



# 小麦胁迫相关基因 *TaLEA2* 的克隆、生物信息学及表达特性分析

龙翔宇<sup>1</sup>, 蒲至恩<sup>2</sup>, 杨丽娟<sup>2</sup>, 郑科<sup>2</sup>, 刘泽厚<sup>2</sup>

(1 中国热带农业科学院 橡胶研究所, 海南 儋州 571737; 2 四川农业大学 小麦研究所, 四川 成都 611130)

**摘要:**【目的】克隆小麦 *Triticum aestivum* 晚期胚胎发育丰富蛋白基因并对其进行基因结构、蛋白特性及表达模式分析, 为其耐盐性研究奠定理论基础。【方法】搜索小麦 EST 数据库, 通过同源克隆分离并获得小麦晚期胚胎发育丰富蛋白基因, 用生物信息学软件分析该基因结构及蛋白特性, 荧光定量试验分析该基因的表达模式。【结果和结论】获得 1 条 1 100 bp 的核苷酸序列, 该序列包含了 1 个 981 bp 的开放阅读框, 编码 1 个由 326 个氨基酸残基组成的蛋白, 该蛋白含有 2 个 LEA2 结构域, 属于第 2 组 LEA 蛋白, 该蛋白命名为 TaLEA2。生物信息学分析显示 TaLEA2 蛋白具有 LEA2 家族的典型特征, 富含赖氨酸(Lys), 不含半胱氨酸(Cys), 无明显的高级结构, 平均亲水系数(GRAVY)为 -0.405, 稳定系数为 25.28, 这种氨基酸组成及结构均有利于蛋白的热稳定性及亲水性。实时荧光定量 PCR 分析表明, *TaLEA2* 基因为组成型表达, 同时该基因存在组织表达差异, 且表达受不同发育时期影响; 该基因调控表达受高盐、低温、病原菌及干旱等胁迫的影响, 尤其在干旱胁迫中上调表达明显, 但该基因不受外源 ABA 刺激的影响。推测 *TaLEA2* 基因参与了小麦正常条件下的生长发育, 同时也广泛地参与了小麦抵御逆境胁迫的响应, 尤其在小麦的抗旱胁迫过程中发挥重要作用。

**关键词:** 小麦; *TaLEA2* 基因; 基因克隆; 生物信息学; 基因表达

中图分类号: Q349.53

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2014)05-0088-05

## Molecular cloning, expression and bioinformatic analysis of *TaLEA2* gene from wheat

LONG Xiangyu<sup>1</sup>, PU Zhi'en<sup>2</sup>, YANG Lijuan<sup>2</sup>, ZHENG Ke<sup>2</sup>, LIU Zehou<sup>2</sup>

(1 Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, China;

2 Wheat Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

**Abstract:**【Objective】The cloning, expression and bioinformatic analysis of *TaLEA2* gene were carried out to lay the theoretical basis for salt-tolerance of wheat. 【Method】The *TaLEA2* gene was obtained by homology cloning. Its gene structures and protein characteristics were analyzed by bioinformatic softwares. Real-time PCR was used to analyze its expression. 【Result and conclusion】The results showed that *TaLEA2* contained a 981 bp ORF encoding 326 amino acids. Using bioinformatics analysis to predict and analyze *TaLEA2*, the protein had classic domains and characteristics of LEA2, rich in Lys and lack of Cys, high hydrophilia (GRAVY, -0.405) and heat stability (Instability index, 25.28). The results of real-time PCR revealed that the expression of *TaLEA2* had a constitutive expression, whose levels were different in different tissues. The expression was induced markedly by drought, salt, low-temperature and pathogenic bacteria in particular, but no change in treatment with ABA. Therefore, it is speculated that *TaLEA2* can play a role not only in growth and development conditions but also in stress stage of wheat,

收稿日期: 2013-04-09 优先出版时间: 2014-07-17

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20140717.0914.033.html>

作者简介: 龙翔宇 (1983—), 男, 助理研究员, 博士, E-mail: [xiangyulong@gmail.com](mailto:xiangyulong@gmail.com)

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项 (2011ZX08002001)

<http://xuebao.scau.edu.cn>

especially in resistance to drought-stress.

**Key words:** wheat; *TaLEA2* gene; gene clone; bioinformatic analysis; gene expression

植物在低温、干旱和盐泽等逆境条件下,会产生一系列具有保护功能的蛋白来维持其正常的生命代谢活动,胚胎发育晚期丰富蛋白(Late embryogenesis abundant proteins, LEA 蛋白)就是其中的一种,它被认为是与植物抗逆反应相关的一类重要蛋白<sup>[1]</sup>. LEA 蛋白首先在植物中被发现,是植物胚胎发生后种子中大量积累的一类亲水蛋白,该类蛋白不仅广泛地存在于高等植物的种子、幼苗及成年植株中,同时也存在于细菌、真菌和动物中<sup>[2]</sup>. LEA 蛋白是一类亲水性大家族,同时具有很高的热稳定性,即使在煮沸条件下也能保持水溶状态<sup>[3]</sup>. 根据保守结构域及亲水系数等, Battaglini 等<sup>[4]</sup>将 LEA 蛋白分为 7 个家族. 在干旱、高低温、盐泽和重金属胁迫条件下, LEA 蛋白具有稳定细胞膜、清除活性氧自由基、结合金属离子等功能,从而对植物起保护作用<sup>[5]</sup>.

根据报道<sup>[6-7]</sup>,脱水素(第 2 组 LEA)在植物因干旱失水时,能够代替水分子,保持细胞液体处于溶解状态,从而避免细胞结构的塌陷,稳定细胞结构,尤其是膜结构,同时该组蛋白可能起到了分子伴侣和亲水性溶质的作用,在水分胁迫时稳定和蛋白质的结构及功能. Danyluk 等<sup>[8]</sup>认为脱水素对逆境胁迫保护小麦膜系统稳定性至关重要. 大麦中的脱水素 DHN4、DHN6 在干旱胁迫影响中发挥重要功能,随后发现青稞中的 DHN4 在抗旱能力方面起到了重要的作用<sup>[9-11]</sup>. 脱水素在植物抵御金属离子、高低温等胁迫的过程中也发挥着重要的作用. Zhang 等<sup>[12]</sup>在菜豆中分离并获得 SKn 型脱水素,研究发现 SKn 型脱水素具有响应重金属胁迫的功能. 在烟草中过量表达柑橘脱水素 Cucor19,发现可以增强烟草对低温的抗性,并且可以抑制质膜过氧化<sup>[13]</sup>. 目前关于小麦脱水素基因的克隆及其功能的报道还不多见. 本研究根据小麦 EST 数据库,筛选抗旱候选基因序列,克隆并获得 *TaLEA2* 的 cDNA 序列,对该基因编码的蛋白序列进行了生物信息学分析,采用荧光定量 PCR 技术分析了该基因的表达特征,推测 *TaLEA2* 参与小麦正常条件下的生长发育,同时参与小麦抵御逆境胁迫的响应,尤其在小麦的抗旱胁迫过程中发挥重要作用.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及处理

本试验使用的材料是六倍体普通小麦 *Triticum aestivum* 中国春. 选取籽粒饱满的小麦种子用流水冲

洗干净后播种于装有干净石英砂的塑料盆内,每盆 3 粒,然后将其放置到 Hoagland 营养液中进行水培,每隔 24 h 更换 1 次营养液,在光照培养箱中培养大约 3 周后,待其长到二叶一心后,选择长势基本一致的材料进行处理,每个试验处理设有 3 个重复. 处理 1: 将待处理材料放入含有 200 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 的 Hoagland 营养液中诱导 48 h, 取其根及叶片; 处理 2: 将待处理材料放入含有 50 mmol · L<sup>-1</sup> ABA 的 Hoagland 营养液中激素诱导 48 h, 取其根及叶片; 处理 3: 将待处理材料放入含有 150 mmol · L<sup>-1</sup> PEG 的 Hoagland 营养液中干旱诱导 48 h, 取其根及叶片; 处理 4: 低温(4 °C)诱导 24 h, 取其叶片; 处理 5: 供试菌为条中 32, 购于甘肃省农业科学院, 采用抖粉接种方法, 接种时先往接种点喷水雾, 然后将菌粉(新鲜孢子与滑石粉质量比 1:250 混合)抖落到麦叶上, 接种后再喷 1 次水, 盖上塑料薄膜, 于 15 °C 黑暗培养 12 h 后, 将薄膜取下正常生长, 72 h 后取其叶片; 对照与处理采样时间同步.

### 1.2 RNA 提取、cDNA 合成及 *TaLEA2* 的克隆

利用 Trizol 试剂盒提取不同材料的总 RNA(购自天根生化科技有限公司), 反转录采用 Prime-Script™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒(购自宝生物工程(大连)有限公司), 提取及合成方法按照试剂盒说明书进行.

分析小麦 EST 数据库(HAWheat152), 筛选并拼接小麦胁迫候选基因, 根据找到的 *TaLEA2* (ACCESSION, AK330667) 序列设计引物(*TaLEA2*-F1: 5'-CCACTTTCATCTCATCTCG-3', *TaLEA2*-R1: 5'-CCACTTTCATCTCATCTCG-3'), 以小麦幼苗的 cDNA 为模板扩增, 片段回收后测序.

### 1.3 *TaLEA2* 的生物信息学分析

*TaLEA2* 基因核苷酸翻译及多序列比对采用 DNAMAN 5.22 软件; 氨基酸成分、不稳定系数、亲水系数、蛋白分子量、等电点分析采用在线软件 ProtParam(<http://web.expasy.org/protparam/>); 信号肽和亚细胞定位分别采用在线软件 SignalP 4.1 Server(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)和 iPSORT(<http://ipsort.hgc.jp/>); 蛋白质亲水性图谱在线构建采用在线软件 ProtScale(<http://web.expasy.org/cgi-bin/protscale/protscale.pl>); 其他物种的氨基酸序列来源于 NCBI 数据库, 采用 MEGA 5.10 软件, 以邻近法构建进化树.

## 1.4 实时荧光定量 PCR 检测 *TaLEA2* 的表达

以小麦不同生长时期、不同组织以及不同胁迫处理组织的 cDNA 为模板,使用小麦特异性引物 (*TaLEA2*-F: 5'-GGCTACAGCATCAAGGGCAA-3', *TaLEA2*-R: 5'-TCCTTCTTGAGGCGAGTGGTT-3') 进行定量分析,以小麦延长因子 *TaEF1 $\alpha$*  作为内参基因,扩增引物为: *TaEF1 $\alpha$* -F: 5'-CAGATTGGCAACGGC-TACG-3', *TaEF1 $\alpha$* -R: 5'-CGGACAGCAAAACGAC-CAAG-3'. 采用 Real Master Mix (SYBR Green) 试剂盒 (购自天根生化科技有限公司),在 Chromo 4™ 实时荧光定量 PCR 检测仪 (BIO-RAD) 上运行,数据处理采用其自带软件.

## 2 结果与分析

### 2.1 *TaLEA2* 克隆及其编码蛋白的生物信息学分析

在小麦 EST 数据库中筛选并分析序列,获得与小麦抗旱相关的候选基因片段,在 NCBI 数据库中搜索到 1 条与其一致的小麦 cDNA 序列 (ACCESSION, AK330667). 采用 RT-PCR 技术分离得到 1 条 1 100 bp 的核苷酸序列,与候选基因序列一致,该序列包含了 1 个 981 bp 的开放阅读框,编码 1 个由 326 个氨基酸残基组成的蛋白,蛋白相对分子质量为 36 080. 在 NCBI 氨基酸数据库中进行保守结构域分析,发现该蛋白含有 2 个 LEA2 结构域,分别位于 90 ~ 186 aa 和 216 ~ 311 aa,表明该蛋白属于小麦 LEA 家族第 2 组 (脱水素),将其命名为 *TaLEA2*,并且该蛋白与拟南芥第 2 组成员 (NP\_181934.1) 的相似性高达 64.30%.

氨基酸组成分析结果显示,该蛋白富含天冬氨酸 Asp (12.6%), 异亮氨酸 Ile (9.5%), 赖氨酸 Lys (9.2%), 甘氨酸 Gly (8.6%) 和缬氨酸 Val (7.4%), 而谷氨酰胺 Gln (0.9%) 和色氨酸 Trp (0.6%) 含量较低,不含半胱氨酸 Cys. 该蛋白负电荷氨基酸总数 62 个,正电荷氨基酸总数 43 个,是一种酸性蛋白,理论等电点 4.64. 稳定系数 (Instability index) 为 25.28,属于稳定蛋白. 蛋白二级结构分析结果显示, *TaLEA2* 蛋白中 42% 的氨基酸残基参与了  $\beta$ -折叠构象的形成,13.5% 的氨基酸参与了  $\alpha$ -螺旋构象的形成,  $\alpha$ -螺旋构象主要位于该蛋白的 N-端,没有明显的高级结构,推测该蛋白以无序状态存在. 由于 N-端没有信号肽 (SP = NO, D-cut-off = 0.450), 蛋白分子中也没有跨膜区,因此推测该蛋白位于细胞质中. 除在 80 ~ 160aa 之间出现了几处弱疏水区域外,其他部分是亲水区域,采用 ProtScale 进行的疏水性/

亲水性分析氨基酸指数为 91.30, *TaLEA2* 蛋白的平均亲水系数为 -0.405,因此,该蛋白为亲水蛋白.

### 2.2 *TaLEA2* 蛋白的相似性比对及聚类分析

根据 *TaLEA2* 基因编码的氨基酸序列,在大麦 *Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*、短柄草 *Brachypodium distachyon*、玉米 *Zea mays*、水稻 *Oryza sativa* Japonica Group、高粱 *Sorghum bicolor*、黄瓜 *Cucumis sativus*、丹参 *Salvia miltiorrhiza*、拟南芥 *Arabidopsis thaliana*、葡萄 *Vitis vinifera*、大豆 *Glycine max*、百脉根 *Lotus japonicus*、苜蓿 *Medicago truncatula*、杏 *Prunus armeniaca*、烟草 *Nicotiana tabacum* 及杨树 *Populus trichocarpa* 中搜索到与 *TaLEA2* 相似的第 2 组 LEA 蛋白氨基酸序列 15 条,发现 *TaLEA2* 的同源 LEA 蛋白质都含有 2 个 LEA2 结构域. 氨基酸的相似性分析显示, *TaLEA2* 与小麦中与铝离子胁迫相关的 LEA2 (BAJ93460.1) 相似性最高 (95.30%); 与拟南芥中水胁迫应答相关的 LEA2 (NP\_181934.1) 相似性最低 (64.30%). 同时发现搜索到的同源性蛋白均与非生物胁迫相关,如水胁迫、盐胁迫及铝离子胁迫等,推测该类蛋白与非生物胁迫相关,在进化过程中相对保守. 采用 MEGA 5.10 软件进行聚类分析 (图 1), 搜索到的 15 条同源 LEA2 蛋白序列及小麦 *TaLEA2* 蛋白序列被明显的分为双子叶和单子叶 2 类,第 I 类包括了拟南芥、烟草及大豆在内的共 10 条双子叶 LEA2 蛋白序列,第 II 类包括了小麦、大麦及短柄草在内的共 6 条单子叶 LEA2 蛋白序列. 聚类结果表明,LEA2 蛋白分子进化与物种间的生物进化关系趋于一致.

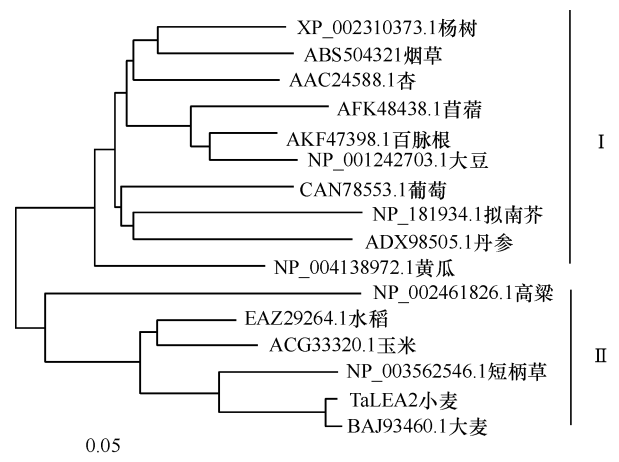


图 1 与 *TaLEA2* 相似的 LEA2 蛋白进化分析

Fig. 1 Phylogenetic analyses of LEA2 protein from plants

### 2.3 *TaLEA2* 的组织特异性表达分析

在小麦苗期的根、茎及叶,成熟期的根、茎、叶及种子中,都能检测到 *TaLEA2* 的表达,表明该基因在小麦的不同发育时期的不同组织中都能表达 (图

2). 在小麦的苗期, *TaLEA2* 在根中的表达量最高, 茎次之, 叶中表达量最低; 在小麦成熟时期, *TaLEA2* 在种子中表达量最高, 叶中次之, 根及茎中表达量最低. 综合组织特异表达结果, 尽管 *TaLEA2* 在所检测的组织中均表达, 但是该基因存在组织特异性表达, 同时该基因的调控表达受不同发育时期的影响.

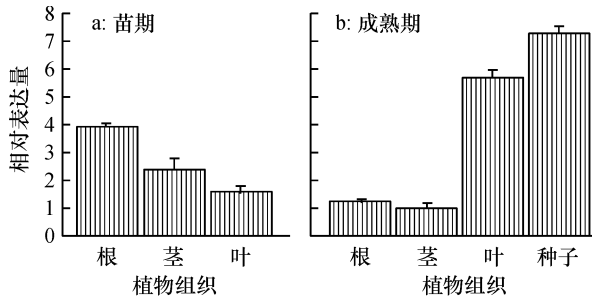


图2 *TaLEA2* 在不同时期及组织中的表达模式

Fig. 2 Expression pattern analyses of *TaLEA2* in different periods and tissues

### 2.4 *TaLEA2* 在各种胁迫下的表达模式分析

在盐胁迫处理下, *TaLEA2* 基因在根中的表达无变化, 在叶片中的表达略有上升; 在外源 ABA 处理下, *TaLEA2* 基因在根中表达略有上升, 而在叶片中略有下降, 均不明显; 在低温和条锈病原菌处理下, *TaLEA2* 基因在叶片中的表达量略有上升, 条锈病原菌诱导后该基因上调表达 1.5 倍以上, 低温诱导该基因上调不明显; 在干旱胁迫下, *TaLEA2* 基因在根及叶片中均上调表达, 并且明显上升, 分别比对照高 1.90 和 2.74 倍. 以上的结果表明, *TaLEA2* 参与了高盐、低温、病菌及干旱等胁迫反应, 推测可能与小麦生物与非生物胁迫应答过程有关, 同时该基因对外源 ABA 处理不敏感(图3).

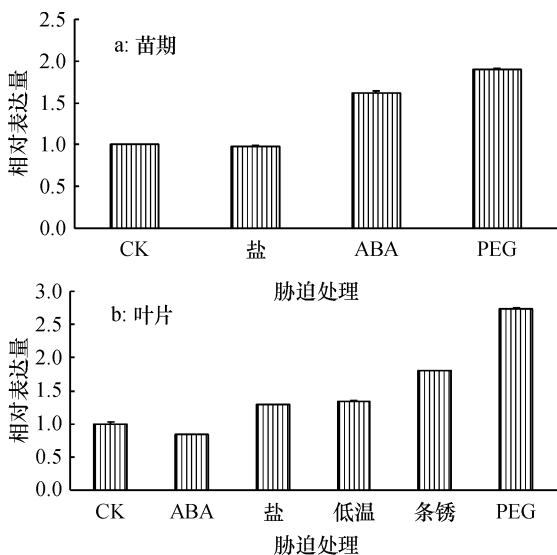


图3 不同胁迫下 *TaLEA2* 的表达模式

Fig. 3 Expression pattern analyses of *TaLEA2* under different stress conditions

## 3 讨论与结论

干旱、盐碱和冻害等是限制植物生长发育的主要逆境因子, 在长期的进化过程中, 植物已形成了特定的抵御这些环境胁迫的复杂调控体系, 如产生具有保护功能的蛋白来维持其正常的代谢活动, 胚胎发育晚期丰富蛋白就是其中的一种. 近些年 LEA 受广泛关注. 大量的研究<sup>[14-23]</sup>表明, LEA2 蛋白在植物受干旱、高盐及低温等非生物胁迫过程中发挥着重要作用, 但其主要的抗性机理尚不清楚.

本研究从小麦中克隆得到 1 条 1 100 bp 的核苷酸序列, 编码 1 个由 326 个氨基酸残基组成的 *TaLEA2* 蛋白, 蛋白相对分子质量为 36 080, 该蛋白含有 2 个 LEA2 结构域, 并且具有 LEA2 家族的典型特征, 富含赖氨酸 Lys, 不含半胱氨酸 Cys, 脂肪族氨基酸指数为 91.30, *TaLEA2* 蛋白的平均亲水系数为 -0.405, 稳定系数为 25.28, 且无明显的高级结构, 这种氨基酸组成及结构均有利于蛋白的稳定及亲水性, 从而提高与水分子结合的能力, 提高植物的抗旱能力. 植物 LEA 蛋白基因的表达受多种因素影响, 本研究分析了 *TaLEA2* 基因在不同组织、不同发育时期及不同胁迫下的表达模式, 从分析结果可以看出该基因为组成型表达, 但在不同组织及不同发育时期的表达量有所不同, 该基因在成熟期的种子中高表达, 推测该基因与种子脱水干燥过程有关; 该基因表达受高盐、低温、病菌及干旱等胁迫的调控, 尤其在干旱胁迫中该基因上调表达最明显, 推测 *TaLEA2* 蛋白在小麦受到干旱失水时把足够的水分捕获到细胞内, 从而保护细胞免受水分子的伤害, 故 *TaLEA2* 与植物抗干旱相关. 综合 *TaLEA2* 的表达数据, 发现该基因除受胁迫调控外, 同样受组织类型及发育过程调控. ABA 调控被认为是 LEA 蛋白基因重要的调控因子之一, 根据基因表达对 ABA 的依赖与否主要分为 2 种途径: 依赖 ABA 的途径, 如大麦的脱水素 DHN1 基因, 以及不依赖 ABA 的途径<sup>[24-25]</sup>. 本研究同样对小麦进行了外源 ABA 处理, 分析结果显示 *TaLEA2* 表达不受外源 ABA 刺激的影响, 属于不依赖 ABA 调控的 LEA2 蛋白.

综上所述, *TaLEA2* 蛋白为组成型表达, 且在逆境条件下积累, 参与了小麦正常条件下的生长发育, 同时也广泛参与小麦抵御逆境胁迫的响应, 尤其在小麦的抗旱胁迫及种子成熟过程中发挥重要作用, 但其具体功能及分子调控机制尚不清楚. 下一步将通过转基因技术深入研究 *TaLEA2* 在抵御小麦胁迫(干旱)过程中的具体功能, 同时也将进一步分析该

基因在种子成熟过程中的表达模式,探究其在小麦种子成熟过程中的具体作用,为揭示 LEA 蛋白与小麦生长发育及抗旱胁迫的密切相关奠定理论基础,为小麦抗性定向分子改良提供重要的靶基因。

#### 参考文献:

- [1] ZHANG L, OHTA A, TAKAGI M, et al. Expression of plant group 2 and group 3 lea genes in *Saccharomyces cerevisiae* revealed functional divergence among LEA proteins [J]. *J Biochem*, 2000, 127(4): 611-616.
- [2] DURE L, GREENWAY S C, GALAU G A. Developmental biochemistry of cottonseed embryogenesis and germination: Changing messenger ribonucleic acid populations as shown by *in vitro* and *in vivo* protein synthesis [J]. *Biochemistry*, 1981, 20(14): 4162-4168.
- [3] RAMANJULU S, BARTELS D. Drought- and desiccation-induced modulation of gene expression in plants [J]. *Plant Cell Environ*, 2002, 25(2): 141-151.
- [4] BATTAGLIA M, OLVERA C Y, GARCIARRUBIO A, et al. The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins [J]. *Plant Physiol*, 2008, 148(1): 6-24.
- [5] BAKER J, Van DENNSTEELE C, DURE L. Sequence and characterization of 6 LEA proteins and their genes from cotton [J]. *Plant Mol Biol*, 1988, 11(3): 277-291.
- [6] DURE L. A repeating 11-mer amino acid motif and plant desiccation [J]. *Plant J*, 1993, 3(3): 363-369.
- [7] 刘洋, 邢鑫, 李德金. LEA 蛋白的分类与功能研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2011(8): 36-43.
- [8] DANYLUK J, PERRON A, HOUDE M, et al. Accumulation of an acidic dehydrin in the vicinity of the plasma membrane during cold acclimation of wheat [J]. *Plant Cell*, 1998, 10(4): 623-638.
- [9] 孙歆, 雷韬, 袁澍, 等. 脱水素研究进展 [J]. *武汉植物学研究*, 2005, 23(3): 299-304.
- [10] 杜俊波, 席德慧, 王尚英, 等. 青稞脱水素基因 *dhn4* 的克隆与原核表达 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2008, 45(2): 441-445.
- [11] 钱刚, 平军娇, 张珍, 等. 大麦 *Dhn6* 基因的克隆、蛋白质结构预测与干旱胁迫表达模式 [J]. *遗传*, 2011, 33(3): 270-277.
- [12] ZHANG Yuxiu, LI Jimmei, YU Fei, et al. Cloning and expression analysis of SKn-type dehydrin gene from bean in response to heavy metals [J]. *Mol Biotechnol*, 2006, 32(3): 205-218.
- [13] HARA M, TERASHIMA S, FUKAYA T, et al. Enhancement of cold tolerance and inhibition of lipid peroxidation by citrus dehydrin in transgenic tobacco [J]. *Planta*, 2003, 217(2): 290-298.
- [14] CLOSE T J. Dehydrins: A commonality in the response of plants to dehydration and low temperature [J]. *Physiol Plantarum*, 1997, 100(2): 291-296.
- [15] CAMPBELL S A, CLOSE T J. Dehydrins: Genes, proteins, and associations with phenotypic traits [J]. *New Phytol*, 1997, 137(1): 61-74.
- [16] LI Rui, BRAWLEY S H, CLOSE T J. Dehydrin-like proteins in fucoid algae [J]. *Plant Physiol*, 1997, 114: 479.
- [17] MTWISHA L, BRANDT W, MCCREARY S, et al. HSP 12 is a LEA-like protein in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Plant Mol Biol*, 1998, 37(3): 513-521.
- [18] DEAN R T, FU S L, STOCKER R, et al. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation [J]. *Biochem J*, 1997, 324(1): 1-18.
- [19] VITAMVAS P, KOSOVA K, PRAILOVA P, et al. Accumulation of WCS120 protein in wheat cultivars grown at 9 °C or 17 °C in relation to their winter survival [J]. *Plant Breeding*, 2010, 129: 611-616.
- [20] WISNIEWSKI M, BALSAMO R, CLOSE T J, et al. Purification, immunolocalization, cryoprotective, and antifreeze activity of PCA60: A dehydrin from peach (*Prunus persica*) [J]. *Physiol Plantarum*, 1999, 105(4): 606-608.
- [21] KOAG M C, FENTON R D, WILKENS S, et al. The binding of maize DHN<sub>1</sub> to lipid vesicles. Gain of structure and lipid specificity [J]. *Plant Physiol*, 2003, 131(1): 309-316.
- [22] KOAG M C, WILKENS S, FENTON R D, et al. The K-segment of maize DHN1 mediates binding to anionic phospholipid vesicles and concomitant structural changes [J]. *Plant Physiol*, 2009, 150(3): 1503-1514.
- [23] RORAT T, GRYGOROWICZ W J, IRZYKOWSKI W, et al. Expression of KS-type dehydrins is primarily regulated by factors related to organ type and leaf developmental stage during vegetative growth [J]. *Planta*, 2004, 218(5): 878-885.
- [24] ROBERTSON M, CUMING A C, CHANDLER P M. Sequence analysis and hormonal regulation of a dehydrin promoter from barley, *Hordeum vulgare* [J]. *Physiol Plantarum*, 1995, 94(3): 470-478.
- [25] JAGLO K R, KLEFF S, AMUNDSEN K L, et al. Components of the *Arabidopsis* C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species [J]. *Plant Physiol*, 2001, 127(3): 910-917.

【责任编辑 霍欢】