

“Bolgogragsky”番茄 cDNA 文库的构建及质量评价

张佳蕊, 郝娟, 张喜春* (北京农学院植物科学技术学院, 北京 102206)

摘要 *MYB102* 转录因子在番茄响应低温胁迫中起着重要作用, 为了进一步探究番茄转录因子 *MYB102* 的分子作用机理, 筛选其蛋白, 以“Bolgogragsky”为材料, 从番茄的根、茎、叶、花、果以及萼片组织中提取总 RNA, 以其为模板合成双链 cDNA, 纯化后与载体 pGADT7-Rec 共转化入酵母 Y187 感受态细胞中构建酵母双杂交 cDNA 文库。经测定, 文库容量为 2.31×10^7 CFU, cDNA 文库的转化效率为 7.02×10^6 CFU/ μg , 文库滴度为 2.5×10^8 CFU/mL, 重组率为 97%, 插入的 cDNA 片段长度主要分布在 250~2 000 bp。结果表明, 构建的番茄 cDNA 文库符合酵母双杂交文库要求, 可用于筛选 *MYB102* 的互作蛋白。

关键词 番茄; 酵母双杂交; cDNA 文库; SMART 技术

中图分类号 S641.2 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)03-0092-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.03.024



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

The Construction and Quality Evaluation of “Bolgogragsky” Tomato cDNA Library

ZHANG Jia-rui, HAO Juan, ZHANG Xi-chun (College of Plant Science and Technology, Beijing Agricultural University, Beijing 102206)

Abstract *MYB102* transcription factor plays an important role in tomato response to low temperature stress. In order to further explore the molecular mechanism of tomato transcription factor *MYB102* and screen the protein interacting with it, a tomato yeast two-hybrid cDNA library was constructed in yeast Y187 by SMART technology. The Russian tomato variety Bolgogragsky was used to construct the yeast two-hybrid cDNA library. The total RNA was extracted from tomato root, stem, leaf, flower, fruit and sepal tissue, and was used as template to synthesize double stranded cDNA. After purification, it was transformed into yeast Y187 receptive cells together with vector pGADT7-Rec to construct yeast two-hybrid cDNA library. The test showed that the library capacity was 2.31×10^7 CFU, the cDNA library conversion efficiency was 7.02×10^6 CFU/ μg , and the library titer was 2.5×10^8 CFU/mL. The recombination rate was 97%, and the length of the inserted double stranded cDNA fragments was mainly distributed in 250~2 000 bp. The results showed that the constructed tomato cDNA library met the requirements of yeast two-hybrid library and could be used to screen *MYB102* interaction proteins.

Key words Tomato; Yeast two-hybrid; cDNA library; SMART technology

番茄(*Solanum lycopersicum* L.)是茄科番茄属的喜温性蔬菜,在我国南北方广泛种植^[1],因其营养丰富,深受各地人们喜爱。低温是制约植物生长发育和产量的重要逆境因子,低温胁迫会发生在番茄生长的各个时期,对番茄种子萌发、苗期叶片和根系发育、花芽发育及开花坐果等方面均有影响^[2]。因此,关于番茄抗寒方面的研究一直备受关注。

MYB 转录因子是一类具有高保守 DNA 结合结构域的蛋白,通过与基因启动子区域特异性结合来激活基因表达^[3],其功能多样,广泛参与植物生长发育及胁迫应答过程^[4]。*MYB102* 是一个 R2R3-MYB 型转录因子,有研究表明番茄 *MYB102* 转录因子参与低温胁迫的响应和调节,瞬时沉默 *MYB102* 基因,沉默组番茄耐寒性与对照组相比明显降低^[5]。但 *MYB102* 转录因子如何实现调控,其具体的作用机制尚不清楚。

酵母双杂交系统由 Fields 和 Song 建立,是目前常用的蛋白互作研究方法^[6],可以检验已知蛋白间的相互作用,也可用于发现新蛋白或蛋白新功能^[7]。目前,这种方法已应用于多种作物的质量性状及病害领域研究。赵光耀^[8]构建

小麦全长 cDNA 文库,谢卡斌^[9]构建水稻全长 cDNA 文库,赵怀印等^[10]构建成熟期的番茄果实 cDNA 文库,韦淑亚^[11]构建油菜菌核病相关 cDNA 文库等。为了筛选出与 *MYB102* 互作的蛋白,进而探究该转录因子的调控机制,笔者以俄罗斯番茄品种“Bolgogragsky”番茄根、茎、叶、花、果等不同组织为材料,采用 SMART 技术构建番茄酵母双杂交 cDNA 文库。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试番茄品种为实验室自存俄罗斯番茄品种“Bolgogragsky”(编号为 25),来自北京农学院蔬菜育种与生物技术实验室。酵母 Y187 感受态细胞,酵母 cDNA 文库构建试剂盒(Make Your Own “Mate&Plate™” Library System)和 SD-Leu 培养基购自 Clontech 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 材料培养及取样。“Bolgogragsky”番茄种子置于湿润滤纸上 25 ℃ 暗培养催芽,发芽种子播种到穴盘并于 20~25 ℃(16/8 h, day/night, 湿度 60%)条件下培养,待幼苗长至四叶一心时定植到日光温室自然低温生长。开花期取番茄植株的根、茎、叶、花、萼片等组织样品,果实成熟期取成熟果实、果肉,分别用锡箔纸包好,置于液氮中速冻,然后于 -80 ℃ 冰箱保存,备用。

1.2.2 番茄总 RNA 的提取。用 Trizol 法提取番茄各组织的总 RNA,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop 2000 超微量分光光度计检测总 RNA 浓度与质量,以确保初始 RNA 质量满足建库的要求。各组织提取的总 RNA 按浓度稀释成

基金项目 科技合作项目“中俄主要蔬菜基因资源多样化比较研究”(2011DFR31180-3)。

作者简介 张佳蕊(1996—),女,河北保定人,硕士研究生,研究方向:蔬菜生物技术与遗传育种。郝娟(1994—),女,山西临汾人,硕士研究生,研究方向:蔬菜生物技术与遗传育种。张佳蕊和郝娟为共同第一作者。*通信作者,教授,从事蔬菜生物技术与遗传育种研究。

收稿日期 2021-09-27

1 000 ng/ μL ,将稀释好的各组织 RNA 各取 1 μL 混匀,组成混合总 RNA。

1.2.3 双链 cDNA 的合成与纯化。参考 Make Your Own “Mate & Plate TM” Library System User Manual 说明书,引用姜赧等^[12]的试验方法,稍作改动。按说明书操作向 2 μL 混合后的总 RNA 中加入以下试剂:①CDS III Primer 1 μL ;②去离子水 1 μL ,72 $^{\circ}\text{C}$ 2 min,冰上冷却 2 min,14 000 g 瞬时离心 10 s。然后依次加入:①5 \times First-Strand Buffer 2 μL ;②DTT 1 μL ;③dNTP Mix 1 μL ;④SMART MMLV Reverse Transcriptase 1 μL ,瞬时离心,42 $^{\circ}\text{C}$ 下温浴 10 min 后加入 SMART III-modified oligo 1 μL ,42 $^{\circ}\text{C}$ 1 h,75 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。待冷却至室温,加入 RNaseH 1 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 温浴 20 min,得到合成的第 1 链 cDNA 产物。

通过 LD-PCR 进行第 2 链 cDNA 合成,PCR 体系 100 μL ,依次加入去离子水、单链 cDNA、10 \times Advantage 2 PCR Buffer、50 \times dNTP Mix、5' 和 3'PCR 引物、10 \times Melting Solution、50 \times Advantage 2 Polymerase Mix。扩增程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 6 min,20 个循环,68 $^{\circ}\text{C}$ 5 min,得到产物为双链 cDNA。

双链 cDNA 的纯化,按照 CHROMA SPINTM+TE-400 说明书进行操作。纯化后用 1%琼脂糖凝胶电泳检测双链纯化结果。

1.2.4 番茄酵母双杂 cDNA 文库构建及质量评价。将纯化的双链 cDNA 转入酵母菌株 Y187 感受态细胞,引用姜赧等^[12]的试验方法,略作改动。

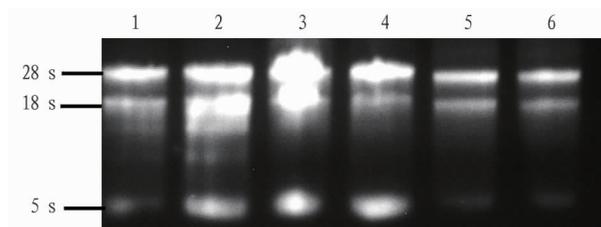
参考 Make Your Own “Mate & Plate TM” Library System User Manual 说明书用冻存液收集保存酵母文库菌液。将转化液涂于 150 mm SD-Leu 平板上,30 $^{\circ}\text{C}$ 倒置培养 3~5 d,待大部分长出菌斑后,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中预冷 4 h,每个平板加入 5 mL 冻存液,用无菌枪头刮取所有菌落,收集于无菌三角瓶,混匀,无菌 1.5 mL 离心管分装,液氮速冻后置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

取 100 μL 酵母菌转化液分别按 1/10、1/100、1/1 000、1/10 000 稀释,分别取 100 μL 稀释液涂布 SD-Leu 平板,30 $^{\circ}\text{C}$ 倒置培养 3~5 d,统计酵母菌落数,计算文库容量和文库转化效率。计算公式:文库容量(CFU)=单菌落数量 \times 溶液总体积 \times 稀释倍数/涂板体积;文库转化效率(CFU/ μg)=单菌落数量 \times 溶液总体积 \times 稀释倍数/涂板体积 \times DNA 总质量(μg)。取 50 μL 冻存液收集的酵母文库菌液,按上述比例稀释,分别涂布 SD-Leu 平板,30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养至长出菌落,统计酵母菌落数,计算 cDNA 文库滴度,文库滴度(CFU/mL)=单克隆数量 \times 稀释倍数/涂板体积(mL)。随机挑取平板上的单菌落,进行菌落 PCR 扩增及 1%琼脂糖凝胶电泳,检测 cDNA 文库插入片段长度与重组率,重组率=重组片段 PCR 的条带数/挑取单菌落数 \times 100%。

2 结果与分析

2.1 番茄不同组织总 RNA 的提取 提取的番茄各组织总 RNA 用 1%琼脂糖凝胶电泳检测,可清晰观察到 28、18 和 5 s

3 条条带,且 28 s 条带亮度最高,18 s 条带亮度次之,说明提取的 RNA 完整性较好(图 1),个别条带出现弥散现象,可能原因是 RNA 有少量降解。



注:1.花;2.叶;3.茎;4.萼片;5.果;6.根

Note: 1. Flowers; 2. Leaves; 3. Stem; 4. Sepals; 5. Fruit; 6. Root

图 1 番茄各组织的总 RNA 电泳

Fig. 1 Total RNA electrophoresis of tomato tissues

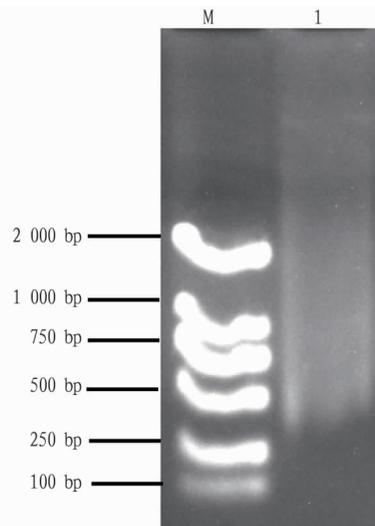
检测 RNA 纯度和浓度,结果显示,花和叶片组织中 RNA 浓度较高,茎、萼片和果次之,根组织中 RNA 浓度最低,各组织 RNA 吸光度值 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 在 1.88~2.00,表明 RNA 质量良好,可用于后续试验(表 1)。

表 1 番茄各组织的总 RNA 质量

Table 1 Total RNA quality of tomato tissues

组织 Tissue	浓度 Concentration//ng/ μL	$\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$
花 Flower	4 743.5	1.95
叶 Leaves	5 152.3	2.00
茎 Stem	1 658.3	1.96
萼片 Sepals	1 604.4	1.95
果 Fruit	1 281.9	1.88
根 Root	486.0	1.94

2.2 双链 cDNA 的合成与纯化 将各组织 RNA 等量混匀,以 2 μL 混合后的总 RNA 为模板合成双链 cDNA,纯化后得到 5.08 μg ds cDNA。用 1%琼脂糖凝胶电泳检测纯化后的双链 DNA,结果可见条带呈弥散状分布,分布范围在 250 bp 以上,纯化后 250 bp 以下片段基本去除(图 2)。



注:M. DL 2 000 DNA marker; 1. ds DNA

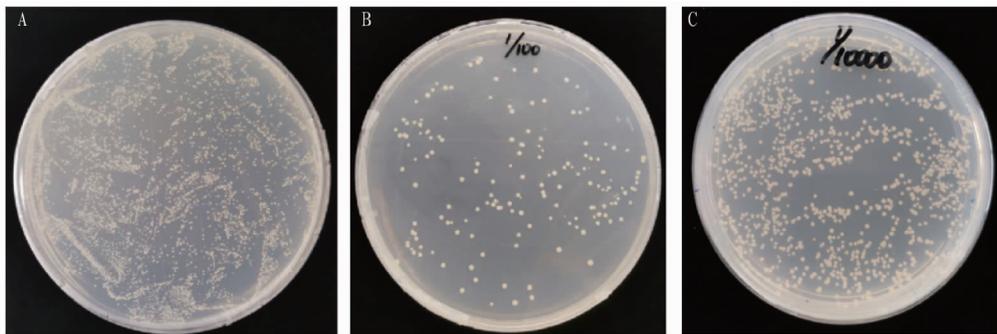
图 2 双链 cDNA 电泳

Fig. 2 Electrophoresis of double strand cDNA

2.3 番茄 cDNA 文库的构建及质量评价 纯化后的 ds cDNA 与 pGADT-Rec 载体重组后共转入 Y187 酵母感受态细胞中。在 100 个缺少亮氨酸的培养基(SD-Leu)中培养,约 5 d 长出菌落(图 3A)。用冻存液收集 cDNA 文库酵母菌落,获得约 450 mL 菌悬液,分装后保存于-80 °C 冰箱备用。

取 100 μ L 转化液稀释 100 倍,涂 50 μ L 稀释后的转化液

至 100 mm SD-Leu 平板,30 °C 条件下培养,计算得该文库容量为 2.31×10^7 CFU,文库转化效率 7.02×10^6 CFU/ μ g(图 3B)。在 SD-Leu 平板中培养并收集 cDNA 文库转化液,取冻存液收集的酵母文库菌液 50 μ L 稀释 10 000 倍,在 SD-Leu 平板上涂布并培养 4 d,长出 1 438 个单菌落(图 3C),按公式计算文库滴度为 2.5×10^8 CFU/mL。



注:A.酵母菌菌落生长情况;B.计算文库容量和文库转化效率;C.文库滴度

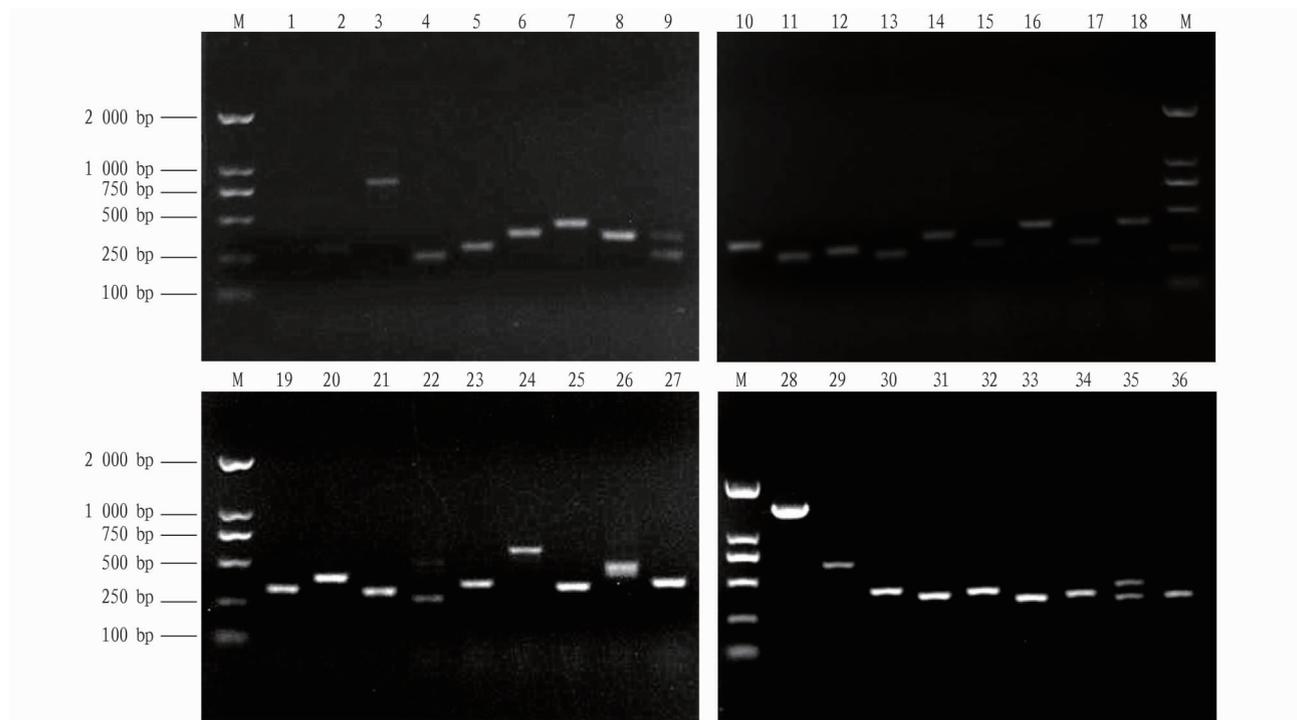
Note:A. Growth of yeast colonies in plates;B. The calculation of library capacity and library conversion efficiency;C. Titer of library

图 3 文库质量评价

Fig. 3 Evaluation of the cDNA library quality

随机挑取 36 个平板上的单菌落,经过 PCR 扩增和琼脂糖凝胶电泳,出现 35 个明显条带,根据公式计算,重组率为 97%,

插入的片段主要分布在 250~2 000 bp(图 4)。综上所述,该酵母双杂交 cDNA 文库满足建库要求,可用于后续试验。



注:M;DL 2000 DNA marker;1~36:插入的文库片段

Note:M. DL 2000DNA marker;1-36. Inserted library fragments

图 4 文库克隆插入片段大小检测

Fig. 4 Evaluation of insert size of library clones

3 讨论

酵母双杂交是研究基因功能及探究验证互作蛋白的常用方法。构建酵母双杂交 cDNA 文库的方法有很多,常见方法主要有 Gateway 技术、SMART 技术等。李颖波等^[13-14]采用 Gateway 技术分别构建了大麦和葡萄叶片 cDNA 文库,用

于筛选盐胁迫下和霜霉菌侵染下的互作蛋白。SMART 技术具有操作步骤简单,起始 RNA 用量少的优点,只需要微量总 RNA 即可得到高质量 cDNA 库,无需额外抽提或酶反应,在构建金柑花蕾^[15]、花生^[16]、不结球白菜^[17]、芝麻^[18]等植物酵 (下转第 101 页)

据和基础数据,有潜在的经济价值和应用价值。

参考文献

- [1] MARAIS G, MOUCHIROUD D, DURET L. Neutral effect of recombination on base composition in *Drosophila* [J]. *Genetical research*, 2003, 81(2): 79-87.
- [2] PRABHA R, SINGH D P, SINHA S, et al. Genome-wide comparative analysis of codon usage bias and codon context patterns among cyanobacterial genomes [J]. *Marine genomics*, 2017, 32: 31-39.
- [3] VICARIO S, MORIYAMA E N, POWELL J R. Codon usage in twelve species of *Drosophila* [J]. *BMC evolutionary biology*, 2007, 7: 1-17.
- [4] SHARP P M, LI W H. The rate of synonymous substitution in enterobacterial genes is inversely related to codon usage bias [J]. *Molecular biology and evolution*, 1987, 4(3): 222-230.
- [5] OLEJNICZAK M, UHLENBECK O C. tRNA residues that have coevolved with their anticodon to ensure uniform and accurate codon recognition [J]. *Biochimie*, 2006, 88(8): 943-950.
- [6] ZALUCKI Y M, POWER P M, JENNINGS M P. Selection for efficient translation initiation biases codon usage at second amino acid position in secretory proteins [J]. *Nucleic acids research*, 2007, 35(17): 5748-5754.
- [7] HUANG Y, KOONIN E V, LIPMAN D J, et al. Selection for minimization of translational frameshifting errors as a factor in the evolution of codon usage [J]. *Nucleic acids research*, 2009, 37(20): 6799-6810.
- [8] 孙铮, 马亮, MURPHY R, 等. *Wolbachia pipiensis wMel* 基因组水平上的密码子使用分析 [J]. *中国科学(C辑: 生命科学)*, 2009, 39(10): 948-953.
- [9] HIRAOKA Y, KAWAMATA K, HARAGUCHI T, et al. Codon usage bias is correlated with gene expression levels in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* [J]. *Genes to cells*, 2009, 14(4): 499-509.
- [10] SUBRAMANIAN S. Nearly neutrality and the evolution of codon usage bias in eukaryotic genomes [J]. *Genetics*, 2008, 178(4): 2429-2432.
- [11] 黄琼林. 高良姜叶绿体基因组测序与特征分析 [J]. *热带作物学报*, 2021, 42(1): 1-6.
- [12] 原晓龙, 李云琴, 张劲峰, 等. 乳油木叶绿体基因组密码子偏好性分析 [J]. *分子植物育种*, 2020, 18(17): 5658-5664.
- [13] 辛雅萱, 董章宏, 瞿绍宏, 等. 杜梨叶绿体基因组密码子偏好性分析 [J]. *河北农业大学学报*, 2020, 43(6): 51-59.
- [14] 胡晓艳, 许艳秋, 韩有志, 等. 酸枣叶绿体基因组密码子使用偏性分析 [J]. *森林与环境学报*, 2019, 39(6): 621-628.
- [15] 刘文武, 蒋晓文, 张帅, 等. 羌活中香豆素类化学成分及其抗氧化活性研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(6): 1310-1315.
- [16] 杨娇. 羌活属叶绿体基因组进化及物种界定研究 [D]. 西安: 西北大学, 2018: 5-6.
- [17] 阎梦颖. 珍稀濒危羌活属药用植物的谱系地理学研究 [D]. 西安: 西北大学, 2016: 5-6.
- [18] 郭培, 郎拥军, 张国桃. 羌活化学成分及药理活性研究进展 [J]. *中成药*, 2019, 41(10): 2445-2459.
- [19] 赵森, 邓力华, 陈芬. 秋茄叶绿体基因组密码子使用偏好性分析 [J]. *森林与环境学报*, 2020, 40(5): 534-541.
- [20] 吴宪明, 吴松峰, 任大明, 等. 密码子偏性的分析方法及相关研究进展 [J]. *遗传*, 2007, 29(4): 420-426.
- [21] 尚明照, 刘方, 华金平, 等. 陆地棉叶绿体基因组密码子使用偏性的分析 [J]. *中国农业科学*, 2011, 44(2): 245-253.
- [22] WRIGHT F. The 'effective number of codons' used in a gene [J]. *Gene*, 1990, 87(1): 23-29.
- [23] SHARP P M, LI W H. The codon Adaptation Index—A measure of directional synonymous codon usage bias, and its potential applications [J]. *Nucleic Acids Res*, 1987, 15(3): 1281-1295.
- [24] 陆奇丰, 骆文华, 黄至欢. 两种梧桐叶绿体基因组密码子使用偏性分析 [J]. *广西植物*, 2020, 40(2): 173-183.
- [25] 原晓龙, 康洪梅, 王毅. 云南蓝果树叶叶绿体基因组密码子偏好性分析 [J]. *西北林学院学报*, 2020, 35(4): 26-31, 124.
- [26] 尹为治, 方正, 黄良鸿, 等. 海南 2 种龙脑香科植物叶绿体基因组密码子偏好性分析 [J]. *林业调查规划*, 2020, 45(6): 19-26.
- [27] 吴妙丽, 陈世品, 陈辉. 竹亚科叶绿体基因组的密码子使用偏性分析 [J]. *森林与环境学报*, 2019, 39(1): 9-14.
- [28] 胡莎莎, 罗洪, 吴琦, 等. 苦荞叶绿体基因组密码子偏爱性分析 [J]. *分子植物育种*, 2016, 14(2): 309-317.
- [29] 沈宗芳, 陆添权, 张志荣, 等. 榭蕨属叶绿体基因组密码子偏好性分析 [J]. *广西植物*, 2021, 41(2): 266-273.
- [30] THOMMA B P H J, VAN ESSE H P, CROUS P W, et al. *Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*), a highly specialized plant pathogen as a model for functional studies on plant pathogenic Mycosphaerellaceae [J]. *Mol Plant Pathol*, 2005, 6(4): 379-393.
- [31] 李铁强, 吴永英, 范洪臣, 等. 酵母双杂交系统研究进展 [J]. *生物信息学*, 2008(1): 46-48.
- [32] 赵光耀. 小麦全长 cDNA 文库构建、测序与分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2006.
- [33] 谢卡斌. 水稻全长 cDNA 文库的构建和两个 microRNA 的功能研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- [34] 赵怀印, 罗碧峰, 史洁玮, 等. 成熟期番茄果实 cDNA 文库的构建及 SIHSP17.7 互作蛋白的筛选 [J]. *分子植物育种*, 2020, 18(2): 374-380.
- [35] 韦淑亚. 甘蓝型油菜菌核病抗性相关基因 cDNA 文库构建及评价 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
- [36] 姜赞, 史自航, 付欣, 等. 番茄花柄脱落过程的酵母双杂交 cDNA 文库构建 [J]. *沈阳农业大学学报*, 2018, 49(2): 129-135.
- [37] 李颖波, 宗营杰, 刘成洪, 等. 盐胁迫下大麦酵母双杂交文库的构建与鉴定 [J]. *上海农业学报*, 2019, 35(6): 1-5.
- [38] 刘露露, 曲俊杰, 郭泽西, 等. 霜霉菌感染后葡萄叶片酵母双杂交 cDNA 文库构建 [J]. *南方农业学报*, 2020, 51(4): 829-835.
- [39] 苏玲, 李彬, 王青, 等. 金柑花蕾酵母双杂交 cDNA 文库构建及评价 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(7): 3169-3173.
- [40] 杨莎, 李燕, 郭峰, 等. 利用酵母双杂交系统筛选花生 AhCaM 相互作用蛋白 [J]. *作物学报*, 2015, 41(7): 1056-1063.
- [41] 钱瑜. 不结球白菜 BcRISPI 的功能分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [42] TAO K E, DONG C H, MAO H, et al. Construction of a normalized full-length cDNA library of sesame developing seed by DSN and SMART™ [J]. *Agric Sci China*, 2011, 10(7): 1004-1009.
- [43] 朱佳慧, 徐秋芳, 袁平平, 等. 水稻幼苗酵母双杂交 cDNA 文库的构建及鉴定 [J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(9): 47-50.
- [44] 胡轼林, 雷雷, 王效维, 等. 甘蓝花蕾酵母双杂交 cDNA 文库构建及评价 [J]. *西北农业学报*, 2015, 24(8): 145-152.

(上接第 94 页)

母双杂交 cDNA 文库时被广泛应用。因此,该试验以番茄不同组织为样本,提取总 RNA 后用 SMART 技术合成全长 cDNA 构建文库。

构建具有高质量的酵母双杂交 cDNA 文库为后续筛选互作蛋白奠定基础^[19]。通常从两个方面来评价构建的 cDNA 文库质量^[20]:①用文库容量来衡量 cDNA 文库的代表性,文库滴度高于 1×10^6 CFU/mL 时满足要求;②用插入片段大小和重组率描述重组序列完整性^[11]。在该试验中,文库容量为 2.31×10^7 CFU,文库滴度为 2.5×10^8 CFU/mL,表明文库中 cDNA 的种类丰富,具有较高的完整性,满足建库标准。文库插入片段大小 200~2 000 bp,重组率为 97%,证明 cDNA 序列较完整,可用于下一步筛选与转录因子 MYB102 相互作用的蛋白。

参考文献

- [1] 王孝宜,李树德,东惠茹,等. 番茄品种耐寒性与 ABA 和可溶性糖含量的关系 [J]. *园艺学报*, 1998, 25(1): 56-60.
- [2] 郑东虎,黄俊轩,王丽娟. 番茄低温生态学的研究进展 [J]. *北方园艺*, 2002(3): 36-37.
- [3] 刘强,张贵友,陈受宜. 植物转录因子的结构与调控作用 [J]. *科学通报*, 2000, 45(14): 1465-1474.
- [4] OGATA K, KANEI-ISHII C, SASAKI M, et al. The cavity in the hydrophobic core of Myb DNA-binding domain is reserved for DNA recognition and trans-activation [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 1996, 3: 178-187.
- [5] 陈修花. 番茄转录因子 MYB80 基因的克隆及功能分析 [D]. 北京: 北京农学院, 2018.