

棉花中两个新的 F-box 蛋白基因的克隆与表达分析

于海川, 吴 娇, 崔百明, 孙建波, 彭 明*

(中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 热带作物生物技术国家重点实验室, 海口 571101)

摘要:以棉花 EST 序列分析为基础, 利用电子克隆和 RT-PCR 技术, 从棉花中克隆了 2 个新的 F-box 蛋白基因, 分别命名为 *GhFB1* (GenBank 核酸数据库登录号: EF419428) 和 *GhFB2* (GenBank 登录号: EF503623)。 *GhFB1* cDNA 全长 866bp, 编码 162 个氨基酸; *GhFB2* cDNA 全长 657bp, 编码 161 个氨基酸, 而且两者均含有植物 F-box 蛋白家族特有的 F-box 结构域。序列比较分析表明, *GhFB1* 和 *GhFB2* 蛋白与水稻 *OsGID2*, 拟南芥 *AtSLY1* 具有高同源性, 是棉花中 F-box 蛋白家族的新成员。RT-PCR 结果表明, *GhFB1* 和 *GhFB2* 在根、下胚轴、叶、茎、花和纤维中都有表达, 而且均在棉花纤维起始和伸长时期有优势表达, 推测这 2 个基因在棉纤维早期发育中可能起重要作用。

关键词:棉花; F-box 蛋白; 电子克隆; 表达分析

中图分类号: S562. Q785 **文献标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2008)02-0099-06

Cloning and Expression Analysis of Two New Genes Encoding F-box Proteins in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.)

YU Hai-chuan, WU Jiao, CUI Bai-ming, SUN Jian-bo, PENG ming*

(Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, National Key Biotechnology Laboratory for Tropical Crops, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: In the attempt to elucidate the pivotal function of GA signaling in the initiation and elongation of cotton fiber, two new F-box protein genes were isolated from *Gossypium hirsutum* for the first time using electronic cloning and RT-PCR methods. They were named *GhFB1* and *GhFB2*, respectively and were submitted to NCBI and the GenBank accession were EF419428 and EF503623. The cDNA of *GhFB1* contained 866 bp and encoded a putative protein of 162 aa, while *GhFB2* was 920 bp in length, encoding a predicted protein of 161 aa. The encoding proteins have the typical F-box motif of F-box protein family. Bioinformatics analysis indicated that the identities of the deduced *GhFB1* and *GhFB2* amino acid with *Oryza sativa* protein, *OsGID2*, and *Arabidopsis thaliana* protein, *AtSLY1*, are very high. Sequence analysis indicated that these two genes are new members of the F-box protein gene family. The expression patterns of *GhFB1* and *GhFB2* was analyzed by RT-PCR in cotton. It was demonstrated that these two F-box protein genes were both expressed in root, hypocotyls, leaf, stem and fibers, and the highest level of transcripts was to accumulate in the fibers at the stage of initiation and elongation, suggesting that the two F-box genes, *GhFB1* and *GhFB2*, might play important roles in the early stage of fiber development.

Key words: cotton; F-box protein; electronic cloning; expression analysis

在真核生物中, 泛素介导的蛋白降解途径参与了许多生物学过程^[1]。F-box 蛋白是一种非常

重要的 E3 泛素连接酶 SCF 复合体的一个亚基, 它决定了底物识别的特异性。目前, 从各种植物

中已鉴定出大量的 F-box 蛋白,它们参与了植物不同激素的信号传导、自交不亲和、花器官发育等生物学过程和植物的胁迫反应。因此,F-box 蛋白质介导的泛素化蛋白质降解途径可能是植物基因表达调控的重要机制^[2]。

SLEEPY1 (*SLY1*)是拟南芥 GA 信号传导途径中的负调节因子。*SLY1* 基因编码 F-box 蛋白,在 GA 信号传导途径中起着调控作用^[3]。*SLY1* 与拟南芥中的 *RGA* 和 *GAI* 都有直接相互作用,介导了 *RGA* 和 *GAI* 这些负调控因子的降解,从而解除了 *DELLA* 蛋白对 GA 信号传导途径的抑制^[4]。*GID2* 基因编码一个水稻 F-box 蛋白,*gid2* (*gibberellin-insensitive dwarf2*)是水稻 GA 不敏感矮化突变体。*GID2* 与 *SLR1* (*Slender Rice 1*)有特异相互作用^[5],使 *SLR1* 蛋白产生 GA 依赖的磷酸化,最终被 *SCF^{GID2}* 降解^[6]。

因此,依据赤霉素信号转导途径在很多植物中相对保守这一特性^[7],为揭示棉花中赤霉素信号组分对棉纤维分化和发育的重要作用,本研究克隆了两个新的棉花 F-box 蛋白全长基因并进行了初步表达分析。

1 材料和方法

1.1 植物材料

棉花 (*Gossypium hirsutum*) 材料为陆地棉品种徐州 142,种植于中国热带生物技术研究所实验基地。棉花种子经 70% 乙醇表面灭菌 1 min,再用 10% H_2O_2 溶液浸泡 1 h,随后用无菌水洗 3~4 次,28 °C 无菌水中浸泡 24 h 后,于 1/2 MS 培养基上萌发 (16 h 光照/8 h 黑暗,28 °C)。幼苗生长 5~7 d 后,取根、下胚轴分别提取 RNA。茎、叶、花、胚珠和纤维均取自大田种植的棉花植株。

1.2 棉花 F-box 蛋白基因的电子克隆

分别以水稻 (*Oryza sativa*) 中的 F-box 蛋白基因 *OsGID2* (GenBank 登陆号:AB100246)的氨基酸序列和拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中的 F-box 蛋白基因 *AtSLY1* (GenBank 登陆号:NM_118554)的氨基酸序列为探针,用 tBLASTn 程序对棉花 EST 数据库 (Database: gp_est_923.nr 150,181 sequences) 进行同源查询。用 sequencher 软件对大量同源性高的 EST 序列进行拼接,并用 Vcator NTI 10.0 软件确定拼接序列的 ORF 完整性。然后,将所获得的拼装序列进一步在 GenBank 中用 BLAST 进行同源序列

查询。

1.3 棉花 *GhFB1*、*GhFB2* 的基因克隆与测序

根据两个 F-box 蛋白的拼装体,分别在其开放阅读框的两侧设计引物。按照肖月华的方法提取棉花总 DNA^[8],并从基因组中扩增相应的基因片段,50 μ L 体系包括 10 \times buffer, 0.2 mmol \cdot L⁻¹ dNTP, 1.5 mmol \cdot L⁻¹ MgCl₂, 上下游引物各 0.2 μ mol \cdot L⁻¹, 1U TaqDNA 聚合酶 (promega)。PCR 反应程序为:94 °C 预变性 5 min;94 °C 30 s,56 °C 30 s,72 °C 1 min,30 个循环,72 °C 延伸 7 min。

PCR 产物经 0.1% 琼脂糖凝胶电泳后,用上海生物工程公司的胶回收试剂盒回收目的 DNA,连接到大连宝生物公司的 T-simple 载体上,鉴定后送上海生物工程公司测序。

1.4 表达载体的构建

使用本实验室保存的 pBI121 质粒,构建 *GhFB1* 和 *GhFB2* 基因的植物超量表达载体。

1.5 RT-PCR 分析

按照蒋建雄的方法提取棉花总 RNA^[9],分别提取棉花不同组织(根、下胚轴、叶、茎、花及开花当天、开花后 3 d 的胚珠和开花后 5, 10, 15, 20 d 的纤维)的总 RNA,使用宝生物 AMV 反转录试剂盒进行 RT-PCR 扩增,操作均按试剂盒说明进行。棉花的 *Ubiquitin* 基因为内标,使用基因特异性引物(表 1)。

表 1 基因特异引物序列

Table 1 Primers used in Gene-specific RT-PCR of *GhFBs*

Gene	Primer(5' - 3')
<i>GhFB1</i>	AGCCTTTTTTAACTTTCCTTCA TTATCTGCCTCTGTTATTCATC
<i>GhFB2</i>	AAGGCTCCAGCTTCTTTCAATG GAACCAATCCAAACGTAAAACA
<i>GhUBI</i>	CTGAATCTTCGCTTTCACGTTATC GGGATGCAAACTCTCGTGA AAAAC

2 结果与分析

2.1 EST 序列拼接及结果分析

利用 Sequencher 软件和 Vcator NTI 10.0 软件将与水稻的 *OsGID2* 基因和拟南芥的 *At-SLY1* 基因具有高度同源性的棉花 EST 序列进行序列拼接及分析。结果表明,由 GenBank 登陆号为 DW505319, DW510519 和 DW511703 的三个陆地棉的 EST 序列所拼接得到的组装体具有完整的开放阅读框,获得全长基因 844 bp, ORF 从第 108 bp 到 593 bp, 编码 162 个氨基酸,将其命

名为 *GhFB1*; 由 GenBank 登陆号为 DW495907 和 DW495908 的两个陆地棉的 EST 序列所拼接得到的组装体具有完整的开放阅读框, 获得全长基因 657 bp, ORF 从第 24 bp 到 506 bp, 编码 161 个氨基酸, 我们将其命名为 *GhFB2* (图 1)。

将所得的 *GhFB1* 和 *GhFB2* 的氨基酸序列进一步进行 BLAST 同源序列查询, 结果表明他

们与拟南芥的 *AtSLY1* 蛋白的同源性分别是 57% 和 55%。通过在线结构域查询 <http://www.ebi.ac.uk/InterProScan/>, *GhFB1* 在第 33 到 78 个氨基酸存在 F-box 结构域, *GhFB2* 在第 33 到 78 个氨基酸存在 F-box 结构域, 见图 1 中带框的氨基酸序列。

***GhFB1* 序列**

```

ACCCTCTCTTTCTTCGTTATTTCCAATTCTGAAACTCAAATCTCAAACGATTTTAGAAAAGA      63
AAAAACCCCCAAAAAATCAAAGCCTTTTTTAACTTTCTTCAATGAAACGAAGGACCCCA      125
                                     M K R R T P      6
GATTCTCAGGCAACCGTCTCCGACCAGAAATTGAAGAAAATCAAAGAA GATGAAGAACCT      185
  D S Q A T V S D Q K L K K I K E D E E P      26
GAGGATACAAAATCTGGGTTGATGAATTTAGATGAAAATCTTTTGTACGAAGTTTTCAAACAC      248
  E D T K S G L M N L D E N L L Y E V F K H      47
GTCGATGCAAGGACTTTGGCTAGGGCTTCTTGTGTAAGCCGTCTATGGCGCCAAACCGCCAAA      311
V D A R T L A R A S C V S R L W R Q T A K      68
GACGAGCGGCTTTGGGAGCTGATCTGCACCAGG CACTGGGCTAACATCGGTTGTGGAACCCAA      374
D E R L W E L I C T R H W A N I G C G T Q      89
CAGCTTAGATCTGTCGTTTTGCCTCTCGGCGGCTCCGTCAGCTCCACTCCCCTTACCTTTGG      437
  Q L R S V V L P L G G F R Q L H S R Y L W      110
ACGTTTTCCAAGCCACAAGCCGCTTCGGCTTCCGCCTGGTCTCCGCCAAGATTATCAACTCC      500
  T F S K P Q A A S A S A W S P P K I I N S      131
AAACCGCCGGCACGGTGGGGGAAAGATGAGGTTAATCTATGCTCTCTCTCTCTCTATTTCAG      563
  K P P A R W G K D E V N L C L S L L S I Q      152
TTTTATGAGAAG ATGAATAACAGAGGCAGATAATTCTAATTCTAATTAATTAATTAATTAATTA      629
  F Y E K M N N R G R #      162
ACTTTTATAGTTTTATATAATAAATGGATCAAAAATATAAATATATCACTTTAATTTTCGCTTTTCTAG      696
CTTTGGGTTTTGCTTGTTTTTATTGTTGTATTGATTTCCCTCTATTTTTGTTTGGGATTTACTCTC      763
TCTTTTTTTTATGGAATTTTTGTACTTAAGCTTTGGGGTTTTTTGTGAACACTATATCTGTTACTC      829
TGTGCTAATGTTAAATTATGAAATGAAACAATTGATC      866

```

***GhFB2* 序列**

```

AGTGAAGGCTCCAGCTTCTTCAATGAAACGAATTTCCCCAGATTCTCCCTCCCCCAACCCAAA      65
                                     M K R I S P D S P S P Q P K      14
TTGAAGAGAGTAAAGGAAGATCCCCTACCCGAAACTGAGGGGTTTCATGAATTTGGATGAAAAC      128
  L K R V K E D P V P E T E G F M N L D E N      35
CTTTTGTACGAGGTTCTGAAACACGTTGATGCCAGGACCTTAGCAATGGCCTCCTGCGTTAGT      191
L L Y E V L K H V D A R T L A M A S C V S      56
AAGCTGTGCCTCAAAACTGCCAGAGACGAGCGTCTTTGGGAGTTGATCTGTACCGGGCACTGG      254
K L C L K T A R D E R L W E L I C T G H W      77
GCTAACATCGGTTGTGGAACCCAAAAGCTTAGATACGTGGTTTTACCTCTCGGTGGTTTCCGC      317
  A N I G C G T Q K L R Y V V L P L G G F R      98
CGTCTCCAC TCCCGTTACCTTTGGCCGCTTTCCAAACCCCAAGCTGCTTCACCTTTGCCTTGG      380
  R L H S R Y L W P L S K P Q A A S P L P W      119
GCTCCGCCAAGATTATAAACTCCAAGCCGCTGCTCGGTGGGGAAAAGATGAGGTTACACCT      443
  A P P K I I N S K P S A R W G K D E V H L      140
TTTTTGTCCCTTCTGATCTATACAGTATTATGAGAAGATGCATTTACAAGCAGGCGCAGATAA      509
  F L S L L I S I Q Y Y E K M H F T S R R R #      161
TTGTATTATGGGCTTTTGTTTTACGTTTGGATTGGTTCCTATTTTCTTATATTTAGCTTGGGATTT      577
TCATTTGTATTTAAGCTGGTGAAGTAGCTGTGTGATTCTGTTGTAATTTCAAGTATGAAAATTGAA      643
AAAATTGTTCTTG      657

```

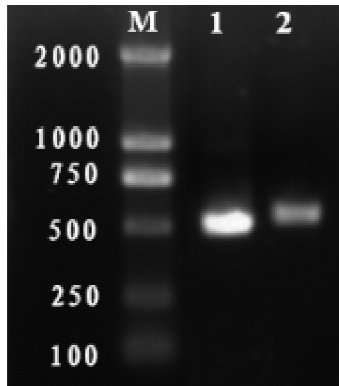
下划线部分为 RT-PCR 引物对应序列; 字母带边框部分为 F-box 基序; # 表示终止密码子的位置。

图 1 棉花 *GhFB1*、*GhFB2* 全长 cDNA 基因序列及所推测出的编码蛋白序列

Fig. 1 Nucleotide and deduced amino acid sequences of *GhFB1*, *GhFB2*

2.2 *GhFB1*、*GhFB2* 基因克隆测序结果

上海生物工程公司测序结果表明, *GhFB1*、*GhFB2* 的基因组扩增和 RT-PCR 扩增的序列一致, 说明这两个基因均不含内含子, 测序结果与我们组装序列完全一致(图 1)。它们的 PCR 产物的电泳结果也显示 *GhFB1* 包含 511 bp, *GhFB2* 包含 544 bp(图 2)。



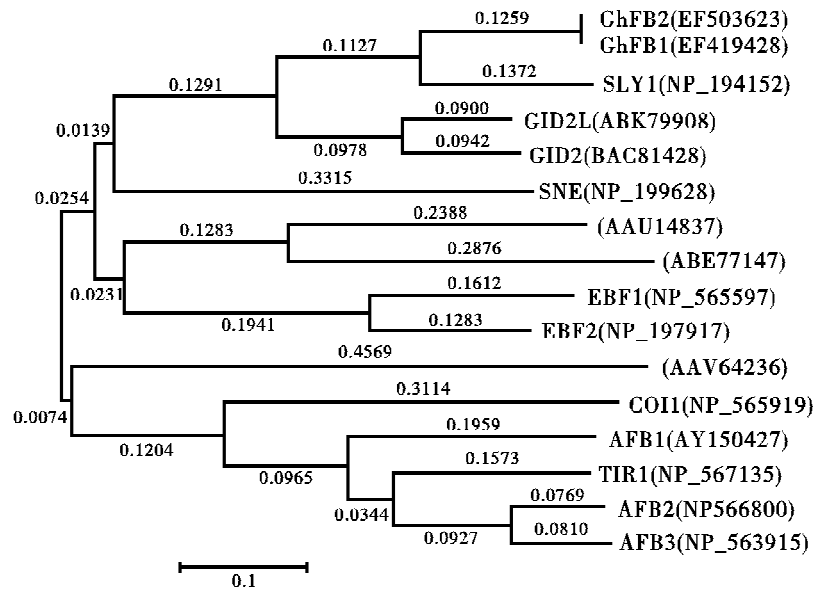
M: DNA 分子量标记 DL2000; 1: *GhFB1* 基因的 PCR 产物; 2: *GhFB2* 基因的 PCR 产物

图 2 PCR 产物凝胶电泳分析

Fig. 2 PCR products in gel electrophoresis

2.3 F-box 蛋白结构和进化树分析

对 *GhFB1* 和 *GhFB2* 基因编码的氨基酸序列进行 BLASTP 分析表明, 棉花 *GhFB1* 和 *GhFB2* 均含有 F-box 蛋白保守的 F-box 结构域, 与水稻的 *OsGID2* 基因、拟南芥的 *AtSLY1* 基因所编码的蛋白具有很高的序列相似性。为明确克隆棉花 *GhFB1* 和 *GhFB2* 蛋白与其它植物 F-box 蛋白的进化关系, 选取拟南芥的 9 个 F-box 蛋白和水稻、小麦、玉米、矮牵牛花、金鱼草的 F-box 蛋白进行多重序列比对, 并构建了进化树。如图 3 所示, 棉花 *GhFB1*、*GhFB2* 蛋白与水稻的 *GID2* 蛋白、拟南芥的 *SLY1* 蛋白和小麦的 *GID2L* 蛋白在进化关系上非常接近, 明显与其它植物或拟南芥中不同功能的 F-box 蛋白进化关系较远。由于序列的同源性与其功能的相似往往存在一致, 而 *GID2*、*SLY1*、*GID2L* 都已经被证明在 GA 信号传导中起正调节因子的作用, 因此, 我们推测 *GhFB1*、*GhFB2* 蛋白在棉花的 GA 信号传导途径中起重要作用。



图中括号内是各种 F-box 蛋白的 GenBank 登陆号; 粗体表示棉花中的 F-box 蛋白 *GhFB1*、*GhFB2*, 其它包括拟南芥 (*SLY1*, *SNE*, *EBF1*, *EBF2*, *COI1*, *AFB1*, *AFB2*, *AFB3*, *TIR1*)、大麦 (*GID2L*)、水稻 (*GID2*)、矮牵牛 (*AAU14837*)、玉米 (*AAV64236*)、金鱼草 (*ABE77147*) 中的 F-box 蛋白

图 3 相关 F-box 蛋白的系统进化分析

Fig. 3 Phylogenetic analysis of *GhFB1*, *GhFB2* with other plant F-box proteins

2.4 棉花 F-box 蛋白基因表达载体的构建

根据 pBI121 载体的 *GUS* 基因两边的酶切位点, 重新设计合适的引物 (分别在正反引物的 5' 端加上酶切位点 *Bam*H I 和 *Sac* I), 用这两组引物再次进行 RT-PCR。将 PCR 产物和 pBI121 载体分别进行 *Bam*H I 和 *Sac* I 双酶切, 回收并使

用 T4 连接酶连接带有相同粘性末端的 PCR 产物和 121 载体大片段, 得到表达载体 pBI121-*GhFB1* 和 pBI121-*GhFB2*(图 4)。

2.5 棉花 F-box 蛋白基因的表达分析

为研究 *GhFB1* 和 *GhFB2* 在棉花中表达的

时空特性,提取不同组织和纤维发育不同时期的总 RNA,以棉花 Ubiquitin 基因作内标,进行 RT-PCR 分析(图 5)。结果表明两个 F-box 蛋白基因在棉花的根、下胚轴、叶、茎、花、胚珠(含纤维)、纤维中均有表达,在棉花发育起始的胚珠和纤维中具有较高表达量,而在开花后 10~20 d 的纤维中表达量较弱,说明这 2 个基因主要与纤维的起始和伸长有关,而与纤维的次生壁增厚过程无关。

3 结论与讨论

进行未知基因克隆时,通常需要通过保守结构域的比对,设计兼并引物,再进行 3'端和 5'端的序列的扩增。而本实验利用了生物信息学的方法对棉花中未知的 F-box 蛋白进行了电子克隆。通过不同来源的同源序列的比对和分析,直接得到目的基因序列,并用简单的实验验证序列的正确性。事实证明,这是一个克隆新基因的非常行之有效的方法。它简化了以往克隆未知基因的繁琐步骤,通过对 EST 的搜集、比对、组装,增加了序列的科学性和正确性。这种方法尤其适用于在已研究比较深入的,特别是已经建立了 EST 库的物种。棉花已经建立了一个庞大的 EST 库,因此,对于寻找棉花中的新基因,电子克隆的方法非常简便、有效。

棉花纤维是由单一胚珠外表皮细胞发育而来,赤霉素在棉花纤维起始、伸长过程中起重要作用^[10],GA3 能诱发较多的纤维原始细胞,能刺激纤维使其具有一定程度的伸长^[11-12],但赤霉素影响棉纤维伸长的分子生理机制还很不清楚。尽管赤霉素的生物合成和代谢途径人们已了解的比较清楚^[13],但有关 GA 信号传导机制还不太明确。DELLA 蛋白是一类转录因子,属于 GRAS 基因家族,是 GA 信号传导途径的负调控因子^[14]。研究表明具有生物活性的 GA 是通过减弱 DELLA 蛋白的抑制作用来调节植物的生长发育的^[15]。在 GA 诱导的 DELLA 蛋白降解的过程中,遍在蛋白和特有的 SCF(Skp1/cullin/F-box) E3(Ub-ligase enzymes)复合体起重要作用。F-box 蛋白通过参与 GA 信号的负调控因子 DELLA 蛋白降解而使植物产生 GA 反应,并成为 GA 信号通路中的重要组分。通过对相关突变体的生理和分子生物学研究,F-box 蛋白在拟南芥、水稻中的作用已得到证明^[13-16]。拟南芥 SLY1 基因^[15]和水稻中的 GID2 基因^[16]分别编码了一种 F-box 蛋白,并参与了 DELLA 蛋白的降解,在 GA 信号传导

途径中扮演正调节因子的角色。

F-box 蛋白的 N 端通常含有 30~60 个氨基酸组成的 F-box 结构域,F-box 蛋白是通过其 F-box 结构域与 Skp1 结合而连接到 SCF 复合体上,GhFB1 和 GhFB2 蛋白均含有 F-box 蛋白家族的标志性保守单位—F-box 结构域。此外,F-box 蛋白 C 端往往还有一些与蛋白-蛋白相互作用相关的二级结构^[17]。

研究棉花中的赤霉素信号途径的重要组分,可以更好地理解棉纤维的发育和赤霉素的作用密切相关。本研究首次电子克隆得到了两个新的棉花 F-box 蛋白基因,为后续在棉花中研究赤霉素信号传导工作奠定了基础。

参考文献:

- [1] SMALLE J, Vierstra R D. The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 555-590.
- [2] 秘彩莉, 刘旭, 张学勇. F-box 蛋白质在植物生长发育中的功能 [J]. *遗传*, 2006, 28(10): 1337-1342.
- [3] STRSDER L C, Ritchie S, Soule J D, et al. Recessive-interfering mutations in the gibberellin signaling gene SLEEPY1 are rescued by overexpression of its homologue, SNEEZY [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(34): 12771-12776.
- [4] DILL A, Thomas S G, Hu J, et al. The *Arabidopsis* F-box protein SLEEPY1 targets gibberellin signaling repressors for gibberellin-induced degradation [J]. *Plant Cell*, 2004, 16(6): 1392-1405.
- [5] GOMI K, Sasaki A, Itoh H, et al. GID2, an F-box subunit of the SCF E3 complex, specifically interacts with phosphorylated SLR1 protein and regulates the gibberellin-dependent degradation of SLR1 in rice [J]. *Plant J*, 2004, 37(4): 626-634.
- [6] SASAKI A, Itoh H, Gomi K, et al. Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant [J]. *Science*, 2003, 299(5614): 1896-1898.
- [7] THOMAS S G, Sun T P. Update on gibberellin signaling. A tale of the tall and the short [J]. *Plant Physiol*, 2004, 135: 668-676.
- [8] 肖月华, 罗明, 方卫同, 等. 利用 YADE 法进行棉花基因组 PCR 步行 [J]. *遗传学报*, 2002, 29(1): 62-66.
- [9] 蒋建雄, 张天真. 利用 CTAB/酚法提取棉花组织总 RNA [J]. *棉花学报*, 2003, 15(3): 166-167.

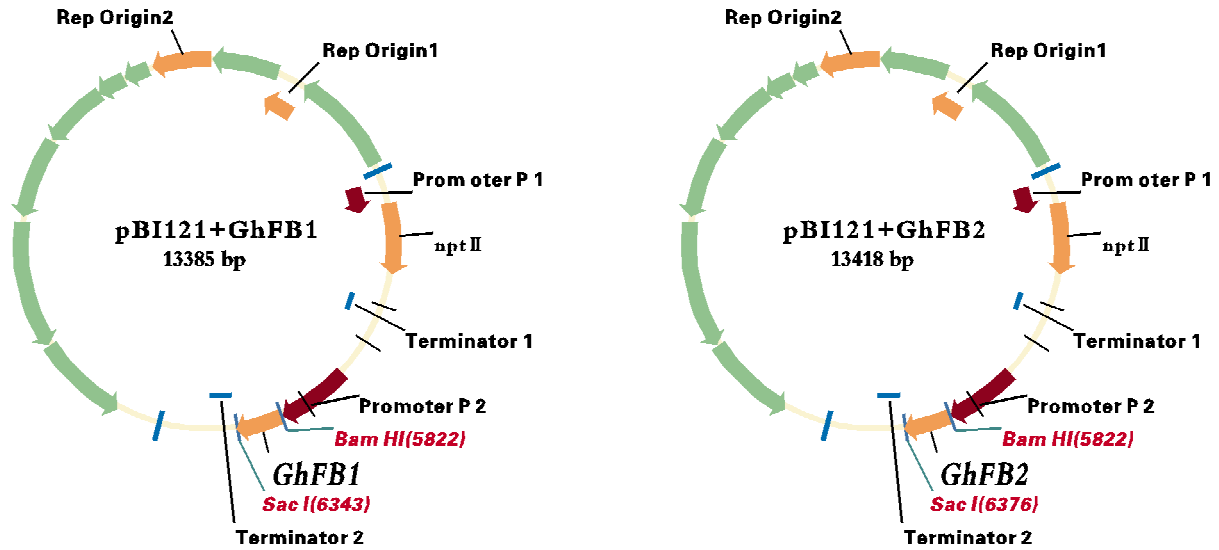
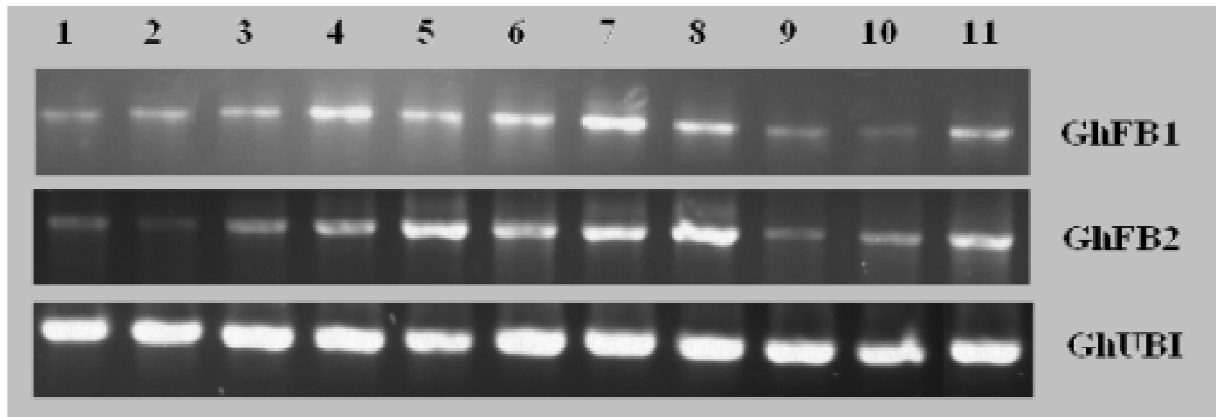


图 4 植物表达载体 pBI121-GhFB1 和 pBI121-GhFB2

Fig. 4 Expression vectors of GhFB1, GhFB2 are constructed by using pBI121



GhFB1、GhFB2 和 Ubiquitin 均扩增 27 个循环;1~11 分别为根、下胚轴、茎、叶、花、开花当天的胚珠、开花后 3 d 的胚珠(包括纤维)以及开花后 5, 10, 15, 20 d 的纤维。

图 5 GhFB1 和 GhFB2 基因的 RT-PCR 分析

Fig. 5 The RT-PCR analysis of the expressions of GhFB1 and GhFB2

[10] SEAGULL R W, Giavalis S. Pre- and Post-Anthesis Application of Exogenous Hormones Alters Fiber Production in *Gossypium hirsutum* L. Cultivar Maxxa GTO [J]. J Cotton Sci, 2004, 8: 105-111.

[11] 杜雄明, 潘家驹. 影响棉纤维分化和发育的因素 [J]. 生命科学, 2000, 12(4): 177-180.

[12] 孙建波, 崔百明, 刘德兵, 等. 棉花生长素结合蛋白 ABPI 基因 cDNA 的克隆及序列分析 [J]. 棉花学报, 2007, 19(4): 243-247.

[12] HEDDEN P, Philips A L. Gibberellin metabolism; new insights revealed by the genes [J]. Trends Plant Sci, 2000, 5: 523-30.

[13] PENG J, Harberd N P. Gibberellin deficiency and response mutations suppress the stem elongation phenotype of phytochrome-deficient mutants of *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 1997, 113: 1051-1058.

[14] TYLER L, Thomas S G, Hu J, et al. DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2004, 135: 1008-1019.

[15] MCGINNIS K M, Thomas S G, Soule J D, et al. The *Arabidopsis* SLEEPY1 gene encodes a putative F-Box subunit of an SCF E3 ubiquitin ligase [J]. Plant Cell, 2003, 15: 1120-1130.

[16] SASAKI A, Itoh H, Gomi K, et al. Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant [J]. Science, 2003, 299: 1896-1898.

[17] KIPREOS E T, Pagano M. The F-box protein family [J]. Genome Biol, 2000, 1(5): 3002, 1-7. ●