

李静婷,王健胜,杨凤岭. 小麦 MITE 转座子对 *sHSP* 基因的表达调控研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(12):29-32.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.008

小麦 MITE 转座子对 *sHSP* 基因的表达调控研究

李静婷¹, 王健胜², 杨凤岭²

(1. 平顶山学院化学与环境工程学院, 河南平顶山 467000; 2. 平顶山学院低山丘陵区生态修建重点实验室, 河南平顶山 467000)

摘要: MITE(miniature inverted-repeat transposable elements)是一类特殊的 DNA 介导的转座子,经常插入基因的编码区、内含子、启动子、非翻译区(UTR)而与基因紧密相关。探讨插入小麦 16.9 ku *sHSP* 基因(*sHSP16.9*)3'-UTR 中 MITE 对基因表达调控的影响,实时定量结果显示:在高温、低温处理时,具有 MITE 插入的基因型中 *sHSP16.9* 基因转录水平较无 MITE 插入的基因型显著提高;构建 2 种不同的植物表达载体 pCambia Super-1300 + *sHSP16.9*、pCambia Super-1300 + *sHSP16.9* + MITE 转化拟南芥,半定量结果显示,*sHSP16.9* + MITE 超表达的转基因拟南芥中 *sHSP16.9* 基因表达量较 *sHSP16.9* 超表达的转基因拟南芥中显著提高,推测 *sHSP16.9* 基因 3'-UTR 中 MITE 插入增强该基因的转录水平。

关键词: MITE 转座子; *sHSP* 基因; 基因表达; 基因调控; 小麦; 植物二元表达载体; 构建

中图分类号: Q786; S512.103 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)12-0029-04

热胁迫时,生物体内大部分蛋白质合成被抑制,分子量为 8~110 ku 的热激蛋白(heat shock protein, HSP)迅速被诱导合成。在高等植物中最丰富的 HSP 为小分子热激蛋白(small HSP, sHSP)。根据细胞内定位、相似性,植物 sHSP 分为六类,前三类位于细胞质或细胞核内,其他三类位于质体、内质网、线粒体内^[1-3]。小麦小分子热激蛋白 HSP16.9(TaHSP16.9)属于第一类小分子热激蛋白,也是第一个被报道具有高分辨率结构的真核小分子热激蛋白^[4]。研究发现,高等植物中的 sHSP 可在高温和其他胁迫环境诱导合成,在正常生长环境条件下表达量很低,表明 sHSP 可能在植物耐胁迫性方面发挥重要作用^[2-3]。转座因子(transposon)是 DNA 重复序列,可通过切割和重新整合等一系列过程从基因组的一个位置转移到另一个位置,并经常在转移过程中复制。根据转移的方式,转座因子可分为两类:反转座子、DNA 转座子。MITE(miniature inverted-repeat transposable elements)是一类特殊的 DNA

介导的转座子,其具有 DNA 转座子典型的结构,即靶位点重复(TSD)和末端反向重复(TIR)^[5-6]。但是,它们长度短(经常少于 500 bp)与多拷贝(经常成百上千)的特点使之区别于传统的 DNA 转座子, DNA 转座子具有几千个碱基大小,但是仅以几个拷贝存在。长度短、多拷贝的特点使 MITE 经常插入到基因的编码区、内含子、启动子、非翻译区(UTR),预测 MITE 在基因表达调控方面发挥一定的作用,但是目前人们对于 MITE 插入与基因表达两者之间本质关系了解非常少^[7-11]。研究发现,水稻 *ubiquitin2*(*rubq2*)基因存在 2 种类型启动子,在 IR24 系中 *ubiquitin2* 基因启动子区有 2 个 MITE(*MDMI* 与 *Kiddo*)插入, T309 系中仅有 1 个 MITE(*MDMI*)插入^[8]。*Kiddo* 插入增加了 *rubq2* 基因转录水平,但是 *Kiddo* 的增强效应被甲基化所中和^[12]。花生 *ahFAD2B* 基因编码区有 1 个 205 bp MITE 插入,导致 *ahFAD2B* 基因转录水平降低,并产生高油含量的表型^[9]。高粱耐铝基因 *sbMATE* 上游有 MITE 插入,且不同亲本间 MITE 插入区域具有多态性, MITE 插入片段的大小与耐铝性存在明显正相关,推测 MITE 作为顺式作用元件显著增强了 *sbMATE* 基因在根尖的表达^[13]。对油菜进行单倍体分析发现, *BnFLC. A10* 基因上游存在 MITE 插入/缺失的多态性差异,大部分冬性品种具有 MITE 插入,大部分春性品种无 MITE 插入。对 2 种类型品种进行关联分析发现, MITE 插入与品种的春化需求性存在显著相关性。

收稿日期:2015-01-05

基金项目:河南省教育厅自然科学基金基础研究计划(编号:12B180020);平顶山学院高层次人才科研启动基金(编号:2011015G)。

作者简介:李静婷(1983—),女,内蒙古包头人,博士,讲师,主要从事小麦遗传育种学研究。E-mail:jingting_lee@163.com。

[13]余义和,李桂荣,王新娟,等. 南瓜离体培养及植株再生的研究[J]. 安徽农业科学,2006,34(20):5180-5181.

[14]赵建萍. '艾西丝'南瓜子叶的离体培养[J]. 园艺学报,1999,26(3):58-59.

[15] Ananthakrishnan G, Xia X, Elman C, et al. Shoot production in squash (*Cucurbita pepo*) by *in vitro* organogenesis[J]. Plant Cell Reports, 2003, 21(8):739-746.

[16]褚剑峰,郑琪,黄伟忠. 日本迷你南瓜的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2004,40(6):711.

[17]白婧. 农杆菌介导 β -1,3-葡聚糖酶(BG2)基因转化南瓜的

研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2008.

[18]任桂红,林荣,杨东. 南瓜子叶再生体系的建立[J]. 北方园艺,2010(23):133-135.

[19]耿新丽,赵一鹏,秦勇. 金童观赏南瓜离体繁殖技术研究[J]. 安徽农业科学,2006,34(7):1338-1339.

[20]李伟,程永安,张思慧,等. 双单倍体南瓜后代子叶离体再生植株研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2012,40(3):141-146.

[21]李长生,赵传志,李爱芹,等. 黑籽南瓜离体再生体系与转基因技术研究[J]. 山东农业科学,2009(7):8-11.

MITE 插入诱导 *BnFLC. A10* 基因在春化期间的表达,与该基因表达量呈正相关^[14]。

小麦是我国主要的农作物之一,具有重要的食用价值、栽培价值。普通小麦是异缘六倍体,基因组庞大,DNA 重复序列含量高达 60%~80%,MITE 转座子是一类特殊的 DNA 重复序列,MITE 在小麦基因组进化过程中发挥着重要作用,目前关于 MITE 对小麦基因表达调控研究非常少。本实验室前期研究发现,在小麦定位于 3A 上的 16.9 ku *sHSP* 基因 3'-UTR 存在 1 个 276 bp MITE 的插入/缺失。对 40 个不同的小麦品种进行单倍体分析发现,小麦存在 2 种单倍型的 *sHSP16.9* 基因(有和无 MITE 插入),以 TAM107 和中国春为材料,克隆了 *sHSP16.9* 基因全长^[15]。笔者就 MITE 对 *sHSP16.9* 基因表达调控进行了研究,旨在为提供小麦耐热性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

耐热品种 TAM 107、热敏感品种中国春(CS)。22 个中国小麦地方品种、16 个小麦育成品种。

1.2 方法

1.2.1 非生物胁迫条件的设定 采用 1% NaOCl 处理种子 30 min 进行表面消毒,用蒸馏水冲洗 3 遍,利用 1% 双氧水处理过夜,蒸馏水清洗 3 遍,选择露白的种子种于含 1% 琼脂糖的长颈瓶中,每瓶 10 粒种子,在光照培养箱中培养,光周期为 16 h:8 h,昼夜温度 22℃/18℃,湿度 60%^[16]。培养 10 d 后进行胁迫处理。42℃ 高温胁迫处理 0.5、1、2、3 h,0℃ 冷处理 3、12 h。每处理组 3 次重复。胁迫处理后迅速剪取叶片放入液氮中速冻,-80℃ 保存备用。

1.2.2 总 RNA 提取纯化和 cDNA 第一链的合成 以 TRIzol 试剂提取总 RNA [天根生化科技(北京)有限公司],经

DNase I (Promega 公司) 处理后,以电泳与 Thermo Scientific NaNoDrop 2000 c 相结合,检测 RNA 的浓度、质量,利用 MMLV 反转录酶(Promega)合成第一条单链 cDNA,-20℃ 保存备用。

1.2.3 *sHSP16.9* 基因的表达分析 以选取的不同品种小麦在胁迫处理下不同时间点合成的第一链 cDNA 为模板,在 Bio-Rad CFX96 实时定量 PCR 仪上利用 SYBR® Premix Ex Taq™ (TaKaRa 公司) 进行荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR,qRT-PCR),每个样品至少独立重复 3 次。反应条件为 95℃ 5 min;95℃ 10 s,56℃ 10 s,72℃ 20 s,38 个循环。在每次循环的第 3 步设定荧光采集,绘制融解曲线。由荧光定量 PCR 仪自动读取数据。参见 Li 等的方法^[17] 处理分析数据。

1.2.4 *sHSP16.9* 转基因拟南芥纯系筛选 构建 2 种正义植物表达载体 pCAMBIA Super-1300 + *sHSP16.9*、pCAMBIA Super-1300 + *sHSP16.9* + MITE,利用农杆菌介导的蘸花法浸染哥伦比亚野生型拟南芥(WT),使用潮霉素筛选法筛选获得转基因 T₀ 代阳性苗,移栽到营养土中培养至收获 T₁ 代种子,采用相同方法播种 T₁ 代种子,收获单株分离比为 3:1 的 T₂ 代种子,T₂ 代种子按此方法继续筛选至不再产生分离的纯系,试验所用种子为 T₃ 代纯合株系收获所得。

1.2.5 转基因拟南芥 DNA 提取及 PCR 检测 采用改良 CTAB 法^[18] 提取转基因拟南芥植株 DNA,利用特异性引物(表 1)进行 PCR 扩增,反应体系为 10×PCR buffer 2.0 μL、dNTP (2.5 μmol/L) 1.6 μL、DNA 模板 1 μL、*Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL) 0.2 μL、引物 F 2 μmol/L 2.0 μL、引物 R 2 μmol/L 2.0 μL、ddH₂O 补足至 20 μL。反应程序为:94℃ 5 min;94℃ 30 s,58℃ 30 s,72℃ 30 s,35 个循环;72℃ 10 min;4℃ 保存。1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,凝胶成像系统拍照保存。

表 1 本研究用于半定量分析、实时定量分析、转基因载体构建和转基因拟南芥分子鉴定的引物

引物	目的	退火温度 (℃)	产物大小 (bp)	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
BD	半定量分析及转基因分子鉴定	58	245	AGTTCGTCAGGCGCTTCCG	CGCAATACAGAGATGGCTCGTC
SSD	实时定量分析	58	130	CGAGGTCAAGAAGCCTGAGG	CGTCAGACTCGGCAAGAACA
<i>Ta-actin</i>	实时定量小麦内参基因	56	120	ACTCATCATACTCGCCCTTCG	CAAGCAGCATGAAGATCAAGGT
<i>At-actin</i>	半定量拟南芥内参基因	56	120	AATTACCCGATGGGCA	TCATACTCGGCCTTGGA
CJD/MITE-R1	单倍型分析及转基因分子鉴定	58	400	GCTGAGTATTCGGGTCTGTTTC	AGGTAGTAACCTAGGTGCCACAT
sHSP-T	转基因载体构建	56	920 或 650	GCTCTAGAGCGCACAAAGCCGA AGCAAT	GGGGTACCTTCATCGCCAAATCT GTTG

2 结果与分析

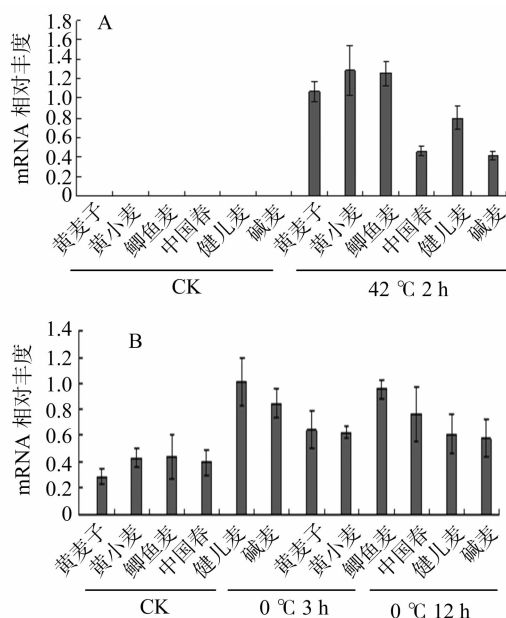
2.1 非生物胁迫下 2 种单倍型小麦中 *sHSP16.9* 基因的表达模式

为了分析 MITE 的插入是否影响 *sHSP16.9* 基因的表达,随机选取 2 种单倍型小麦各 3 个品种进行胁迫处理,诱导 *sHSP16.9* 基因表达。实时定量结果表明,42℃ 热处理 2 h,有 MITE 插入的基因型(黄麦子、黄小麦、鲫鱼麦) *sHSP16.9* 基因转录水平都较无 MITE 插入的基因型(中国春、健儿麦、碱麦)显著提高(图 1-A)。同样,0℃ 冷处理 3、12 h 后,有 MITE 插入的基因型(黄麦子、黄小麦) *sHSP16.9* 基因转录水

平也都较无 MITE 插入的基因型(健儿麦、碱麦)显著提高(图 1-B),但是 *sHSP16.9* 基因对高温诱导更为敏感。推测 MITE 插入可能导致了 *sHSP16.9* 基因差异表达。

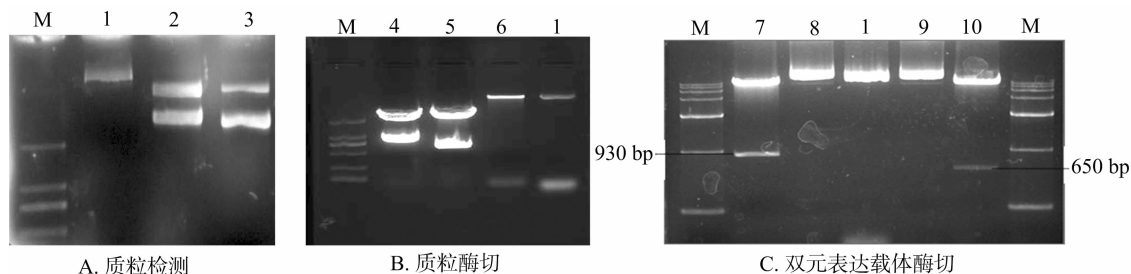
2.2 植物双元表达载体的构建

为了进一步研究 MITE 对 *sHSP16.9* 表达调控的影响,本研究分别构建 2 个植物超表达载体 pCAMBIA Super-1300 + *sHSP16.9* (简称 p1300-C)、pCAMBIA Super-1300 + *sHSP16.9* + MITE(简称 p1300-T)。以中国春和 TAM107 的 cDNA 为模板,PCR 扩增在 *sHSP16.9* 目标基因片段[起始密码子 ATG 至 pol(A) 加尾信号前的片段(图 1)]上下游添加 *Xba* I、*Kpn* I 的酶切位点,片段大小分别为 900、650 bp,连接



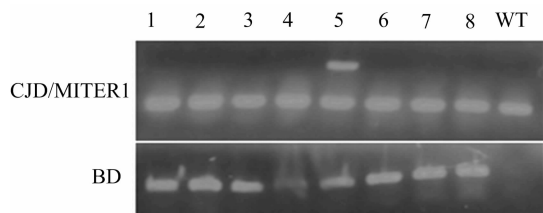
A—42 °C 热处理 2 h; B—0 °C 冷处理 3、12 h。小麦地方品种黄麦子、黄小麦、济豫麦具有 MITE 插入, 中国春、健儿麦、健麦无 MITE 插入

图1 实时定量检测 2 种单倍型小麦品种中 *sHSP16.9* 的表达模式



M:—DNA marker; 1—pCambia Super-1300; 2—pGEM-T-T; 3—pGEM-T-C; 4—pGEM-T-T 酶切; 5—pGEM-T-C 酶切; 6—pCambia Super-1300 酶切; 7—p1300-T 酶切; 8—p1300-T; 9—p1300-C; 10—p1300-C 酶切

图2 本研究植物二元表达载体的构建



1~4、6~7—*sHSP16.9* 超表达的转基因拟南芥纯系; 5—*sHSP16.9*+MITE 超表达的转基因拟南芥纯系

图3 转基因拟南芥 PCR 检测结果

2.4 转基因拟南芥中 *sHSP16.9* 的表达模式

对转基因拟南芥 T_3 代纯系进行半定量分析发现, *sHSP16.9* + MITE 超表达的转基因拟南芥中 *sHSP16.9* 基因表达量较 *sHSP16.9* 超表达的转基因拟南芥中显著提高 (图 4)。推测 *sHSP16.9* 基因 3' - UTR 中 MITE 插入增强了 *sHSP16.9* 基因表达。

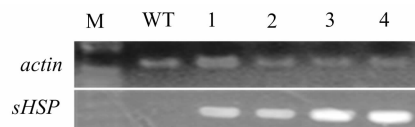
3 结论与讨论

小麦是我国重要的粮食产物之一^[19-20], 高温已成为限制

到 pGEM - T 构建重组质粒 pGEM - T + *sHSP16.9* (简称 pGEM - T - C)、pGEM - T + *sHSP16.9* + MITE (简称 pGEM - T - T) (图 2 - A)。用 *Xba* I、*Kpn* I 将重组质粒 pGEM - T - C、pGEM - T - T、pCambia Super - 1300 载体进行双酶切 (图 2 - B), 分别回收 pCambia Super - 1300 载体的酶切产物、*sHSP16.9* 目标基因片段 (分别为 650、900 bp), 用 T4 连接酶连接, 构建表达载体 p1300 - C、p1300 - T。将连接产物转入大肠杆菌, 用含卡那霉素的 LB 培养基培养, 挑取筛选获得的菌斑提取质粒进行酶切验证 (图 2 - C)。

2.3 转基因拟南芥植株的分子鉴定

以提取的转基因拟南芥 T_3 代纯系植株、野生型拟南芥植株的基因组 DNA 为模板, 以 *sHSP16.9* 基因的特异性引物 BD、CJD - MITR1 为扩增引物分别扩增 (图 3)。结果显示, 以引物 BD 扩增时, 仅野生型拟南芥中无条带, 说明所有转基因拟南芥植株都转入了 *sHSP16.9* 基因; 以引物 CJD - MITR1 扩增时, 仅有 1 个转基因拟南芥植株有条带, 说明该植株转入了 *sHSP16.9* + MITE 基因。本研究共筛选获得 2 个 *sHSP16.9* + MITE 超表达的转基因拟南芥纯系, 获得 7 个 *sHSP16.9* 超表达的转基因拟南芥纯系。



1~2—*sHSP16.9* 超表达的转基因拟南芥纯系; 3~4—*sHSP16.9*+MITE 超表达的转基因拟南芥纯系

图4 半定量检测转基因拟南芥中 *sHSP16.9* 的表达模式

小麦增产的重要因素之一, 如何提高小麦的耐热性从而提高小麦产量已成为当务之急。热激蛋白是有机体受到温和的热刺激后大量表达的蛋白。研究表明, 诸多非生物胁迫 (如高温、低温、高盐浓度、厌氧、重金属等) 都可诱导热激蛋白 (HSP) 的产生^[21]。其中高等植物中最丰富的 HSP 为小分子热激蛋白 (sHSP), sHSP 是重要的分子伴侣, 可减缓蛋白质变性, 并促进热变性蛋白复性, 所以 sHSP 被认为是提高植物细胞抗热能力的重要原因之一^[3]。本研究发现, 高温、低温胁迫都可诱导 *sHSP16.9* 基因表达, 表明 sHSP 可能在植物耐热性、耐冷性方面发挥重要作用。笔者前期研究发现, 小麦定位于 3A 上的 16.9 ku *sHSP* 基因 3' - UTR 存在 1 个 276 bp

MITE 的插入/缺失。Li 等分析发现,小麦中存在 2 种单倍型的 *sHSP16.9* 基因(*sHSP-M*、*sHSP-W*),克隆了 2 种单倍型小麦的 *sHSP16.9* 基因全长并比对分析发现,最大的差异在于 3'-UTR 内 276 bp MITE 的插入/缺失^[15]。笔者就 MITE 对 *sHSP16.9* 基因的表达调控进行研究发现,在高温、低温胁迫下,*sHSP16.9* 基因在单倍型 *sHSP-M* 中表达量高于 *sHSP-W*,推测 MITE 的插入是导致 *sHSP16.9* 基因表达差异的主要因素,进一步分别构建植物超表达载体 pCambia Super-1300 + *sHSP16.9*、pCambia Super-1300 + *sHSP16.9* + MITE 转化拟南芥,半定量检测 *sHSP16.9* mRNA 的转录水平,结果发现,转化 *sHSP16.9* + MITE 基因的拟南芥中 *sHSP16.9* 基因转录水平较转化 *sHSP16.9* 基因的拟南芥中显著提高,推测 *sHSP16.9* 基因 3'-UTR 内 MITE 插入上调了该基因的转录水平。

3'-UTR 可能作为反式作用因子的(蛋白和 miRNA)结合位点,控制 mRNA 的稳定性、翻译效率,进而在基因表达调控中发挥重要作用。研究发现,miRNA 能够与靶基因的 mRNA 3'-UTR 发生特异性结合从而抑制该基因的翻译,miRNA 靶位点的单核苷酸多态性影响 miRNA 对靶 mRNA 的结合,降低对该基因翻译的抑制作用,导致了人类某些肿瘤包括结直肠癌的发生^[22]。王丽等在研究人高密度脂蛋白受体 SR-BI 基因 3'-UTR 对其 mRNA 稳定性的影响时发现,SR-BI 基因 3'-UTR 降低其 mRNA 的稳定性,影响其转录水平^[23]。RNA 结合蛋白 HuD 识别和结合多巴胺受体 DRD1 mRNA 3'-UTR 上的 ARE 顺式作用元件,增强靶基因 DRD1 mRNA 的稳定性,提高了靶基因的表达水平^[24]。本研究结果表明,MITE 插入 *sHSP16.9* 基因 3'-UTR 可能增强了该基因的表达,进而推测 MITE 可能作为顺式元件与 RNA 结合蛋白或 miRNA 结合增强了 *sHSP16.9* mRNA 的稳定性而实现的。

参考文献:

- [1] Sun W, van Montagu M, Verbruggen N. Small heat shock proteins and stress tolerance in plants[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, 1577(1): 1-9.
- [2] Sato Y, Yokoya S. Enhanced tolerance to drought stress in transgenic rice plants overexpressing a small heat-shock protein, *sHSP17.7* [J]. *Plant Cell Reports*, 2008, 27(2): 329-334.
- [3] Mahmood T, Safdar W, Abbasi B H, et al. An overview on the small heat shock proteins [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2009, 8(25): 7290-7302.
- [4] van Montfort R L, Basha E, Friedrich K L, et al. Crystal structure and assembly of a eukaryotic small heat shock protein [J]. *Nature Structural Biology*, 2001, 8(12): 1025-1030.
- [5] Feschotte C, Jiang N, Wessler S R. Plant transposable elements: where genetics meets genomics [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2002, 3(5): 329-341.
- [6] Feschotte C, Mouches C. Evidence that a family of miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) from the *Arabidopsis thaliana* genome has arisen from a pogo-like DNA transposon [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2000, 17(5): 730-737.
- [7] Zhang Q, Arbuckle J, Wessler S R. Recent, extensive and preferential insertion of members of the miniature inverted-repeat transposable element family *Heartbreaker* into genic regions of maize [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(3): 1160-1165.
- [8] Yang G, Dong J, Chandrasekharan M B, et al. *Kiddo*, a new transposable element family closely associated with rice genes [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2001, 266(3): 417-424.
- [9] Patel M, Jung S, Moore K, et al. High-oleate peanut mutants result from a MITE insertion into the *FAD2* gene [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108(8): 1492-1502.
- [10] Oki N, Yano K, Okumoto Y, et al. A genome-wide view of miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) in rice, *Oryza sativa* ssp. *japonica* [J]. *Genes & Genetic Systems*, 2008, 83(4): 321-329.
- [11] Naito K, Zhang F, Tsukiyama T, et al. Unexpected consequences of a sudden and massive transposon amplification on rice gene expression [J]. *Nature*, 2009, 461(7267): 1130-1134.
- [12] Yang G, Lee Y H, Jiang Y, et al. A two-edged role for the transposable element *Kiddo* in the rice ubiquitin2 promoter [J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(5): 1559-1568.
- [13] Magalhaes J V, Liu J, Guimaraes C T, et al. A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum [J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(9): 1156-1161.
- [14] Hou J, Long Y, Raman H, et al. A tourist-like MITE insertion in the upstream region of the *BnFLC. A10* gene is associated with vernalization requirement in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12(1): 238-250.
- [15] Li J T, Wang Z Z, Peng H R, et al. A MITE insertion into the 3'-UTR regulates the transcription of *TaHSP16.9* in common wheat [J]. *The Crop Journal*, 2014, 2(6): 381-387.
- [16] Qin D, Wu H, Peng H, et al. Heat stress-responsive transcriptome analysis in heat susceptible and tolerant wheat (*Triticum aestivum* L.) by using Wheat Genome Array [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9(1): 432-450.
- [17] Li J, Guo G, Guo W, et al. miRNA164-directed cleavage of *ZmNAC1* confers lateral root development in maize (*Zea mays* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12(11): 220-233.
- [18] Saghai-Marof M A, Soliman K M, Jorgensen R A, et al. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal locations and population dynamics [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 8014-8018.
- [19] 王庆林, 李卫国, 王荣富. 基于不同时相遥感的冬小麦种植面积提取 [J]. *江苏农业学报*, 2014, 30(6): 1286-1291.
- [20] 葛自强, 董明辉, 顾俊荣, 等. 苏南太湖稻区稻茬小麦光温综合生产力 [J]. *江苏农业科学*, 2014, 42(10): 68-72.
- [21] Wang W, Vinocur B, Shoseyov O, et al. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response [J]. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(5): 244-252.
- [22] 杨进. 散发性结直肠癌候选基因 (*KRAS*, *PDCD4*, *MCC*) 3'-UTR 遗传多态性与 miRNAs 的靶标关系研究 [D]. 西安: 西北大学, 2014.
- [23] 王丽, 贾晓健, 姜华军, 等. 人高密度脂蛋白受体基因 3'-UTR 对其 mRNA 稳定性的影响 [J]. *中国医药生物技术*, 2013, 8(1): 29-35.
- [24] 赵理. 多巴胺受体 *DRD1* mRNA 3'-UTR 在 *DRD1* 转录后水平表达调控中的作用 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2009.