

<<大豆在暗诱导下光周期及衰老相关基因>>

图书基本信息

书名：<<大豆在暗诱导下光周期及衰老相关基因的差异表达研究>>

13位ISBN编号：9787802338692

10位ISBN编号：7802338697

出版时间：2009-5

出版时间：中国农业科学技术出版社

作者：赵琳

页数：180

字数：146000

版权说明：本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问：<http://www.tushu007.com>

<<大豆在暗诱导下光周期及衰老相关基因>>

内容概要

黑龙江省是我国大豆主要生产基地, 加入世贸组织后, 大豆面临严重的进口压力。

主要原因是我国大豆单产低, 竞争力不强。

大豆属于短日照植物, 其生长发育对光周期反应非常敏感, 这一特性严重阻碍大豆品种的适应性, 是制约大豆单产提高和稳产的关键因素。

暗处理相当于短日照, 可以缩短大豆的开花和成熟期, 其表型之一是加速叶片的衰老。

叶细胞的结构、代谢和基因表达都协调地发生变化, 细胞器官的组分被依次有序的分解。

代谢变化包括合成代谢活性的减弱, 如光合作用和蛋白质的合成, 以及分解代谢的加速, 如核酸降解和蛋白水解。

这些对维持植物生长和生殖是非常必要的, 基因转录物丰度的巨大变化揭示了从有光合活性的叶片到作为流动营养物质来源的衰老器官来维持发育的转变情况。

为了打破大豆种植区域的局限性, 本研究在细胞分子水平上从基因差异表达的角度研究短日照光周期诱导开花和衰老过程中基因转录丰度的变化, 克隆与大豆光周期反应及衰老有关的基因, 从而探索大豆叶片感受日长变化诱导开花和衰老的复杂机制。

虽然植物花器官的分化发生在顶端分生组织, 在开花过程中的基因表达也必然在顶端分生组织中有所反映, 然而植物感受光的器官是叶片, 并利用长距离信号通过韧皮部传导至顶端分生组织(SAM)影响生殖生长, 在光周期控制开花过程中也必然牵涉叶片中很多基因的互作。

由于黑暗的长度是开花时间的关键决定因素, 在光周期控制开花过程中基因可能在夜间表达有差异, 所以, 以昼夜交替时的大豆的两个样本的叶片为研究目的对象, 构建了差异表达的cDNA消减文库, 发现与暗诱导相关的差异表达基因, 揭示了有关参与机体暗适应下蛋白质的上调表达的信息, 为进一步分离暗处理产生差异表达基因奠定了基础。

通过转化短日照烟草, 进行光周期反应基因的功能验证, 分析该类基因在光周期反应中的作用。

同时, 研究外源激素的施加对光周期途径相关转录因子基因表达的影响; 分析开花诱导中基因组织特性的表达情况。

本研究的宗旨是通过基因的克隆和改造, 试图从根本上改变大豆对光的敏感性, 为大豆高产稳产提高寻找新的突破口, 从根本上扭转我国大豆依赖于进口的被动局面。

主要结果如下。

1. 本试验首次应用抑制性消减杂交(SSH)技术以东农u3大豆的短日照(8h光/16h暗)和长日照(16h光/8h暗)两个样本为研究目的对象, 构建了含有1738个克隆的差异表达的cDNA消减文库, 对148个克隆进行测序, 在此基础上发现了76个与暗诱导相关的差异表达ESTs(上调至少3倍), 根据Blastn和Blastx推测这些ESTs的功能包括参与转录、信号转导和细胞凋亡的调节类蛋白; 参与大分子降解的酶类如蛋白和核酸的降解、参与细胞壁修饰的合成代谢、初级代谢以及次级代谢的酶类和解毒与防卫的压力反应的基因。

揭示了有关参与机体暗适应下蛋白质的上调表达的信息, 为进一步分离短日处理产生差异表达基因奠定了基础。

2. 为了研究GmRAV在大豆短日照信号转导中的可能作用, 我们利用cDNA末端快速扩增(RACE)技术从大豆中克隆了编码GmRAV的cDNA序列。

序列分析结果表明, GmRAV基因编码351个氨基酸, 含有AP2/ERF和B3结构域, GenBank登陆号为DQ147914, 其DNA序列与辣椒、水稻和拟南芥RAV基因高度同源。

3. Real-time RT-PCR分析在短日照和长日照条件下大豆叶片中GmRAV基因mRNA转录物的丰度变化, 表明该基因的丰度在短日照(SD)时都要显著高于在长日照(LD)条件下的丰度。

4. 分析GmRAV基因在不同组织中mRNA转录物的丰度变化表明, SD强烈诱导GmRAV基因在叶、根和茎中的表达。

5. 构建了植物表达载体pBI121-GmRAV, 用农杆菌介导法转化烟草过量表达该基因, 获得卡那霉素抗性植株54株。

PCR方法鉴定Tn转基因株系, 获得18个转基因的PCR阳性植株。

<<大豆在暗诱导下光周期及衰老相关基因>>

通过Northern分析表明这4株转基因烟草中的GmRAV基因都转录，表明它们都已成功转入烟草中，并正常表达。

6.GmRAV过量表达的烟草植株与对照相比无论在长日照和短日照下植株都明显矮小，节间距短，节数少，并且在土壤中生长时叶片更深绿，叶片小，GmRAV过量表达对茎和叶的发育以及植株的生长有推迟抑制作用。

转大豆GmRAV基因的烟草植株无论在长日照和短日照条件下均表现出开花延迟的特征，并且光周期敏感性增强，非转基因烟草在长日照比短日照条件下开花提前3天，而GmRAV过表达的烟草植株在长日照比短日照条件下开花却提前13天。

7.GmRAV是BR信号转导途径的抑制因子，GmRAV基因通过抑制BR信号而抑制植物细胞伸长从而抑制生长，导致转基因植株矮化。

8.GmRAV是GA生长信号转导途径中的促进因子，是ABA和黑暗促进衰老途径中的促进因子。

<<大豆在暗诱导下光周期及衰老相关基因>>

作者简介

赵琳(1980-), 女, 黑龙江省鹤岗市人, 博士, 助理研究员。

主要从事大豆生物技术研究, 2007年至今工作于东北农业大学农学院/大豆生物学省部共建教育部重点实验室。

在利用抑制性消减杂交技术寻找差异表达基因、基因克隆、生物信息学、植物组织培养、转基因及转基因品种培育研究方面取得一定的成绩。

<<大豆在暗诱导下光周期及衰老相关基因>>

书籍目录

1 引言 1.1 植物开花机理的研究进展 1.1.1 植物花芽分化过程的调节机制 1.1.2 环境条件对植物成花的调控 1.2 大豆光周期现象的研究进展 1.2.1 大豆生育期性状的光周期反应特性 1.2.2 光周期对大豆农艺性状和籽粒品质的影响 1.2.3 大豆中光敏感性E等位基因的研究进展 1.2.4 大豆开花时间基因图谱的绘制 1.3 拟南芥开花诱导的分子生物学研究进展 1.3.1 光周期途径 1.3.2 春化促进途径 1.3.3 自主途径 1.3.4 赤霉素途径 1.3.5 染色质结构和开花抑制 1.3.6 拟南芥开花途径的整合 1.3.7 植物中的拟南芥开花途径的基因保守性 1.4 植物衰老的研究 1.4.1 衰老的生理生化反应特性 1.4.2 衰老学说 1.4.3 衰老的调控 1.5 RAV转录因子的研究进展 1.6 基因差异表达的研究方法 1.6.1 基于cDNA的PCR扩增方法 1.6.2 基于差减杂交的克隆方法 1.6.3 表达序列标签 1.6.4 基因表达系列分析 1.6.5 微阵列杂交 1.6.6 实时荧光定量PCR技术 1.7 植物遗传转化 1.7.1 植物遗传转化方法 1.8 研究目的和意义

2 材料和方法 2.1 实验材料和试剂 2.1.1 植物材料 2.1.2 菌种及载体 2.1.3 主要试剂 2.2 实验方法 2.2.1 抑制性消减杂交(SSH) 2.2.2 抑制消减文库的构建 2.2.3 反向Northern blot斑点杂交筛选消减文库 2.2.4 测序及序列同源性检索 2.2.5 实时荧光定量PCR进一步验证差异表达的片段 2.2.6 RACE方法克隆大豆GmRAV基因 2.2.7 Real-time RT-PCR分析GmRAV的表达 2.2.8 植物表达载体pBI121-GmRAV的构建 2.2.9 农杆菌介导法转化烟草叶盘 2.2.10 转基因烟草的分子生物学检测 2.2.11 转GmRAV基因烟草T2代功能分析

3 结果与分析 3.1 抑制性消减杂交(SSH) 3.1.1 大豆总RNA的提取 3.1.2 SMART技术合成cDNA 3.1.3 双链cDNA的RsaI酶切结果 3.1.4 正向差减产物的PCR扩增结果 3.1.5 反向Northern斑点杂交筛选结果 3.1.6 测序与同源性检索结果 3.1.7 候选cDNA片段差异表达检测分析结果 3.1.8 基因功能相关分析 3.2 大豆GmRAV基因克隆 3.2.1 大豆GmRAV基因5'RACE和3'RACE克隆 3.2.2 大豆GmRAV基因全长序列的生物信息学及系统进化分析 3.2.3 GmRAV全长基因组DNA序列的获得 3.3 大豆GmRAV基因表达研究 3.3.1 大豆叶片中GmRAV基因在LD和SD条件下基因表达 3.3.2 大豆GmRAV基因在LD和SD条件下组织特异性表达分析 3.3.3 激素对大豆叶片中GmRAV基因的表达影响 3.4 植物表达载体pBI121-GmRAV的构建 3.5 烟草的遗传转化 3.5.1 丛生芽和根的诱导 3.5.2 转基因烟草的PCR检测 3.5.3 转基因烟草的PCR-Southern检测 3.5.4 转基因烟草的Northern blot检测 3.5.5 长日照和短日照下转基因烟草的T2代表型观察 3.5.6 转GmRAV基因烟草植株矮化与BR和GA激素有关 3.5.7 过量表达GmRAV增强了ABA促进叶片衰老的效应 3.5.8 暗处理下GmRAV过量表达加速植株的衰老

4 讨论 4.1 光周期和衰老相关基因表达谱分析 4.2 光周期和衰老相关基因的克隆 4.3 植物表达载体的构建及烟草的遗传转化 4.3.1 采用农杆菌转化植物的优势 4.3.2 转化农杆菌及其鉴定 4.3.3 用于转化的农杆菌的培养 4.3.4 叶盘法转化烟草

5 结论参考文献附录攻读学位期间发表的学术论文图版

<<大豆在暗诱导下光周期及衰老相关基因>>

章节摘录

1引言 1.1植物开花机理的研究进展 植物的花发育分为开花诱导、花的发端和花器官发育三个阶段。

开花是植物在生命周期过程中从营养生长向生殖发育所进行的重要转变，是植物有性生殖的重要一步，所以，植物必须精确地控制开花，才能确保在适当的时间进行有性生殖和种子成熟。

生殖生长是高等植物生活史中的重要阶段，而作为执行生殖过程的重要器官——花器官的形成和发育即成花机理更是一直受到生物学家和农学家的关注。

植物在营养生长的基础上、在一定的外界条件诱导下，茎尖分生组织从分化枝叶转为分化生殖器官（花芽），花芽的分化是植物由营养生长转入生殖生长的重要标志。

大多数高等植物在其生活周期中均存在一个共同的特点，就是在开花之前要达到一定的年龄或处于一定的生理状态，然后才能具有接受外界环境诱导而开花的能力。

植物在感受外界刺激而开花之前必须达到的生理状态称为花熟状态。

植物在达到花熟状态之前的营养生长阶段称为幼年期（juvenilephase）。

处于幼年期的植物即使满足了其开花所需的外界条件也不能开花。

已经达到花熟状态的植物，也只有在适宜的外界条件下才能开花。

也就是说当植物已达花熟状态时，外界环境的某些因素对植物的开花起主导作用。

植物总是在合适的季节才能开花，而季节的变化主要与温度和日照长度的变化有关。

研究证明，植物的开花与温度高低和日照长短有密切的关系。

· · · · · ·

<<大豆在暗诱导下光周期及衰老相关基因>>

版权说明

本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问:<http://www.tushu007.com>