

哈克尼西棉细胞质雄性不育系和保持系花发育不同时期
miR156 及靶基因 TBCC 的研究

裴文锋, 吴建勇, 邢朝柱*, 郭立平, 戚廷香, 王海林

(中国农业科学院棉花研究所/棉花生物学国家重点实验室, 河南 安阳 455000)

摘要: 本研究以棉花细胞质雄性不育系和保持系不同发育时期的花蕾为材料分析 miR156 和预测的靶基因 TBCC (*Tubulin binding cofactor C*) 在花蕾中的表达水平及相互关系, 并从棉花中克隆 TBCC, 探讨 TBCC 在棉花花粉发育过程中的作用。结果表明, 不育系和保持系花蕾中 miR156 表达量随花药发育进程而显著增加, TBCC 的表达量在两材料花药发育不同阶段均存在显著差异, 其中在保持系中随着花药发育逐渐降低, 而在不育系中该基因的表达水平一直维持在较低水平, 推测不育性状可能与 TBCC 的表达有关。克隆得到 TBCC 基因的 cDNA 全长序列, 命名为 *GhTBCC* (基因登录号 KC488331)。其 CDS 长度为 1713 bp, 编码 570 个氨基酸, 分子量为 62.79 kD, 含有保守的 TBCC 和 CARP 结构域。*GhTBCC* 与杨树、蓖麻、拟南芥的氨基酸序列相似性分别为 81%、80%、77%。

关键词: 棉花; 细胞质雄性不育; miR156; TBCC

中图分类号: S562.035.3 **文献标志码:** A

文章编号: 1002-7807(2013)06-0478-08

MiR156 and its Target Gene TBCC in Flower Development of *Gossypium harknessii* Cytoplasmic Male Sterile Line and its Maintainer

PEI Wen-feng, WU Jian-yong, XING Chao-zhu*, GUO Li-ping, QI Ting-xiang, WANG Hai-lin

(Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, State Key Laboratory of Cotton Biology, Anyang 455000, China)

Abstract: This study aimed to analyze the expression level and relationship between miR156 and its target gene TBCC (*Tubulin binding Cofactor C*) in buds of *Gossypium* at different developmental stage in a cytoplasmic male sterile (CMS) line and its maintainer line, to clone the full-length cDNA of the TBCC gene, and to determine the possible role of the TBCC gene in pollen development. Real-time RT-PCR showed that the expression levels of miR156 gradually increased with the development of pollen between the CMS line and the maintainer line. The expression of *GhTBCC* was strikingly complementary with the expression of miR156 in the maintainer line, but showed very low expression levels in the CMS line, which demonstrated that TBCC is related to male sterility. The full-length cDNA sequence of TBCC was cloned from the buds of the maintainer line, and the gene was named as *GhTBCC*. The CDS of *GhTBCC* is 1713 bp and encodes a predicted protein of 570 amino acids with a predicted molecular weight of 62.79 kDa. Conserved TBCC and CARP domains were observed in the predicted protein sequence. *GhTBCC* showed 81 %, 80 %, and 77 % sequence similarity to the TBCC protein sequences of *Populus trichocarpa*, *Ricinus communis*, and *Arabidopsis thaliana*, respectively.

Key words: *Gossypium*; cytoplasmic male sterility; miR156; TBCC

在棉花胞质不育材料中哈克尼西棉胞质不育系败育彻底、能够稳定表现不育特性。本课题经过多年育种试验成功将其应用于三系配套, 培育出优质抗虫转基因杂交棉——中棉所 83^[1]。但

收稿日期: 2013-04-21

作者简介: 裴文锋(1988-), 男, 硕士研究生, peiwenfeng1988@163.com; * 通讯作者, Xingcz@cricaas.com.cn

基金项目: 国家 863 计划 (2011AA10A102); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (SJB1305)

由于对胞质不育材料的不育机理尚未研究清楚, 限制了恢复系的选择、不育系材料的改良, 一定程度上阻碍着三系杂交种的改良和推广应用。MicroRNAs(miRNAs)通过剪切或抑制对生物体转录后的基因表达调控起关键作用^[2], 参与生物体的各种生物学过程, 包括染色体的消除和重排、染色质修饰^[3]、DNA 的复制、细胞周期^[4]以及基因的表达调控等。本课题魏娟等^[5]已经通过 Solexa 测序比较了不育系和保持系花蕾在花粉母细胞时期的 miRNA 变化, 发现 miR156 有较明显差异。

miR156 控制着植物从营养生长至生殖生长的转变^[6], 在拟南芥和玉米的成花转变过程中扮演着重要角色, 拟南芥的营养生长早期 miR156 高水平表达, 然后表达水平降低^[7]。目前公认 miR156 靶基因是 SPLs 家族基因, 拟南芥中有 10 个 SPLs 基因存在 miR156 的靶位点, 这些 SPLs 基因通过对 MADS box 基因的表达调控控制着植物从营养生长向生殖生长的转变^[8]。在 ABC 开花模型中, 不同的 MADS-box 转录因子形成四聚体复合物控制下游基因的表达, 调控花发育^[9]。SPL 家族中的 SPL 9 和 SPL 10 能够正调控 miR172e 的表达, 间接影响开花诱导^[10]。在水稻中过表达 miR156 导致苗期延长及晚花, 产生额外的分支和花序^[11]。组成型表达抗 miR156 的 SPL 基因则能促进幼年期向成年期的提前转变和提前开花^[10,12]。SPL 家族中的 SPL8 基因突变后会导致半不育表型^[13]。

2010 年 Naya 等在苜蓿中确定 miR156 的新靶基因 WD-40^[14]。miR156 除了调控靶基因 SPLs 的表达外, 可能还存在其它靶基因的参与导致哈克尼西棉胞质不育系的败育过程。本文通过靶基因预测工具在棉花 EST 库中预测得到一个新的靶基因 *Tubulin binding cofactor C* (TBCC)。Hela 细胞中 TBCC 基因突变后导致由微管形成的纺锤体表现异常^[15]。纺锤体是减数分裂过程中的重要参与者, 在创制多倍体材料时也采用通过秋水仙素抑制纺锤体的形成导致染色体数目加倍诱导出多倍体植株。

对人和植物中的 TBCC 蛋白进行分析发现, 人类中 TBCC 蛋白(AAH17479.1)的 C 端结构域有一个位于 CARP 结构域后第 14 位保守的精氨酸(262R), 其可能以精氨酸指状结构参与微管蛋

白的 GTP 水解作用^[15]。通过 NCBI 对 TBCC 保守结构域的空间结构模型进行观察, 发现植物中(以拟南芥为例)的 CARP 结构域后存在第 12 位的精氨酸(389R), 而相应第 14 位大部分被半胱氨酸(391C)代替; 但空间结构上这两个位点均位于 β 片层的外侧, 位置彼此紧邻, 可以初步判定 389R 为植物相应的精氨酸指状结构(图 1)。精氨酸指在 TBCC 功能实施中非常重要, 人类中 TBCC 结构域的 262R 被替换后导致 TBCC 失去触发微管蛋白的 GTP 酶活性, 同样含有 TBCC 结构域的 RP2 蛋白的精氨酸指突变后导致视网膜膜衰退^[16], 可见 TBCC 基因在维持细胞及生物体的正常功能中有重要作用。因此, TBCC 基因的表达可能与棉花雄配子发育也存在很大关系。为探讨此问题, 有必要对 TBCC 基因在棉花花蕾发育不同时期的表达模式和基因结构进行相应分析。

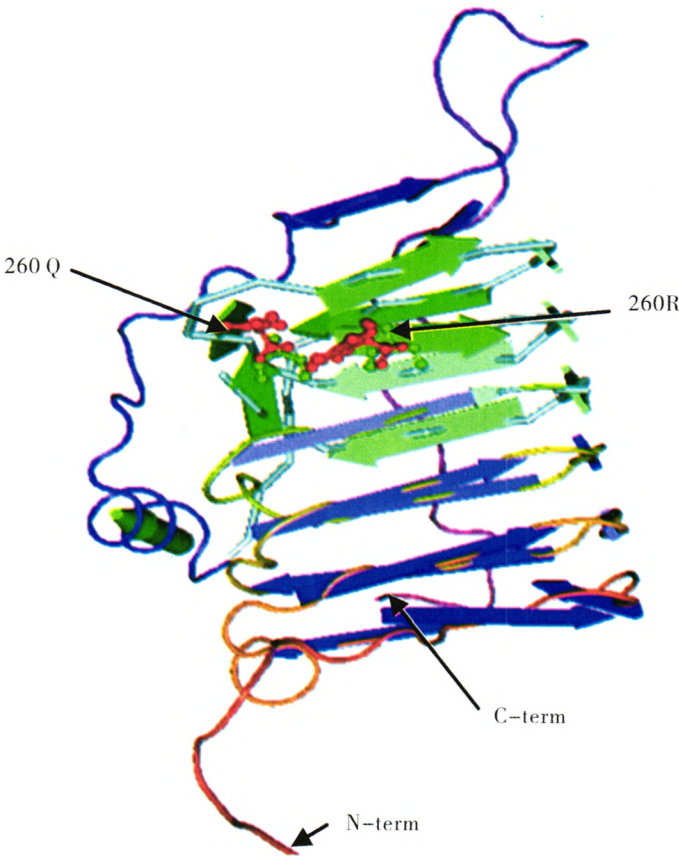
1 材料与方法

1.1 材料

哈克尼西棉胞质不育系(ZBA)和保持系(ZB)由中国农业科学院棉花研究所提供。材料于 2011 年 4 月下旬种植于中国农业科学院棉花研究所实验地(河南安阳), 按照常规方法进行田间管理。7 月份进入盛花期时分别取长度为 1 mm、2 mm、3 mm、4 mm 的不育系和保持系小花蕾, 花蕾长度以剥去苞叶后留下印痕处至花蕾顶端计量, 花蕾剥掉花萼花瓣及底部胚珠部分储存于一 80℃超低温冰箱中保存。将两材料培养于光照培养箱中, 同等浇水、光照管理, 至三叶期分别取根、茎、叶储存于一 80℃超低温冰箱中保存。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 的提取。采用 Total RNA Purification Kit(LC Sciences, USA)提取不同时期花蕾总 RNA 用于 miRNA 荧光定量分析; 采用柱式植物 RNAout 提取试剂盒(天恩泽, 北京)提取花蕾总 RNA 用于靶基因 TBCC 荧光定量分析。经 Nano Drop 2000(Thermo, USA)检测核酸纯度, 利用 1%琼脂糖凝胶电泳和 Experion 全自动电泳系统(Bio-Rad, USA)检测总 RNA 的完整性。



该图为人 TBCC 保守域结构,绿色部分为图 6 中氨基酸残基所处位置,红色部分为人的 TBCC 重要位点 262R,在大部分植物中该位点转移至相应人的 TBCC 的 260Q 处。

Ribbon displays of human TBCC domain, and TBCC with the residues for the same part of Fig6 and shown with the green colours, 262R, the critical site of TBCC domain in human, was shifted to the site 260Q in most of plants (both of them shown with red colours).

图 1 TBCC 保守域的结构模型

Fig. 1 Surface property of TBCC conserved domain

1.2.2 miRNA 反转录。miR156 序列为 UGACA-GAAGAGAGAGAGCACA, 长度为 21nt, 采用特异性茎环引物进行反转录(RT), 茎环引物为 GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCCACTGGATACGACGTGCTC, 采用 PrimeScript RT reagent Kit(TaKaRa, 大连)进行反转录, 反应体系为 10 μL ; denatured total RNA 1 μL ; 5 $\times$ Prime Script Buffer 2 μL ; RT Enzyme Mix I 0.5 μL ; 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ RT Primer 0.5 μL ; 加无菌超纯水至 10 μL 。PCR 反应程序为 42 $^{\circ}\text{C}$ 25 min, 85 $^{\circ}\text{C}$ 5 s。

1.2.3 miR156 荧光定量。miR156 的引物为 F: CAGGGTCCGAGGTATTTCG, R: CCGCGTGACA GAAGAGAGAG; 内参基因根据 Chen^[17]提供 U6 序列, 采用 primer 5.05 设计引物 U6-F: CATTTC TCGATTGTGCGTGTC; U6-R: GGGG ACATCC

GATAAAATTGG。采用 SYBR Premix Ex TaqTM II 试剂盒(TaKaRa, 大连)和 Realplex 荧光定量仪(Eppendorf, Germany)进行荧光定量反应, 反应体系为 20 μL : 10 $\times$ SYBR premix Ex TaqTM II 10 μL ; 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 引物各 0.5 μL ; 模板 2 μL ; 加无菌超纯水至 10 μL 。每个反应重复 3 次。定量 PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 8 s, 40 个循环。对 miR156 扩增产物直接连接至 Pmd18-T 载体(TaKaRa, 大连), 阳性质粒经菌液 PCR 验证后送天一辉远生物科技有限公司测序确定准确性。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算相对表达量的高低, 由于 miR156 在各个组织中表达量差别较大, 采用 Wei 等^[18]的方法对相对表达量取 log2 值作图。

1.2.4 靶基因预测。通过靶基因预测工具 psR-

棉花学报 Cotton Science

TBCC 基因的表达进行荧光定量 PCR 检测 (图 4), 结果显示在花蕾发育初期两材料间就有极明显的差异, 长度为 1 mm、2 mm 时保持系的表达量分别是不育系的 17.67 倍和 7 倍。不育系的表达量一直维持在较低水平 (均为 1 左右), 表明花蕾发育初期不育系 *TBCC* 基因的表达就出现异常。保持系中 *TBCC* 基因的相对表达量从 1 mm 的 17.67 降到 2 mm 的 6.55, 又降到 3 mm 的 0.87, 表达量呈急剧下降趋势与 miR156 在花蕾中的表达量呈显著负相关。可初步判定 *TBCC* 基因为 miR156 的靶基因, 并且作用方式为切割降解。对两材料根、茎、叶组织进行 *TBCC* 基因荧光定量检测发现两材料在不同组织中均有表达, 并且表达量无显著差异。*TBCC* 基因在根、茎、叶中的表达量与正常的 1 mm 和 2 mm 不育系花蕾相比均较低 (图 4)。

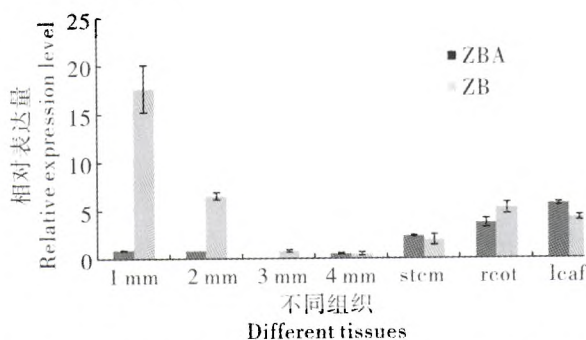


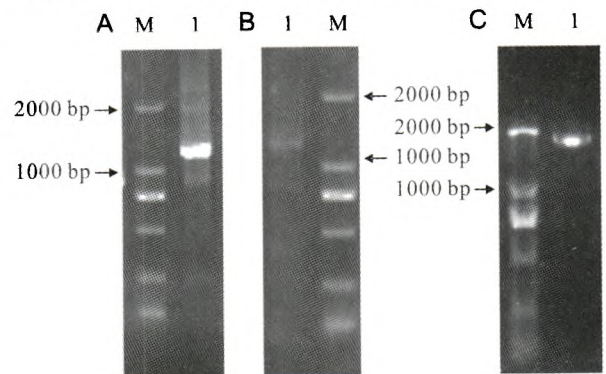
图 4 *TBCC* 在不育系 ZBA 和保持系 ZB 不同发育时期花蕾中的差异表达及茎、根、叶中的表达

Fig. 4 The expression of *TBCC* at different development stage in buds of CMS line(ZBA) and maintainer line(ZB) and stem, root, leaf of them

2.2 *TBCC* 基因全长获得及生物信息学分析

2.2.1 *TBCC* 基因全长获得。3'RACE 结果得到一条约 1100 bp 的特异片段谱带 (图 5A), 克隆测序结果表明该片段长度为 1139 bp, 其中包含有 32 个碱基的 polyA 尾巴和 3' 端接头引物序列, 说明已经到达 3' 末端。同样 5'RACE 得到 1 条约 1200 bp 片段特异谱带 (图 5B), 克隆测序结果表明该片段长度为 1233 bp, 除去接头引物序列得到长度为 1180 bp 的 5' 端序列。将 5' 和 3'RACE 得到的序列进行拼接, 得到一条完整的 cDNA 序列, 长度为 2044 bp。在此基础上在 5' 和 3' 端分别设计引物进行 cDNA 全长特异扩增, 获得约 1800 bp 的特异谱带 (图 5C)。经多次测序, 排除个

别碱基错配及测序误差后最终获得精确的棉花 *TBCC* 基因序列, 将该序列命名为 *GhTBCC*。该序列的编码区 (Coding sequence, CDS) 长度为 1713 bp, 编码 570 个氨基酸, 5' 端和 3' 端分别有 47 bp 和 284 bp 的非翻译区。5'UTR 序列经 RNA FFolder (<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAfold.cgi>) 分析发现 -12 bp 至起始密码子前的一段序列能够相互配对形成特殊的小颈环结构, 该结构可能介导 RNA 与核糖体结合, 启动蛋白质翻译。



A: 3'RACE 扩增产物; B: 5'RACE 扩增产物; C: *TBCC* 全长扩增产物

A: 3'RACE amplification product; B: 5'RACE amplification product; C: Full-length amplification product of *TBCC*.

图 5 棉花花蕾中 *TBCC* 基因扩增结果

Fig. 5 products of amplification of *TBCC* gene from the bud of *Gossypium*

2.2.2 *GhTBCC* 生物信息学分析。利用在线服务软件 ExPASy 推测 *TBCC* 编码蛋白的理论分子量为 62.79 KD, 等电点为 5.19。采用人工神经网络算法对 *TBCC* 基因编码的蛋白进行信号肽的预测, 从该蛋白的 N 端至第 70 位氨基酸之间剪切位点分值 (C-Value) 0.166 和综合剪切分值 (D-Value) 0.139 均小于剪切值 0.450, 即无明显峰值, 说明该蛋白的 N 端不存在剪切位点, 表明其不包含信号肽, 推测其为非分泌蛋白。通过亚细胞定位分析得到定位在胞质中的可能性为 0.65, 可初步推断该蛋白在胞质中表达。通过 NetPho2.0 预测共得到 32 个磷酸化位点 (Phosphorylation sites predicted: Ser: 24 Thr: 2 Tyr: 6)。用 NetNGly-yc 1.0 预测该蛋白没有糖基化位点。通过利用 TMH mm 2.0 Server 对 *TBCC* 编码的蛋白进行跨膜结构的预测, 结果显示无跨膜结构。利用 BlastP 在线对比该氨基酸序列并和

拟南芥中的 TBCC (XP_002876443.1) 比较, 确定片段 335-449 和 342-379 分别对应 TBCC 蛋白结构域和 CARP (Cyclase-associated proteins) 结构域。采用在线软件 MEME 对棉花和拟南芥 (XP_002876443.1)、杨属 (XP_002323291.1)、蓖麻 (XP_002532335.1)、葡萄 (CBI30042.3)、大豆 (XP_003554198.1)、苜蓿 (XP_003625224.1)、高粱 (XP_002453473.1)、玉米 (ACN30975.1)、水稻 (NP_001058077.1)、短柄草 (XP_003563624.1)、大麦 (BAJ90629.1)、卷柏 (XP_002964936.1)、小立碗藓 (XP_00177 8693.1) 共 14 条氨基酸序列进行保守域分析, 共得到 3 个保守域, 在棉花中的保守域片段为 145-194、379-428、444-493, 其中片段 379-428 在 TBCC 蛋白结构域上 (图 6)。

将 TBCC 基因编码的氨基酸序列在 NCBI 中进行 BlastP 比对, 发现与其他物种的该蛋白氨

基酸序列具有很高的-致性, 其中与杨树、蓖麻、拟南芥的相似性分别为 81%、80%、77%。用 DNAMAN 对上文用于保守结构域分析的 13 条氨基酸序列以及棉花的 TBCC 编码的氨基酸序列进行多重比对, 结果表明陆地棉种的 TBCC 和其他物种的该蛋白存在很高的保守性。利用 MEGA5.05 进行系统进化分析, 绘制进化树 (图 7), 可以分为 3 类: 1) 分属于蕨类和藓类的卷柏与小立碗藓属于一类; 2) 单子叶植物纲的玉米、高粱、水稻、大麦、短柄草属于一类, 进化分支图与 John 等根据基因组直系基因对做出的进化树基本一致^[19]。3) 双子叶植物纲的杨树、蓖麻、葡萄、棉花、拟南芥、大豆、苜蓿属于一类。在双子叶植物类中同属于金虎尾目的杨树和蓖麻聚在一条分支上, 同样, 同属于豆目的苜蓿与大豆聚在一条分支上。



横坐标表示氨基酸的顺序, 纵坐标为 bits 值, 某字母的高度为该位点此氨基酸的 bits 值。

X-axis shows the sequence of amino acid, Y-axis shows the bits. The height of the individual letters in a stack is the bits of the amino acid.

图 6 14 种不同植物 TBCC 功能域中部分氨基酸比例

Fig. 6 The rate of amino acids of motif of TBCC conserved domain in 14 plants

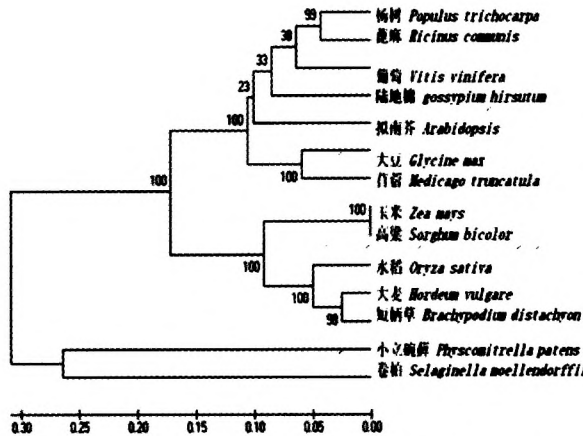


图 7 TBCC 基因在棉花及其它作物中的进化分支图

Fig. 7 Phylogenetic analysis of GhTBCC amino acids sequence and other proteins

3 讨论

从 Levings 和 Pring^[20]根据玉米 T 型 CMS 系统的研究结果提出线粒体 DNA 就是 CMS 因子的载体以来, 很多科学家进一步证实线粒体基因组的变异或特异的线粒体基因表达会导致雄性不育^[21-22]。哈克尼西棉胞质雄性不育系基因来源于哈克尼西棉的胞质基因和陆地棉的核基因, 由于质核关系的不协调导致线粒体内自由基的产生并大量积累, 并对线粒体的酶活系统造成一定的损害, 如维持线粒体内膜的电化学梯度的 Na⁺, K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶^[23-24], 导致基质电子密度降低, 线粒体内室肿胀, 产生基质空泡等组织学

可观察到的现象^[25]。另一方面线粒体功能的失调可能导致胞内的一些信号转导,如导致 miR156 的表达量上升,抑制 *SPL3*、*SPL4*、*SPL5* 基因的表达^[10]以及 *TBCC* 基因。和逆境环境一样,质核互作也可以认为是一种自身原因导致的逆境。有研究表明超量表达的 miR156 能够增强拟南芥的耐盐性^[26],可见 miR156 不仅是生长发育转变的重要影响因子更是一种逆境响应的 microRNA。

miR156 表达量在植物的幼年期比较高,然后在开花转变时期则表达量降低^[8,10]。本研究中,两材料 1 mm 至 4 mm 长的花蕾中 miR156 的表达量均急剧上升,与 Xing 等在拟南芥的减数分裂过程中对 miR156 进行 GUS 时空表达分析发现 miR156 在分裂时期有明显的 GUS 表达信号^[13]相符合。可见在植物的生育期中 miR156 的表达模式可能是前期持续高表达,然后在开花转变时期则降低,随后在花器官的原生组织形成后又表现上升趋势。初步推测在花发育阶段中 miR156 起作用的时期主要是花器官原生组织形成时期。不育系 3 mm 时期花蕾 miR156 的表达量明显低于保持系,可能造成花药组织的代谢异常,最终导致雄性不育现象。本研究中不育系 *TBCC* 基因的表达量一直处于较低水平,表明该基因从花药发育的早期就出现异常,可能是在花蕾发育早期该基因就受到某种调控导致表达量低。在保持系中花药发育早期 *TBCC* 基因表达量很高,可能是为后期花粉母细胞增殖及减数分裂提供足够的微管二聚体,随着花粉母细胞减数分裂的起始,miR156 的表达量不断增加,miR156 开始作用于 *TBCC* 基因,导致该基因降解,在荧光定量 PCR 试验中表现出表达量下降的趋势。

微管在细胞的形态发生、细胞分化、胞内运输、细胞骨架、形成纺锤体等细胞学过程中有重要作用。微管的形成首先需要 α -、 β -微管蛋白分别在 *TBCD* 和 *TBCE* 因子的协助下才能相互结合,然后在 *TBCC* 蛋白因子的作用下以 GTP 水解功能正确折叠成异二聚体,最终不对称的异源二聚体以不同的结构和极性首尾相接螺旋盘绕最终形成微管,其中的关键步骤是 *TBCC* 催化下的二聚体形成过程^[27-28]。*TBCC* 蛋白主要定位于细胞质中^[29],但是在细胞分裂期则主要集中于中心

体上^[15]。微管的浓度在 *TBCC* 突变体和野生型拟南芥间有显著差异^[29]。对 *TBCC* 基因进行 RNAi 干扰,有丝分裂时期的细胞纺锤体缺失,细胞呈现多极化现象,随后出现细胞凋亡现象,经过 72 h 细胞数量比对照明显减少^[9]。在本研究中,不育系和保持系的根、茎、叶中的 *TBCC* 表达量无显著差别,而在花蕾发育初期就表现出明显差别。可能由于在不育系花蕾发育初期 *TBCC* 的表达量较低,不能为后期花粉母细胞增殖以及减数分裂提供足够的微管二聚体,导致细胞分裂异常,进而诱导花粉母细胞内源性细胞程序性死亡。

miR156 从造孢细胞增殖期到减数分裂完成这一过程中表达量依次升高,*TBCC* 基因表达量降低,初步确定 *TBCC* 基因为 miR156 的靶基因。作者下一步工作将构建抗 miR156 的 *TBCC* 基因载体,从而通过转基因过表达 *TBCC* 基因来进一步分析该基因与 miR156 的关系,以及 *TBCC* 基因在减数分裂过程中的重要性。

参考文献:

- [1] BARTEL D P. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [2] FABBRI M, Garzon R, Cimmino A, et al. MiRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(40): 10805-10810.
- [3] MURCHISON E P, Partridge J F, Tam O H, et al. Characterization of Dicer-deficient murine embryonic stem cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(34): 12135-12140.
- [4] 邢朝柱, 郭立平, 吴建勇, 等. 转基因抗虫三系杂交棉一中棉所 83 [J]. *中国棉花*, 2012, 39(7): 39.
XING Chao-zhu, Guo Li-ping, Wu Jian-yong, et al. Transgenic insect-resistance hybrid cotton based on cytoplasmic male-sterility system, CCRI83 [J]. *China cotton*, 2012, 39(7): 39.
- [5] 魏娟. 哈克尼西棉细胞质雄性不育系和保持系 microRNA 研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
WEI Juan. Research of microRNA between *Gossypium harknessii* cytoplasmic male sterile line and its maintainer line [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2010.
- [6] FRANCO-ZORRILLA J M, Valli A, Todesco M, et al. Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA

- activity [J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(8): 1033-1037.
- [7] SCHWAB R, Palatnik J F, Riester M, et al. Specific effects of microRNAs on the plant transcriptome [J]. *Development Cell*, 2005, 8(4): 517-527.
- [8] WANG Jia-wei, Czech B, Weigel D. miR156-regulated SPL transcription factors define an endogenous flowering pathway in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Cell*, 2009, 138(4): 738-749.
- [9] FERRARIO S, Immink R G H, Angenot G C. Conservation and diversity in flower land [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2004, 7(1): 84-91.
- [10] WU Guang, Park M Y, Conway S R, et al. The sequential action of miR156 and miR172 regulates developmental timing in *Arabidopsis* [J]. *Cell*, 2009, 138(4): 750-759.
- [11] XIE Ka-bin, Wu Cong-qing, Xiong Li-zhong. Genomic organization, differential expression, and interaction of SQUAMOSA promoter-binding-like transcription factors and microRNA156 in rice [J]. *Plant Physiology*, 2006, 142(1): 280-293.
- [12] WU Guang, Poethig R S. Temporal regulation of shoot development in *Arabidopsis thaliana* by miR156 and its target SPL3 [J]. *Development*, 2006, 133(18): 3539-3547.
- [13] XING Shu-ping, Salinas M, Hohmann S, et al. miR156-targeted and nontargeted SBP-Box transcription factors act in concert to secure male fertility in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(12): 3935-3940.
- [14] NAYA L, Khan G A, Sorin C, et al. Cleavage of a non-conserved target by a specific miR156 isoform in root apices of *Medicago truncatula* [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2010, 5(3): 328-331.
- [15] GARCIA-MAYORAL M F, Castano R, Fanarraga M L, et al. The solution structure of the N-terminal domain of human tubulin binding cofactor C reveals a platform for tubulin interaction [J]. *PLOS ONE*, 2011, 6(10): e25912.
- [16] BARTOLINI F, Bhamidipati A, Thomas S, et al. Functional overlap between retinitis pigmentosa 2 protein and the tubulin-specific chaperone cofactor C [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(17): 14629-14634.
- [17] PANG Ming-xiong, Woodward A W, Agarwal V, et al. Genome-wide analysis reveals rapid and dynamic changes in miRNA and siRNA sequence and expression during ovule and fiber development in allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Genome Biology*, 2009, 10(11): R122.
- [18] WEI Li-qin, Yan Long-feng, Wang Tai. Deep sequencing on genome-wide scale reveals the unique composition and expression patterns of microRNAs in developing pollen of *Oryza sativa* [J]. *Genome Biology*, 2011, 12(6): R53.
- [19] JOHN P, Vogel D F G, Todd C, et al. Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon* [J]. *Nature*, 2010, 463(7282): 763-768.
- [20] LEVINGS C S, Pring D R. Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA from normal and Texas cytoplasmic male sterile maize [J]. *Science*, 1976, 193(4248): 158-160.
- [21] HANSON M R, Bentolila S. Interaction of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development [J]. *Plant Cell*, 2004, 16 (suppl1): S154-S169.
- [22] BUDAR F, Touzet P, Paepe D R. The nucleo-mitochondrial conflict in cytoplasmic male sterilities revisited [J]. *Genetica*, 2003, 117 (1): 3-16.
- [23] MEIS D L, Arruda A P, Costa D M R, et al. Identification of a Ca^{2+} -ATPase in brown adipose tissue mitochondria: regulation of thermogenesis by ATP and Ca^{2+} [J]. *The Journal Biological Chemistry*, 2006, 281(24): 16384-16390.
- [24] VENKATRAMAN M, Konga D, Peramaiyan R, et al. Reduction of mitochondrial oxidative damage and improved mitochondrial efficiency by administration of crocetin against benzo[a]pyrene induced experimental animals [J]. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 31(9): 1639-1645.
- [25] 朱云国, 张绍伟, 王晓玲, 等. 哈克尼西棉细胞质雄性不育系小孢子发生的超微结构观察 [J]. *棉花学报*, 2005, 17(6): 382-383.
- ZHU Yun-guo, Zhang Shao-wei, Wang Xiao-ling, et al. Ultrastructural observations of the microsporogenesis in *G. harknessii* cytoplasmic male-sterile cotton [J]. *Cotton Science*, 2005, 17(6): 382-383.
- [26] 段中鑫, 覃玉蓉, 夏新莉, 等. 超量表达胡杨 *peu-MIR156j* 基因增强拟南芥耐盐性 [J]. *北京林业大学学报*, 2011, 33(6): 1-7.
- DUAN Zhong-xin, Qin Yu-rong, Xia Xin-li, et al. *peu-miR156j* gene enhancing salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Beijing Forestry University*. 2011, 33(6): 1-7.
- [27] LOPEZ-FANARRAGA M, Avila J, Guasch A, et al. Review: Postchaperonin tubulin folding cofactors and their role in microtubule dynamics [J]. *Journal Structure Biology*, 2002, 135(2): 219-229.
- [28] STEINMETZ M O, Akhmanova A. Capturing protein tails by CAP-Gly domains [J]. *Trends Biochemical Sciences*, 2009, 33(11): 535-545.
- [29] KIRIK V, Mathur J, Grini P E, et al. Functional analysis of the tubulin-folding cofactor C in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Current Biology*, 2002, 12(17): 1519-1523. ●

作者:

裴文锋, 吴建勇, 邢朝柱, 郭立平, 戚廷香, 王海林, PEI Wen-feng, WU Jian-yong, XING Chao-zhu, GUO Li-ping, QI Ting-xiang, WANG Hai-lin

作者单位:

中国农业科学院棉花研究所/棉花生物学国家重点实验室, 河南安阳, 455000

刊名:

棉花学报ISTIC PKU

英文刊名:

Cotton Science

年, 卷(期):

2013, 25(6)

参考文献(29条)

1. BARTEL D P [MicroRNAs:Genomics,biogenesis,mechanism,and function](#) 2004(02)

2. FABBRI M;Garzon R;Cimmino A [MiRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B](#) 2007(40)

3. Murchison EP;Partridge JF;Tam OH;Cheloufi S;Hannon GJ [Characterization of Dicer-deficient murine embryonic stem cells](#)[外文期刊] 2005(34)

4. 邢朝柱,郭立平,吴建勇,戚廷香,王海林,乔秀芹,唐会妮 [转基因抗虫三系杂交棉一中棉所83](#)[期刊论文]-[中国棉花](#) 2012(7)

5. 魏娟 [哈克尼西棉细胞质雄性不育系和保持系microRNA研究](#)[学位论文] 2011

6. Jose Manuel Franco-Zorrilla;Adrian Valli;Marco Todesco;Isabel Mateos;Maria Isabel Puga;Ignacio Rubio-Somoza;Antonio Leyva;Detlef Weigel;Juan Antonio Garcia;Javier Paz-Ares [Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity](#)[外文期刊] 2007(8)

7. SCHWAB R;Palatnik J F;Riester M [Specific effects of microRNAs on the plant transcriptome](#) 2005(04)

8. Wang, JW;Czech, B;Weigel, D [miR156-Regulated SPL Transcription Factors Define an Endogenous Flowering Pathway in Arabidopsis thaliana](#)[外文期刊] 2009(4)

9. Silvia Ferrario;Richard GH Immink;Gerco C Angenent [Conservation and diversity in flower land](#)[外文期刊] 2004(1)

10. Wu, G;Park, MY;Conway, SR;Wang, JW;Weigel, D;Poethig, RS [The Sequential Action of miR156 and miR172 Regulates Developmental Timing in Arabidopsis](#)[外文期刊] 2009(4)

11. XIE Ka-bin;Wu Cong-qing;Xiong Li-zhong [Genomic organization,differential expression,and interaction of SQUAMOSA promoter-binding-like transcription factors and microRNA156in rice](#) 2006(01)

12. WU Guang;Poethig R S [Temporal regulation of shoot development in Arabidopsis thaliana by miR156 and its target SPL3](#) 2006(18)

13. XING Shu-ping;Salinas M;Hohmann S [miR156-targeted and nontargeted SBP-Box transcription factors act in concert to secure male fertility in Arabidopsis](#) 2010(12)

14. NAYA L;Khan G A;Sorin C [Cleavage of a non-conserved target by a specific miR156 isoform in root apices of Medicago truncatula](#) 2010(03)

15. GARCIA-MAYORAL M F;Castano R;Fanarraga M L [The solution structure of the N-terminal domain of human tubulin binding cofactor C reveals a platform for tubulin interaction](#) 2011(10)

16. BARTOLINI F;Bhamidipati A;Thomas S [Functional overlap between retinitis pigmentosa 2 protein and the tubulin-specific chaperone cofactor C](#) 2002(17)

17. PANG Ming-xiong;Woodward A W;Agarwal V [Genome-wide analysis reveals rapid and dynamic changes in miRNA and siRNA sequence and expression during ovule and fiber development in allotetraploid cotton \(Gossypium birsutum L.\)](#) 2009(11)

18. WEI Li-qin;Yah Long-feng;Wang Tai [Deep sequencing on genome-wide scale reveals the unique composition and expression patterns of microRNAs in developing pollen of Oryza sativa](#) 2011(06)

19. JOHN P;Vogel D F G;Todd C [Genome sequencing and analysis of the model grass Brachypodium distachyon](#) 2010(7282)

20. LEVINGS C S;Pring D R [Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA from normal and Texas cytoplasmic male sterile maize](#) 1976(4248)

21. HANSON M R;Bentolila S [Interaction of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development](#) 2004(supple 1)

22. [BUDAR F;Touzet P;Paepe D R The nucleo-mitochondrial conflict in cytoplasmic male sterilities revisited](#) 2003(01)
23. [MEIS D L;Arruda A P;Costa D M R Identification of a Ca²⁺-ATPase in brown adipose tissue mitochondria:regulation of thermogenesis by ATP and Ca²⁺](#) 2006(24)
24. [VENKATRAMAN M;Konga D;Peramaiyan R Reduction of mitochondrial oxidative damage and improved mitochondrial efficiency by administration of crocetin against benzo\[a\]pyrene induced experimental animals](#) 2008(09)
25. 朱云国, 张昭伟, 王晓玲, 解海岩, 王学德 [哈克尼西棉细胞质雄性不育系小孢子发生的超微结构观察](#)[期刊论文]-[棉花学报](#) 2005(6)
26. 段中鑫, 覃玉蓉, 夏新莉, 尹伟伦 [超量表达胡杨peu-MIR156j基因增强拟南芥耐盐性](#)[期刊论文]-[北京林业大学学报](#) 2011(6)
27. [LOPEZ-FANARRAGA M;Avila J;Guasch A Review:Postchaperonin tubulin folding cofactors and their role in microtubule dynamics](#) 2002(02)
28. [STEINMETZ M O;Akhmanova A Capturing protein tails by CAP-Gly domains](#) 2009(11)
29. [Kirik V;Mathur J;Grini PE;Klinkhammer I;Adler K;Bechtold N Functional analysis of the tubulin-folding cofactor C in Arabidopsis thaliana](#)[外文期刊] 2002(17)

引用本文格式: [裴文锋](#). [吴建勇](#). [邢朝柱](#). [郭立平](#). [戚廷香](#). [王海林](#). [PEI Wen-feng](#). [WU Jian-yong](#). [XING Chao-zhu](#). [GUO Li-ping](#). [QI Ting-xiang](#). [WANG Hai-lin](#) [哈克尼西棉细胞质雄性不育系和保持系花发育不同时期miR156及靶基因TBCC的研究](#)[期刊论文]-[棉花学报](#) 2013(6)