

宁慧宇,江敏,张丙林,等. 玉米 *ZmLTP3* 基因启动子的克隆及功能分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(4):43-46.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.04.010

# 玉米 *ZmLTP3* 基因启动子的克隆及功能分析

宁慧宇,江敏,张丙林,邹华文

(长江大学农学院,湖北荆州 434025)

**摘要:**植物转脂蛋白(LTPs)参与多项生理功能,但关于其在非生物胁迫中的作用及调控机制鲜有报道。前期研究发现,转玉米 *ZmLTP3* 基因的拟南芥抗盐性得到了提高。通过克隆得到 *ZmLTP3* 基因上游 1 302 bp 的启动子序列,Plantcare 在线分析发现,在克隆序列中含有 CAAT-box、TATA-box 等启动子必需作用元件,除此之外还含有众多响应生物胁迫、非生物胁迫的元件。将启动子序列与  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶(GUS)报告基因相连,构建植物表达载体,转化拟南芥。转基因拟南芥 GUS 组织化学染色结果表明,该启动子序列具备启动子活性。研究结果可为后续深入研究 *ZmLTP3* 基因的作用及上游调控机制奠定基础。

**关键词:**玉米;转脂蛋白;启动子;克隆;功能分析

**中图分类号:** S188;S513.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)04-0043-04

植物转脂蛋白(lipid transfer proteins,简称 LTPs)是植物体内具有结合和转脂类功能的一类小分子蛋白。又因其对各种脂类(如辅酶 A、磷脂和脂肪酸等)具有较高的亲和力,又被称为非专一性转脂蛋白(non-specific lipid transfer proteins,简称 nsLTPs)<sup>[1-3]</sup>。植物转脂蛋白是一类碱性蛋白,分子内部都含有 1 个由 8 个半胱氨酸组成的保守基序(C-X<sub>n</sub>-C-X<sub>n</sub>-CC-X<sub>n</sub>-CXC-X<sub>n</sub>-C-X<sub>n</sub>-C)。这 8 个半胱

氨酸形成 4 对二硫键,所以转脂蛋白分子具有较高的耐高温、耐变性等特性<sup>[4]</sup>。最初根据分子量大小,植物 LTPs 成员被分为 2 种类型: I 型、II 型<sup>[5]</sup>。此后,Edstam 等根据半胱氨酸之间的距离、保守内含子的位置以及翻译后糖基磷脂酰肌醇锚(GPI-anchor)的添加与否,把 LTPs 重新划分为 A、B、C、D、E、F、G、H、J 和 K 型<sup>[1]</sup>。因为具有膜间转移脂分子的功能,植物 LTPs 最初被认为参与生物膜系统的生物合成<sup>[6]</sup>。然而随着 N-端信号肽的发现和胞外定位,使人们开始重新认识 LTPs 的功能。现有的研究表明,LTPs 涉及植物多种生理过程,包括参与蜡质的合成和运输、生殖器官的发育、提高植物抗性、促进细胞壁的伸长,此外还有调节果胶降解活性等<sup>[7-9]</sup>。其中研究较多的是其在蜡质的合成和运输、生殖器官的发育以及在提高植物抗性中的作用。

在之前的研究中,笔者从玉米中克隆到 1 个转脂蛋白家族成员,并命名为 *ZmLTP3* (GenBank 登录号 JX435819.1),过

收稿日期:2017-03-31

基金项目:国家自然科学基金(编号:31471510)。

作者简介:宁慧宇(1992—),女,山东临沂人,硕士研究生,主要从事植物逆境分子生物学研究。Tel:(0716)8066314;E-mail:1046762635@qq.com。

通信作者:邹华文,博士,教授,主要从事植物逆境分子生物学研究。Tel:(0716)8066314;E-mail:zouhuawen73@hotmail.com。

表 2 F<sub>2</sub> 群体定位的 QTL 特征

性状	QTL	标记区间	长度(cM)	LOD 值	加性效应	显性效应	贡献值(%)
果长	<i>fl1.1</i>	E14M11 ~ E10M11	5.4	3.42	0.82	-0.13	9.7
横径	<i>Fw2.1</i>	E9M7F ~ me13h04	8.3	4.24	0.35	-0.14	10.1
	<i>Fw4.1</i>	M8E12D ~ M8E12C	8.9	4.08	0.72	0.33	3.8
果形指数	<i>fs1.1</i>	E5M9B ~ E6M7E	10.2	4.85	1.28	-0.29	6.4
花青素强度	<i>fai13.1</i>	E10M9C ~ emb01e03	11.5	5.17	1.07	-0.07	12.8

[13] Chaim A B, Paran I, Grube R C, et al. QTL mapping of fruit-related traits in pepper (*Capsicum annuum*) [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2001, 102(6/7): 1016-1028.

[14] Ben Chaim A, Borovsky J, Rao G, et al. Comparative QTL mapping of fruit size and shape in tomato and pepper [J]. Israel Journal of Plant Sciences, 2006, 54(3): 191-203.

[15] 乔军,陈钰辉,王利英,等. 茄子果形的 QTL 定位[J]. 园艺学报, 2012, 39(6): 1115-1122.

[16] Brewer M T, Lang L, Fujimura K, et al. Development of a controlled vocabulary and software application to analyze fruit shape variation in tomato and other plant species [J]. Plant Physiology, 2006, 141

(1): 15-25.

[17] Barchi L, Lefebvre V, Sage - Palloix A M, et al. QTL analysis of plant development and fruit traits in pepper and performance of selective phenotyping [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2009, 118(6): 1157-1171.

[18] 葛海燕,刘扬,陈火英. 茄子果实性状相关基因的 QTL 定位[J]. 园艺学报, 2015, 42(11): 2197-2205.

[19] Doganlar S, Frary A, Daunay M C, et al. A comparative genetic linkage map of eggplant (*Solanum melongena*) and its implications for genome evolution in the solanaceae [J]. Genetics, 2002, 161(4): 1697-1711.

量表达 *ZmLTP3* 基因的拟南芥表现出明显的抗盐性<sup>[10]</sup>。在美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称 NCBI) 数据库中, *ZmLTP3* 基因上游启动子序列并未测通。为了阐述 *ZmLTP3* 基因的作用机制, 本研究克隆并测序 *ZmLTP3* 基因上游完整的启动子序列, 并对此序列进行生物信息学分析, 拟构建融合 GUS 报告基因的植物表达载体, 将其转化拟南芥, 并对转基因拟南芥纯合体株系进行 GUS 组织化学染色, 验证启动子功能。本研究为深入分析 *ZmLTP3* 基因的作用机制奠定了基础。

### 1 材料与与方法

#### 1.1 材料

植物材料拟南芥(Columbia 生态型)、玉米 B73、大肠杆菌菌株 DH5 $\alpha$ 、农杆菌 GV3101、植物表达载体 pGreen0029 - GUS 等, 均由笔者所在实验室保存并提供。

#### 1.2 方法

1.2.1 启动子克隆及序列分析 利用十六烷基三甲基溴化铵(简称 CTAB)法<sup>[11]</sup>提取 3 叶 1 心期的玉米叶片基因组 DNA。在 NCBI 网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上下载得到 *ZmLTP3* 基因 ATG 上游 2 881 bp(不包括 gap 的碱基数)的启动子序列, 并在此序列内部缺口的两端设计上下游引物, 扩增完整的启动子序列。上游引物序列为 5' - GCGACTGTGACACTATCC - 3', 下游引物序列为 5' - AAGTAGGGCTATCGAAACAGG - 3'。得到完整序列后, 在

NCBI 网站上比对测序结果与数据库中序列的异同。在 Plantcare 网站(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)上预测测序启动子序列中所含有的顺式作用元件。

1.2.2 拟南芥的遗传转化 以测序的启动子序列为模板, 在 -1 301 bp 处设计上游引物, 扩增启动子片段, 并将此启动子片段插入到植物表达载体 pGreen0029 - GUS 中 GUS 的上游。同时, 也把笔者所在实验室保存的 35S 启动子片段插入到上述载体中作为阳性对照。拟南芥的培养、基因转化及转基因株系的分子鉴定参考文献[12]。在 GUS 基因序列内部设计 1 对引物, 用于对转基因拟南芥的 PCR 检测, 上游引物序列为 5' - TTCTGATTAACCACAAAC - 3', 下游引物序列为 5' - CGGTTCGTTGGCAATACTCC - 3'。

1.2.3 启动子功能分析 分别取转空载体、35S、*ZmLTP3* 基因启动子载体的阳性植株和野生型拟南芥叶片, 参照 Gross 等的方法<sup>[13]</sup>进行 GUS 染色。

### 2 结果与分析

#### 2.1 *ZmLTP3* 基因启动子克隆

得到准确、完整的启动子序列, 是启动子功能分析的第 1 步。但是查询 NCBI 数据库发现, *ZmLTP3* 基因起始密码子 ATG 上游 -1 270 bp 处有未测通的缺口, 并且序列内部含有重复序列及反向重复序列(图 1)。为了得到准确的序列, 笔者在距缺口较远的位置设计上下游引物, 扩增此片段。测序

```
CATCCAGGATGTCTCTCCATCACCACCTGTAAAAAGTAACATAAAACACATGGTGAAACCCCTATATCCAAAAATGTGGCTAAAAATGTG
AAGGACGCGTTGGAGTGCACATCTGCTAAAAAGTCAGATTACCATGCATGTATATATACAGTACATATTGATCGGTAGACTCCAGCATG
ATGTTCTGCCCTGTGTAATAATCAGTGAAGAAGCGGCATTCTGGATGTGCAAAGTGCATCCGCACGGACGGTAAGTGCTGCACCTGC
TCCGAGCGCATTGGCAACAATAGCTCTCTCTCCCTCTCCCTCTCCTCTCAGGGTTGGAGGATGAGGAAGAGGGCGACTGTGACACTATCCA
TGGAGAAGGACGCGTTGGAGTGCACATCTGCTGCCTACCCTCCAGTCCGAAGTTCATGGCAAGTCAGATTACCATGCATGTATATA
TACAGTAAATATTGATCGGTATATATACAAATGTAGTTAGACTACTTTATCTCTTCCAATAAAAAGTAGTTAAACTACTTTATCTCTAACA
CATGGTGAAACCCCTATATCCAAAAATGTGGCTAAAAATGGAGGAAAAATAAACAAAAATTTGGCAAAAAGAACATAAGCCAAACTTTCTAGC
AACTAATAAACAAAAAAAATTAATACCCAAACCTATCTTTAACATATGGTGAAAGCCTAGTTTCAAATGTAGTTAAAATTGAGCAAAA
ATAAACAATAACTAACAAATTGAAACATAAATAAATAACTAATCTTCCATACAACACATTCACCATTTCATTAGCAACTAAACATGAAAAAGAG
AGGGAATAGACAAAAACTAACCATCTTATGCAACATCATTGGAGAAAATAGAGAAAATACCTATCTATACTCTCTCTCACATGTGA
AACCTTAGATCCAAAAATGTGGCTAAAAATTTGAGCAAGAATGAACAAAAATGACAAAAGAAAATAAACCAACCTTTCTTATCCACCTCTT
CCAAGAAATGAAGACCAAAACCTCCCCCTTATATTTTTGTGAAATCTGGACCTCAAATAACCGCTCCAATGGAGCTGGCTGCGAGCAT
ACAGTTCAGTGTGCGGGGAAGATGGGTATTTTATAACAGACAGTTCAGTGGCGGTTGGTTTGAACCCGAGTGGAAACCTATTTCC
ACTGGCGGTTTTTCAAACGAACCGCCAGTGAACTGTCTGTTATAAAAATACCCATCTTCCCGCGACAGTGAACGTGATGCTCGCAGCCAG
CTTCCATTGGAGGCGATTTTGGAGGTCAGATTTTACAAAAATAAAGGGGGAGGTTTTGGTCTTCAATTTCTGGAAAGAGGTGGATAA
GAAAGGTTGGTTTTATGTTTCTTGTCAATTTTTGTTTCATTTCTGCTCAAATTTAGCCCAATTTGGATCTAGGTTTTACATGTGAGAGA
GAGAGTATAGATAGGTAATTTCTCTATTTTCTCAAATGATGTTGCATAAAGATGGTTAGTTTTGTGATTTCTCTCTTTATCATGTTTAG
ATGCTTAATGATGGTGATGTTGTATGGAA 100bp gap
TGCTTCTGATGAATCAGCTTGATTCGTTGCTTCTTGGCGAAGACAGGGCCCTCGGGCGAGCCGAAATATGTTAGCCGCTGGAGGGGGCC
TCGGGCGAGGGGAGATCCTCCGGGTTGGCTGCCCTTGTCGAGGCTAGGCTCGGGCGAGGTGTGATCGTGTCCCTCGAATGGACCGAT
CCCCGCTTAATCACCCATCAGCCCTTTGACGCTTTATGCTGATAGGGGTAACACAGTGAATATAGGACCTTGAGGCTAGCCCTAA
TTATGGTACCCGATAGTAGCCCCGAGCCTCGAAGGGAGTGTAGTACTTGATTTGGAGGCTTATAATTAACCTTTTTTGTGAGGGACCG
CCTTTCATGGTTGCGTTTTGTAAAGTGAAGAAAGAGAGGGAATAGACAAAACTAACCATCTTATGCAACATCATTTGAGAAAATAGAGA
AAATTACCTATCTATACTCTTCTCTCACATGTGAAACCCATGATCCAAAATGTGGCTAAAATGAGCAAGAAATGAACAAAAATGACA
AAGAAACATAAACCAACCTTTCTTACACCTCTTCCAAGAAATGAAGCAAAAAACCTCCCCCTTATATTTTTGTGAAATCTGGACCT
CCAAAATCGCTCCAATGGAAGCTGGCTGCGAGCATACAGTCTACTGTGCGGGGAAGATGGGTTTTTATAACAGACAGTTCATCGGGG
GTTGGTTTTGAACAAACCGCAGTGGAACCTATTTTCCACTGGCGGTTGGTTAAGATAACCGCCAGTGAAATGGGTTTCCACTGGCGGTT
CCTAAATCGGTCACCTTGTTTTTTTACTGGCGGTGATAACTGAAACCGCCAGTGATAATTTATGGGTGCGCAGGCTTTGAGCTCT
TTTCTACTAGTGAAAGTAGGGCTATCGAAACAGGTTCCACATGAGCCATGACCAACCGTTGAGAGTGCAGCTAGCACTGCTACTCTAGCTC
GCTGTTAAAAGAACTCTACAGGCTACAGGTGGTAGTAATTCACCGGAGCGATGCATCTACCAGCAACCATCTTAACCTCTCCCTGAA
TGCATCCACCACCACCGTAATAGTAACCTTCCCTCCGCTATATAACCCCACTTGTGAAACCCCTGATGACCCACCAACACCCAGAATCC
GCGAATCACAGACGCTCTACTCTGCTGCACTACTATCCCTGCCATCATATCGTACGTGAGCCCGCGGAGCGGAGCGG
AGGGAGAGGCATGGCTGCTCCGAAGCTC
```

红色碱基片段互为重复序列; 红色碱基片段与蓝色碱基片段互为反向重复序列; 绿色碱基序列为上下游引物序列; ATG 为 *ZmLTP3* 基因的起始密码子

图 1 NCBI 数据库中 *ZmLTP3* 基因上游启动子序列

结果表明,从上游引物到 ATG 只有 1 302 bp 的距离,而不是 NCBI 数据库中的 2 492 bp (不包括缺口的碱基数)。BLAST

结果表明,测序的启动子序列与网上序列一致性为 99%,序列内部没有重复及反向重复序列(图 2)。

```

AGGGCGACTGTGACACTATCCATGGAGAAGGACGCGTTGGAGTGCACATCTGCTGCCTACCCTTCCAGTCCGAGTTTTCATGG
CAAGTCAGATTACCATGCATGTATATATACAGTAAATATTGATCGGTATATATACAAATGTAGTTAGACTCTTTATCTCTTCC
AATAAAAGTAGTTAAACTACTTTATCTCTTAACACATGGTGAACCCCTATATCCAAAATGTGGCTAAAATGGAGGAAAAATAAAC
AAAATTTGGCAAAAGAAACATAAGCCAACTTTCTTAGCAACTAATAAACAAAAAAATTAATACCCAAACCTATCTTTAAACA
TATGGTGAAGCCTAGTTTCAAATGTAGTTAAAATTGAGCAAAAATAAACAACTAACCAATTAACATAATTAACATAAT
CTTCCATACAAACACATTCACCATTCATTAAGCAACTAAACATGAAAAAGAGAGGGAATAGACAAAACCTAACCATCTTATGCAA
CATCATTTGAGAAAATAGAGAAAATACCTATCTATACTCTCTCTCATGTGAAACCCCTAGATCCAAAATGTGGCTAAAA
TTGAGCAAGAATGAACAAAATTTGACAAAAGAAACATAAACCAACCTTTCTTATCCACTTCTTCCAAGAAATGAAGACCAAAAC
CTCCCCCTTATATTTTTGTGAAATCTGGACCTCCAAAATCGCCTCCAATGGAAGCTGGCTGCGAGCATAACAGTTCACTGTGCG
GGGGAAGATGGGTATTTTTATAACAGACAGTTCACTGGCGGTTGGTTTGA AAAACCGCCAGTGA AACCTATTTCCACTGGCGGT
TTTTCAAACGAACCGCCAGTGAATAGGGTCTTTACACTGGCGGTTCTGTACACCAACCGCCAGTGA AAAATAGGTTTCCACTG
GCGGTTGGTTTGA AAAACCGCCAGTGA AACCTATTTCCACTGGCGGTTGTGTTAAGATAACCGCCAGTGA AAAATGGGTTTCCA
CTGGCGGTTCCATAATCGGGTCCACTTGTTTTTTTTACTGGCGGTGATAACTGAAACCGCCAGTGA AAAATTTATGGGTGCCG
CAGGCTTTGAGCTCTTTCTACTAGTGAAGTAGGGCTATCGAAACAGGTCCACATGAGCCATGACCAACGTTGAGAGTGCAG
CTAGACTGCTACTCTAGCTCGCTGTTAAAAGAATCCTACAGGCTACAGTGGTAGTAATTCACCGGAGCGATGCATCTACCA
GCGAACCATCTTAATCTCCCTGAAATGCACTCACCCACCACCGTAATAGTAATTTCCCTCCGCTATATAACCCCCACTTG
TGAAACCTCGTATCCCCACAACACCAGAATCCGCGAATCACAGACGCGTCTATCTCAGTTGCTGCACTGCACTACCCTGCC
TGCCATCATATCGTACGTGAGCCCGGCGAGCGAGAGCGAGGGAGAGGCATG
    
```

绿色碱基序列为上下游引物序列; ATG 为 *ZmLTP3* 基因的起始密码子

图 2 测序的 *ZmLTP3* 基因上游启动子序列

### 2.2 *ZmLTP3* 基因启动子序列分析

利用 Plantcare 网站分析发现,测序序列含有众多顺式作用元件,包括 14 个 TATA - box,这 14 个 TATA - box 中离 ATG 最近的位于 -149 bp 处,离 ATG 最远的位于 -1 196 bp 处,此外,测序序列中还含有 7 个 CAAT - box (表 1)。除了 TATA - box、CAAT - box 等启动子必需的元件外,该启动子片段包含许多重要的结合位点及功能元件,例如参与植物防御

和逆境响应的调控元件(TC - rich repeats)、参与脱落酸响应的作用元件(ABRE)、参与干旱诱导响应的元件(MBS)、参与水杨酸响应的元件(TCA - element)、众多光响应元件等。这些功能元件的存在,说明 *ZmLTP3* 基因可以响应多种逆境胁迫(包括生物逆境以及非生物逆境)的诱导,并且在逆境胁迫中发挥作用。

表 1 *ZmLTP3* 基因启动子区顺式作用元件

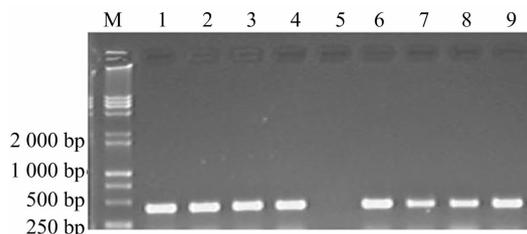
元件名称	序列 (5'→3')	调控元件功能
ABRE	TACGTG	参与脱落酸响应的作用元件
AE - box	AGAAACAT, AGAAACAT	光响应元件
ARE	TGGTTT, TGGTTT	参与厌氧诱导响应元件
ATCT - motif	AATCTAATCT	光响应元件
Box 4	ATTAAT	光响应元件
Box I	TTTCAA	光响应元件
CAAT - box	CAAAT, CCAAT, CAATT	启动子和增强子区常见的顺式作用元件
G - box	CACATGG, TACGTG, GTACGTC	光响应元件
MBS	TAACTG	MYB 结合位点,参与干旱诱导响应
RY - element	CATGCATG	参与种子特异调控元件
Sp1	CC(G/A)CCC	光响应元件
TATA - box	TATATATA, ATATAT, TATA, ATATAT, TAATA, TTTTA	核心启动子元件(在转录起始位点上游)
TC - rich repeats	ATTTTCTCCA	防御和逆境响应的调控元件
TCA - element	GAGAAGAATA	参与水杨酸响应的作用元件

### 2.3 *ZmLTP3* 基因启动子的拟南芥转化及鉴定

花苞用浸蘸法转化拟南芥后,收取 T<sub>0</sub> 代种子,消毒后播种在含有 50 μg/L 卡那霉素的 MS 培养基上培养,种子发芽后,选取正常生长状态的幼苗进行 PCR 鉴定。如图 3 所示,所选择的转基因株系在 400 bp 左右都有 1 条阳性条带,而野生型株系的对照扩增结果为阴性,表明所采样的拟南芥植株均为成功转化了的阳性株系,可以用来进行下一步试验。

### 2.4 *ZmLTP3* 基因启动子的功能鉴定

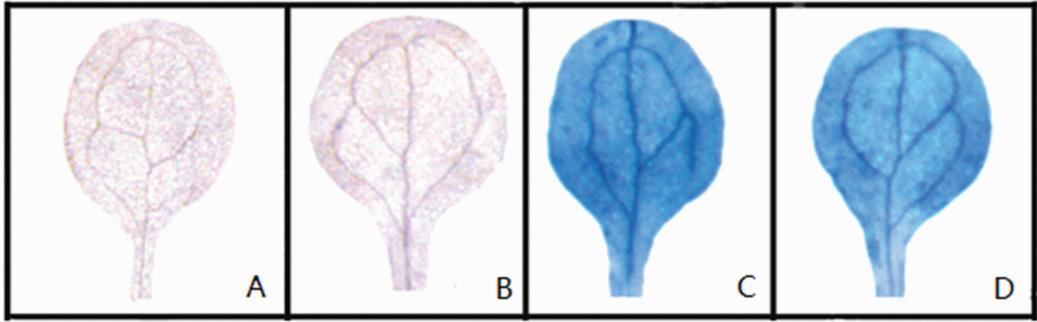
在本试验中,分别采取成熟阶段的不同拟南芥植株的叶



M—分子量标准; 1~4—转 *ZmLTP3* 基因启动子株系; 5—转空载体株系; 6~9—转 35S 启动子株系  
图 3 不同表达载体 *GUS* 基因 PCR 扩增验证电泳结果

片作为试验材料进行 GUS 染色。如图 4 所示,野生型及空白载体转化的拟南芥植株叶片未显示蓝色,而转 35S 启动子及 *ZmLTP3* 基因启动子的转基因拟南芥株系都呈现不均匀的蓝

色,且转 35S 启动子的拟南芥株系染色较转 *ZmLTP3* 基因启动子的深,暗示 *ZmLTP3* 基因启动子的表达强度不及 35S 启动子。



A—野生型株系; B—转空载体株系; C—转 35S 启动子株系; D—转 *ZmLTP3* 基因启动子株系

图4 转基因拟南芥叶片 GUS 组织化学染色

### 3 讨论与结论

从现有的资料来看,研究者大多集中在对 LTPs 生物学功能的探究,而对其作用机制则很少有报道,尤其是对其上游的分子调控机制也鲜有系统的研究。另外,尽管第 1 条编码植物 LTP 的 cDNA 是从玉米中获得的,但是之后关于玉米中 LTP 基因家族及其功能的研究很少有深入的报道。本研究通过对 *ZmLTP3* 基因启动子的分析,为进一步阐明 *ZmLTP3* 基因作用机制,尤其是其上游调控机制打下了基础。

尽管玉米基因组测序工作的完成给玉米分子生物学的研究带来了极大的方便,但是由于玉米基因组结构的复杂性,尚有一些未测通的片段,这也给相关工作的开展带来了诸多不便。例如,本研究中 *ZmLTP3* 基因上游的启动子序列就没有完全测通。本试验以 NCBI 中公布的 *ZmLTP3* 基因上游序列为基础,在序列的缺口上下游合适位置设计引物,成功地克隆了启动子序列,填补了 NCBI 中此序列的缺口,为其他研究者进行相关研究提供了便利。BLAST 结果表明,克隆序列与 NCBI 中公布的序列一致性为 99%。

Plantcare 在线分析表明,测序序列除具有 TATA - box 及 CAAT - box 等典型的启动子基本顺式作用元件外,还含有多种响应生物胁迫及非生物胁迫的元件,暗示 *ZmLTP3* 基因可能参与多种逆境胁迫的信号传导过程,这也与笔者之前的试验结果相吻合<sup>[10]</sup>。为了验证此启动子序列的功能,构建植物表达载体,转化拟南芥,GUS 染色结果初步证明所克隆的序列具有启动子功能。进一步的研究,如启动子核心序列的鉴定、反式作用因子的筛选及验证等则需要进行后续试验。

#### 参考文献:

[1] Edstam M M, Viitanen L, Salminen T A. Evolutionary history of the Non - Specific lipid transfer proteins [J]. *Molecular Plant*, 2011, 4 (6): 947 - 964.

[2] Kader J C. Lipid - transfer proteins in plants [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996, 47(1): 627 - 654.

[3] Smith L J, Roby Y, Allison J R, et al. Molecular dynamics simulations

of barley and maize lipid transfer proteins show different ligand binding preferences in agreement with experimental data [J]. *Biochemistry*, 2013, 52(30): 5029 - 5038.

- [4] Edstam M M, Laurila M, Höglund A, et al. Characterization of the GPI - anchored lipid transfer proteins in the moss *Physcomitrella patens* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 75: 55 - 69.
- [5] Yeats T H, Rose J K. The biochemistry and biology of extracellular plant lipid - transfer proteins (LTPs) [J]. *Protein Science*, 2008, 17 (2): 191 - 198.
- [6] Kader J C, Julienne M, Vergnolle C. Purification and characterization of a spinach - leaf protein capable of transferring phospholipids from liposomes to mitochondria or chloroplasts [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1984, 139(2): 411 - 416.
- [7] Fan Y, Du K, Gao Y, et al. Transformation of *LTP* gene into *Brassica napus* to enhance its resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Russian Journal of Genetics*, 2013, 49(4): 380 - 387.
- [8] Orellana S, Yanez M, Espinoza A, et al. The transcription factor SIAREB1 confers drought, salt stress tolerance and regulates biotic and abiotic stress - related genes in tomato [J]. *Plant Cell and Environment*, 2010, 33(12): 2191 - 2208.
- [9] Yang Z B, Eticha D, Rotter B, et al. Physiological and molecular analysis of polyethylene glycol - induced reduction of aluminium accumulation in the root tips of common bean (*Phaseolus vulgaris*) [J]. *New Phytologist*, 2011, 192(1): 99 - 113.
- [10] Zou H W, Tian X H, Ma G H, et al. Isolation and functional analysis of *ZmLTP3*, a homologue to arabidopsis *LTP3* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(3): 5025 - 5035.
- [11] Zou H W, Wu Z Y, Yang Q, et al. Gene expression analyses of ZmPti1, encoding a maize Pti - like kinase, suggest a role in stress signaling [J]. *Plant Science*, 2006, 171(1): 99 - 105.
- [12] Zou H W, Wu Z Y, Zhang X H, et al. Over - expression of *ZmPti1*, a homologue to *Pti1*, increases salt tolerance of *Arabidopsis thaliana* [J]. *African Journal of Biology*, 2010, 9(5): 656 - 662.
- [13] Gross J, Stein R J, Fett - Neto A G, et al. Iron homeostasis related genes in rice [J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2003, 26(4): 477 - 497.