

胡喜贵,吴晓军,姜小苓,等. 乌拉尔图小麦 *PBF* 基因克隆及其序列分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(13):22–26.  
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2018.13.005

# 乌拉尔图小麦 *PBF* 基因克隆及其序列分析

胡喜贵, 吴晓军, 姜小苓, 王玉泉, 李 淦, 胡铁柱, 茹振钢

(河南省现代生物育种协同创新中心/河南科技学院小麦研究中心,河南新乡 453003)

**摘要:**醇溶蛋白盒结合因子(prolamin-box binding factor, PBF)是胚乳组织特异的基因表达调控因子,主要调控籽粒蛋白基因表达效率进而影响面粉的加工品质。本研究采用同源克隆方法从 2 份乌拉尔图小麦(*Triticum urartu* Tum.)中克隆得到 2 个 *PBF* 基因(GenBank 登录号分别为 MF547409 和 MF547410)。与已报道不同来源 *PBF* 基因比对分析发现,乌拉尔图小麦 *PBF* 存在丰富变异位点,高达 45 个单核苷酸多态性位点(SNPs)。其推导的 *PBF* 蛋白具有典型 DOF 结构特征,存在 22 个氨基酸变异位点,尤其第 22 位 A→S 和第 23 位 G→A 变异形成特有酪氨酸激酶 II 磷酸化位点(CK2-phospho-site)。该结果表明乌拉尔图小麦 *PBF* 基因具有较高遗传多样性,也暗示了氨基酸变异位点可能对其 PBF 蛋白的调控功能产生影响。同时,聚类分析显示乌拉尔图小麦与普通小麦的 *PBF* 蛋白聚在 1 个亚组,进一步证实了二者亲缘关系较近。

**关键词:**乌拉尔图小麦;*PBF* 基因;序列分析;单核苷酸多态性位点(SNPs)

**中图分类号:** S512.1;S330 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2018)13–0022–04

DOF(DNA-binding with one finger)蛋白是植物特有的一类转录因子,在植物生长发育过程中起着重要作用<sup>[1]</sup>。DOF 蛋白一般由 200~400 个氨基酸组成,包括 2 个主要结构域:N-端 DNA 结合高度保守结合域(DOF Domain)和 C-端转录调控域<sup>[2]</sup>。醇溶蛋白盒结合因子(prolamin-box binding factor, PBF)属于 DOF 蛋白家族之一,是胚乳组织特异的基因表达调控因子,主要调控作物籽粒中贮藏蛋白基因表达,最终影响贮藏蛋白的积累量<sup>[3]</sup>。目前已在玉米、水稻、大麦等禾本科作物中,广泛开展了 PBF 基因调控功能研究<sup>[4–6]</sup>。Mena 等利用大麦 *PBF* 基因同源性,首次克隆出小麦 *PBF* 编码基因<sup>[5]</sup>。该基因被定位于普通小麦(*Triticum aestivum* L., AABBDD, 2n=6x=42)的第 5 号同源群(5A、5B 和 5D)的着丝粒附近,并在小麦胚乳的整个发育过程中持续表达<sup>[7]</sup>。

普通小麦是异源多倍体物种的一个典型代表,其 A、B 和 D 染色体组分别由乌拉尔图小麦(*Triticum urartu* Tum. AA, 2n=2x=14)、拟斯卑尔脱山羊草(*Aegilops speltoides* Tausch. SS, 2n=2x=14)和节节麦(*Aegilops Tauschii* Coss. DD, 2n=2x=14)提供<sup>[8–12]</sup>。由于异源多倍化以及长期驯化的过程,现代普通小麦的遗传多样性较其祖先种大大降低<sup>[13]</sup>。Ravel 等对 27 个普通小麦研究证实,普通小麦的 *PBF* 等位基因(*wPBF-A*、*wPBF-B* 和 *wPBF-D*)多样性较低<sup>[14]</sup>。因此,发掘普通小麦祖先种 *PBF* 基因的种质资源,将对小麦品质改

良具有重要意义。截至目前,节节麦 *PBF* 基因已有报道<sup>[15]</sup>,但其他 2 个祖先种的 *PBF* 基因尚未见报道。本研究拟对 2 份乌拉尔图小麦材料进行 *PBF* 基因克隆并分析其序列结构特征,以期为进一步研究乌拉尔图小麦 *PBF* 基因调控功能、改良普通小麦品质等奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验 2 份乌拉尔图小麦材料(*Triticum urartu* Tum.) PI428225(土耳其)和 PI428269(黎巴嫩),均由美国种质资源库(National Genetic Resources Program, NPGS)馈赠,经河南科技学院小麦中心繁殖并保存。

### 1.2 引物设计

根据 NCBI 数据库中乌拉尔图小麦 G1812 的全基因组鸟枪法测序数据(登录号:KD091395),设计 1 对覆盖 *PBF* 基因完整编码区的特异性引物:*PBF-F*(5'-ATTCGATATGTGTGTACACATGT-3')和 *PBF-R*(5'-TCTTGCACCTTACATCAGGGAG-3'),其引物由 Thermo Fisher Scientific Invitrogen™ 公司合成。

### 1.3 基因克隆与测序

2 份乌拉尔图小麦材料进行室温发苗,培养 7 d 左右,取幼嫩叶片备用。参照 Yan 等的 2×CTAB 方法<sup>[16]</sup>,提取基因组总 DNA。采用高保真 TransStart® Fast Pfu DNA 聚合物(TransGen Biotech, 中国北京)进行 *PBF* 基因扩增。其 PCR 扩增程序:95℃ 5 min;95℃ 40 s, 58℃ 30 s, 72℃ 1 min, 30 个循环;72℃ 5 min, 4℃ 保存。扩增产物用 1.0% 琼脂糖进行电泳分离,切取目的条带,经 PUEX Gel DNA 回收试剂盒(Bioche, 中国北京)纯化,与 pEASY 克隆载体(pEASY®-Blunt Zero Cloning Kit, TransGen Biotech, 中国北京)连接。经转化、筛选、挑取 3 个阳性克隆,送华大基因公司(BGI, 中国深圳)测序。

收稿日期:2017–11–15

基金项目:国家重点研发计划(编号:2017YFD0100705);河南省科技攻关项目(编号:162102110060);河南省新乡市科技重大专项(编号:ZD17005);河南科技学院引进高层次人才科研启动项目(编号:201010613001)。

作者简介:胡喜贵(1981—),男,河北沧州人,博士,讲师,主要从事小麦品质育种研究。E-mail: xiguihu@126.com。

通信作者:茹振钢,教授,硕士生导师,主要从事小麦育种与杂种优势利用研究。E-mail: rzgh58@163.com。

#### 1.4 序列分析

经测序分析,获得乌拉尔图小麦 *PBF* 基因 DNA 序列。利用 NCBI 的 Blastn 工具进行在线序列比对,判断其属性。同时,搜索与其同源的核苷酸及氨基酸序列。利用 DNAMAN (Ver. 7.0) 进行多序列比对处理, DNASP (Ver. 5. 10. 01) 分析序列的多态性位点; 利用 NLStradamus (<http://www.moseslab.csb.utoronto.ca/NLStradamus/>) 和 MyHits (<http://myhits.isb-sib.ch/>) 分别进行蛋白核定位信号和翻译后修饰位点在线预测。运用 MEGA Ver 4.0 中的邻接法 (neighbor joining method, NJ) 构建聚类树。

## 2 结果与分析

#### 2.1 乌拉尔图小麦 *PBF* 基因克隆

利用设计引物 *PBF*-F 和 *PBF*-R 对 2 份乌拉尔图小麦 PI428225 和 PI428269 的基因组 DNA 进行 PCR 扩增,其扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳,2 份材料均扩增出长度为 1 000 bp 左右的单一条带(图 1)。将目的片段回收、纯化,连接到 *pEASY* 克隆载体上,经测序分析后,2 份材料的条带核苷酸序列长 993 bp,对应 GenBank 数据库登录号为 MF547409 (PI428225) 和 MF547410 (PI428269)。

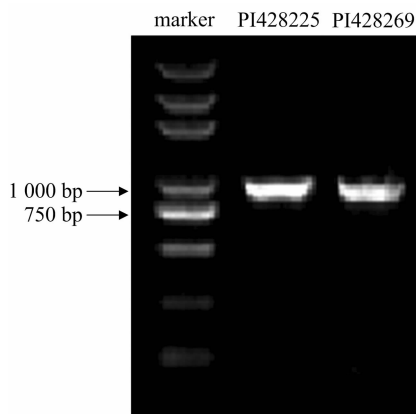


图1 PCR扩增乌拉尔图小麦 *PBF* 基因

#### 2.2 乌拉尔图小麦 *PBF* 基因核酸序列比对分析

利用 DNAMAN 软件进行序列多重比对,表明,本研究克隆乌拉尔图小麦得到 2 个 *PBF* 基因的核苷酸序列 (MF547409 和 MF547410), 与已报道乌拉尔图小麦 (EMS61761)、节节麦 (KJ544771 和 KJ544772) 和普通小麦中国春 (KC849701、KC849702 和 KC849703) 的 *PBF* 基因具有相同的长度 (993 bp), 一致性高达 97.35%。但是,相比不同来源 *PBF* 基因序列分析发现,乌拉尔图小麦 *PBF* 存在丰富变异位点,高达 45 个单核苷酸多态性位点 (SNPs) (图 2)。在 45 个 SNPs 中,30 个转换 (transitions) 位点包括 18 个 G→A (90、312、423、441、444、462、463、489、504、648、708、718、768、827、857、883、926、951) 和 12 个 C→T (271、313、392、502、513、578、614、654、687、735、861、888), 15 个颠换 (transversions) 位点包括 3 个 T→A (14、573、590)、3 个 T→G (64、635、800) 和 9 个 C→G (68、285、336、366、713、794、891、911、980)。

对乌拉尔图小麦 3 个 *PBF* 基因的核苷酸序列比较分析发现,共存在 6 个突变位点。其中,已报道的 EMS61761 序列

中有 4 个位点,分别是第 59、第 249 位点的 C→T、第 393 位点 A→T、第 514 位点 G→A; 本研究的 MF547410 序列中仅存在 2 个位点,是第 825、第 938 位点的 C→T。可见,乌拉尔图小麦的 *PBF* 基因是相对保守的。

#### 2.3 乌拉尔图小麦 *PBF* 基因氨基酸序列比对分析

对根据乌拉尔图小麦、节节麦和普通小麦中国春的 *PBF* 基因推导的氨基酸序列进行比较发现,它们具有相同长度 330 个氨基酸 (aa), 并具有相似的结构特征,均含有蛋白核定位信号保守序列 KKPR (NLS core), N-端保守的 DOF 结构域 (DOF domain), C-端可变的调控区域具有典型的富天冬酰胺 (asparagine-rich) 序列特征,以及连接 N-端结构域和 C-端调控域的丝氨酸残基链 (ser hinge) (图 3)。但相比节节麦、普通小麦中国春的 *PBF* 氨基酸序列,乌拉尔图小麦 *PBF* 氨基酸序列发现 22 个氨基酸变异位点 (图 3), 主要归因于核苷酸序列上碱基的替换 (转换和颠换) (图 2)。其中,7 个变异位点 (5、22、23、91、95、105、131) 分布于 N-端 DOF 结构域之外; 15 个变异 (155、193、197、205、212、238、240、265、267、276、286、295、304、309、327) 分布于 C-端调控区域。

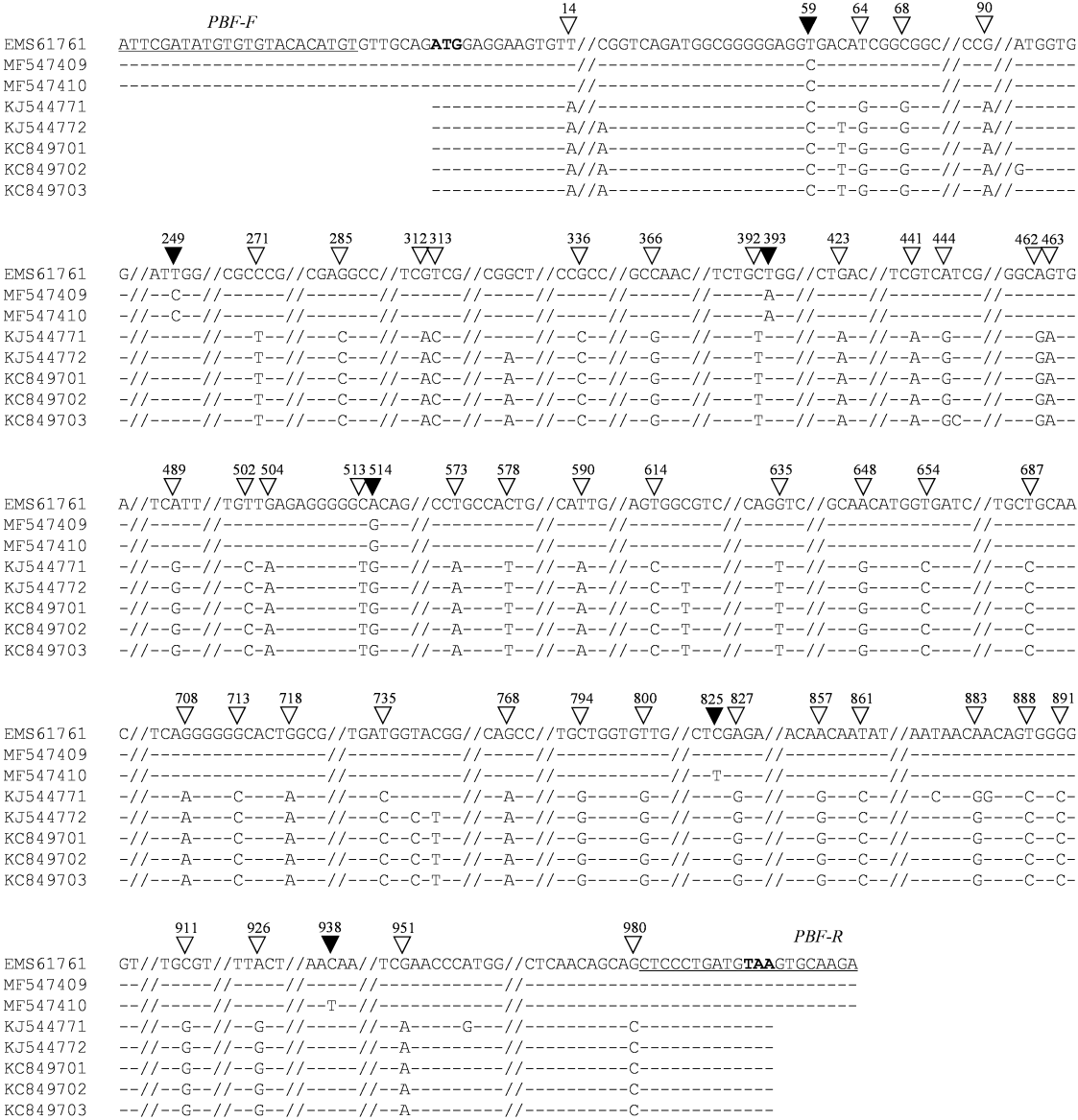
MyHits 分析 *PBF* 氨基酸序列,共存在 3 种类型的修饰位点,其中, N-端糖基化位点 (ASN-glycosylation site) 均有 4 个,1 个位于 N-端保守的 DOF 结构域,其余 3 个集中分布于 C-端调控区域末端; 酪氨酸激酶 II 磷酸化位点 (CK2-phospho-site) 均有 5~6 个,分布于整条 *PBF* 氨基酸序列上; 蛋白激酶 C 磷酸化位点 (PKC-phospho-site) 均有 2 个,分别位于 N-端保守的 DOF 结构域和 C-端富天冬酰胺区域。进一步分析发现,乌拉尔图小麦 *PBF* 氨基酸序列存在特有 1 个酪氨酸激酶 II 磷酸化位点 (CK2-phospho-site), 该位点因第 22、第 23 位点 2 个氨基酸变异 (A→S 和 G→A) 形成,这一特征显著区别其他来源序列 (图 3)。

#### 2.4 聚类分析

NCBI 数据库中有 17 个 *PBF* 序列: 普通小麦中国春, KC849701、KC849702 和 KC849703; 节节麦, KJ544771 和 KJ544772; 乌拉尔图小麦, EMS61761; 黑麦 (*Secale cereale*), KJ747373 ~ KJ747377; 大麦 (*Hordeum vulgare*), AJ000991 和 AK375168; 玉米 (*Zea mays*), BT035326 和 BT062957; 水稻 (*Oryza sativa*), AF480496 和 CM000127 和本研究的 2 个乌拉尔图小麦 *PBF* 序列构建的聚类树 (图 4), 19 个 *PBF* 序列被清晰地分成 2 组 (Group I 和 Group II)。在第 1 组 (Group I) 中, 15 个 *PBF* 序列被进一步分为 3 个亚组,即来源于大麦 *PBF* 亚组、来源于黑麦 *PBF* 亚组、来源于普通小麦及供体祖先种 (节节麦和乌拉尔图小麦) *PBF* 亚组。

## 3 讨论与结论

Ravelc 等对 27 个普通小麦 *PBF* 基因研究发现, *wPBF-A*、*wPBF-B*、*wPBF-D* 等位基因分别存在 1、5、1 个单核苷酸多态性位点 (SNPs), 其结果表明普通小麦中 *PBF* 基因遗传多样性较低<sup>[14]</sup>。本研究从 2 份乌拉尔图小麦材料克隆出 *PBF* 基因 (MF547409 和 MF547410) 核苷酸序列与 NCBI 数据库中乌拉尔图小麦 *PBF* 基因序列 (EMS61761) 具有较高一致性,仅存在 6 个突变位点。然而,相比节节麦和普通小麦中国春 *PBF* 基因,乌拉尔图小麦 *PBF* 存在丰富变异位点,高达 45



乌拉尔图小麦: EMS61761、MF547409 和 MF547410; 节节麦: KJ544771 和 KJ544772; 普通小麦中国春: KC849701、KC849702 和 KC849703; 双斜线和短横线表示一致的序列; 带下划线核苷酸序列表示引物序列 (*PBF-F* 和 *PBF-R*); 加粗核苷酸字母分别表示起始和终止密码子; 带数字的空心箭头表示乌拉尔图小麦与其他物种的 PBF 核苷酸多态性 (SNPs) 的位置; 带数字的实心箭头表示乌拉尔图小麦之间的 PBF 核苷酸多态性 (SNPS) 的位置

图2 乌拉尔图小麦与已报道 *PBF* 基因核苷酸序列的比较分析

个单核苷酸多态性位点 (SNPs) (图 2), 表明乌拉尔图小麦 *PBF* 基因具有较高遗传多样性。聚类分析显示, 来源于乌拉尔图小麦与普通小麦的 *PBF* 聚在 1 个亚组 (图 4), 证实了二者亲缘关系较近<sup>[10]</sup>。同时, 又进一步印证了 *PBF* 蛋白在物种间存在差异且亲缘关系越远, 其差异越大, 即 *PBF* 蛋白表现为种属特异性<sup>[15]</sup>。

DOF 是植物特有的转录因子家族, 典型的 DOF 蛋白由 200 ~ 400 个氨基酸组成, 其 N-端有高度保守的 DOF 结构域和 C-端转录调控域<sup>[1-2]</sup>。DOF 蛋白能够特异地识别并结合真核生物基因启动子区域的顺式作用元件, 如 CCN4-like (GLM)、醇溶蛋白盒 (prolamin box, PB)、5'-AACA/TA-3' 基序等, 从而激活或抑制基因转录<sup>[17]</sup>。DOF 结构域外的氨基酸对识别能力没有影响, 但核心序列之外的侧翼序列对 DOF

蛋白与 DNA 结合特性有一定的影响<sup>[18]</sup>。C-端转录调控域可接受不同信号途径的调控, 与不同类型调控蛋白相互作用激活或抑制基因的转录<sup>[1]</sup>。可见, DOF 蛋白中氨基酸序列变异可导致其功能多样性。已有研究表明, 普通小麦 wPBF 与小麦醇溶蛋白、麦谷蛋白中的顺式作用元件 PB 特异结合, 参与这 2 类贮藏蛋白基因的表达调控<sup>[19-20]</sup>。本研究推导的乌拉尔图小麦 *PBF* 蛋白与来源节节麦、普通小麦中国春 *PBF* 蛋白序列对比发现, 所有 *PBF* 蛋白均具有 DOF 典型结构特征。然而, 乌拉尔图小麦 *PBF* 蛋白序列存在 22 个氨基酸变异位点: 7 个位于 N-端 DOF 结构域之外和 15 个位于 C-端调控区域, 其中 2 个氨基酸变异 (第 22 位点, A→S; 第 23 位点, G→A) 形成了乌拉尔图小麦特有酪氨酸激酶 II 磷酸化位点。这些氨基酸变异位点可能对乌拉尔图小麦 *PBF* 蛋白的调控

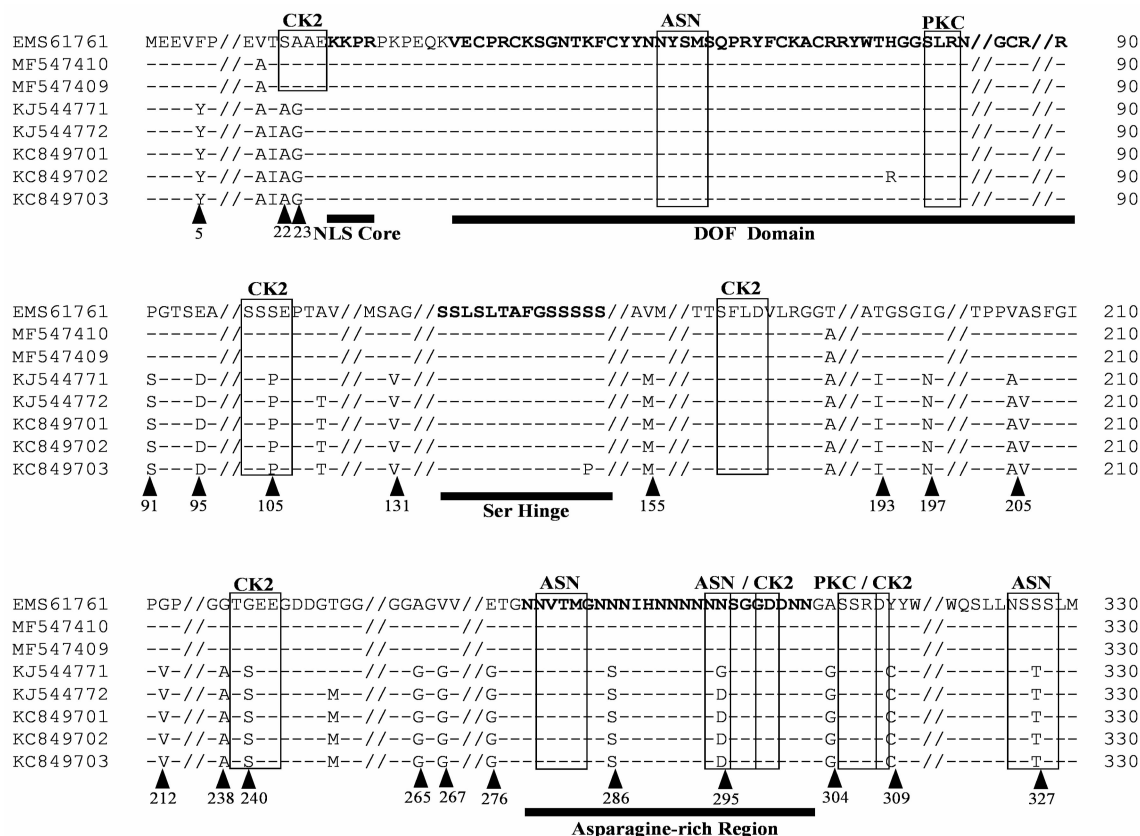


图3 乌拉尔图小麦与已报道 *PBF* 基因的推导氨基酸序列的比较分析

乌拉尔图小麦: EMS61761、MF547409和MF547410; 节节麦: KJ544771和KJ544772; 普通小麦中国春: KC849701、KC849702和KC849703; 双斜线和短横线表示一致的序列; 实心长方形区域分别表示蛋白质核定位信号保守序列、N-端保守的DOF结构域、C-端可变的调控区域具有典型的富天冬酰胺序列特征和丝氨酸残基链; ASN、CK2和PKC分别表示N端糖基化位点、酪氨酸激酶II磷酸化位点、蛋白激酶C磷酸化位点; 带数字的实心箭头表示乌拉尔图小麦与其他物种的PBF序列氨基酸变异位点

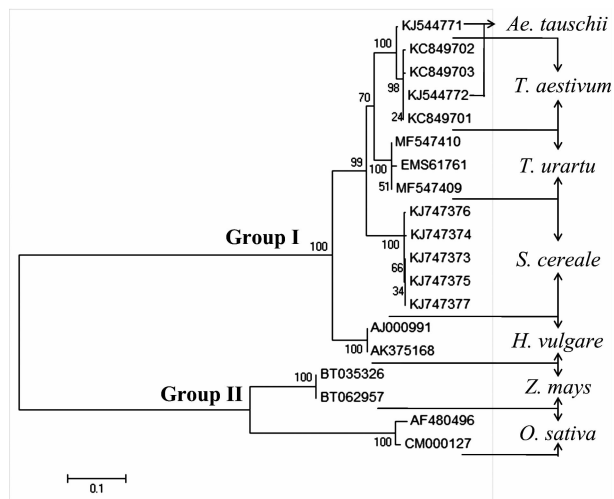


图4 *PBF* 蛋白序列的聚类分析

功能产生影响, 仍须进一步功能研究证实。综上所述, 本研究为进一步研究乌拉尔图小麦 *PBF* 基因的相关特性、后续特异标记开发、功能分析等奠定基础。

#### 参考文献:

[1] 蔡晓峰, 张余洋, 张俊红, 等. 植物 *Dof* 基因家族功能研究进展

[J]. 植物生理学报, 2013, 49(1): 1-12.

- [2] Yanagisawa S. *Dof* domain proteins: plant - specific transcription factors associated with diverse phenomena unique to plants[J]. Plant and Cell Physiology, 2004, 45(4): 386-391.
- [3] Müller M, Muth J R, Gallusci P, et al. Regulation of storage protein synthesis in cereal seeds; developmental and nutritional aspects[J]. Journal of Plant Physiology, 1995, 145(6): 606-613.
- [4] Vicente - Carbajosa J, Moose S P, Parsons R L, et al. A maize zinc - finger protein binds the prolamin box in zein gene promoters and interacts with the basic leucine zipper transcriptional activator Opaque2[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94(14): 7685-7690.
- [5] Mena M, Vicente - Carbajosa J, Schmidt R J, et al. An endosperm - specific DOF protein from barley, highly conserved in wheat, binds to and activates transcription from the prolamin - box of a native B - hordein promoter in barley endosperm[J]. The Plant Journal, 1998, 16(1): 53-62.
- [6] Kawakatsu T, Takaiwa F. Differences in transcriptional regulatory mechanisms functioning for free lysine content and seed storage protein accumulation in rice grain[J]. Plant and Cell Physiology, 2010, 51(12): 1964-1974.
- [7] 牛静勇, 陈占宽, 贺浩华. 小麦醇溶 - 谷蛋白盒结合因子基因表达特性的研究[J]. 麦类作物学报, 2009, 29(6): 941-946.

张校立,艾沙江·买买提,徐叶挺,等. 6 个新疆地方梨品种 S 基因型鉴定[J]. 江苏农业科学,2018,46(13):26–28.  
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2018.13.006

## 6 个新疆地方梨品种 S 基因型鉴定

张校立,艾沙江·买买提,徐叶挺,许娟,邓莉,王继勋

(新疆农业科学院园艺作物研究所/农业部新疆地区果树科学观测试验站,新疆乌鲁木齐 830091)

**摘要:**通过对新疆地方梨品种 S 基因型的鉴定,为库尔勒香梨授粉品种的筛选提供理论依据,并以期丰富我国梨品种 S 基因型信息。设计特异性引物对 6 个新疆地方梨品种的基因组 DNA 进行 PCR 扩增,片段回收、克隆、测序。使用生物信息学软件对各序列进行分析,确定 6 个新疆地方梨品种 S 基因型分别为:褐色句句梨 S28S4、霍城冬黄梨 S28S4、八月梨 S28S4、库尔勒黄酸梨 S22S35、奎克阿木特 2 号 S4S16、也历克阿木特 S18S12。6 个新疆地方梨品种 S 基因型鉴定,增加了我国 6 个新疆梨品种的 S 基因型信息;可为库尔勒香梨授粉筛选新疆地方梨品种提供理论依据。

**关键词:**新疆地方梨品种;S 基因型;自交不亲和性

**中图分类号:** S661.201 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2018)13–0026–03

新疆地方梨品种属于新疆梨系统。新疆梨系统是梨五大栽培系统之一,代表品种是著名的库尔勒香梨(*Pyrus bretschneideri* Rehd)。库尔勒香梨维吾尔语名乃西米提或乃西普提,蒙古语名为开登木,原产新疆库尔勒地区,在新疆已有 1 400 多年的栽培历史,其果实香味浓郁、皮薄肉脆、清甜

爽口、细嫩多汁、耐贮藏性强,是新疆名特优果品之一。截至 2016 年,库尔勒香梨种植面积达 7.39 万  $\text{hm}^2$ ,产量达 128.04 万  $\text{t}^{[1]}$ ,香梨产业已成为库尔勒地区的主导产业。库尔勒香梨自交不亲和,S 基因型为 S22S28<sup>[2]</sup>,自交结实率低,需要配置授粉品种,但不同的授粉品种会对香梨果实产生显著的花粉直感效应,突出表现为不同花粉授粉后果实萼片脱落或宿存,萼片脱落后的幼果发育成为“母梨”,萼片宿存的幼果发育成为“公梨”,二者不但外在品质果形上差异很大,而且内在品质和口感上也差异明显,市场价格差异非常显著。徐胜利等研究表明,选择新疆梨作为授粉品种能够明显改善香梨果形和果实品质<sup>[3]</sup>。鉴定新疆地方梨品种 S–等位基因对库尔勒香梨合理授粉品种的选配具有重要的理论意义。梨自交不亲和性基因的研究始于 20 世纪 50 年代,国外最早研究的

收稿日期:2017–12–02

基金项目:新疆农业科学院青年科技基金(编号:xjnkq–2015024);  
新疆自治区公益性科研院所基本科研业务经费(编号:KYG2016118)。

作者简介:张校立(1981–),男,河南上蔡人,硕士,助理研究员,研究方向为梨遗传育种与栽培。E-mail:Zhangxiaoli2002@126.com  
通信作者:王继勋,研究员,研究方向为果树资源与育种。E-mail:924101849@qq.com。

- [8] McFadden E S, Sears E R. The origin of *Triticum spelta* and its free – threshing hexaploid relatives[J]. The Journal of Heredity, 1946, 37 (3): 81–107.
- [9] Kimber G. A reassessment of the origin of the polyploid wheats[J]. Genetics, 1974, 78(1): 487–492.
- [10] Dvořák J, McGuire P E, Cassidy B. Apparent sources of the A genomes of wheats inferred from polymorphism in abundance and restriction fragment length of repeated nucleotide sequences[J]. Genome, 1988, 30(5): 680–689.
- [11] Lafiandra D, Masci S, D’ovidio R, et al. Relationship between the D genome of hexaploid wheats (AABBDD) and *Ae. squarrosa* as deduced by seed storage proteins and molecular marker analyses[J]. Hereditas, 1992, 116(3): 233–238.
- [12] Salse J, Chagué V, Bolot S, et al. New insights into the origin of the B genome of hexaploid wheat: evolutionary relationships at the SPA genomic region with the S genome of the diploid relative *Aegilops speltoides*[J]. BMC Genomics, 2008, 9(1): 555.
- [13] Cox T S. Deepening the wheat gene pool[J]. Journal of Crop Production, 1998, 1(1): 1–25.
- [14] Ravel C, Nagy I J, Martre P, et al. Single nucleotide polymorphism, genetic mapping, and expression of genes coding for the DOF wheat

prolamin – box binding factor[J]. Functional and Integrative Genomics, 2006, 6(4): 310–321.

- [15] 强琴琴,杨帆,陈其皎,等. 节节麦 *pb1f* 基因的克隆、序列分析及原核表达[J]. 麦类作物学报, 2014, 34(6): 727–734.
- [16] Yan Z H, Wan Y F, Liu K F, et al. Identification of a novel HMW glutenin subunit and comparison of its amino acid sequence with those of homologous subunits[J]. Chinese Science Bulletin, 2002, 47(3): 222–227.
- [17] Wray G A, Hahn M W, Abouheif E, et al. The evolution of transcriptional regulation in eukaryotes[J]. Molecular Biology and Evolution, 2003, 20(9): 1377–1419.
- [18] Yanagisawa S, Schmidt R J. Diversity and similarity among recognition sequences of *Dof* transcription factors[J]. The Plant Journal, 1999, 17(2): 209–214.
- [19] Dong G, Ni Z, Yao Y, et al. Wheat *Dof* transcription factor *WPBF* interacts with *TaQM* and activates transcription of an alpha – gliadin gene during wheat seed development[J]. Plant Molecular Biology, 2007, 63(1): 73–84.
- [20] 卫晓彬,王亚楠,张超,等. 小麦 *WPBF* 与高分子量谷蛋白基因上游 Prolamin – Like box 的特异结合[J]. 中国农业科学, 2012, 45(1): 7–15.