

棉花纤维特异表达 *GhCesA4* 启动子的克隆及序列分析

袁 辉, 罗淑萍*, 张雨良, 马德英

(新疆农业大学, 乌鲁木齐 830052)

摘要:以新疆陆地棉品种新陆早 19 的 DNA 为模板,克隆了棉花纤维特异启动子 *GhCesA4*, GenBank 登录号:EU183119,将启动子基因序列克隆到 pMD19-T 载体中,由载体通用引物 M13-47、RV-M 经 PCR 鉴定获得 *pMD19-T/GhCesA4* 重组载体。测序和序列分析表明,该启动子序列由 1503 bp 核苷酸组成,与 GenBank 中 *GhCesA4* 基因启动子序列同源性高达 98%。分别用限制性内切酶 *Cla* I 和 *Bam*H I 双酶切重组质粒 *pMD19-T/GhCesA4* 和二元植物表达载体 *pBI121*,分别回收 *pMD19-T/GhCesA4* 重组质粒中的 *GhCesA4* 小片段和 *pBI121* 植物表达载体中缺失 CaMV35S 组成型启动子的大片段,经连接、转化、酶切及测序鉴定,获得由 *GhCesA4* 驱动报告基因 *GUS* 的新型植物表达载体,命名为 *pBI-GhCesA4*。

关键词:棉花;纤维特异启动子;*GhCesA4*;克隆;序列分析

中图分类号:S562.035.3 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2009)03-0190-06

Cloning and Sequence Analysis of Fiber-specific Expressional Promoter *GhCesA4* from Cotton (*Gossypium hirsutum*)

YUAN Hui, LUO Shu-ping*, ZHANG Yu-liang, MA De-ying

(Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China)

Abstract: Differentiation of cotton fiber experience four development stages, including initiation, prolongation, secondary wall thickening, and dehydration and maturation. During the stages, many genes, known to be fiber-specific or preferentially expressed in cotton fiber, are developmentally expressed. Inhere promoter of cotton fiber development related gene play an important role. In this experiment, we cloned cotton fiber-specific promoter *GhCesA4* from "Xinluzao 19", GenBank accession number is EU183119. The promoter is cloned into *pMD19-T* vector, then we successfully identified and obtained recombinant plasmid *pMD19-T/GhcesA4* through vector specific PCR primer M13-47 and RV-M. Sequencing and sequence analysis showed the promoter is up of 1503 bp nucleotide and has 98% identity with *GhCesA4* gene submitted in GenBank. Respectively restriction enzyme *Cla* I and *Bam*H I digested recombinant plasmid *pMD19-T/GhCesA4* and binary plant expression vector *pBI121*, recovering the small fragment in the recombinant plasmid *pMD19-T/GhCesA4* and the big fragment lack of CaMV35S promoter in binary plant expression vector *pBI121*. By ligating, transforming, digestion and sequencing, we obtained a new pattern plant expression vector which was driven by *GhCesA4* *GUS* reporter gene, namely *pBI-GhCesA4*.

Key words: cotton; fiber-specific promoter; *GhCesA4*; cloning; sequence analysis

人们对回归自然的追求对棉纤维的品质提出了更高的要求,亟待纤维强度和色泽等方面进行改良^[1-3]。由于棉花纤维品质与产量之间为遗传

传负相关,给传统育种技术带来了极大的困难。而现代分子育种工程有望突破这一遗传不良连锁的科学问题,使得棉纤维品质与产量得以同步改

良^[2]。通过对棉花纤维发育基因的大规模解析以及基因间的互作研究,就可以进一步探讨棉花纤维发育的分子机制,还可为定向改良棉花纤维品质提供有效的基因元件^[4]。应用棉纤维特异表达启动子,可在棉纤维发育的特定阶段表达外源基因,加速对纤维品质的重要指标如强度、细度、长度等的改良,还可以给纤维增添新的品质性状,如抗皱、抗缩、色泽等^[2]。1992年,John和Crow等通过筛选海岛棉基因组文库,克隆了纤维发育早期特异表达 E6 启动子,并证明该启动子在开花后 5~28 d 表达,在 15~22 d 期间表达量最高^[5]。1996年,Rinehart和John M E在棉花纤维发育后期分离得到一个 2.3 kb 特异表达 FbL2A 启动子,它具有启动子所必须的 TATA 框等结构,该启动子 GUS 活性分析表明,要比纤维发育早期特异表达 E6-3B、E6-2A 启动子分别高出 3 倍和 8 倍^[6]。2006年,陈晓亚等成功地分离了棉花 *RDL1* 基因启动子,它指导基因在棉纤维和拟南芥表皮毛细胞中特异表达,该启动子的分离为开展棉纤维改良的基因工程提供了具有中国自主知识产权的调控元件^[7]。已有的研究证明,克隆棉花纤维特异表达启动子是遗传工程途径改良棉花纤维的先决条件^[8]。本实验克隆了棉花 *GhCesA4* 启动子基因并进行了序列分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料。新陆早 19 购自中国农业科学院棉花研究所。

1.1.2 菌种与质粒。菌种为大肠杆菌 DH5 α 、根癌农杆菌 GV3101 由本实验室保存;pMD19-T cloning vector 购于 TaKaRa;植物表达载体 pBI121 由本实验室提供。

1.1.3 酶与试剂。Taq DNA 聚合酶购自 Trans Biotech 公司;琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒,植物基因组提取试剂盒均购于 TIANGEN 公司;T4 DNA 连接酶、限制性内切酶(*Cla* I、*Bam*H I)和 DNA Marker 购于 TaKaRa 公司。

1.2 方法

1.2.1 PCR 引物设计。根据 GenBank 数据库已公布的 *Gossypium hirsutum GhCesA4* 基因序列(登录号:AF413210),设计了 *GhCesA4* 启动子特异性引物,同时,在引物的 5'端引入 *Cla* I 和 *Bam*H I 酶切位点,并增加 2 个保护性碱基。

GhCesA4-P1:5'-CCATCGATGCTATGTGGTA

GGGACAATCTGG-3'(加横线为 *Cla*I 酶切位点)

GhCesA4-P2:5'-CGGGATCCTACTTATCTTTC TCCTTCTTCTTTC-3'(加横线为 *Bam*H I 酶切位点)

根据 $T_m = (G+C) \times 4 + (A+T) \times 2 + 35 - 2n$ 公式来计算引物 T_m 值。引物由 Invitrogen-上海英骏生物技术有限公司合成。

1.2.2 棉花总 DNA 的提取。将棉花种子用浓硫酸脱去短绒,清水洗掉种子表面的硫酸,晾干;用 70%酒精对种子进行表面消毒 1 min,弃去乙醇;再经 10%的过氧化氢消毒 2 h,无菌水冲洗 3 次;然后在无菌水中浸泡 18~24 h,超净台下剥去种皮转种到培养基(1/2MS+琼脂 7 g·L⁻¹, pH 5.8)中,25℃光照培养 3~5 d,取棉花幼嫩的子叶,提取基因组 DNA,方法参照 TIANGEN 植物基因组提取试剂盒说明进行。

1.2.3 PCR 反应程序。以棉花总 DNA 为模板,采用 *GhCesA4*-P1、*GhCesA4*-P2 上下游引物进行 PCR 扩增。程序为 94℃ 3 min,94℃ 30 s,50℃ 30 s,72℃ 2 min,35 cycles,72℃ 10 min,4℃ 保存。1%的琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果。

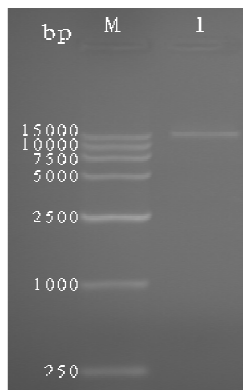
1.2.4 PCR 产物回收及克隆。将 PCR 产物经琼脂糖凝胶纯化回收,取 4.4 μ L 回收产物,加入 pMD19-T 克隆载体 0.6 μ L 和 Solution I 5 μ L,混匀,16℃反应 10~12 h。取连接产物 5 μ L 和 *E. coli* DH5 α 感受态细胞 50 μ L 混合,冰浴 30 min,42℃热激 90 s,再冰浴 5 min,加入 500 μ L LB 培养基,转移至摇床,37℃培养 1 h,涂布于含 Amp 50 mg·L⁻¹的 LB 固体培养基上,37℃倒置培养 12~16 h,观察平板上菌落生长情况。

1.2.5 重组克隆的筛选与鉴定。从平板上挑选单菌落 10 个加入 500 μ L 含 Amp LB 终浓度 50 mg·L⁻¹中,培养 10~12 h,选用载体通用引物 M13-47、RV-M 进行菌液 PCR 筛选阳性克隆子,之后进行琼脂糖凝胶电泳分析。将 PCR 反应呈阳性的 3 个克隆送到 Invitrogen-上海英骏生物技术有限公司测序鉴定。

1.2.6 *GhCesA4* 启动子的植物表达载体的构建。用限制性内切酶 *Cla* I 和 *Bam*H I 双酶切重组质粒 pMD19-T/*GhCesA4* 和双元植物表达载体 pBI121,切去 CaMV35S 启动子,分别回收 pMD19-T/*GhCesA4* 重组质粒中的小片段 *GhCesA4* 和 pBI121 的大片段,再把回收的大小两个片段进行连接,构建植物表达载体 pBI-*GhCesA4*,将其转化至大肠杆菌 DH5 α 。按 1.2.5 中方法,进行 PCR 反应及酶切鉴定。

1.2.7 植物表达载体 *pBI-GhCesA4* 转化。采用冻融法将植物表达载体 *pBI-GhCesA4* 转化至根癌农杆菌 GV3101 感受态细胞中,将菌液涂布于含卡那霉素的 LB 固体培养基上,于 28 °C 条件下培养 2~3 d,挑取单菌落进行 PCR 及酶切鉴定。

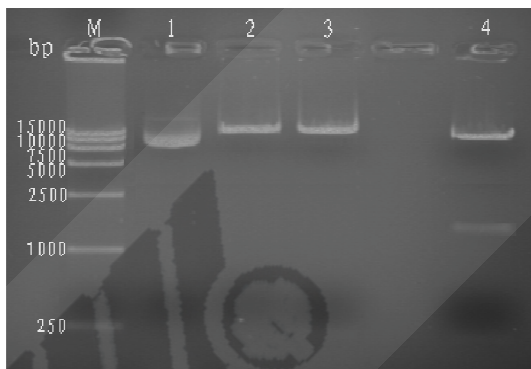
1.2.8 *GhCesA4* 启动子序列分析。采用 Blast 对棉花启动子 *GhCesA4* 序列进行核苷酸同源性比较,采用 Promoter Signal Scan, Promoter Predictions 和 Tfsitescan 软件对目的片段进行启动子区和转录因子结合位点的分析。



M: DL15000 Marker; 1. 棉花基因组 DNA。

图 1 棉花基因组 DNA

Fig. 1 Genome DNA of *Gossypium hirsutum*



M: DL15000 Marker; 1. *pBI-GhCesA4* 质粒; 2. *Cla*I 酶切质粒 *pBI-GhCesA4*; 3. *Bam*HI 酶切质粒 *pBI-GhCesA4*; 4. *Cla*I 与 *Bam*HI 双酶切质粒 *pBI-GhCesA4*。

图 3 重组质粒 *pBI-GhCesA4* 酶切鉴定结果

Fig. 3 enzyme digestion result of recombinant plasmid *pBI-GhCesA4*

2.2 *GhCesA4* 基因植物表达载体的鉴定结果

构建的植物表达载体 *pBI-GhCesA4*, 分别用 *Cla*I 与 *Bam*HI 进行单酶切, 单酶切和双酶切, 双酶切的结果很明显看见一条约 1500 bp 片段, 与预期大小一致(图 3)。说明 *GhCesA4* 启动子已经成功取代 35 S 启动子, 构建成新植物表达载

2 结果与分析

2.1 棉花基因组 DNA 及 PCR 扩增

提取的棉花基因组 DNA 经 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳(图 1)。由图可知, 该基因组 DNA 略大于 15 kb, 呈单一条带, 完整无降解, 适合 PCR 扩增等后续操作。以 *GhCesA4*-P1 和 *GhCesA4*-P2 为引物, 棉花基因组 DNA 为模板, 进行 *GhCesA4* 启动子的扩增(图 2)。从图 2 可知, 扩增获得一条大小约 1500 bp 的片段, 与预期大小一致。



M: DL2000 Marker; 1. 基因组 DNA 的扩增产物。

图 2 *GhCesA4* 启动子的 PCR 扩增

Fig. 2 PCR amplification of *GhCesA4* promoter

体 *pBI-GhCesA4*(图 4)。

2.3 植物表达载体 *pBI-GhCesA4* 的 PCR 检测结果

重组质粒 *pBI-GhCesA4* 导入农杆菌 GV3101, 重组农杆菌菌液及质粒都可以扩增出长约 1500 bp 的片段, 酶切也得到预期大小的条带(图略), 说明重组质粒 *pBI-GhCesA4* 已成功导入根癌农杆菌 GV3101。

2.4 *GhCesA4* 启动子序列测定及分析

从图 5 可知, *GhCesA4* 序列结构分析及碱基序列片段由 1503 bp 核苷酸组成, 通过 Blast 同 GenBank 中登陆的核苷酸序列进行同源性比较, 结果显示, 与登录号 AF413210 序列的同源性高达 98%, 也证实克隆的新疆陆地棉新陆早 19 存在有棉花纤维特异表达的 *GhCesA4* 启动子。采用启动子分析软件 Promoter Signal Scan 和 Promoter Prediction 对 *GhCesA4* 序列进行分析。结果表明: 该启动子属于 RNA 聚合酶 II 型的启动子, 含有多种转录调节因子如 TFIIID, CREB 和 NF-S 等(表 1)。运用 DNAMAN 软件进行序列分析, 表明该启动子片段含有 12 个 TATA 序列保守区, 主要功能是保证转录得以精确起始; 含有 7

个 CAAT box 和 4 个 GATA box,它也是启动子必须的顺式作用元件,调控着转录的起始频率^[9]。另外序列中还存在 2 个 I box(GATAAG),主要作为光调控的应答元件,也是 LeMYB1 蛋白的结合位点,而 LeMYB1 蛋白恰恰是植物类转录因子的激发子^[10]。I box 是单子叶和双子叶植物中很多光调控基因启动子所具有的、带有重要功能的

调控元件^[11]。存在 3 个 ERELEE1 (AWT-TCAAA),主要乙烯反应的应答元件^[12],存在 5 个 POLLEN1LELAT52 (AGAAA),作为花粉特异性激活的调控元件^[13],从该启动子的整体序列来看,不仅含有启动子所必须的几个保守性片段外,还含有诱导型和组织特异型启动子的一些特有序列。

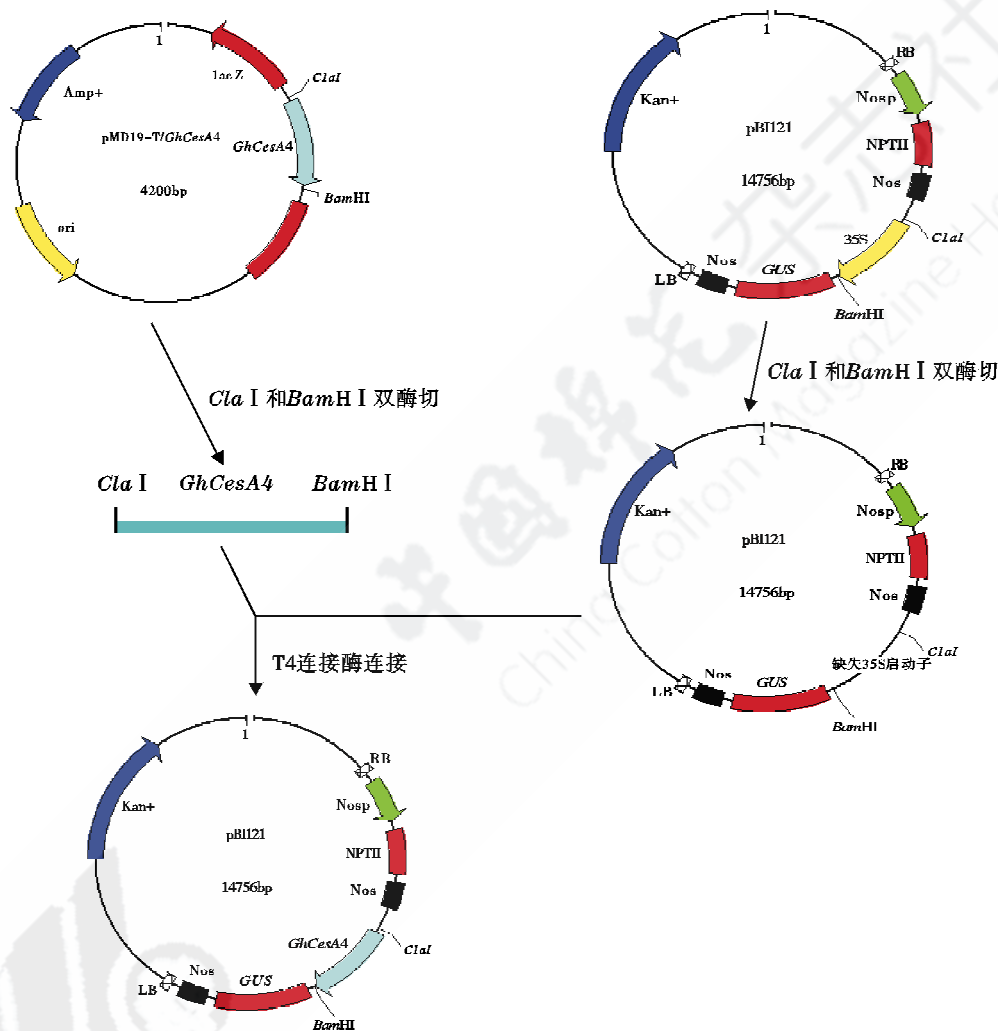


图 4 植物表达载体 *pBI-GhCesA4* 构建图

Fig. 4 Construction on plant expression vector of *pBI-GhCesA4*

表 1 Proscan 对 *GhCesA4* 启动子分析结果

Table 1 Analysis result of *GhCesA4* promoter by Proscan soft

转录调节因子	序列	正/负链	位置	加权	参考文献
CREB	TACGTCA	+	765	1.912000	Genes Dev 1; 1132-46 (1987)
E4F1	ACGTCAG	+	766	1.201000	EMBO J 6; 1345-53 (1987)
ATF/CREB	ACGTCA	+	766	1.564000	Proc Natl Acad Sci U S A 85; 7192-6 (1988)
NF-S	YGTGAGC	+	767	1.019000	Nucleic Acids Res 20; 3-26 (1992)
TFIID	TATAAAT	+	707	1.971000	Annu Rev Biochem 50; 349-83 (1981)
TFIID	TATAAA	+	707	2.618000	Nucleic Acids Res 14; 10009-26 (1986)
TFIID	TATAAA	+	876	2.618000	Nucleic Acids Res 14; 10009-26 (1986)
TFIID	TATAAAA	+	876	2.920000	Cell 43; 165-75 (1985)
TFIID	TATAAAA	+	876	1.971000	Annu Rev Biochem 50; 349-83 (1981)

注:Proscan; Version 1.7; Processed Sequence; 1503 Base Pairs; Promoter region predicted on forward strand in 640 to 890; Promoter Score; 59.21 (Promoter Cutoff = 53.000000); TATA found at 875, Est. TSS = 905.

GCTATGTGGTAGGGACA <u>AA</u> CTGGTCTGGCCAAATTTTGGTACATGTTTGGTTTGGTGTCACTCCTCTCCATTCCCTG	77
ACTCATTATTTAACCTTCTCTTTTTCATTTTTTAAATCATAATAATCTTAATTTGTTGGTTATATACCCAGTTGAA	154
TAATGTTTATTTGCTTCTTTTCCAA <u>TT</u> TATGATCTTTGCTTTTCAACTTACTAGATATGATATTTTCTTCTATTT	231
TCTGAAATCTCCAAATTTATGAGACAGTAAATTAATGCGAGGCGTATTATTTATGGTTCAACAGTGACATACATTT/	308
GACAAGGGTGAATTTATTTATTAGTTAT <u>TATA</u> CTATGTGTAAATTGTAGATTTAGTCTATAGACATTAATTTGATCA	385
TTTTAA <u>TAT</u> ATTTATTTTCAAATTTTGAAATTTTCGGTCTTGACAAAATTTGTGATGGTTAAATTTGTTAAGTTATG	462
TTATTTTCAAATTTATGCGCAAATGTATTATCACATGTATT <u>TATA</u> AAACGTAGGGATGGATCTTGACATTGAGTT	539
TTCTTTTGAGGGGTGATTGACTAAAATTTTTAAAAATTTGAAGTTTTAATGAGAATTTCAA <u>CA</u> ATTTTGTATG	616
TTAACTAAAATTTCAAAAAATGTTTTTGAAAGTTAATGAGAATTTCAAAAAATTTGAGCGGGCTAATTAATA	693
TTTTCAAAAAATG <u>TATA</u> AAATAAAAAATTTCAAAAACTTTGAGGTCATAAAGATCATCAGCCCCTGTAATACGTC	770
AGCTTGTGTTTCCCTCATTTACTCATAGAAAAATCATGTTATTTTAATTAACAGATTTAATGGCTATCATTGATT	847
TAGGAGTAAATCTAAAAATTCGAAAAGT <u>TATA</u> AAAACTAAAAATGATTAATTTGAAGAACATTAATTAATCA <u>CAA</u>	924
<u>TT</u> TACCAGAC <u>CA</u> ATAACAGAATTTTGAGTTAACAAATTTAACTGCT <u>CA</u> ATTTGGTTTAAAACCGAAATTTCAAAT	1001
CCGAAAAGT <u>TAT</u> AGGGACTAAAATTTGATCAAATTTAGAGTACATGGGTTAAATTCACAACCTACTTATAGTACAAGGAT	1078
TAATAGCATAATTTACCTTAGGCAAATGCCAGTTAGTTAAAGATGTACCTTGCCCAACCGAAAGCTTCCCTAAACT	1155
TCCCG <u>CA</u> ATTTTTTAAATTTCTTTTCCCTTAGAAAAAAGAAAAAATGTAAGCTTTGCTTGTGAGAGATTTCT	1232
CTGCAAATACATTGACACCAACAACCCACCCTCCATTACACTACCAACCGGCTTCCCCTTCAACCTTTCTTACCA	1309
TTACAACATGCCTATCTCCACCCTTAGCCCAACATGCACT <u>TATAT</u> CTTGTGTTTGGTTGTTTTCTTTTTCAT <u>ATA</u> A	1386
AAACACACAACAAGACACAAAGGTATTGAGAG <u>ATA</u> AGTAGAGGGAAAGACCCTTTGGTTAGCATATTGTTGTAGCA	1463
TTGGTTTTTCTCAAGAAAGAAGAAGGAGAAAGATAAGTA	1503

GhCesA4 启动子含有的顺式作用元件 TATA box, CAAT box 及 GATA box 上面已标出。

图 5 陆地棉 *GhCesA4* 启动子序列及其结构

Fig. 5 *GhCesA4* promoter sequence and structure in *Gossypium hirsutum*

3 讨论

棉花遗传改良的最终目标是提高棉花纤维的产量和品质。棉纤维的产量和品质不但受环境因素的影响,而且受相关基因特别是纤维特异表达基因的调控^[14]。在棉花纤维的改良中,特异启动子是首要的基因工程元件,并且它的本质就是决定基因表达强度、时间和组织特异性的一段 DNA 序列。利用这些启动子,再连接外源靶基因,对纤维品质进行基因工程改良。因此,强特异性、高活性的启动子和功能基因的克隆与鉴定研究是棉纤维基因工程改良的重要内容。

高等植物启动子区域存在各种特征元件,通过与 RNA 聚合酶的识别、结合来诱导,激活转录这一过程。已有研究表明,真核生物中已鉴定了

多种特定的启动子序列,常常在转录起始位点 5' 近端的上游区域^[15]。本研究克隆的棉花纤维特异表达启动子 *GhCesA4* 全长 1503 bp,其中 A+T 含量占 71%,说明该启动子序列富含 A、T 碱基。经生物软件分析和 PLACE 数据库可知,该启动子序列含有 12 个 TATA box,7 个 CAAT box,4 个 GATA box,2 个 I box,3 个 ERELEE1 和 5 个 POLLEN1LELAT52 等多种顺式作用元件。其中 I box 是单子叶和双子叶植物中很多光调控基因启动子所具有的,并且是带有重要功能的一种调控元件^[11]。GATA box 也在植物受光和硝酸盐诱导的转录调控中,发挥着重要的作用,为高水平的组织特异性表达所必需^[9];ERELEE4 是乙烯反应应答元件的调控因子^[12],也可能参与

了棉花纤维发育与乙烯合成途径的中间作用因子^[16]。POLLEN1LELAT52 作为花粉特异性激活的调控元件^[13],与其它几个作用元件相比,显得更为重要,棉花纤维发育这一特定的生理过程,

需要很多的能量和酶参加其反应,这就更需要一些诸如花粉特异性激活的调控元件,保证其纤维发育正常有效进行。

参考文献:

- [1] 张天真. 棉花纤维品质分子育种的现状及展望[J]. 棉花学报, 2000, 12(6): 321-326.
ZHANG Tian-zhen. Present status and prospect of molecular breeding for cotton fiber qualities[J]. Cotton Science, 2000, 12(6): 321-326.
- [2] 喻树迅. 棉花纤维品质功能基因学研究及分子改良研究进展[J]. 中国基础科学, 2007, 9(4): 18-21.
YU Shu-xun. Advances in molecular improvement and functional genomic approaches in the cotton fiber quality[J]. China Basic Science, 2007, 9(4): 18-21.
- [3] 于晓玲, 崔百明, 卫海滨, 等. 基因枪转化法在棉纤维细胞中瞬时表达外源基因的研究[J]. 棉花学报, 2007, 19(6): 419-423.
Yu Xiao-Ling, Cui Bai-ming, Wei Hai-bin, et al. Study on transient expression of target gene in the epidermal cells of cotton ovules via particle bombardment[J]. Cotton Science, 2007, 19(6): 419-423.
- [4] 刘进元, 赵广荣, 李 骥. 棉花纤维品质改良的分子工程[J]. 植物学报, 2000, 42(10): 991-995.
LIU Jin-yuan, Zhao Guang-rong, Li Ji. Molecular engineering on quality improvement of cotton fiber[J]. Acta Botanica Sinica, 2000, 42(10): 991-995.
- [5] JOHN M E, Crow L J. Gene expression in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) fiber: Cloning of the mRNAs[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89(13): 5769-5773.
- [6] 于晓红, 朱勇清, 许智宏, 等. 亚洲棉 *GAE6-3A* 上游序列的分离及其在烟草中的表达[J]. 植物生理学报, 2000, 26(2): 143-147.
YU Xiao-hong, Zhu Yong-qing, Xu Zhi-hong, et al. Isolation of *GAE-3A* 5'-upstream fragment from *Gossypium arboreum* and its expression in tobacco[J]. Acta Phytophysiological Sinica, 2000, 26(2): 143-147.
- [7] WANG Shui, Wang Jia-wei, Yu Nan, et al. Control of plant trichome development by a cotton fiber MYB gene[J]. Plant Cell, 2004, 16: 2323-2334.
- [8] KIM H J, Williams M Y, Triplett B A. A novel expression assay system for fiber-specific promoters in developing cotton fibers[J]. Plant Molecular Biology, 2002, 20(1): 7-18.
- [9] REYES J C, Muro-Pastor M I, Florencio F J. The GATA family of transcription factors in *Arabidopsis* and rice[J]. Plant Physiol, 2004, 134(4): 1718-1732.
- [10] ROSE A, Meier I, Wienand U. The tomato I-box binding factor LeMYBI is a member of a novel class of Myb-like proteins[J]. Plant Molecular Biology, 1999, 20: 641-652.
- [11] WILLIAM B T, Anthony R C. Light regulated transcription[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1995, 46: 445-474.
- [12] RAVAT R, Xu Z F, Yao K M, et al. Identification of cis-elements for ethylene and circadian regulation of the *Solanum melongena* gene encoding cysteine proteinase[J]. Plant Molecular Biology, 2005, 57: 629-643.
- [13] BATE N, Twell D. Functional architecture of a late pollen promoter: pollen-specific transcription is developmentally regulated by multiple stage-specific and co-dependent activator elements[J]. Plant Molecular Biology, 1998, 37: 859-869.
- [14] 杜雄明, 潘家驹, 汪若海. 棉纤维细胞分化和发育[J]. 棉花学报, 2000, 12(4): 212-217.
DU Xiong-ming, Pan Jia-ju, Wang Ruo-hai. Differentiation and development of fiber cells on the ovules in cotton[J]. Cotton Science, 2000, 12(4): 212-217.
- [15] 于海川, 吴 娇, 彭 明, 等. 棉花中两个新的 F-box 蛋白基因的克隆与表达分析[J]. 棉花学报, 2008, 20(2): 99-104.
YU Hai-chuan, Wu Jiao, Peng Ming, et al. Cloning and expression analysis of two new genes encoding F-box proteins in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Cotton Science, 2008, 20(2): 99-104.
- [16] SHI Yong-hui, Zhu Shen-wei, Mao Xi-zeng, et al. Transcriptome profiling, molecular biological, and physiological studies reveal a major role for ethylene in cotton fiber cell elongation[J]. Plant Cell, 2006, 18(3): 651-664. ●