

## 铁皮石斛 F-box 蛋白基因 DoSKP2A 的克隆与表达分析

李欢, 黑小斌, 李依民, 杨琳, 刘清, 颜永刚, 胡本祥, 张岗\*

陕西中医药大学药学院/陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, 陕西 西安 712046

**摘要:** 目的 克隆珍稀濒危兰科药用铁皮石斛 F-box 蛋白基因即 S 期激酶相关蛋白 (S phase kinase-associated protein) 基因 DoSKP2A, 并进行生物信息学和表达特征分析。方法 采用 RACE 技术获基因全长; 利用生物信息软件预测基因编码蛋白的理化性质、结构域和亚细胞定位等分子特性; 用 DNASTAR 7.0 和 MEGA 7.0 分别进行氨基酸多序列比对和进化树构建; 借助定量 PCR 检测基因表达模式。结果 克隆到 DoSKP2A (GenBank 注册号 KU160472), cDNA 全长 1 507 bp, 开放阅读框 (ORF) 长 1 101 bp, 编码蛋白含 366 个氨基酸, 相对分子质量 39 590, 等电点 7.9。DoSKP2A 蛋白不含跨膜域和信号肽, 包含 F-box 核心结构域 (26~88)、亮氨酸重复序列 LRR (202~226) 和多个保守基序; DoSKP2A 与植物 SKP2As 蛋白一致性为 64.6%~72.4%, 所在分支隶属于 SKP2As 分子进化的单子叶植物分支, 与小兰屿蝴蝶兰 SKP2A 亲缘关系近; DoSKP2A 基因转录本在石斛 3 种器官中为组成型表达, 根中相对表达量较高, 为叶中的 6.16 倍, 茎中次之, 叶中表达量很低。结论 获得一个全新的铁皮石斛 F-box 蛋白基因 DoSKP2A 全长、生物信息及其表达特征, 为研究其在铁皮石斛生长发育、信号传导和抗逆境胁迫的分子机制提供基础。

**关键词:** 铁皮石斛; SKP2A 蛋白; 基因克隆; 序列分析; 实时荧光定量 PCR

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)08-1960-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.08.028

## Cloning and expression analysis of an F-box protein gene DoSKP2A in *Dendrobium officinale*

LI Huan, HEI Xiao-bin, LI Yi-min, YANG Lin, LIU Qing, YAN Yong-gang, HU Ben-xiang, ZHANG Gang  
Shaanxi Qinling Application Development and Engineering Center of Chinese Herbal Medicine, College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

**Abstract: Objective** To clone an F-box protein namely S phase kinase-associated protein gene DoSKP2A with full length cDNA, in a rare endangered medicinal orchid species *Dendrobium officinale*, followed by bioinformatics analysis and expression pattern analysis. **Methods** RACE technology were used for gene identification. Characteristics of physiochemical properties, conserved domains and subcellular localization of the protein were determined using a series of bioinformatics tools. The analyses of multiple alignment and phylogenetic tree were performed using DNASTAR 7.0 and MEGA 7.0, respectively. Real time quantitative PCR was used for gene expression analysis. **Results** DoSKP2A gene was cloned (GenBank accession KU160472). The full length cDNA of DoSKP2A was 1 507 bp in length, and ORF was 1 101 bp, encoding a 366-aa protein with a molecular weight of 39 590 and an isoelectric point of 7.9. The deduced DoSKP2A protein, without transmembrane or signal peptide residues, contained an F-box core domain (26—88), a leucine-rich repeat (202—226), and multiple conserved motifs. DoSKP2A had high identities (64.6%—72.4%) with SKP2As proteins from various plants. DoSKP2A belonged to the monocotyledons subgroup of the SKP2As evolutionary tree. DoSKP2A gene was differentially expressed in the three included organs. The transcripts were more abundant in the roots, with 6.16 fold, then the stems and the lowest in the leaves. **Conclusion** The novel full-length F-box protein gene DoSKP2A was obtained, along with bioinformatics and expression characteristics, which provided molecular basis for the growth and development, signal transduction, and stress resistance of *D. officinale*.

**Key words:** *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; SKP2A; gene cloning; sequence analysis; qRT-PCR

收稿日期: 2018-11-12

基金项目: 陕西中医药大学“秦药”品质评价及资源开发创新团队项目; 公益性行业(中医药)科研专项经费项目(201507002-1-08); 陕西中医药大学新进博士科研启动经费(104080001); 陕西省高校青年杰出人才支持计划项目; 咸阳市中青年科技领军人才项目

作者简介: 李欢, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源与分子生药学。E-mail: 1174571544@qq.com

\*通信作者 张岗, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药资源与分子生药学。Tel/Fax: (029)38185165 E-mail: jay\_gumling2003@aliyun.com

泛素-蛋白酶体途径介导的蛋白水解是真核生物胞内蛋白质选择性降解的一条重要途径,对维持细胞正常生理功能意义重大<sup>[1]</sup>。F-box 蛋白是一类含有 F-box 结构域的蛋白质家族,作为 SCF (Skp/Cullin/F-box) 复合体中泛素连接酶 E3 的关键组分,参与真核生物细胞周期、转录调控和信号转导等过程<sup>[2]</sup>。大量研究揭示 F-box 蛋白在植物生长发育和抗逆生理方面发挥重要作用,如拟南芥 ORE9 通过泛素化降解途径降解延迟叶片衰老<sup>[3]</sup>, LeCtR1 介导乙烯信号传导<sup>[4]</sup>,水稻 F-Box 基因家族参与花序和种子发育且响应光或非生物胁迫<sup>[5]</sup>。根据 C 末端序列差异,F-box 蛋白家族可分为 FBXL、FBXW 和 FBXO 三个亚家族,C 末端分别为 LRR、WD 或其他结构域<sup>[2]</sup>。植物中报道的 S 期激酶相关蛋白(S phase kinase-associated protein)SKP1、SKP2 即属于 FBXL 蛋白家族 F-box 蛋白。SKP2A、SKP2B 因与人的细胞分裂关键调节因子 SKP2 同源较高得名,靶向作用有特异性<sup>[6]</sup>。SKP2B 受生长素调控,抑制分生细胞分裂负调控细胞周期和侧根发生<sup>[7]</sup>,SKP2A 结合生长素后正调控细胞分裂、增殖和侧根发生<sup>[8-9]</sup>。

铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 是兰科石斛属最为珍稀的种,以新鲜或干燥茎入药,具有益胃生津、滋阴清热等功效。石斛属植物活性成分主要包含多糖、生物碱、芪类及酚类等,具有较好的药理活性<sup>[10]</sup>。铁皮石斛系附生兰,常生活在树干和岩石峭壁的潮湿环境,生长条件特殊,植株表现出较好的逆境适应性。前期,为揭示铁皮石斛种子-真菌共生萌发机制,课题组利用 SSH 技术富集真菌侵染石斛种子共生萌发的差异表达基因<sup>[11]</sup>,一条 EST Contig141 长 322 bp, BLASTx 分析显示其与小兰屿蝴蝶兰 *Phalaenopsis equestris* (Schauer) Rchb. f. F-box 蛋白基因 SKP2A (GenBank 注册号 XP\_020580378) 一致性为 38%。鉴于 F-box 蛋白在植物生长、信号传导和抗逆胁迫反应的重要作用,本研究利用 RACE 从铁皮石斛中分离到一个 F-box 基因全长 DoSKP2A,并进行生物信息及表达模式分析,为进一步研究其分子功能奠定基础。

## 1 材料

石斛植物材料采自云南西双版纳(2017 年 9 月),由陕西中医药大学王继涛高级实验师鉴定为兰科石斛属铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo。取铁皮石斛根、茎、叶组织样品,液氮速

冻后置-80 °C 保存备用。

## 2 方法

### 2.1 RNA 提取与 cDNA 合成

按照 EASYspin 植物 RNA 快速提取试剂盒(Aidlab 公司,中国)操作说明制备各样品总 RNA, NanoDrop<sup>TM</sup> 2000 分光光度计(Thermo Fisher 公司,美国)分析 RNA 质量、纯度,琼脂糖凝胶电泳检测完整性。按照 M-MLV Reverse Transcriptase kit (Promega 公司,美国)操作说明,逆转录合成 cDNA 第一链,-20 °C 保存备用。

### 2.2 RACE 反应

序列分析表明原 EST 编码 SKP2A 蛋白 N 端 107 个氨基酸,因此只需进行 3'-RACE。设计基因特异引物 RACE-R 5'-CTCGCATACACGCTGCCCTTTCTC-3'。按照 SMARTer<sup>TM</sup> RACE cDNA Amplification Kit (Clontech 公司,日本)说明书,与 UPM 引物组合进行 3'-RACE。反应体系为 25 μL,包括 10× Advantage<sup>®</sup> 2 PCR buffer 2.5 μL, dNTPs (10 mmol/L) 0.5 μL, RACE-R (10 μmol/L) 0.5 μL, 10×UPM 0.5 μL, 3'-RACE ready cDNA 模板 1.0 μL, 50× Advantage<sup>®</sup> 2 Polymerase Mix (5 U/L) 0.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 19.5 μL。PCR 程序为 95 °C、3 min, 95 °C、30 s, 68 °C、2 min, 32 个循环; 72 °C、7 min, 4 °C 保温。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, TianGen 胶回收试剂盒(TianGen 公司,中国)纯化目的条带,连接至 pMD18-T vector (Takara 公司,中国),转化大肠杆菌 JM109 感受态细胞,随机挑选 3 个克隆并送上海生物工程股份有限公司测序。所获 cDNA 序列与原 EST 拼接,获得 DoSKP2A 基因全长。

### 2.3 序列分析

使用一系列生物信息学的网络在线工具进行 DoSKP2A 基因核酸及编码蛋白的序列分析。利用 NCBI 中的 BLASTx 和 ORF Finder 分析 cDNA 序列;用 ExPASy Proteomics Server 提供的分析软件 InterProScan 和 PROSITE SCAN 分析 DoSKP2A 蛋白结构域和基元;ProtParam 和 SOPMA 分析蛋白质理化性质和二级结构;采用 SWISS-MODEL 进行蛋白质三维建模分析;SignalP 4.0 和 TMHMM 预测蛋白质信号肽和跨膜区域;蛋白质亚细胞定位分析采用 PSORT。采用 DNASTAR 7.0 进行氨基酸序列比对分析;借助 MEGA 7.0 构建系统进化树。

### 2.4 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)

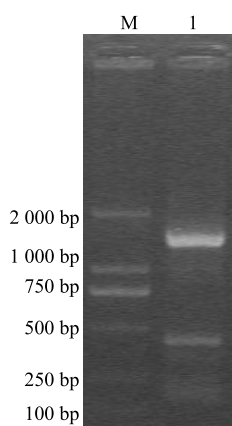
以铁皮石斛 EF1α 作为内参<sup>[12]</sup>, qRT-PCR 检测

DoSKP2A 基因在石斛根、茎、叶组织中的表达模式。qRT-PCR 引物 qRT-PCR-F 5'-CTGACAGGCC-CATTCTCTCATTATTAG-3' 和 qRT-PCR-R 5'-CC-ACCCAGGAACACTTTA-3' 的扩增产物长 312 bp。用 ABI PRISM 7500 qRT-PCR 仪 (Applied Biosystems 公司, 美国) 进行 qRT-PCR 分析。PCR 反应体系为 25  $\mu$ L, 包括 2 $\times$ SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> Master Mix (Takara, 中国) 12.5  $\mu$ L, 正反向引物 (10  $\mu$ mol/L) 各 0.5  $\mu$ L, ROX 0.5  $\mu$ L, cDNA 2  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 9  $\mu$ L。每个反应重复 3 次, 包括不加模板的对照, 实验重复 3 次。PCR 程序: 95  $^{\circ}$ C、30 s, 95  $^{\circ}$ C、10 s, 60  $^{\circ}$ C、45 s, 40 个循环, 反应结束后绘制熔解曲线, 用 ABI PRISM 7500 SDS 软件 (Applied Biosystems, 美国) 生成的循环阈值 (cycle threshold, C<sub>t</sub>) 2<sup>- $\Delta\Delta$ C<sub>t</sub></sup> 方法<sup>[13]</sup> 计算基因的相对表达量, 利用 SPSS (Version 22.0) 进行显著性分析。

### 3 结果与分析

#### 3.1 DoSKP2A 基因克隆

3'-RACE 反应产生目标单一条带 (图 1), 扩增产物经克隆、双向测序获得 1 416 bp 的 cDNA 序列, ORF Finder 发现该序列含有完整 ORF 所以不需进行 ORF 的 RT-PCR 扩增验证, 将其与原始序列拼接获得 1 507 bp 的 cDNA 序列; BLASTx 分析表明其与 GenBank 中已注册的多种植物 SKP2A 基因高度相似 (>64%), 该 cDNA 序列包含的 ORF 长 1 101 bp, 5'-UTR 176 bp, 3'-UTR 231 bp, 具有 2 个真核生物 mRNA 加尾信号 AATAA 以及 polyA 尾巴, 起



I-RACE PCR 扩增产物 M-DNA 相对分子质量标准  
I-RACE PCR amplicon M-DNA marker

图 1 DoSKP2A 基因的 3'-RACE 产物凝胶电泳

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of 3'-RACE of full length DoSKP2A cDNA

始密码子附近碱基序列 GCGATGG 符合 KOZAK 规则, 即 A/GNNATGG。说明已经获得该基因 cDNA 全长, 暂定名为 DoSKP2A, 提交 GenBank 获得注册号 KU160472。

#### 3.2 DoSKP2A 蛋白质的理化特性分析

PROTPARAM 预测 DoSKP2A 基因编码蛋白质的分子式为 C<sub>1726</sub>H<sub>2787</sub>N<sub>487</sub>O<sub>507</sub>S<sub>35</sub>, 包含 366 个氨基酸残基, 等电点 7.91, 相对分子质量 39 590; 推定的 DoSKP2A 蛋白正电残基 (Arg+Lys) 为 33, 负电残基 (Asp+Glu) 为 30, 不稳定系数为 38.46, 脂肪系数为 102.90, 亲水性系数为 0.225。SOPAM 预测 DoSKP2A 蛋白二级结构主要由  $\alpha$  螺旋 (alpha helix, 41.8%)、随机卷曲 (random coil, 27.87%)、少量的延伸链 (extended strand, 18.58%) 和  $\beta$  转角 (beta turn, 11.75%) 组成。

#### 3.3 DoSKP2A 蛋白结构域、定位分析

InterProscan 分析结果显示, DoSKP2A 蛋白包含 F-box 超家族结构域 (IPR036047, 26~88) 和富含亮氨酸重复区域 LRR (IPR001611, 202~226)。PROSITE SCAN 分析表明, DoSKP2A 蛋白含有数目不等的基元, N-糖基化位点 (157~160、268~271、306~309)、蛋白激酶 C 磷酸化位点 (104~106、192~194、218~220、270~272)、酪蛋白激酶 II (295~298、296~299、330~333)、酪氨酸激酶磷酸化位点 (137~144) 和 N-豆蔻酰化位点 (30~35、61~66、186~191、262~267) 等。TMHMM 分析蛋白不含跨膜结构, SignalP 4.0 分析 DoSKP2A 不含信号肽。PSORT 预测 DoSKP2A 蛋白定位在细胞质的可能性最高为 26.1%, 定位于分泌囊泡几率为 21.7%, 定位于线粒体和细胞核可能性为 13%, 定位于高尔基体和质膜几率为 8.7%, 液泡和内质网的几率最低, 仅为 4.3%。

#### 3.4 DoSKP2A 基因编码蛋白三维建模

在 SWISS-MODEL 依据保守结构域作图工具中, 以拟南芥的 ATD14-D3-ASK1 复合晶体结构 (PDB No.: 5hgz.1) B 链为模板<sup>[14]</sup>, 对 DoSKP2A 蛋白进行三维结构建模 (图 2), 结果显示 DoSKP2A 与该蛋白有 23.6% 的序列相似性, 空间结构类似。

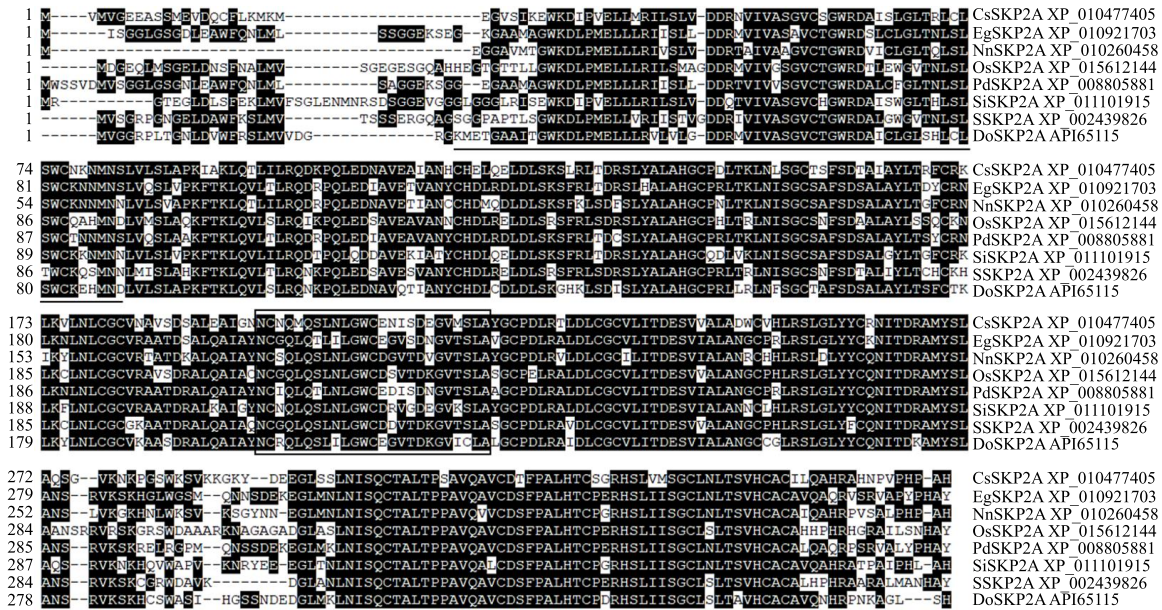
#### 3.5 DoSKP2A 蛋白的多序列比对分析

运用 DNASTAR 7.0 中的 MegAlign 程序对 DoSKP2A 蛋白和已知植物 SKP2As 基因编码蛋白进行多序列比对分析。图 3 结果显示, 植物 SKP2As 蛋白具有高度的保守性。DoSKP2A 与莲 *Nelumbo*



图 2 基于 SWISS-MODEL 的 DoSKP2A 蛋白三维建模  
Fig. 2 Three-dimensional structure of deduced DoSKP2A protein using SWISS-MODEL

*nucifera* L. 和油棕 *Elaeis guineensis* Jacq. 的 SKP2As 蛋白一致性最高为 74.8%和 72.7%，与海枣 *Phoenix dactylifera* L.、高粱 *Sorghum bicolor* (L.) Moench、芝麻 *Sesamum indicum* Linn.、水稻 *Oryza sativa* L.、亚麻芥 *Camelina sativa* (Linn.) Crantz 等植物的 SKP2As 相似性分别为 72.4%、68.9%、67.8%、66.7%、64.6%。此外，比对分析还发现，DoSKP2A 与其他植物 SKP2As 蛋白类似，N 末端包含典型的保守 F-box 结构域和 C 末端保守的亮氨酸重复序列 LRR，属于 F-box 蛋白家族的 FBXL 亚家族。



下划线为 F-box 结构域；方框为亮氨酸重复序列 LRR

The underlined show the F-box domain; Frame presents leucine-rich repeat LRR

图 3 DoSKP2A 与其他植物 SKP2As 蛋白多序列比对

Fig. 3 Multiple sequence alignment of DoSKP2A and SKP2As proteins from other plants

### 3.6 DoSKP2A 蛋白进化关系分析

利用 MEGA 7.0 软件，采用邻接法 (Neighbour-joining, NJ) 构建 DoSKP2A 蛋白与其他 17 种已注册植物的 SKP2As 蛋白的进化树。图 4 结果表明，18 个蛋白聚成植物 F-box 蛋白家族分子进化树 2 大分支，DoSKP2A 隶属于单子叶植物分支，与小兰屿蝴蝶兰 *PeSKP2A* (XP\_020580378)、海枣 *EgSKP2A* (XP\_008805881) 和油棕 *EgSKP2A* (XP\_010921703) 等 SKP2As 蛋白聚在同一分支，亲缘关系较近。

### 3.7 基因表达模式的分析

分别提取石斛根、茎、叶等样品总 RNA，利用 qRT-PCR 技术检测 DoSKP2A 基因的组织表达模

式。图 5 结果表明，DoSKP2A 在 3 种器官中组成型表达，但相对表达量存在差异。以叶为校正样本，该基因转录本在石斛根中的表达量较高，茎中较少，分别为叶的 3.09 倍和 6.16 倍 ( $P < 0.05$ )。

### 4 讨论

植物 SKP2A 蛋白可以靶向作用于细胞分裂转录因子，参与植物体内的泛素蛋白酶体途径的蛋白水解，从而调节植物细胞分裂、增殖及其生长发育等过程<sup>[6,8-9,14-15]</sup>。本研究利用 RACE 克隆获得铁皮石斛 DoSKP2A 基因全长，BLASTx 分析显示其与 GenBank 中已注册植物 SKP2As 基因高度同源，编码蛋白具备 F-box 结构域，如 ORE9<sup>[3]</sup>、SKP2A<sup>[8-9]</sup>、LeCTR1<sup>[4]</sup>等。DoSKP2A 预测无跨膜域或信号肽，



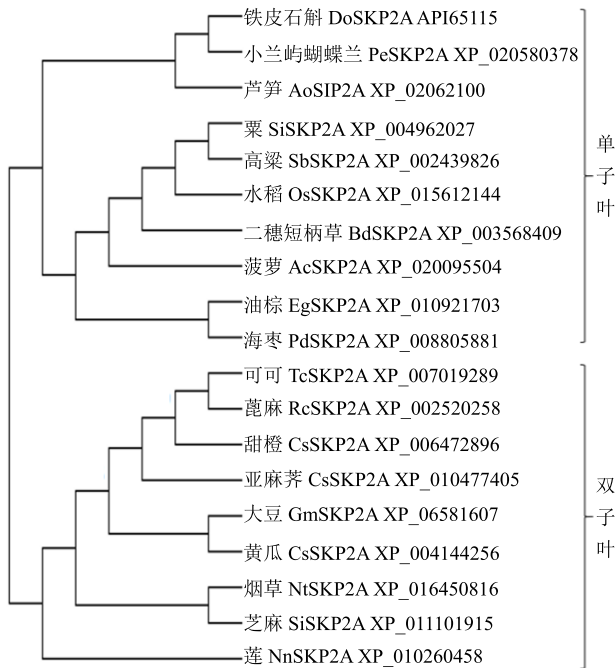


图 4 DoSKP2A 与其他植物 SKP2A 蛋白的进化树  
Fig. 4 Phylogenetic tree of DoSKP2A with SKP2A proteins from other plants

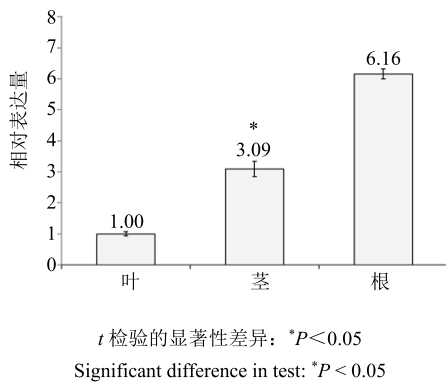


图 5 利用 qRT-PCR 分析 DoSKP2A 基因的组织表达模式  
Fig. 5 Tissue-specific expression pattern of DoSKP2A gene using qRT-PCR analysis

说明该蛋白不属于膜蛋白或分泌蛋白，而亚细胞定位预测其主要分布在细胞质和分泌囊泡中，这符合 F-box 家族通过泛素化特异性结合底物作用的定位属性。DoSKP2A 与拟南芥 ATD14-D3-ASK1 复合晶体的 B 链<sup>[13]</sup>结构类似，隶属于 SKP2As 分子进化树单子叶分支，与小兰屿蝴蝶兰亲缘关系较近，符合进化关系。这些结果说明获得铁皮石斛 F-box 蛋白基因 DoSKP2A。

在蛋白质泛素化过程中，SKP 型蛋白 N 末端 F-box 保守结构域可与 CUL1、RBX1 和 ASK1 结合

形成具有酶活性的 E3 连接酶，促进底物与 E2 泛素耦联酶之间的相互作用，调控泛素化进程<sup>[14-15]</sup>；F-box 结构域还能与 C 端 LRR 协同作用，共同负责底物的特异性识别及与底物的结合<sup>[1,5]</sup>。DoSKP2A 的 N 末端存在典型的 F-box 保守结构域，C 端含有 LRR 序列，确保其参与泛素化。SKP2A 蛋白不仅参与了泛素途径，而且其本身可以通过泛素途径被降解，并能被 N-肉豆蔻酸修饰<sup>[7]</sup>，从而参与信号转导和细胞凋亡等多种生物过程。DoSKP2A 含有 4 个 N-肉豆蔻位点为蛋白修饰提供作用位点。这些证据充分表明 DoSKP2A 为泛素-蛋白酶途径的功能蛋白，其生化功能有待进一步研究。

F-box 蛋白家族基因的分子表达特性与其所调控的植物生理过程关系密切。棉花 GhFB1 和 GhFB2 编码的 F-box 蛋白在棉花发育初期的胚珠和纤维中有较高的表达量，而在开花后的纤维中较少量表达，说明这 2 个基因主要与纤维的生长发育有关<sup>[16]</sup>。拟南芥 At5g22700 在各个组织中均有表达，但在花和根中的表达量最高<sup>[17]</sup>。F-box 基因不仅有组织表达特性，还受到干旱、低温、高温等非生物胁迫或病原物侵染诱导<sup>[4-5]</sup>。GsSKP21 介导 ABA 信号通路提高大豆抗盐碱胁迫<sup>[18]</sup>。最新研究揭示拟南芥 SKP1 类蛋白 (ASK13) 参与胁迫条件下种子萌发和幼苗生长发育<sup>[19]</sup>。本研究利用 qRT-PCR 分析显示，铁皮石斛 F-box 基因 DoSKP2A 在植物器官中的表达存在显著差异，依次为根>茎>叶，根和茎中高表达特征说明该基因在这 2 个器官中特异表达，参与石斛生长发育调控。鉴于 SKP2A 通过生长素信号通路介导泛素-蛋白酶体途径，进而精细调控植物细胞分裂乃至器官形态建成<sup>[6,8-9]</sup>。后续有必要利用 RNAi 或过量表达等方法研究 DoSKP2A 基因表达特征及其分子作用，不仅有助于理解石斛特殊生境下的分子生理机制，而且为通过遗传工程手段快速生产高品质铁皮石斛药用资源提供帮助。

参考文献

[1] Bi C L, Liu X, Zhang X Y. The function of F-box protein in plant growth and development [J]. *Hereditas*, 2006, 28(10): 1337-1342.  
[2] Jin J, Cardozo T, Lovering R C, et al. Systematic analysis and nomenclature of mammalian F-box proteins [J]. *Genes Dev*, 2004, 18(21): 2573-2580.  
[3] Woo H R, Chung K M, Park J H, et al. ORE9, an F-box protein that regulates leaf senescence in *Arabidopsis* [J].

- Plant Cell*, 2001, 13(8): 1779-1790.
- [4] Adams P L C, Jones B, Latché A, *et al.* *LeCTR1*, a tomato CTR1-like gene, demonstrates ethylene signaling ability in *Arabidopsis* and novel expression patterns in tomato [J]. *Plant Physiol*, 2002, 130(3): 1132-1142.
- [5] Jain M, Nijhawan A, Arora R, *et al.* F-box proteins in rice genome-wide analysis, classification, temporal and spatial gene expression during panicle and seed development, and regulation by light and abiotic stress [J]. *Plant Physiol*, 2007, 143(4): 1467-1483.
- [6] Pozo J C D, Diaztrivino S, Cisneros N, *et al.* The E2FC-DPB transcription factor controls cell division, endoreplication and lateral root formation in a SCFSKP2A-dependent manner [J]. *Plant Signal Behavior*, 2007, 2(4): 273-274.
- [7] Manzano C, Ramirez-Parra E, Casimiro I, *et al.* Auxin and epigenetic regulation of SKP2B, an F-box that represses lateral root formation [J]. *Plant Physiol*, 2012, 160(2): 749-762.
- [8] Jurado S, Triviño S D, Abraham Z, *et al.* SKP2A protein, an F-box that regulates cell division, is degraded via the ubiquitin pathway [J]. *Plant Signal Behavior*, 2008, 3(10): 810-812.
- [9] Jurado S, Abraham Z, Manzano C, *et al.* The Arabidopsis cell cycle F-box protein SKP2A binds to auxin [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(12): 3891-3904.
- [10] 周 佳, 周先丽, 梁成钦, 等. 铁皮石斛化学成分研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(9): 1292-1295.
- [11] Zhao M M, Zhang G, Zhang D W, *et al.* ESTs analysis reveals putative genes involved in symbiotic seed germination in *Dendrobium officinale* [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72705.
- [12] Zhang G, Song C, Zhao M M, *et al.* Characterization of an a-type cyclin-dependent kinase gene from *Dendrobium candidum* [J]. *Biologia*, 2012, 67(2): 360-368.
- [13] Pfaffl M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR [J]. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29(9): e45.
- [14] Yao R, Ming Z, Yan L, *et al.* DWARF14 is a non-canonical hormone receptor for strigolactone [J]. *Nature*, 2016, 536(7617): 469-473.
- [15] Pozo J C, Diaz-Trivino S, Cisneros N, *et al.* The balance between cell division and endoreplication depends on E2FC-DPB, transcription factors regulated by the ubiquitin-SCF<sup>SKP2A</sup> pathway in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2006, 18(9): 2224-2235.
- [16] 于海川, 吴 娇, 崔百明, 等. 棉花中两个新的 F-box 蛋白基因的克隆与表达分析 [J]. *棉花学报*, 2008, 20(2): 99-104.
- [17] 王利群, 唐冬英, 李新梅, 等. 拟南芥 F-box 基因 *At5g22700* 的功能初步分析 [J]. *激光生物学报*, 2014, 23(2): 140-146.
- [18] Liu A, Yu Y, Duan X, *et al.* GsSKP21, a *Glycine soja* S-phase kinase-associated protein, mediates the regulation of plant alkaline tolerance and ABA sensitivity [J]. *Plant Mol Biol*, 2015, 87(1/2): 111-124.
- [19] Rao V, Petla B P, Verma P, *et al.* *Arabidopsis* SKP1-like protein13 (ASK13) positively regulates seed germination and seedling growth under abiotic stress [J]. *J Exp Bot*, 2018, 69(16): 3899-3915.