

徐玉伟, 印敬明, 白 潇, 等. 马铃薯 *StPYL1* 和 *StPYL8* 基因的分子克隆与表达分析[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(1): 23-31.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.01.004

## 马铃薯 *StPYL1* 和 *StPYL8* 基因的分子克隆与表达分析

徐玉伟, 印敬明, 白 潇, 史 珂, 杨 清

(南京农业大学生命科学院, 江苏 南京 210095)

**摘要:** PYL(Pyrabactin resistance like)是最新发现的一种 ABA 受体蛋白,在 ABA 信号转导过程中起着重要的作用。本研究采用 RT-PCR 方法从马铃薯品种 Désirée 中克隆 *StPYL1* 和 *StPYL8* cDNA 序列(GenBank 登录号:KJ660844、KJ660845)。*StPYL1* cDNA 开放阅读框长度为 696 bp,编码一个由 231 个氨基酸残基组成的蛋白;*StPYL8* cDNA 开放阅读框长度为 561 bp,编码一个由 186 个氨基酸残基组成的蛋白。结构分析显示:*StPYL1* 蛋白含有 3 个  $\alpha$  螺旋、3 个  $\beta$  折叠;*StPYL8* 蛋白含有 2 个  $\alpha$  螺旋、4 个  $\beta$  折叠;二者均含有 START-like 结构域;蛋白三级结构比较显示,*StPYL1* 与拟南芥 AtPYL1 相似,*StPYL8* 与拟南芥 AtPYL9 相似。系统进化树分析发现,*StPYL1* 与苜蓿 MtPYR1、*StPYL8* 与拟南芥 AtPYL8 亲缘关系较近。组织表达分析结果表明,*StPYL1* 和 *StPYL8* 在茎叶中均有表达,*StPYL1* 在茎中表达最高,*StPYL8* 在叶中表达强于茎。*StPYL1* 和 *StPYL8* 在马铃薯块茎中都有所表达,但整个块茎发育阶段 *StPYL8* 表达量高于 *StPYL1*。外源 ABA 处理诱导 *StPYL1* 和 *StPYL8* 上调表达,盐和干旱胁迫对 *StPYL8* 表达的影响大于对 *StPYL1* 的影响。

**关键词:** 马铃薯; *StPYL1*; *StPYL8*; 克隆; 表达

**中图分类号:** S532.03      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-4440(2015)01-0023-09

## Molecular cloning and expression analysis of potato *StPYL1* and *StPYL8* genes

XU Yu-wei, YIN Jing-ming, BAI Xiao, SHI Ke, YANG Qing

(College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** PYL(Pyraabaction resistance like) identified in recent research is a novel abscisic acid receptor and plays important roles in ABA responses. Two ABA receptor genes, designated as *StPYL1* and *StPYL8*, were isolated from potato Désirée (*Solanum tuberosum*) by RT-PCR (GenBank accession numbers:KJ660844 and KJ660845). The ORF of *StPYL1* is 696 bp long and encodes a putative protein of 231 amino acids. The ORF of *StPYL8* is 561 bp long and encodes a putative protein of 186 amino acids. Protein secondary structure prediction analysis shows that protein *StPYL1* has 3  $\alpha$ -helices and 3  $\beta$ -strands and *StPYL8* is composed of 2  $\alpha$ -helices and 4  $\beta$ -strands. They all have a START-like domain. The 3D structure comparison indicated that *StPYL1* and *StPYL8* shared high similarities with AtPYL1 and AtPYL9, respectively. Evolutionary analysis revealed that *StPYL1* had the nearest genetic relationship with MtPYR1 and *StPYL8* had the nearest genetic relationship with AtPYL8. Analysis of mRNA level exhibited that *StPYL1* and *StPYL8* were expressed in the stem and leaves. *StPYL1* was expressed more in stem and *StPYL8* higher in leaves. The expression level of *StPYL8* was greater during the whole tuberization than *StPYL1*. Both *StPYL1* and *StPYL8* genes were upregulated by exogenous ABA treatment. *StPYL8* gene was upregulated under salinity and drought stresses, however *StPYL1* was less affected.

**Key words:** potato; *StPYL1*; *StPYL8*; cloning; expression

收稿日期:2014-04-16

作者简介:徐玉伟(1986-),男,河南信阳人,硕士研究生,主要从事马铃薯块茎发育调控研究。(Tel)18512526695;(E-mail)xuyuwei\_cn@sina.com

通讯作者:杨 清,(E-mail)qyang19@njau.edu.cn

植物激素脱落酸(Abscisic acid, ABA)参与了多个植物生长发育过程,如促进叶、花、果脱落,侧芽生长,块茎休眠以及叶片衰老,抑制种子发芽,植株生长等<sup>[1]</sup>。作为“胁迫激素”,ABA在植物应对生物

胁迫与非生物胁迫过程中也起着关键作用<sup>[2-3]</sup>。在干旱和高盐胁迫下,植物体内 ABA 的含量迅速增加,调节气孔关闭,减少蒸腾,保护光合作用,并调控大量相关基因的表达<sup>[4-5]</sup>。

ABA 信号转导是一个复杂的生物学过程,ABA 受体是 ABA 信号通路最上游的信号调节因子,承担着识别 ABA 信号和启动信号转导原初过程的使命<sup>[6]</sup>。在过去的研究中,一共发现了 4 种 ABA 受体,最先报道的是从蚕豆和拟南芥中分离的叶绿体蛋白 ABAR/CHLH,该蛋白既是 ABA 的受体(ABAR),同时也是镁螯合酶 H 亚基(CHLH),参与叶绿素的合成和质体核反向信号传导<sup>[7-8]</sup>。WRKY 类转录因子负调控 ABA 信号,它能够抑制 *ABI5* 等响应 ABA 的基因在细胞中正常表达<sup>[9]</sup>。ABAR 通过下调 WRKY 类转录因子的表达,消除其对 *ABI5* 等基因的抑制作用,向下释放 ABA 信号,但缺少其能与 ABA 直接结合的结构证据<sup>[10]</sup>。第二种 G 蛋白偶联受体 GCR2,GCR2 是 ABA 在细胞膜上的一种受体<sup>[11]</sup>。对将该蛋白定义为 G 蛋白偶联受体及它在种子发芽和幼苗形态建成过程 ABA 信号转导中的作用一直存有争议<sup>[1]</sup>。第三种 G 蛋白偶联受体 GTG1 和 GTG2,是位于细胞膜上的一类 ABA 受体,最近的药理学和遗传学证据表明 GTG1 和 GTG2 确实参与了 ABA 信号转导<sup>[12]</sup>。尽管上述三种蛋白都被认为是 ABA 受体,并在 ABA 信号转导过程中起着重要作用,但是它们在生理和分子上与重要的信号转导因子如 PP2C 和 SnRK2 等之间的联系是不清楚的。2009 年,Ma 和 Park 两个独立的研究小组分别利用酵母双杂交和筛选突变体方法在拟南芥中筛选出一种新的 ABA 受体 PYR/PYLs/RCARs (Pyrabactin Resistance/Pyrabactin Resistance Likes, PYR/ PYLs, Regulatory Components of ABA Receptors, RCARs, 后面统称 PYLs) 蛋白<sup>[13-14]</sup>。在这种新发现的 ABA 信号转导途径中有 3 种核心组份:ABA 受体 PYLs 蛋白、负调控因子 2C 类蛋白磷酸酶 PP2Cs (Type 2C protein phosphatases) 和正调控因子 SNF1 相关的蛋白激酶 2 *SnRK2s* (Subfamily 2 of SNF1-related kinases),三者共同组成了一个双重负调控系统<sup>[13-15]</sup>。PYL 是一类含有 START (STAR-RELATED LIPID-TRANSFER) 特征区域的蛋白质,并且具有此结构域的蛋白质都含有疏水性的配体结合区,并通过该区域与 ABA 结合。PYL 与 ABA 结合后可抑制 PP2C 活性,以阻止 PP2C 脱去 SnRK2 上的磷酸基团<sup>[16-18]</sup>。然后,有活性的 SnRK2 可磷酸化下游转

录因子,如 ABFs/AREBs 等,通过它们进一步激活 ABA 应答基因<sup>[19-20]</sup>。在拟南芥中 PYL 蛋白家族有 14 个成员,被命名为 PYR1 和 PYL1 ~ PYL13,它们广泛地分布于细胞质和细胞核内。PYL 可以直接与 ABA 结合,但是每个 PYL 家族成员与 ABA 结合的能力以及对 ABA 立体构型的选择性却不完全相同<sup>[21]</sup>。

目前,对 PYL 的研究主要集中在拟南芥、大豆等有限的几种植物及其结构特征上<sup>[13-15,18,22]</sup>,在马铃薯上鲜有相关报道。本研究根据拟南芥与大豆 PYL 序列信息及马铃薯基因组数据库信息设计引物,从马铃薯栽培品种 Désirée 幼苗叶片中克隆 PYL 基因 cDNA,分析该基因的结构特征、亲源关系以及在外源 ABA 处理及两种逆境下的表达模型。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

试验材料为马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 栽培品种 Désirée,由南京农业大学生命科学学院植物分子生物学实验室保存。

Trizol 试剂、PCR 相关试剂、M-MLV 反转录试剂盒、DNaseI 试剂盒及克隆载体 pMD-19T 均购自 TaKaRa 公司;凝胶回收试剂盒购自 Axygen 公司;引物合成由上海英骏生物技术有限公司完成;大肠杆菌 DH5a 为本实验室保存。

### 1.2 基因克隆

首先采用 Trizol 法从组培苗中提取总 RNA,参照 DNaseI 试剂盒说明消除微量 DNA 污染,用反转录试剂盒 (PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit) 合成 cDNA 第 1 链,作为后续 PCR 扩增模板。然后根据已有拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 和大豆 (*Glycine max*) PYL 基因序列,及马铃薯基因组数据库,分别设计出扩增 *StPYL1* 和 *StPYL8* cDNA 全长序列引物: *StPYL1-F* (5'-CCTTCCTCTCTCTATTCTT-3')、*StPYL1-R* (5'-TCACCTGTGACTTACATCAC-3')、*StPYL8-F* (5'-GGTTA-AAAAGTTGGAAATTT-3') 和 *StPYL8-R* (5'-ACAGGATACACCATACACGC-3'),进行 PCR 扩增,扩增程序为:94 °C 5 min;94 °C 40 s, 50 °C 30 s, 72 °C 50 s, 30 个循环;72 °C 10 min。PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶中电泳,按凝胶回收试剂盒说明书回收目的片段,然后将其连接到 pMD19-T 载体,热激法转化大肠杆菌 DH5a,经蓝白斑筛选和 PCR 检测,阳性克隆送华大基因公司进行检测。

### 1.3 生物信息学分析

序列同源性比对由 NCBI 的 BLAST 程序 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>) 进行。开放阅读框预测由 NCBI 的 ORF finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 程序完成。蛋白质一级结构(等电点、分子量)的预测由 ProtParam (<http://www.expasy.org/tools/protparam.html>) 完成。蛋白质二级结构预测由 PSIPRED v3.3 Predict Secondary Structure (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>) 完成。蛋白质序列区域(domains)分析由 InterProScan 4 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/pfa/iprscan/>) 完成。蛋白质三级结构预测由 Swiss Model Server (<http://swissmodel.expasy.org/>) 完成。系统进化树由 Clustalx1.83 和 MEGA5.0 程序构建,采用邻接法(Neighbor Joining Method)作图,重复计算次数设为 1000。氨基酸序列比对和一致性分析使用 DNAMAN 5.2 软件。系统进化树和蛋白质二级结构预测结果编辑由 ESPript 3 (<http://esprict.ibcp.fr/ESPrict/cgi-bin/ESPrict.cgi>) 完成。

### 1.4 基因的表达分析

基因组织表达分析使用大棚内生长材料。在生长期分别取其茎、叶,经液氮速冻后,在  $-70^{\circ}\text{C}$  保存,用于不同组织中基因的表达分析。在采收期分别取马铃薯的起始匍匐茎、延伸匍匐茎、膨大匍匐茎、初始块茎,液氮速冻后,置于  $-70^{\circ}\text{C}$  保存,用于块茎形成过程中的基因表达分析。

外源 ABA 处理、盐胁迫处理、PEG 模拟干旱处理的材料均来自于用 MS 液体培养基培养 45 d 左右的组培苗。外源 ABA 处理:用 20 mmol/L 的 ABA 喷施后 0 h、6 h、12 h、24 h、48 h 和 72 h 取叶样。盐胁迫:用含有 200 mmol/L NaCl 的 MS 培养 0 h、6 h、12 h、24 h、48 h 和 72 h 后取叶样。PEG 模拟干旱处理:用含有 30% PEG-6000 的 MS 培养 0 h、6 h、12 h、24 h、48 h 和 72 h 后取叶样。

采用半定量 RT-PCR 进行基因表达分析,内参基因为 *EF-1 $\alpha$* ,引物分别为 *EF-1 $\alpha$ -F*:5'-ATTCAAG-TATGCCTGGGTGCT-3' 和 *EF-1 $\alpha$ -R*:5'-GTGGTG-GAGTCAATAATGAGGAC-3',PCR 条件为:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min;94  $^{\circ}\text{C}$  40 s,55  $^{\circ}\text{C}$  20 s,72  $^{\circ}\text{C}$  20 s,24 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  10 min。利用引物 *StPYL1* R/F、*StPYL8* R/F 进行半定量 RT-PCR 分别检测基因 *StPYL1* 和 *StPYL8* 在马铃薯不同组织中的表达。PCR 扩增条

件为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min;94  $^{\circ}\text{C}$  40 s,50  $^{\circ}\text{C}$  30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  50 s,28 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

## 2 结果

### 2.1 *StPYL1* 和 *StPYL8* 的克隆及序列分析

以马铃薯 cDNA 第一链为模板,用引物 *StPYL1* R/F; *StPYL8* R/F 分别进行 RT-PCR 扩增,得到两个大小约 750 bp 片段(图 1)。测序显示, *StPYL1* 和 *StPYL8* 长度分别为 718 bp 和 738 bp,基因 *StPYL1* 的 ORF 长度为 696 bp,编码一个由 231 个氨基酸残基组成的蛋白,该蛋白的分子量为 25 280,理论等电点为 5.12; *StPYL8* 基因的 ORF 长度为 561 bp,编码一个由 186 个氨基酸残基组成的蛋白,该蛋白的分子量为 20 790,理论等电点为 6.30。利用在线工具 PSIPRED v3.3 分析蛋白质二级结构,发现 *StPYL1* 蛋白含有 3 个  $\alpha$  螺旋、3 个  $\beta$  折叠, *StPYL8* 蛋白含有 2 个  $\alpha$  螺旋、4 个  $\beta$  折叠(图 2)。InterProScan 4 分析发现, *StPYL1* 和 *StPYL8* 蛋白都含有 START-like 结构域(图 3),利用基于同源建模的分析工具 SWISS-MODEL 进行 3D 结构预测,在提交序列进行模板识别后,从蛋白数据库(PDB)中选择 3nef.1.A 为模板,运用自动同源建模方式,通过 X-射线晶体衍射比较发现, *StPYL1* 与拟南芥 *PYL1* 基因编码 ABA 受体蛋白 3nef (AtPYL1) 相似性为 73.98%<sup>[18]</sup>。同样的方法,以 3oqu.1.A 为模板建模,通过 X-射线晶体衍射比较发现, *StPYL8* 与拟南芥 *PYL9* 基因编码 ABA 受体蛋白 3oqu (AtPYLP) 相似性为 78.79%<sup>[22]</sup>(图 4)。

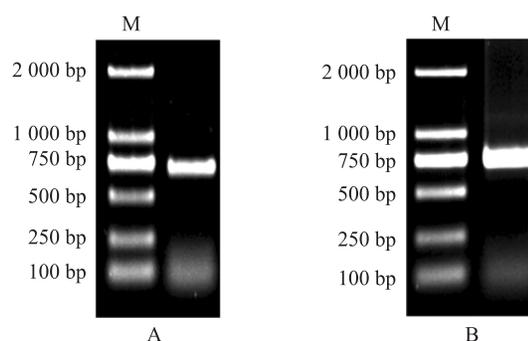
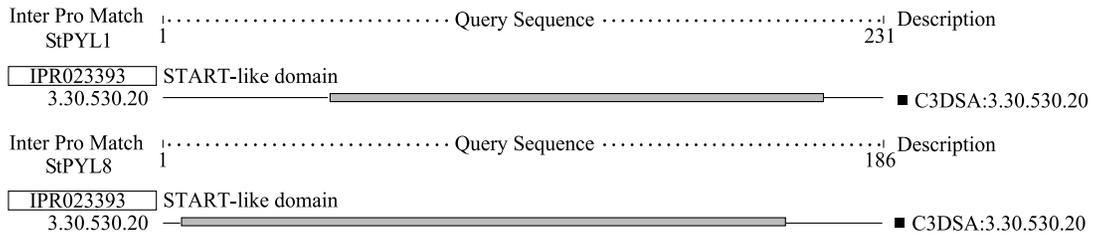
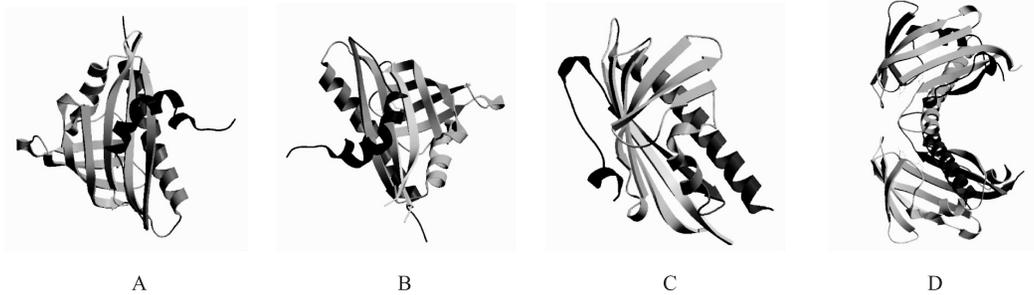


图 1 马铃薯 *StPYL1* (A) 和 *StPYL8* (B) 基因 cDNA 扩增条带  
Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of amplification product of *StPYL1* (A) and *StPYL8* (B) cDNA from potato





图3 马铃薯 *StPYL1* 和 *StPYL8* 结构域分析Fig. 3 Analysis of *StPYL1* and *StPYL8* domains图4 *StPYL1* (A)、*StPYL8* (C)与 *AtPYL1* (B)、*AtPYL9* (D) 三级结构模型Fig. 4 Tertiary structure models of *StPYL1* (A), *StPYL8* (C), *AtPYL1* (B) and *AtPYL9* (D)

*StPYL1* 与 *StPYL8* 蛋白一致性是 37.02%，*StPYL1* 与其他 23 种 *PYL* 的氨基酸序列相似性为 33%~62%，其中与拟南芥 *AtPYL1* 同源性最高。*StPYL8* 与其他 23 种 *PYL* 的氨基酸序列相似性为 37%~72%，其中与苜蓿 *MtPYL9* 同源性最高(图 2)。进化分析结果显示, 24 种 *PYL* 蛋白具有相同的进化起源, *StPYL1* 与苜蓿 *MtPYR1* 进化亲缘关系最近, *StPYL8* 与拟南芥 *AtPYL8* 的进化亲缘关系最近。在拟南芥中, *PYL* 家族被分成 3 个亚家族, 根据这种分类标准, *StPYL1* 和 *StPYL8* 分别属于亚家族 III、亚家族 I<sup>[14-15]</sup>(图 5)。

## 2.2 基因 *StPYL1* 和 *StPYL8* 组织表达分析

利用半定量 RT-PCR 方法检测了马铃薯植株不同部位的 *StPYL1* 和 *StPYL8* mRNA 水平。在茎、叶中, 均能检测到 *StPYL1* 和 *StPYL8* 表达, 但是, *StPYL1* 在茎中表达较为强烈, 且略强于 *StPYL8*, 在叶中有微弱表达; 而 *StPYL8* 在叶中的表达水平高于其在茎的表达水平, 且强于 *StPYL1* 在叶中表达水平。在块茎分化与发育过程中, *StPYL1* 和 *StPYL8* 均有不同程度的表达, 然而, 整个发育过程中 *StPYL8* 表达强于 *StPYL1*; *StPYL1* 在起始匍匐茎中表

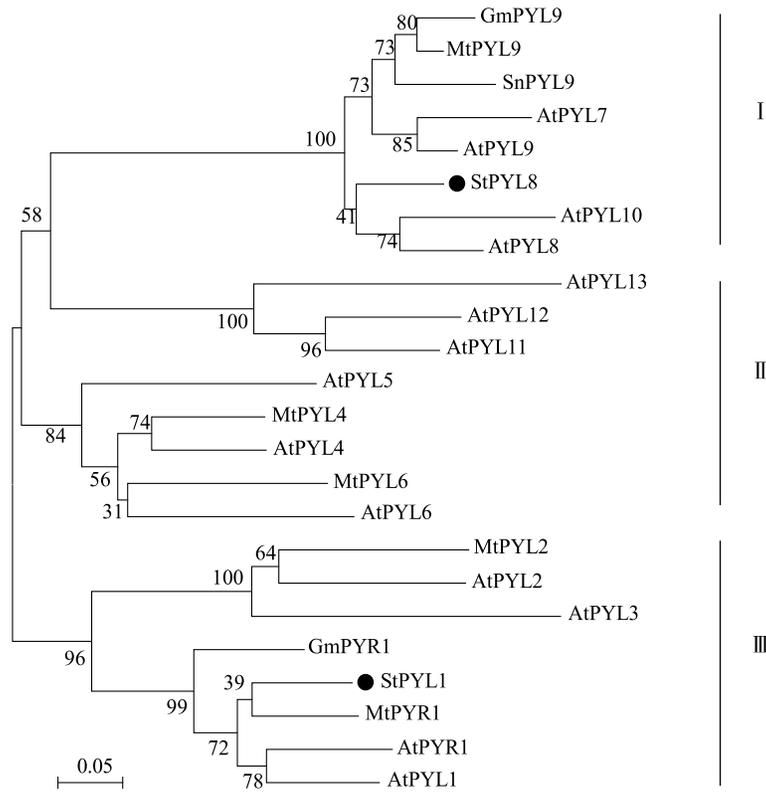
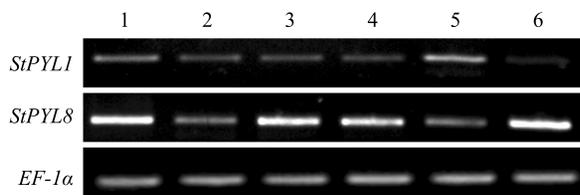
达略强于延伸匍匐茎、膨大匍匐茎和初始块茎; *StPYL8* 在起始匍匐茎、膨大匍匐茎和初始块茎中表达量大于延伸匍匐茎(图 6)。

## 2.3 基因 *StPYL1* 和 *StPYL8* 对外源 ABA、盐胁迫与干旱胁迫的表达响应

外源 ABA 处理以后, *StPYL1* 与 *StPYL8* 表达量均上调, 一段时间后达到峰值, 随后逐渐下降。30% PEG-6000 处理后, 随着时间变化, *StPYL1* 表达量变化不明显, *StPYL8* 表达量逐渐增加, 24 h 达到峰值, 随后表达量逐渐下降。200 mmol/L NaCl 处理后, *StPYL1* 表达量没有发生明显变化, *StPYL8* 基因上调表达, 48 h 表达量达到峰值, 随后下降(图 7)。

## 3 讨论

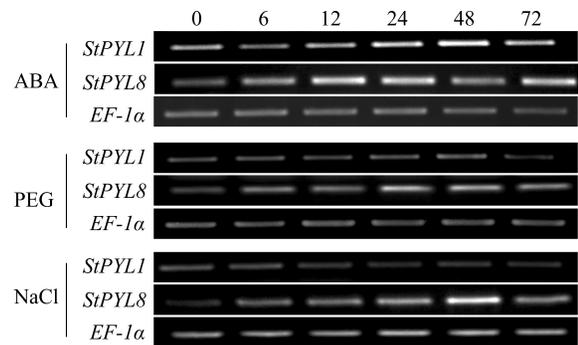
植物内源激素 ABA 具有广泛的生物学功能, 参与植物生长发育各个阶段以及植物应对环境胁迫的分子调控过程。大量的研究表明, *PYL*、*PP2C* 和 *SnRK2* 这 3 种信号组份在 ABA 信号转导途径中相互联系, 共同组成一个双重负调控系统, 通过调节下游的作用元件而形成一条完整的 ABA 信号通路<sup>[13-14, 23]</sup>。根据 *PYL* 蛋白家族在拟南芥中的分类,

图5 *StPYL1* 和 *StPYL8* 的系统发育分析Fig. 5 Phylogenetic analysis of *StPYL1* and *stPYL8*

*StPYL1* 和 *StPYL8* 在不同组织及块茎形成过程中的表达;1:起始匍匐茎;2:延伸匍匐茎;3:膨大匍匐茎;4:初始块茎;5:茎;6:叶。

图6 *StPYL1* 和 *StPYL8* 的组织表达分析Fig. 6 Expression analysis of *StPYL1* and *StPYL8* in different tissues

本试验克隆得到的 *StPYL1* 和 *StPYL8* 两个基因分别属于 III 类和 I 类。进化分析发现 *StPYL1* 与 *MtPYR1*、*StPYL8* 与 *AtPYL8* 有较近的亲缘关系。结构域预测发现 *StPYL1* 与 *StPYL8* 都含有 START-like 结构域,这与已知的 PYL 蛋白结构特点相一致<sup>[13-15,18,22]</sup>。3D 结构预测分析表明,*StPYL1* 与 *At-*

图7 ABA、干旱和 NaCl 处理对 *StPYL1* 和 *StPYL8* 基因表达影响Fig. 7 *StPYL1* and *StPYL8* genes expressions in potato exposed to ABA, drought and NaCl treatments

*PYL1*、*StPYL8* 与 *AtPYL9* 结构相似性较高。上述分析结果都证明 *StPYL1* 和 *StPYL8* 可能是 ABA 受体蛋白。

在组织表达特性上,*StPYL1* 和 *StPYL8* 在同一

组织中表达量有所差异,在叶片中,*StPYL1* 有微弱表达,而 *StPYL8* 表达较为强烈;在茎中,*StPYL1* 表达强于 *StPYL8*。这点与拟南芥 *AtPYR1* 和 *AtPYL8* 基因在茎和叶中的表达特征相似<sup>[24]</sup>。在拟南芥中还发现,*PYR1*, *PYL1*, *PYL2*, *PYL4*, *PYL5* 和 *PYL8* 等基因在叶片和茎中表达集中在维管束组织,值得一提的是,维管束是许多植物逆境应答的传导通道,并且免疫学研究结果证实维管束薄壁组织细胞中含有大量的 *NCED3*, *ABA2* 和 *AAO3* 等 ABA 合成相关酶<sup>[24-25]</sup>。在马铃薯块茎形成过程中,*StPYL1* 表达水平变化不明显,且表达量较低;相对而言,*StPYL8* 表达量较高,并且不同块茎发育时期,表达量有所变化。表明基因 *StPYL8* 可能参与了马铃薯的块茎发育过程但机理尚需要进一步研究。

马铃薯幼苗经过外源 ABA 处理后,*StPYL1* 与 *StPYL8* 表达量增加,表明二者均受外源 ABA 诱导。研究发现,外源 ABA 处理拟南芥幼苗,随时间延长,*PYR1*、*PYL1*、*PYL4*、*PYL5*、*PYL6*、*PYL8* 表达量逐渐下调,*PYL2*、*PYL3* 表达量逐渐上调,*PYL7*、*PYL9* 表达量上调至峰值后逐渐下降<sup>[26]</sup>。*StPYL1* 与 *AtPYR1*、*AtPYL1*; *StPYL8* 与 *AtPYL8* 氨基酸序列一致性较高,但是它们在不同物种中受 ABA 诱导表达特征的不同之处值得深入探讨。干旱和盐胁迫处理后,*StPYL1* 表达量没有发生显著性的变化,*StPYL8* 表达量上调,表明 *StPYL8* 参与了上述逆境调控。与野生型相比较,拟南芥 *pyr1/pyl1/pyl2/pyl4/pyl5/pyl8* 6 突变体植株生长迟缓、植株矮小,气孔开放度明显增大,叶片气体交换速度加快,干燥环境下失水较快<sup>[27]</sup>。基因 *AtPYL8* 受盐胁迫诱导表达,并且 *PYL8* 过表达植株对盐胁迫和甘露醇渗透胁迫表现的更加敏感,相对于野生型植株,*RAB18*、*P5CS1*、*RD29A* 和 *RD29B* 等已知的 ABA 应答基因在过表达植株中表达量显著增加<sup>[28]</sup>。上述结果都证明 *PYL* 基因参与了植物应激反应,在逆境调控中发挥着重要作用<sup>[29]</sup>。在马铃薯中 *StPYL1* 与 *StPYL8* 虽同为 ABA 受体蛋白,但是参与环境胁迫响应的调节方式可能不同。

在对拟南芥的研究中发现,*pyr1/pyl1/pyl2/pyl4/pyl5/pyl8* 6 突变体对 ABA 超不敏感,*PYL9*、*PYL5* 和 *PYL8* 的过表达植株在种子萌发、营养生长、基因表达和气孔运动等多种生理过程中都表现出对 ABA 更加敏感,且植株的耐旱能力显著增

强<sup>[13,28-30]</sup>,这些都表明 *PYL* 在 ABA 信号转导中的起着重要作用。

#### 参考文献:

- [1] CUTLER S R, RODRIGUEZ P L, FINKELSTEIN R R, et al. Abscisic acid: emergence of a core signaling network[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 651-679.
- [2] 王少先,彭克勤,萧浪涛,等. 逆境下 ABA 的积累及其触发机制[J]. *植物生理学通讯*, 2003, 39(5): 413-417.
- [3] 吴耀荣,谢旗. ABA 与植物胁迫抗性[J]. *植物学通报*, 2006, 23(5): 511-518.
- [4] ADIE BAT, PEREZ-PEREZ J, PEREZ-PEREZ M M, et al. ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in Arabidopsis[J]. *Plant Cell*, 2007, 19(5): 1665-1681.
- [5] DING Z H, LI S M, AN X L, et al. Transgenic expression of MYB15 confers enhanced sensitivity to abscisic acid and improved drought tolerance in Arabidopsis thaliana[J]. *J Genet Genomics*, 2009, 36(1): 17-29.
- [6] 张大鹏. 始于质体/叶绿体的 ABA 信号通路[J]. *植物学报*, 2011, 46(4): 361-369.
- [7] SHEN Y Y, WANG X F, WU F Q, et al. The Mg-chelatase H subunit is an abscisic acid receptor[J]. *Nature*, 2006, 443(7113): 823-826.
- [8] WU F Q, XIN Q, CAO Z, et al. The magnesium-chelatase H subunit binds abscisic acid and functions in abscisic acid signaling: new evidence in Arabidopsis[J]. *Plant Physiol*, 2009, 150(4): 1940-1954.
- [9] SHANG Y, YAN L, LIU Z Q, et al. The Mg-chelatase H subunit of Arabidopsis antagonizes a group of WRKY transcription repressors to relieve ABA-responsive genes of inhibition[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(6): 1909-1935.
- [10] ANTONI R, RODRIGUEZ L, GONZALEZ-GUZMAN M, et al. Review News on ABA transport, protein degradation, and ABFs/WRKYs in ABA signaling[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2011, 14(5): 547-553.
- [11] LIU X, YUE Y, LI B, et al. AG protein-coupled receptor is a plasma membrane receptor for the plant hormone abscisic acid[J]. *Science*, 2007, 315(5819): 1712-1716.
- [12] PANDEY S, NELSON D C, ASSMANN S M. Two novel GPCR-type G proteins are abscisic acid receptors in Arabidopsis[J]. *Cell*, 2009, 136(1): 136-148.
- [13] MA Y, SZOSTKIEWICZ I, KORTE A, et al. Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors[J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1064-1068.
- [14] PARK S Y, FUNG P, NISHIMURA N, et al. Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins[J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1068-1071.
- [15] SUN L, WANG Y P, CHEN P, et al. Transcriptional regulation of

- SlPYL*, *SlPP2C*, and *SlSnRK2* gene families encoding ABA signal core components during tomato fruit development and drought stress[J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(15):5659-5669.
- [16] YOSHIDA R, UMEZAWA T, MIZOGUCHI T, et al. The regulatory domain of SRK2E/OST1/SnRK2.6 interacts with ABII and integrates abscisic acid (ABA) and osmotic stress signals controlling stomatal closure in Arabidopsis[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(8):5310-5318.
- [17] FUJII H, CHINNUSAMY V, RODRIGUES A, et al. *In vitro* reconstitution of an abscisic acid signaling pathway[J]. *Nature*, 2009, 462(7273):660-664.
- [18] MELCHER K, NG LM, ZHOU X E, et al. A gate - latch - lock mechanism for hormone signalling by abscisic acid receptors[J]. *Nature*, 2009, 462(7273):602-608.
- [19] KOBAYASHI Y, MYRATA M, MINAMI H, et al. Abscisic acid-activated SNRK2 protein kinases function in the gene-regulation pathway of ABA signal transduction by phosphorylating ABA response element-binding factors[J]. *Plant J*, 2005, 44(6):939-949.
- [20] FURIHATA T, MARUYAMA K, FUJITA Y, et al. Abscisic acid-dependent multisite phosphorylation regulates the activity of a transcription activator AREB1[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, 103(6):1988-1993.
- [21] SZOSTKIEWICZ I, RICHTER K, KEPKA M, et al. Closely related receptor complexes differ in their ABA selectivity and sensitivity[J]. *Plant J*, 2010, 61(1):25-35.
- [22] ZHANG X, JIANG L, WANG G, et al. Structural insights into the abscisic acid stereospecificity by the ABA receptors PYR/PYL/RCAR[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7):1-10.
- [23] 胡 帅, 王芳展, 刘振宁, 等. PYR/PYL/RCAR 蛋白介导植物 ABA 的信号转导[J]. *遗传*, 2012, 34(5):560-572.
- [24] GONZALEZ-GUZMAN M, PIZZIO G A, ANTONI R, et al. Arabidopsis PYR/PYL/RCAR receptors play a major role in quantitative regulation of stomatal aperture and transcriptional response to abscisic acid[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(6):2483-2496.
- [25] ENDO A, SAWADA Y, TAKAHASHI H, et al. Drought induction of Arabidopsis 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase occurs in vascular parenchyma cells[J]. *Plant Physiol*, 2008, 147(4):1984-1993.
- [26] KILIAN J, WHITEHEAD D, HORAK J, et al. The AtGenExpress global stress expression data set: protocols, evaluation and model data analysis of UV-B light, drought and cold stress responses[J]. *Plant J*, 2007, 50(2):347-363.
- [27] NG L M, MELCHER K, TEH B T, et al. Abscisic acid perception and signaling: structural mechanisms and applications[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35(5):567-584.
- [28] SAAVEDRA X, MODREGO A, RODRIGUEZ D, et al. The nuclear interactor PYL8/RCAR3 of *Fagus sylvatica* FsPP2C1 is a positive regulator of abscisic acid signaling in seeds and stress[J]. *Plant Physiol*, 2010, 152(1):133-150.
- [29] LENG P, YUAN B, GUO Y, et al. The role of abscisic acid in fruit ripening and responses to abiotic stress[J]. *J Exp Bot*, 2014, 65(6):4577-4588.
- [30] SANTIAGO J, RODRIGUES A, SAEZ A, et al. Modulation of drought resistance by the abscisic acid receptor PYL5 through inhibition of clade A PP2Cs[J]. *Plant J*, 2009, 60(4):575-588.

(责任编辑:陈海霞)