMI* full length promoter fused with *GUS* gene. Pd1, Pd2, Pd3 represent deletion fragments of *RHMI* promoter fused with *GUS* gene, respectively. Putative *cis*-elements found in the promoter are shown in the scheme by symbols. The putative TATA box and CAAT box are located at -74 bp and -123 bp, respectively. Deletion sites in the promoter are numbered, and the transcription start site is numbered +1

### 2.2 *AtRHMI* 缺失启动子在幼苗中的表达模式

将不同的缺失启动子与 *GUS* 报告基因融合, 构建植物表达载体后采用农杆菌介导法转化拟南芥, 在含 50 mg/L 卡那霉素的 1/2MS 培养基上进行筛选, 获得卡那霉素抗性转基因植株: Prhm 25 株, Pd1 26 株, Pd2 31 株, Pd3 46 株, 分别从转基因植株中提取基因组 DNA 进行 PCR 检测(Pd3 取其中的 20 株鉴定), 最终获得 PCR 阳性植株 Prhm20 株, Pd1 15 株, Pd2

25 株, Pd3 18 株。单株收获种子, 分别在 F3 代筛选得到相应纯系。

在 Prhm、Pd1、Pd2、Pd3 纯系转基因种子中随机各选择五个纯系的种子于 1/2MS 培养基上萌发, 分别在萌发后 2 d 和 7 d 取幼苗进行 GUS 染色观察。Prhm 萌发 2 d 后的幼苗中, GUS 基因在各个组织部位都高强度表达, 其中, 子叶和主根 GUS 染色反应最为强烈(图 2A), 而萌发后 7 d 的幼苗中各个组织部位均可见明显的 GUS 染色反应, 但是与萌发后 2 d 的幼苗相比, 染色反应强度明显降低(图 2E)。与 Prhm 转基因幼苗相比, 尽管 Pd1 中的 GUS 基因在整株幼苗上都有表达, 但是, 其表达强度呈现明显差别。例如, 7 d 幼苗的子叶中 GUS 染色很浅, 明显弱于 Prhm 中 GUS 染色程度(图 2F)。此外, 2 d 幼苗的主根的染色也明显弱于 Prhm 的 2 d 幼苗(图 2B)。与 Pd1 相比, 整体上 Pd2 中 GUS 基因的表达显著减弱, 萌发后 2 d 的幼苗中子叶和下胚轴部分仅有微弱的表达, 在根中甚至没有观察到 GUS 染色反应(图 2C)。在 7 d 的幼苗中, 在子叶和第一对真叶中有些许表达, 在下胚轴和根中只有微弱表达(图 2G)。Pd3 中的 GUS 基因几乎很少表达。在 7 d 的幼苗中, 子叶顶部和下胚轴有微弱的 GUS 表达, 茎端分生组织表达较强(图 2H)。但是, 在 Pd3 萌发后两天的幼苗中没有可见的 GUS 染色反应(图 2D)。

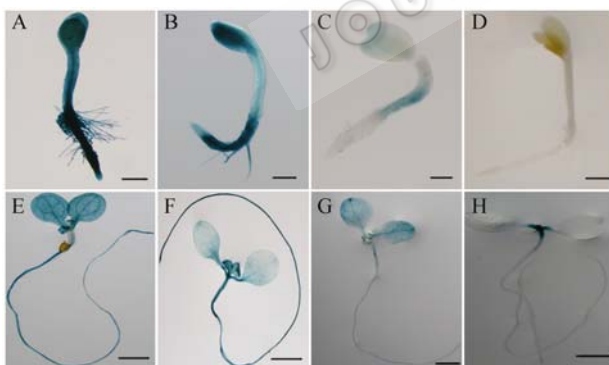


图 2 转基因拟南芥幼苗的 GUS 染色

Fig. 2 GUS-staining of Prhm, Pd1, Pd2, Pd3 transgenic Arabidopsis seedlings

A: 2-d Prhm seedling, B: 2-d Pd1 seedling, C: 2-d Pd2 seedling, D: 2-d Pd3 seedling, E: 7-d Prhm seedling, F: 7-d Pd1 seedling, G: 7-d Pd2 seedling, H: 7-d Pd3 seedling. The scale bars: A~D, 0.5mm; E~H, 1.5 mm

### 2.3 葡萄糖应答调控元件所在位置的确定

由于拟南芥 *RHMI* 基因启动子中存在 7 个 G-box, 而 G-box 又是参与糖介导途径的顺式作用元

件, 所以我们首先检测葡萄糖对 *RHMI* 基因是否具有调控作用。将在 1/2MS 培养基上生长 7 d 的 Prhm 转基因拟南芥幼苗分别移至浸有 6%甘露醇和 6%葡萄糖(m/V)液体培养基的滤纸上, 处理 12 h 后分别进行 GUS 染色, Prhm 的 GUS 基因在葡萄糖处理下的表达比在未经处理的正常条件下的显著升高, 而在甘露醇处理下染色没有加深(图 3A)。为了确定 *RHMI* 启动子中应答葡萄糖反应的最小序列区域, 对 Pd1、Pd2、Pd3 转基因拟南芥幼苗进行葡萄糖和甘露醇的诱导处理(处理方法同于 Prhm 转基因幼苗), GUS 染色结果发现 Pd1、Pd2、Pd3 驱动的 GUS 基因的表达都不受葡萄糖和甘露醇诱导(分别为图 3B,C,D)。

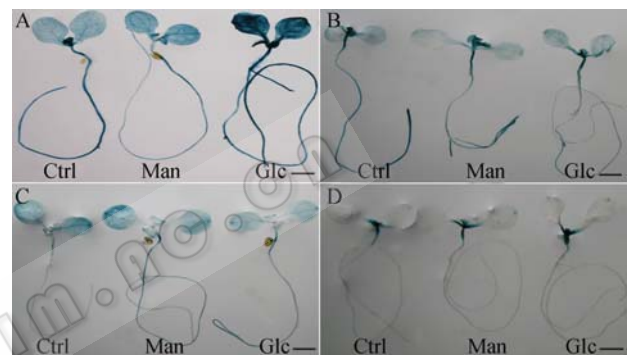


图 3 7 d 转基因 Prhm, Pd1, Pd2, Pd3 拟南芥幼苗在不同处理下的 GUS 染色

Fig. 3 GUS staining of 7-d-old transgenic seedlings of Prhm, Pd1, Pd2, Pd3 under indicated treatments: Seedlings were grown on 1/2 MS alone (Ctrl); Seedlings transferred from 1/2 MS to filters which were immersed with 6% mannitol(Man) or 6% glucose(Glc) for 12h A: Prhm transgenic seedlings; B: Pd1 transgenic seedlings; C: Pd2 transgenic seedlings; D: Pd3 transgenic seedlings. The scale bars: 1.5 mm

为了验证拟南芥内源 *RHMI* 基因在转录水平上是否受葡萄糖的诱导, 我们进行了半定量 RT-PCR 检测。将生长在 1/2MS 培养基上 7 d 的野生型拟南芥幼苗分别移至浸有 6%甘露醇和 6%葡萄糖(m/V)的液体培养基滤纸上处理 0 h 和 12 h 后收集材料提取 RNA, 并进行半定量 RT-PCR, 结果发现在葡萄糖(Glc)诱导 12 h 后, *RHMI* 基因转录水平比 0 h 时(Ctrl)明显升高, 但在甘露醇(Man)诱导 12 h 下其转录水平没有变化(图 4a), 结果与图 3A 中的 GUS 染色结果相一致, 表明 *RHMI* 基因受葡萄糖的诱导。在此基础上, 我们对不同启动子缺失片段的表达活性进行了定量分析, 结果表明, 全长启动子融合基因 Prhm 具有最高的葡萄糖诱导表达活性。Prhm 转

基因植株在葡萄糖诱导后的 GUS 表达活性比未经过处理的植株 GUS 表达活性增加了约 60%, 而 Pd1、Pd2、Pd3 转基因植株在葡萄糖诱导前后无显著变化。以 Prhm 葡萄糖诱导表达活性作为对照, Pd1 的启动子片段驱动的 GUS 报告基因的活性显著降低(下降了约 76%), 而 Pd1、Pd2 和 Pd3 在葡萄糖处理后的 GUS 表达水平之间没有显著区别(图 4b), 表明在 *RHM1* 启动子的全长序列中, -931bp ~ -752 bp 这一段序列是应答葡萄糖反应的重要区域。

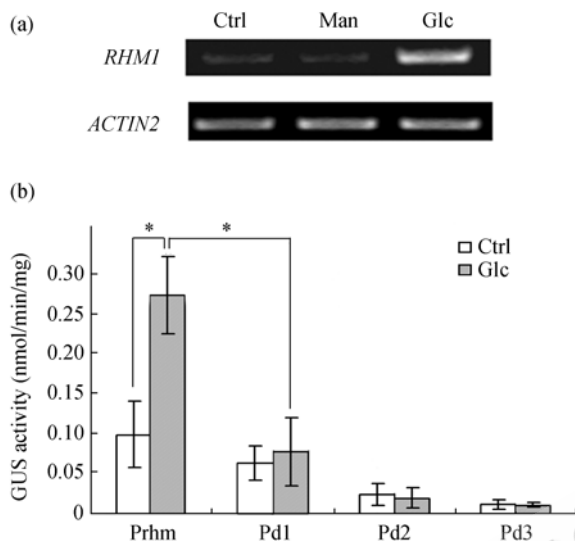


图 4 葡萄糖诱导 *RHM1* 基因的表达

Fig. 4 Glucose induces *RHM1* gene expression

(a) Semiquantitative RT-PCR analysis of *RHM1* expression in 7-d-old wild-type seedlings grown on 1/2MS alone (Ctrl), supplemented with 6% Glucose (Glc) or 6% mannitol (Man) for 12h. The loading control is ACTIN2; (b) Seedlings were grown on 1/2 MS alone (white bar) or supplemented with 6% Glc for 12h (gray bar). GUS activity is given as nmol MU/ min/ mg protein. 100mg seedlings were used per measurement. In each case, GUS activity values obtained from experiments performed with 4 independent transformants. Error bars represent SE. Statistically significant changes ( $P < 0.05$ , using Student's t-test) are identified by asterisks

### 3 讨论

*AtRHM1* 基因编码含有 668 个氨基酸的鼠李糖合成酶蛋白, 合成 UDP-L-鼠李糖, 为细胞壁形成提供必不可少的材料<sup>[6,28]</sup>。RHM1 蛋白属于脱氢还原酶蛋白家族, 该家族的高相似性的 3 个成员 RHM1, RHM2, RHM3 都具有鼠李糖合成酶功能<sup>[6]</sup>。rhm2 突变体种皮粘液中的鼠李糖含量相对野生型下降, 而其他组织部位的细胞壁成分含量没有变化, 表明 *RHM* 基因家族的 3 个基因在植株的各个组织部位都

大量表达; 半定量 RT-PCR 结果也证实 *RHM1*, *RHM2*, *RHM3* 这三个基因在根、茎、叶、花序、种荚和幼苗都有表达<sup>[9,10]</sup>。本实验中, GUS 染色结果表明 *RHM1* 基因在幼苗的各个组织部位都有表达, 与上述已有实验结果一致。

本研究结果表明 *AtRHM1* 基因受葡萄糖的诱导, 且该基因启动子中 -931 bp ~ -752 bp 区域是葡萄糖调控应答的重要区域。在 *AtRHM1* 基因启动子 -931 bp ~ -752 bp 区域中存在三个 G-box, 分别位于 -863 bp、-855 bp、-833 bp 处。G-box 基序是高度保守的 DNA 序列, 其核心序列为 CACGTG。G-box 首先被发现存在于编码二磷酸核酮糖羧化酶 (Rubisco) 小亚基的基因上游<sup>[29]</sup>, 其后, 在一些受环境因子调控的基因和糖诱导基因的启动子中也陆续发现了 G-box 元件的存在<sup>[30-34]</sup>。玉米淀粉分支酶基因 *SBE1* 启动子的糖调控相关区域中存在 G-box<sup>[24]</sup>。水稻糖调控基因  $\alpha$ Amy3 启动子中存在 G-box 参与糖应答途径<sup>[25]</sup>。同时, 在 *RHM1* 基因启动子 -931 bp ~ -752 bp 中还存在着 GC-box。水稻  $\alpha$ -Amy3 基因启动子中的 G-box 可以与 GC-box 和 TATCCA 元件协同作用介导糖应答反应<sup>[23]</sup>, 故我们推测存在于 *AtRHM1* 基因启动子 -931 bp ~ -752 bp 区域的 G-box 或 GC-box 很可能参与葡萄糖应答途径, 是否如此, 还需要通过实验进一步证实。

对一些基因启动子的研究发现, 在远离转录起始位点的区域也存在重要顺式作用元件。受低温诱导的 *BNI15* 基因的全长启动子中 (-1107 bp ~ +100 bp), 对 -1107 bp ~ -802 bp 的缺失导致在低温条件下的 GUS 活性下降了 40%, 推测在该区域可能存在增强子参与低温调节途径<sup>[35]</sup>。对质体蓝素基因启动子 (-1579 bp ~ -121 bp) 进行 5'端缺失时发现 -1579 bp ~ -705 bp 区段的缺失导致烟草叶片中 GUS 活性下降了约 100 倍, 表明在 -1579 bp ~ -705 bp 之间存在增强子, 而在该区段存在正调控元件 (PRE)<sup>[36]</sup>。在 *RHM1* 启动子 -931 bp ~ -752 bp 区域中是否存在增强子, 还需要进一步分析验证。

下一步我们将运用遗传学、分子生物学方法进一步对 *AtRHM1* 基因启动子进行深入、细致的分析研究以进一步确定该基因启动子中的葡萄糖相关顺式调控元件, 进而阐明拟南芥 *RHM1* 基因参与糖应答反应的分子机制。

## REFERENCES

- [1] Bar-Peled M, Lewinsohn E, Fluhr R, *et al.* UDP-rhamnose-flavanone-7-O-glucoside-2''-O-rhamnosyltransferase. Purification and characterization of an enzyme catalyzing the production of bitter compounds in citrus. *J Biol Chem*, 1991, **266**(31): 20953–20959.
- [2] Das MC, Bachhawat BK, Mahato SB, *et al.* Plant glycosides in a liposomal drug-delivery system. *Biochem J*, 1987, **247**(2): 359–361.
- [3] Markham KR, Gould KS, Winefield CS, *et al.* Anthocyanic vacuolar inclusions-their nature and significance in flower colouration. *Phytochemistry*, 2000, **55**(4): 327–336.
- [4] Shinozaki Y, Tobita T, Mizutani M, *et al.* Isolation and identification of two new diterpene glycosides from *Nicotiana tabacum*. *Biosci, Biotechnol Biochem*, 1996, **60**(5): 903–905.
- [5] van Setten DC, van de Werken G, Zomer G, *et al.* Glycosyl compositions and structural characteristics of the potential immunoadjuvant active saponins in the *Quillaja saponaria* Molina extract quil A. *Rap Commun Mass Spectrom*, 1995, **9**(8): 660–666.
- [6] Reiter WD, Vanzin GF. Molecular genetics of nucleotide sugar interconversion pathways in plants. *Plant Mol Biol*, 2001, **47**(1-2): 95–113.
- [7] Diet A, Link B, Seifert GJ, *et al.* The *Arabidopsis* root hair cell wall formation mutant *lrx1* is suppressed by mutations in the *RHM1* gene encoding a UDP-L-Rhamnose synthase. *Plant Cell*, 2006, **18**(7): 1630–1641.
- [8] Usadel B, Kuschinsky AM, Rosso MG, *et al.* RHM2 is involved in mucilage pectin synthesis and is required for the development of the seed coat in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2004, **134**(1): 286–295.
- [9] Western TL, Young DS, Dean GH, *et al.* *MUCILAGE-MODIFIED4* encodes a putative pectin biosynthetic enzyme developmentally regulated by *APETALA2*, *TRANSPARENT TESTA GLABRA1* and *GLABRA2* in the *Arabidopsis* seed coat. *Plant Physiol*, 2004, **134**(1): 296–306.
- [10] Baumberger N, Ringli, C, Keller B. The chimeric leucine-rich repeat/extensin cell wall protein LRX1 is required for root hair morphogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Dev*, 2001, **15**(9): 1128–1139.
- [11] Sheen J, Zhou L, Jang JC. Sugars as signaling molecules. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, **2**(5): 410–418.
- [12] Moore B, Zhou L, Rolland F, *et al.* Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling. *Science*, 2003, **300**(5617): 332–336.
- [13] Halford NG, Paul MJ. Carbon metabolite sensing and signaling. *Plant Biotechnol J*, 2003, **1**(6): 381–398.
- [14] Koch KE. Carbohydrate modulated gene expression in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1996, **47**: 509–540.
- [15] Lee EJ, Iai H, Sano H, *et al.* Sugar responsible and tissue specific expression of a gene encoding AtCIPK14, an *Arabidopsis* CBL-interacting protein kinase. *Biosci, Biotechnol Biochem*, 2005, **69**(1): 242–245.
- [16] Chikano H, Ogawa M, Ikeda Y, *et al.* Two novel genes encoding SNF-1 related protein kinase from *Arabidopsis thaliana*: differential accumulation of *AtSR1* and *AtSR2* transcripts in response of cytokinins and sugars, and phosphorylation of sucrose synthase by *AtSR2*. *Mol General Genetics*, 2001, **264**(5): 674–681.
- [17] Grierson C, Du JS, de Torres Zabala M, *et al.* Separate *cis* sequences and trans factors direct metabolic and developmental regulation of a potato tuber storage protein gene. *Plant J*, 1994, **5**(6): 815–826.
- [18] Tajima H, Koizumi N. Induction of BiP by sugar independent of a *cis*-element for the unfolded protein response in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **346**(3): 926–930.
- [19] Ishiguro S, Nakamura K. Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and beta-amylase from sweet potato. *Mol General Genetics*, 1994, **244**(6): 563–571.
- [20] Maeo K, Tomiya T, Hayashi K, *et al.* Sugar-responsive elements in the promoter of a gene for  $\alpha$ -amylase of sweet potato. *Plant Mol Biol*, 2001, **46**: 627–637.
- [21] Sun C, Palmqvist S, Olsson H, *et al.* A novel WRKY transcription factor, SUSIBA2, participates in sugar signaling in barley by binding to the sugar-responsive elements of the *isol* promoter. *Plant Cell*, 2003, **15**(9): 2076–2092.
- [22] Luan S, Kudla J, Rodriguez-concepcion M, *et al.* Calmodulins and calcineurin B-like proteins: calcium sensors for specific signal response coupling in plants. *Plant Cell*, 2002, **14**(Suppl): S389–S400.
- [23] Rolland F, Moore B, Sheen J. Sugar Sensing and Signaling in Plants. *Plant Cell*, 2002, **14**(Suppl): S185–S205.
- [24] Kyung-Nam Kim, Mark J Gultinan. Identification of *cis*-acting elements important for expression of the starch-branching enzyme I gene in maize endosperm. *Plant Physiol*, 1999, **121**: 225–236.
- [25] Lu CA, Lim EK, Yu SM. Sugar response sequence in the promoter of a rice  $\alpha$ -amylase gene serves as a transcriptional enhancer. *J Bio Chem*, 1998, **273**(17): 10120–10131.
- [26] Jefferson RA, Kavanagh TA, Bevan MW. GUS fusions:  $\beta$ -glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. *EMBO J*, 1987, **6**(13): 3901–3907.
- [27] Lescot M, Déhais P, Marchal K, *et al.* PlantCARE: a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for *in silico* analysis of promoter sequences. *Nucl Acids Res*, 2002, **30**(1): 325–327.
- [28] Seifert GJ. Nucleotide sugar interconversions and cell wall biosynthesis: How to bring the inside to the outside. *Curr Opin in Plant Biol*, 2004, **7**: 277–284.
- [29] Giuliano G, Pichersky E, Malik VS, *et al.* An



- evolutionarily conserved protein binding sequence upstream of a plant light-regulated gene. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1998, **85**(19): 7089–7093.
- [30] Martinez-Garcia JF, Huq E, Quail PH. Direct targeting of light signals to a promoter element-bound transcription factor. *Science*, 2000, **288**: 859–863.
- [31] Chattopadhyay S, Ang LH, Puente P, *et al.* *Arabidopsis* bZIP protein HY5 directly interacts with light-responsive promoters in mediating light control of gene expression. *Plant Cell*, 1998, **10**: 673–683.
- [32] Menkens AE, Schindler U, Cashmore AR. The G-box: A ubiquitous regulatory DNA element in plants bound by the GBF family of bZIP proteins. *Trends Biochem Sci*, 1995, **20**(12): 506–510.
- [33] Pla M, Vilardell J, Guiltinan MJ, *et al.* The *cis*-regulatory element CCACGTGG is involved in ABA and water-stress responses of the maize gene *rab28*. *Plant Mol Biol*, 1993, **21**: 259–266.
- [34] Bustos MM, Iyer M, Gagliardi SJ. Induction of a  $\beta$ -phaseolin promoter by exogenous abscisic acid in tobacco: Developmental regulation and modulation by external sucrose and  $Ca^{2+}$  ions. *Plant Mol Biol*, 1998, **37**: 265–274.
- [35] White TC, Simmonds D, Donaldson P, *et al.* Regulation of *BN115*, a low-temperature-responsive gene from winter *Brassica napus*. *Plant Physiol*, 1994, **106**(3): 917–928.
- [36] Vorst O, Kock P, Lever A, *et al.* The promoter of the *Arabidopsis thaliana* plastocyanin gene contains a far upstream enhancer-like element involved in chloroplast-dependent expression. *Plant J*, 1993, **4**(6): 933–945.

## 科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

### 生物入侵：生物防治篇

万方浩 李保平 郭建英 等编著

978-7-03-021343-3 ¥128.00 2008年8月30日出版

本书是国家重点基础研究发展计划（973计划）项目“农林危险生物入侵机理与控制基础研究”（2002CB111400）与国家“十一五”科技支撑计划课题“农业入侵物种区域减灾与持续治理技术”（2006BAD08A18）的研究成果专著。本书系统地综述了国内外外来入侵物种的传统生物防治理论与最新技术成果，分为上、下篇。上篇为理论篇，主要论述外来入侵物种的传统生物防治的理论及最新技术成果，详细介绍生物防治的原理及生物防治作用物的筛选、评价、风险评估、引进、释放和效益评价的方法与技术，为科学、严谨和合理地开展外来入侵物种的传统生物防治提供有价值的研究思路、模式与体系。下篇为应用篇，主要论述了对19种主要入侵杂草和昆虫所开展的生物防治实践成果，包括生物防治作用物的筛选与引进、生物和生态学特性、寄主专一性与生态风险、大规模生产技术与工艺流程、应用技术与方法以及控制效能与控制作用评价等，这些研究成果为外来入侵物种的有效治理提供了可行的技术与方法。

本书适合于从事生物入侵、生物多样性、生态安全、动植物检疫、植物保护与环境保护等领域的科研人员、大专院校师生以及行政管理人员等使用。



### 种子生物学（精装）

宋松泉 程红焱 姜孝成 等编著

978-7-03-019032-1 ¥23.00 2008年8月30日出版

本书在广泛收集国内外大量文献的基础上，结合作者们多年来的研究工作，比较全面而系统地介绍了种子生物学的研究成果和近期进展。内容包括种子的形态结构和组成、种子的发育和成熟、种子的萌发、种子贮藏物的动员及其调控、种子的休眠及其控制、种子的生命力与寿命、顽拗性种子和种子生态。

本书可供从事种子科学与技术、植物种质资源保育、农业、林业和园艺工作的科研人员参考，也可作为综合性大学、农林和师范院校相关专业师生的参考用书。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书（免邮费）

邮购地址：北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编：100717

联系人：阮芯 联系电话：010-64034622（带传真）

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>