

杨树 *R2R3 MYB* 基因 *PeMYBL1* 的克隆及表达

宿红艳 王 磊 王仲礼 冯培勇 张 晔

(鲁东大学生命科学学院 烟台 264025)

关键词 : 杨树 ; *MYB* 基因 ; 克隆 ; 表达分析 ; 雄花序

中图分类号 : S718.46 ; Q943.2 文献标识码 : A 文章编号 : 1001 - 7488(2010)01 - 0142 - 05

Cloning and Characterization of *PeMYBL1* , an *R2R3 MYB* Gene from Poplar

Su Hongyan Wang Lei Wang Zhongli Feng Peiyong Zhang Ye

(College of Life Sciences , Ludong University Yantai 264025)

Abstract : An *R2R3 MYB* gene , *PeMYBL1* , was isolated from male inflorescence of *Populus × euramericana* by homologous cloning combined with *in silico* cloning techniques. The full length of *PeMYBL1* cDNA was 1 094 bp encoding 276 amino acids. The deduced amino acid sequence contained two conserved MYB domains near the N-terminus , a conserved E1 motif and an acidic Ser/Thr rich region toward its C terminus. Phylogenetic analysis revealed that *PeMYBL1* was clustered with *AtMYB85* from *Arabidopsis thaliana* , *ZmMYBL1* from *Zea mays* , *OsMYB15* from *Oryza sativa* and *ODORANT1* from *Petunia hybrida*. Furthermore , expression analysis by RT-PCR showed that *PeMYBL1* was expressed in root , stem , leaf , male and female inflorescences , and abundantly accumulated in male inflorescences. The expression level of *PeMYBL1* increased with the development of male inflorescences , indicating that *PeMYBL1* is closely related to male flower development.

Key words : poplar ; *MYB* gene ; cloning ; expression analysis ; male inflorescence

MYB 是植物转录因子中最大的家族之一 , 该家族成员以含有 *MYB* 结构域为共同特征。按所含 *MYB* 结构域的数目 , *MYB* 类转录因子可分成 3 种类型 , 即分别含 1 个、2 个和 3 个 *MYB* 结构域。每个 *MYB* 结构域通常由 51 ~ 52 个氨基酸组成 , 在空间结构上 , *MYB* 结构域形成螺旋 - 螺旋 - 转角 - 螺旋 (helix-helix-turn-helix) 结构 , 负责与 DNA 序列的特异结合。植物中绝大多数 *MYB* 类转录因子都含有 2 个 *MYB* 结构域 , 对应于动物 c-*MYB* 蛋白的 R2 和 R3 *MYB* 结构域 , 故称为 *R2R3 MYB* 蛋白。除具有 DNA 结合功能域外 , 大多数 *R2R3 MYB* 类转录因子还具有转录激活功能域 , 它们一般位于蛋白序列的中间或 C 端 , 常以富含酸性氨基酸、脯氨酸、谷氨酰胺或丝氨酸/苏氨酸为其特征 (Kranz *et al.* , 1998 ; Schwechheimer *et al.* , 1998 ; Jin *et al.* , 1999 ; Stracke *et al.* , 2001)。目前已在多种植物中发现数目众多的 *R2R3 MYB* 基因。例如 , 仅在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中就有大约 125 个 *R2R3 MYB* 基因 , 在玉米 (*Zea mays*) 基因组中也存在上百个的 *R2R3 MYB* 基因。它们在植物代谢和发育的各

个方面起着重要的调控作用 , 其主要功能是调节次生代谢 (特别是苯丙酸代谢)、控制细胞的分化和器官的形态建成以及参与对环境胁迫、光和激素的应答等。但迄今关于 *MYB* 类转录因子调控植物基因表达的机制还远未阐述清楚 , 并且已有的研究主要集中在拟南芥、烟草 (*Nicotiana tabacum*) 和玉米等草本植物中 , 而林木中关于这类转录因子的研究相对滞后 (Rabinowicz *et al.* , 1999 ; Stracke *et al.* , 2001 ; Patzlaff *et al.* , 2003 ; Karpinska *et al.* , 2004 ; 陈俊等 2002)。

杨树是林木研究的模式植物 , 关于 *MYB* 类转录因子调控其生长发育的研究已受到高度关注 , 并取得一定进展。Wilkins 等 (2009) 利用生物信息学预测在毛果杨 (*Populus trichocarpa*) 基因组中存在 192 个 *R2R3-MYB* 基因 , 进而通过基因芯片分析 , 发现其中约有 29 个在雄花序中表达水平最高 , 另有 14 个左右在雄花序和雌花序中均有较高水平的表达。分离、鉴定这些与花发育相关的 *MYB* 基因可为揭示杨树花发育分子机制提供理想的切入点。

本文以黑杨派 (Section *Aigeiros*) 的欧美杨

(*Populus × euramericana*) 为研究材料,从其雄花序中分离到 1 个编码 MYB 转录因子的 cDNA 克隆 *PeMYBL1*, 并利用 RT-PCR 对该基因的表达模式进行初步分析。同时,通过与核酸、蛋白数据库的序列比对,比较该基因的同源性。此项研究作为深入理解 MYB 转录因子调控机制提供新的资料。

1 材料与方 法

1.1 植物材料 欧美杨样品取自鲁东大学校园,取样后立即液氮速冻,并于液氮中冷冻保存直至使用。

1.2 总 RNA 提取 总 RNA 的提取参照 RNeasy Plant Mini Ki(QIAGEN)说明书进行。

1.3 目的基因克隆及序列测定 以欧美杨雄花序为材料提取总 RNA。用 BD SMART™ RACE cDNA Amplification Kit (Clontech) 试剂盒进行反转录,合成 cDNA 的第 1 条链。根据保守区的氨基酸序列 RCGKSCR 和 PGRTDNE 设计 1 对兼并引物 PMYBf : 5'-CGTTG(T/C)GG(A/C)AA(A/G)AG(T/C)TG(T/C)CGT-3'和 PMYBr : 5'-TC(A/G)TTA(T/G)C(T/G)GTTCT(T/C)CC(A/T/C)GG-3',以 cDNA 为模板进行 PCR,获得中间片段。PCR 扩增:94 °C 3 min 预变性后,94 °C 1 min,54 °C 1 min,72 °C 90 s,共 35 个循环。目的片段的克隆参照 Promega 公司的 pGME-Teasy Vector Systems 说明书进行,序列测定由上海生工生物工程有限公司完成。

根据获得的中间片段序列,设计特异引物 PMYB1-1 : 5'-CCTGACTTGAAGAGAGGCCT-3',通过 3'RACE PCR 分离基因的 3'端序列。具体操作参照 BD SMART™ RACE cDNA Amplification Kit (Clontech)说明。将获得的序列在杨树的 EST 数据库(*PopulusDB*, *AspenDB*, *PoplarDB*)和 NCBI 数据库中运行 BLASTn 程序,选择比分值最高的 EST 序列,找出序列一致的部分,人工拼接合并 EST,最终拼接得到目的基因的 5'端理论序列。最后,在目的基因的两端设计特异引物 PMYB1-2 : 5'-GAACATAGTGATGGGTAGAC-3'和 PMYB1-3 : 5'-GGTCTTGAACCTTCTTTCGAT-3',分离全长 cDNA,进行测序验证。

1.4 目的基因的序列分析 利用 DNASTar、Primer Premier 5.0 软件对目的基因 cDNA 编码氨基酸序列进行分析;用 NCBI 数据库中的 Blast 软件将目的基因编码的氨基酸序列与 GenBank 中的序列进行比对和相似性搜索;进而利用 DNA man 软件进行多序列同源性比对和聚类分析。

1.5 RT-PCR 分析 采用 RT-PCR 半定量法对目的

基因的表达模式进行分析。分别提取根、茎、叶、不同发育时期的雄花序及雌花序的总 RNA。取 1 μg 的总 RNA,用 20 μL 的 M-MLV 酶(Promega)反应体系反转录合成 cDNA 的第 1 条链。根据目的基因的 3'端非保守区设计特异引物 PMYB1-4 : 5'-AGTTGCCTATGCTCGGAGCT-3'和 PMYB1-3 : 5'-GGTCTTGAACCTTCTTTCGAT-3',进行 PCR 扩增。以肌动蛋白基因 *ACTIN* 为扩增内部参照,扩增引物为 ACTINf : 5'-ACCACATACAACCTCCATCAT-3', ACTINr : 5'-CACCTTGATTTCATGCTGC-3'。PCR 扩增的条件为:94 °C 3 min 预变性后,94 °C 30 s,60 °C 30 s,72 °C 30 s,扩增 30 个循环,而 *ACTIN* 扩增 26 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min。

2 结果与分析

2.1 *PeMYBL1* 基因的分离及序列分析 利用同源克隆方法从欧美杨雄花序中分离到 1 个 MYB 基因 *PeMYBL1*, Genbank 注册号为 FJ209088。该基因 cDNA 全长 1 094 bp,共编码 276 个氨基酸。图 1 示 *PeMYBL1* 基因的核苷酸序列及推导的氨基酸序列。序列分析结果显示,*PeMYBL1* 蛋白分子质量为 30.849 ku,等电点为 5.4。N 端具有 2 个典型的 MYB DNA 结合域:R2(12 - 64 aa)与 R3(65 - 115 aa)。R2 结构域自第 17 aa 开始,每间隔 19 个 aa 有 1 个保守的疏水氨基酸残基色氨酸(W,17aa,37aa,57aa),共计 3 个 W;R3 结构域中第 1 个 W 为亮氨酸(L,70aa)所取代,自 L 起每间隔 18 个 aa 有 1 个 W 残基(89aa,108aa)。C 端存在一段 Ser/Thr 丰富区,这是转录因子激活结构域常见的特征。此外,*PeMYBL1* 序列的另一个重要特征是在 R3 结构域的下流含有 1 个保守的 E1 基序(LXXMGIDPVTHK/RP)(Ju *et al.*, 2006)。以上结果表明,*PeMYBL1* 编码的蛋白是一个典型的 R2R3 MYB 转录因子家族成员。

2.2 *PeMYBL1* 基因的同源性比对及聚类分析 用 BLASTp 程序将 *PeMYBL1* 基因推导的氨基酸序列与数据库中的序列比较,发现与其同源的序列全部是 MYB 基因,并具有较高的序列一致性。例如,*PeMYBL1* 与拟南芥的 AtMYB85(一致性 57%)、玉米的 ZmMYBL1(一致性 57%)、水稻的 OsMYB15(一致性 56%)及矮牵牛(*Petunia × hybrida*) 的 ODORANT1(一致性 55%),且同源区域都集中在 N 端 R2R3 DNA 结合域(图 2),而 C 端同源性极低,说明分离得到的 *PeMYBL1* 是 1 个新的杨树 MYB 基因。

```

1   TTGAACTATAGTGTGGGTAGACAACCTTGTCCGACAAACTCGGTGTGAAGAAGGGCCC
      M G R Q P C R D K L G V K K G P
61  TTGACAGCGAGGAAGACAAGAAGTTGGTCAATTTATTCTCACACATGGCCAATGTTG
      W T A E E D K K L V N F I L T H G Q C C
121 CTGGCGTGTGTACCCAAGCTCGCCGGACTCCGCCGGTGTGGCAAGAGTTGCCGTCTTCG
      W R A V P K L A G L R R C G K S C R L R
181 CTGGACTAATTCCTCCGGCTGACTTGAAGAGAGGCCTTCTAACAGGATGAAGAGCA
      W T N Y L R P D L K R G L L N E D E E Q
241 ACTTGTCAATGACCTCCATGCTTGCTTGCAACAGGTGGTCCAAAATCGCAGCAAGATT
      L V I D L H A C L G N R W S K I A A R L
301 GCCGGAAGAACAGATAATGAGATCAAGAATCACTGGAATACCCACATTAAGAAAAAGCT
      P G R T D N E I K N H W N T H I K K K L
361 AATAAAGATGGGAATTGATCCTGTACGCACGAGCCTCTCAATAAACAAGAGAGTCTCA
      I K M G I D P V T H E P L N K Q E S P Q
421 AGAAAGTATAGTCTGCCACACTAATTATGATCAACCCAATTTAACGCTGATGGTCA
      E S I V P C H T N Y D Q P N F N A D G Q
481 GCAGGTCCTCCCAAAATCTGGCCATGCCTCTCTAGACTACTGATAATCAAGCAC
      Q V L P Q N S G H A S S S T F D N S S T
541 GACCACCCGATGAAAATCTTCAGTGGATGAAIGCAIAGGGCTCAGAACCTAACAG
      I T P T E N S S V D E C I G S S E P N S
601 TACTACTGACAGTATCCACTAATGAGTTGCCATGGTCGGAGGTAITTTCTTGATGATTC
      T T D S D P L M S C L W S E V F L D D S
661 AICTTGGAACTTCAAGCCACTAGAGGAGGAGATTATAGTGAATTCGGGCTACTAAATC
      S W N F Q A T R G G D Y S E F G L S K S
721 TTCATCAGAGGATAGTAACTCTCCATGGGTTTTAGACTCTCAGGATCTGGAGATGAATT
      S S E D T S N S P W V L D S Q D L G D E F
781 CTTTGGACTAGTTGTTTCAGTGACATGGACTTGAGTATCTAGACTAGGGTGGGCAAGCA
      F G L S C F S D M D L S I L D M G G K H
841 TTAAATGCACTACCTCATAGAATGATCGCAAGGTGTATCAAGTAATGAGGAAGGAAGCA
      *
901 CAAGGATTGAAAGTTCAAGCTTCTCGGATAGTAGAATTTCAAGTCTTGAAATTTTTTCT
961 TCATCCCACCATTCAAATCTTGAAAAGAACTAGGGAAGGAAGATATTGGAAGTGCTAT
1021 GTAGCTTAATAATTATTCTCTTTCCTTTATCAAATCGAAGAAGAGTTCAAGACCAAAA
1081 AAAAAAAAAAAAAA

```

图1 PeMYBL1 cDNA 序列及推导的氨基酸序列

Fig. 1 The nucleotide acid sequence of PeMYBL1 cDNA full-length and its deduced amino acid sequence

下划线为 R2R3 MYB 结构域,其中高度保守的氨基酸残基“W”和“L”用粗体表示,方框部分为 E1 基序, Ser/ Thr 丰富区用阴影表示,终止密码子用“*”标注。R2 and R3 MYB domains are underlined and the highly conserved amino acid “W” and “L” are denoted in bold; a conserved E1 motif is indicated with boxes; a Ser/Thr rich area is showed with a shaded rectangle; the stop codon is marked by an asterisk.

PeMYBL1	<u>MGRQPCRDRLGKVKGPWTAEDDKLVNFIILNHGQCWRAPKLAGLRRCGKSCRLRWNYLRPDLKRCGLLNDEDEQLVID</u>	80
AtMYB85	<u>MGRQPCCDRLGKVKGPWTVVEEDDKLINFILNHGQCWRAPKLAGLRRCGKSCRLRWNYLRPDLKRCGLLSHDEEQLVID</u>	80
ODORANT1	<u>MGRQPCCDRLGKVKGPWTAEDDKLISEFILNHGQCWRAPKLAGLRRCGKSCRLRWNYLRPDLKRCGLLSDADEKLVID</u>	80
OsMYB15	<u>MGRQPCSDRLGKVKGPWTAEDDKLMSFILNHGQCWRAPKLAGLRRCGKSCRLRWNYLRPDLKRCGLLTDABEQLVID</u>	80
ZmMYBL1	<u>MGRQPCCDRLGKVKGPWTAEDDKLINFILNHGQCWRAPKLAGLRRCGKSCRLRWNYLRPDLKRCGLLTDABEQLVID</u>	80
AtMYB20	<u>MGRQPCCDKVLGKVKGPWTAEDDKLINFILNHGQCWRAPKLSGLLRRCGKSCRLRWNYLRPDLKRCGLLSDYBEKVID</u>	80
GhMYB9	<u>MGHSSCCNKQKVKRGLWSEEDDKLINYITTYHGCVSSVPKLAGLRRCGKSCRLRWNYLRPDLKRCFSFQDAALITE</u>	80
PeMYBL1	<u>LHACLGNRWSKTAARLPGRTDNEIKNHWNTHIKKKLIKMGIDPVTH.....EPL</u>	129
AtMYB85	<u>LHANLGNRWSKTASRLPGRTDNEIKNHWNTHIKKKLIKMGIDPMTH.....QPL</u>	129
ODORANT1	<u>LHSRLGNRWSKTAAARLPGRTDNEIKNHWNTHIKKKLIKMGIDPVTH.....EPL</u>	129
OsMYB15	<u>LHAKLGNRWSKTAAARLPGRTDNEIKNHWNTHIKKKLIKMGIDPVTH.....EPL</u>	129
ZmMYBL1	<u>LHAKLGNRWSKTAAARLPGRTDNEIKNHWNTHIKKKLIKMGIDPVTH.....EPL</u>	129
AtMYB20	<u>LHSCLGNRWSKTASHLPGRTDNEIKNHWNTHIKKKLIRKMGIDPETHKPLSIVEKEDEEPL</u>	140
GhMYB9	<u>LHSLGNRWAGLAKHLPGRTDNEIKNHWNSSIKKKLISHDHVEPALASFADVHSSNHTTEA</u>	140

图2 PeMYBL1 与其他相关 R2R3 MYB 转录因子的 N 端序列比较

Fig. 2 Alignment of PeMYBL1 with related R2 R3 MYB transcription factor

AtMYB85、AtMYB20: 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (NP_567664, NP_176797); ODORANT1: 矮牵牛 *Petunia × hybrida* (Q50EX6); ZmMYBL1: 玉米 *Zea mays* (NP_001106007); OsMYB15: 水稻 *Oryza sativa* (CAC85052); GhMYB9: 陆地棉 *Gossypium hirsutum* (AAS92347)。黑色阴影表示同源序列;下划线部分为 R2R3 MYB 结构域。高度保守的氨基酸残基用“*”标注;“.”表示空位。Dark shading with white letters reflect 100% sequence conservation. R2 and R3 MYB domains are bold underlined. “*” is used to indicate the identical amino acids. Gaps introduced to improve alignment are indicated by dashes.

应用 DNAMAN 软件包中的 MASED 软件,对来自拟南芥、矮牵牛、水稻、玉米、金鱼草 (*Antirrhinum majus*)、西红柿 (*Lycopersicon esculentum*)、杨树等植物的 24 个 MYB 转录因子成员,采用 Neighbor-

Joining 的方法进行进化树分析(图 3),发现 PeMYBL1 与拟南芥的 AtMYB85、玉米的 ZmMYBL1、水稻的 OsMYB15 及矮牵牛的 ODORANT1 聚为同一分支,表明它们可能具有相同的起源。

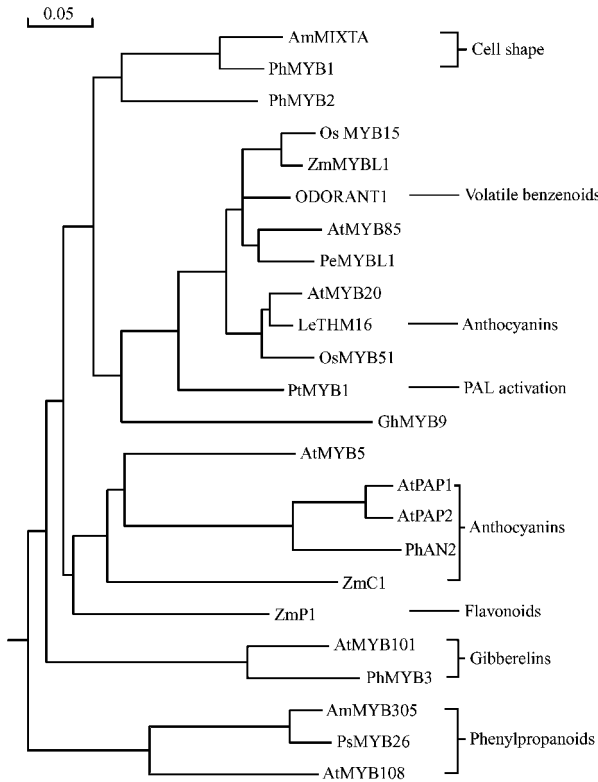


图 3 *PeMYBL1* 与其他物种 MYB 蛋白的聚类分析

Fig. 3 Phylogenetic tree of *PeMYBL1* and MYB proteins from various plant species

AmMIXTA, AmMYB305 : 金鱼草 *Antirrhinum majus* (CAA55725, P81391) ; PhMYB1, PhMYB2, PhMYB3, PhAN2, ODORANT1 : 矮牵牛 *Petunia × hybrida* (Z13996, Z13997, Z13998, EF423868, Q50EX6) ; OsMYB15, OsMYB51 : 水稻 *Oryza sativa* (CAC85052, AJ311051) ; ZmMYBL1, ZmC1, ZmP1 : 玉米 *Zea mays* (NP_001106007, 1613412E, AAU09456) ; AtMYB85, AtMYB20, AtMYB5, AtPAP1, AtPAP2, AtMYB101, AtMYB108 : 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (NP_567664, NP_176797, NM_112200, AF062908, AF062915, NP_001077993, NM_111525) ; LeTHM16 : 西红柿 *Lycopersicon esculentum* (X99210) ; PtMYB1 : 火炬松 *Pinus taeda* (AY356372) ; PsMYB26 : 豌豆 *Pisum sativum* (CAA71992) ; GhMYB9 : 陆地棉 *Gossypium hirsutum* (AAS92347) ; *PeMYBL1* : 欧美杨 *Populus × euramericana* (FJ209088)。部分 MYB 蛋白的功能作了标注。Known functions of several MYBs are indicated.

2.3 *PeMYBL1* 在不同组织中的表达分析 利用 RT-PCR 技术对 *PeMYBL1* 在不同组织中的表达模式进行分析。结果显示, *PeMYBL1* 在根、茎、叶、雄花序和雌花序中均表达,但在雄花序中表达水平最高。为进一步了解 *PeMYBL1* 在雄花序的不同发育时期的表达情况,分别提取幼嫩和成熟雄花序的总 RNA 进行分析。如图 4 所示,随着雄花序发育成熟, *PeMYBL1* 的表达量逐渐提高。

3 讨论

多年生木本植物是大多数森林生态系统中的主

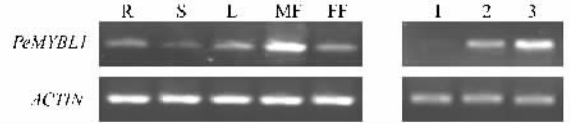


图 4 应用 RT-PCR 技术进行 *PeMYBL1* 的表达水平分析

Fig. 4 Expression analysis of *PeMYBL1*

in various tissues by RT-PCR

R : 根 Root ; S : 茎 Stem ; L : 叶 Leaf ; MF : 雄花序 Male inflorescence ; FF : 雌花序 Female inflorescence. 1, 2, 3 分别为在 2007 年 7 月、2008 年 2 月和 3 月取的不同发育时期雄花序 Male inflorescence in June, 2007, February, 2008 and March, 2008 respectively.

要生命形式,具有与草本植物不同的解剖学、生理学及遗传学特性,因此以木本植物为材料开展对 MYB 转录因子家族新成员的分离、鉴定对深入理解该类转录因子的调控机制具有独特的价值(Bradshaw *et al.*, 2000 ; Taylor, 2002)。杨树由于其基因组较小,且具有完善的遗传转化体系,已成为研究林木遗传、发育及基因工程改良的模式植物。同时,杨树基因组计划及一系列 EST 计划的完成也将为研究其生长和发育规律提供理想平台(Brunner *et al.*, 2004 ; Sterky *et al.*, 2004 ; 张勇等, 2006)。本研究从欧美杨分离到 1 个 R2R3 MYB 基因 *PeMYBL1*,该基因编码的蛋白具有典型的 MYB 转录因子的序列特征。目前,正在进一步通过检测 *PeMYBL1::GFP* 融合基因的表达情况及一系列的缺失分析确定 *PeMYBL1* 的亚细胞定位情况和蛋白不同区段的转录激活活性。

植物 MYB 转录因子较明确的功能之一是参与植物苯丙烷类次生代谢途径的调节(Yang *et al.*, 2001 ; Deluc *et al.*, 2008 ; Laitinen *et al.*, 2008 ; Nakatsuka *et al.*, 2008)。Paz-Ares 等(1987)从玉米中发现第 1 个植物 MYB 基因 *C1*。研究表明, *C1* 与顺式作用元件相结合,调控花青素生物合成途径中相关基因的表达,作用于种子糊粉层色素形成过程。而花青素便是通过一条苯丙烷代谢通路产生的。随后,人们发现许多 R2R3 MYB 家族成员也在苯丙烷代谢途径的调控中发挥重要作用。例如:矮牵牛的 *PhMYB3*, 金鱼草的 *AmMYB305*, 豌豆的 *PsMYB26* 以及玉米的 *ZmMYB1* 等基因可以调节花器官中花青素和类黄酮合成的水平(Franken *et al.*, 1994 ; Solano *et al.*, 1995 ; Moyano *et al.*, 1996 ; Uimari *et al.*, 1997) ,而玉米的 *ZmMYBPL* 则在营养器官中行使类似的功能(Cone *et al.*, 1993)。与上述基因的表达产物不同, Verdonk 等(2005)报道的矮牵牛中 MYB 转录因子 ODORANT1 则通过调节莽草酸途径

调控挥发性芳香族化合物的生物合成。系统进化分析将 *PeMYBL1* 同 *ODORANT1* 聚在同一分支中, 这为推测 *PeMYBL1* 的功能提供一定的线索。RT-PCR 分析显示, *PeMYBL1* 雄花序中表达水平远远高于其他被检组织中的表达量, 且随着雄花序发育成熟, *PeMYBL1* 的表达量逐渐提高, 暗示该基因与雄花发育密切相关。尽管序列同源性分析和基因表达模式常常作为推测基因功能的重要标准, 但是功能分析才能最终说明它在植物发育过程中的作用, 因此, 今后将构建 *PeMYBL1* 表达载体, 通过同源和异源转化对该基因的功能进行鉴定。对 *PeMYBL1* 的分离鉴定及进一步的功能研究将为更全面、深入地了解该基因家族的功能提供新资料。

参 考 文 献

- 陈 俊, 王宗阳. 2002. 植物 MYB 类转录因子研究进展. 植物生理与分子生物学学报, 28(2) : 81 - 88.
- 张 勇, 张守攻, 齐力旺, 等. 2006. 杨树——林木基因组学研究的模式物种. 植物学通报, 23(3) : 286 - 293.
- Bradshaw H D, Ceulemans R, Davis J, et al. 2000. Emerging model systems in plant biology : Poplar (*Populus*) as a model forest tree. J Plant Growth Regul, 19 : 306 - 313.
- Brunner A M, Busov V B, Strauss S H. 2004. Poplar genome sequence : Functional genomics in an ecologically dominant plant species. Trends Plant Sci, 9 : 49 - 56.
- Cone K C, Cocciolone S M, Burr F A, et al. 1993. Maize anthocyanin regulatory gene *pl* is a duplicate of *c1* that functions in the plant. Plant Cell, 5 : 1795 - 1805.
- Deluc L, Bogs J, Walker A R, et al. 2008. The transcription factor VvMYB5b contributes to the regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in developing grape berries. Plant Physiol, 147(4) : 2041 - 2053.
- Franken P, Schrell S, Peterson P A, et al. 1994. Molecular analysis of protein domain function encoded by the *myb*-homologous maize genes *C1*, *Zm1* and *Zm38*. Plant J, 6 : 21 - 30.
- Jin H, Martin C. 1999. Multifunctionality and diversity within the plant *MYB*-gene family. Plant Mol Biol, 41 : 577 - 585.
- Ju Chuanli, Zhang Fu, Gao Yufeng, et al. 2006. Cloning, chromosome mapping and expression analysis of an *R2R3-MYB* gene under-expressed in maize hybrid. Mol Biol Rep, 33 : 103 - 110.
- Karpinska B, Karlsson M, Srivastava M, et al. 2004. MYB transcription factors are differentially expressed and regulated during secondary vascular tissue development in hybrid aspen. Plant Molecular Biology, 56 : 255 - 270.
- Kranz H D, Denekamp M, Greco R, et al. 1998. Towards functional characterization of the members of the *R2R3-MYB* gene family from *Arabidopsis thaliana*. Plant J, 16 : 263 - 276.
- Laitinen R A, Ainasoja M, Broholm S K, et al. 2008. Identification of target genes for a MYB-type anthocyanin regulator in *Gerbera hybrida*. J Exp Bot, 59(13) : 3691 - 3703.
- Moyano E, Martinez G J, Martin C. 1996. Apparent redundancy in *myb* gene function provides gearing for the control of flavonoid biosynthesis in *Antirrhinum* flowers. Plant Cell, 8 : 1519 - 1532.
- Nakatsuka T, Haruta K S, Pitaksutheepong C, et al. 2008. Identification and characterization of R2R3-MYB and bHLH transcription factors regulating anthocyanin biosynthesis in gentian flowers. Plant Cell Physiol, 49(12) : 1818 - 1829.
- Patzlaff A, McInnis S, Courtenary A, et al. 2003. Characterisation of a pine MYB that regulates lignification. Plant J, 36 : 743 - 754.
- Paz-Ares J, Ghosal D, Wienand U, et al. 1987. The regulatory *c1* locus of *Zea mays* encodes a protein with homology to *myb* proto-oncogene products and with structural similarities to transcriptional activators. EMBO J, 6 : 3553 - 3538.
- Rabinowicz P D, Braun E L, Wolfe A D, et al. 1999. Maize R2R3 Myb genes : Sequence analysis reveals amplification in the higher plants. Genetics, 153 : 427 - 444.
- Schwechheimer C, Zourelidou M, Bevan M W. 1998. Plant transcription factors studies. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 49 : 127 - 150.
- Solano R, Nieto C, Avila J, et al. 1995. Dual DNA binding specificity of a petal epidermis-specific MYB transcription factor (MYB-Ph3) from *Petunia hybrida*. EMBO J, 14 : 1773 - 1784.
- Sterky F, Bhalerao R R, Unneberg P, et al. 2004. A *Populus* EST resource for plant functional genomics. Proc Natl Acad Sci USA, 101 : 13951 - 13956.
- Stracke R, Werber M, Weisshaar B. 2001. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana*. Curr Opin Plant Biol, 4 : 447 - 456.
- Taylor G. 2002. *Populus* : *Arabidopsis* for forestry. Do we need a model tree? Annu Bot, 90 : 677 - 687.
- Uimari A, Strommer J. 1997. Myb26 : a MYB-like protein of pea flowers with affinity for promoters of phenylpropanoid genes. Plant J, 12 : 1273 - 1284.
- Verdonk J C, Haring M A, van Tunen A J, et al. 2005. ODORANT1 regulates fragrance biosynthesis in petunia flowers. Plant Cell, 17 : 1612 - 1624.
- Wilkins O, Nahal H, Foong J, et al. 2009. Expansion and diversification of the *Populus* R2R3-MYB family of transcription factors. Plant Physiol, 149 : 981 - 993.
- Yang S, Sweetman J P, Amirsadeghi S, et al. 2001. Novel anther-specific *myb* genes from tobacco as putative regulators of phenylalanine ammonia-lyase expression. Plant Physiol, 126 : 1738 - 1753.

(责任编辑 徐 红)