

‘津田’芜菁 *Transparent Testa Glabra 1 (BrTTG1)* 基因的克隆及表达分析

闫海芳, 李玉花*, 刘振华, 闵远琴

东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨150040

摘要: TTG1 (*Transparent Testa Glabra 1*) 蛋白是一种WD40类蛋白, 参与植物的生长和发育。采用RT-PCR方法从芜菁品种‘津田’中克隆了 *BrTTG1* cDNA序列(GenBank登录号HM208590)。该基因cDNA开放阅读框长度为1 014 bp, 编码一个由337个氨基酸残基组成的蛋白, 该蛋白分子量为37.28 kDa, 理论等电点为4.66。与其他植物中的TTG1蛋白进行同源性比对结果显示, *BrTTG1*与甘蓝型油菜的TTG1同源性最高。*BrTTG1*蛋白在31~337位氨基酸处含有WD40超家族的保守结构域。荧光定量PCR检测*BrTTG1*在‘津田’芜菁不同组织中的表达结果表明, 该基因在有花青素合成的红色‘津田’芜菁根皮中表达量最高。

关键词: ‘津田’芜菁; *TTG1*; 基因克隆; 表达分析

Cloning and Expression Analysis of *Transparent Testa Glabra 1 (BrTTG1)* in *Brassica rapa* L. cv. ‘Tsuda’

YAN Hai-Fang, LI Yu-Hua*, LIU Zhen-Hua, MIN Yuan-Qin

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: TTG1 (*transparent testa glabra 1*) is a WD40 protein that is involved in plant growth and development. Here, a homologue of transparent testa glabra 1 gene, designated *BrTTG1*, was isolated from ‘Tsuda’ (*Brassica rapa* L.) by RT-PCR (GenBank accession number HM208590). The ORF of the *BrTTG1* was 1 014 bp long and encoded a putative protein of 337 amino acids with a molecular weight of 37.28 kDa and a theoretical pI of 4.66. *BrTTG1* protein contained a WD40 superfamily conserved domain and had a high identity with TTG1 homologous member from *Brassica napus*. Quantitative-PCR analysis showed that the *BrTTG1* was the highest expressed in the in red root of turnip.

Key words: *Brassica rapa* L. cv. ‘Tsuda’; *TTG1*; gene cloning; expressing analysis

TTG1是一类WD40蛋白, 这类蛋白结构高度保守, 每个WD基序由大约40个氨基酸残基组成保守序列, 该序列以N末端11~24个残基处GH二肽(Gly-His, GH)开始, C末端WD结尾(Trp-Asp, WD), 这是一个高度保守的核心区域, 称为WD40基序(Neer等1994; Smith等1999), 这种基序在同样的蛋白中一般可串联4~16个。该结构域赋予WD40蛋白家族成员一个共同的特征: 介导蛋白质之间的互作、调整多蛋白复合物的装配, 其重复的WD基元作为蛋白质互作的支架, 可以同时参与几个蛋白质的相互作用, 但是缺乏DNA结合区域, 并且没有任何酶类的催化功能(Smith等1999; Tyers和Willems 1999)。

目前, 有关植物WD40蛋白的研究还不多, 主要局限于拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) WD40蛋白家族, 它们在花青素合成、分生组织形成、幼苗

发育、花发育、光信号传递和感知等方面具有重要的作用(Ullah等2003; Yamagishi等2005)。拟南芥WD40蛋白类TTG1通过与bHLH类转录因子GL3、EGL3和TT8 (Zhang等2003)以及MYB类转录因子拟南芥TT2或PAP1 (Baudry等2004; Ramsay和Glover 2005)相互作用来实现控制花青素结构基因的时空表达(Nesi等2001)。在前期研究UV-A光诱导花青素合成中发现, ‘津田’芜菁中存在特殊的调节途径来特异的调控花青素的合成, 因此TTG1作为花青素合成调控因子, 克隆该基因、研究该基因的表达特性就尤为重要(Zhou等2007)。本研究

收稿 2010-12-14 修定 2011-01-26

资助 国家自然科学基金重点项目(30730078)和中央高校基本科研业务费专项资金(DL09BA09)。

* 通讯作者(E-mail: lyhshen@126.com; Tel: 0451-82191783)。

根据已经报道的甘蓝型油菜序列设计引物, 通过RT-PCR扩增克隆获得‘津田’芜菁*TTGI*基因cDNA片段, 并对该基因在‘津田’芜菁不同组织中的表达进行分析。

材料与方法

温室中生长至2个月的‘津田’芜菁(*Brassica rapa* L. cv. ‘Tsuda’)膨大根的白色根皮、红色根皮、根肉、叶子、花瓣和花蕾为试验材料, 放在液氮中速冻后置于-80 °C超低温冰箱中贮存待用。

以‘津田’芜菁膨大根的白色根皮、红色根皮、根肉、叶子、花瓣和花蕾为试验材料, 采用上海宝生生物公司的Trizol试剂提取该组织总RNA, 进行RNA质量和浓度检测后取红色根皮1 μg总RNA用于cDNA第1链的合成。参照TaKaRa公司的RNA PCR Kit (AMV) Ver.3.0试剂盒说明书合成cDNA第1链。以甘蓝型油菜*TTGI*基因(GenBank登录号EF175929)核酸序列为参考设计完整cDNA序列PCR引物: BrTTG1-F, 5'-AGAGAGAGAGAGAGACGATG-3'; BrTTG1-R, 5'-ATCTCAAACTCTAAGGAGCT-3'。用cDNA第一链为模板, PCR条件为: 94 °C 3 min预变性; 94 °C 30 s, 52 °C 30 s, 72 °C 90 s, 35个扩增循环; 最后72 °C延伸10 min。PCR扩增产物经1%琼脂糖凝胶检测、回收目的条带, 与pGEM-T载体(TIANGENE)连接, 16 °C过夜。连接产物转化到大肠杆菌TOP10, 在X-gal/IPTG琼脂糖平板上挑选白色克隆, 由宝生物(大连)有限公司完成序列测定。

*BrTTGI*基因生物信息学分析采用下列方法:

(1) BrTTG1序列同源性比对由NCBI的BLAST程序进行(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)。 (2) 蛋白质一级结构(等电点、分子量)的预测由ProtParam完成(<http://www.expasy.org/tools/protparam.html>)。 (3) 氨基酸的多序列比较用Clustalx进行, 并用BOX-SHADE软件进行处理, 进化树的构建由DNA-MAN-Tree View程序完成。

*BrTTGI*基因在‘津田’芜菁膨大根的白色根皮、红色根皮、根肉、叶子、花瓣和花蕾的表达分析采用7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems, USA)。所用*BrTTGI*引物为BrTTG1-F: 5'-GGTGAGGATCTTCGATCTGC-3', BrTTG1-R:

5'-CCTCAAGTCCTGCTTGTTC-3'; 内标*BrACTIN*引物为BrACTIN-F: 5'-GCTCAGTCCAAGAGAGGTATTC-3', BrACTIN-R: 5'-GCTCGTTGTAGAAAGTGTGATC-3'。所用试剂为SYBR[®] *Premix Ex Taq*[™] (TaKaRa, Japan)。10 μL反应体系中包括5 μL SYBR[®] *Premix Ex Taq*[™], 0.2 μL ROX Reference Dye (50×) (TaKaRa, Japan), 4.5 μL ddH₂O (TIANGEN, China), 1/6 μL cDNA, 1/3 μL引物混合液(含正向引物和反向引物, 10 μmol·L⁻¹)。采用的Real-Time PCR程序如下: 95 °C 30 s 进行预变性, 40个扩增循环(95 °C 10 s, 60 °C 31 s), 最后是一个从60 °C加热到90 °C的溶解过程。以*BrACTIN*的转录表达水平为内参, 目的基因相对转录表达水平的计算参照Bogs等(2005)的方法, 公式为 $2^{-\Delta Ct}$, $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{ACTIN}}$ 。每个样品设3个生物学重复试验。

结果与讨论

1 *BrTTGI*基因的克隆

以甘蓝型油菜基因*TTGI*序列为参考紧邻起始密码和终止密码设计引物, 以‘津田’芜菁cDNA第1链为模板, 进行RT-PCR扩增, 得到约1 000 bp的片段(图1)。连接到T载体且转化TOP10后, 挑取阳性克隆测序。测序结果用NCBI的BLAST程序检

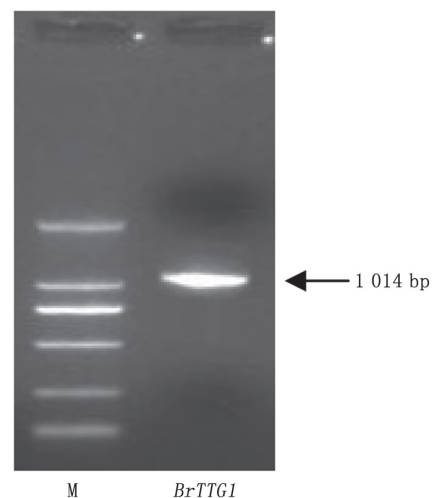


图1 ‘津田’芜菁*BrTTGI*基因扩增产物的琼脂糖凝胶电泳
Fig.1 Agarose gel electrophoresis of amplification product of *BrTTGI* from *B. rapa* L. cv. ‘Tsuda’

M: DL2000, 条带由大到小分别为2 000、1 000、750、500、250和100 bp。

索数据库, 显示该序列与甘蓝型油菜和花椰菜具有极高的同源性, 高达99%以上, 确定该片段为'津田'芜菁的 *BrTTG1* 基因。'津田'芜菁的 *BrTTG1* 基因的全长为1 014 bp (图2), GenBank登录号为HM208590。

2 *BrTTG1* 及其编码蛋白的生物信息学分析

BrTTG1 的cDNA序列含有一个长度为1 014 bp ORF, 编码一个由337个氨基酸残基组成的蛋白, 蛋白分子量为37.28 kDa, 理论等电点为4.66 (图

2)。使用NCBI的蛋白BLAST比对发现, *BrTTG1* 蛋白在141~290位氨基酸处含有保守的WD40结构域, 表明该蛋白为WD40超家族的一员(图3)。相似性比较发现, *BrTTG1* 蛋白与来自甘蓝型油菜 (*TTG1*)、花椰菜(*WD40*)、拟南芥(*TTG1*)、烟草 (*TTG1*)和紫罗兰(*TTG1*)的同源蛋白有很高的一致性, 分别是99.7%、99.4%、96.4%、96.4%和94.9% (图4)。为了进一步了解*BrTTG1* 蛋白与其他植物 *TTG1* 蛋白的亲缘关系, 将上述进行同源性比较的

```

1 atggacaactcagctccggactccttacctagatcggaaccgccgtcacctacgactct
  M D N S A P D S L P R S E T A V T Y D S
61 ccttaccctctacgcgatgtccttctcctcctccaccaccgaatcgccgtcgggagc
  P Y P L Y A M S F S S S T H R I A V G S
121 ttctcggagactacaacaaccgcacatcctctccttcgactccgactccatgtcc
  F L E D Y N N R I D I L S F D S D S M S
181 ctcaagccctcccgctcctctccttcgagcacccttacctcccaccaagctcatgttc
  L K P L P S L S F E H P Y P P T K L M F
241 agccccctcctcgcgcgagcggcggcgagcctcctcgcctcctccggcgacttc
  S P P S L R R S G G G D L L A S S G D F
301 ctccgctctgggaggtcaacgaagactcctcctccgaggagccagtctccgtcctcaac
  L R L W E V N E D S S S A E P V S V L N
361 aacagcaagacgagcaggttctgcgccgctgacctccttcgactggaacgacgtcagc
  N S K T S E F C A P L T S F D W N D V E
421 ccgaagcgttaggcacgtgcagcaccacgtgcacgatctgggacgtggagagg
  P K R L G T C S I D T T C T I W D V E R
481 tccgtggtggagacgcagctcatcgcgcacgataaagggtccacgacatcgcgtggggg
  S V V E T Q L I A H D K E V H D I A W G
541 gagcctagggttttcgcctcgtctcgcgcgagcggatcggtgaggatcttcgatctgccc
  E A R V F A S V S A D G S V R I F D L R
601 gacaaggagcactccaccatcatctacgagagcccccagcccagatcgcctcctgagg
  D K E H S T I I Y E S P Q P D T P L L R
661 ctccgctggaacaagcaggacttgagggtatggccacgattctgatggattcgaataag
  L A W N K Q D L R C M A T I L M D S N K
721 gttgtgattctcgatattcgatcgcgcgacgatgcctgtcgcggagctggagcggcaccag
  V V I L D I R S P T M P V A E L E R H Q
781 gggagtgtgaacgcgattgcttgggccccgcagagctgtaagcatatctgctcgggtggg
  G S V N A I A W A P Q S C K H I C S G G
841 gatgacgcgagcctctcatctgggagttgccgacgatggctggaccgaatgggattgat
  D D A Q A L I W E L P T M A G P N G I D
901 ccgatgtcggtttactcggccggttcggagattaaccagctgcagtggtcttctcgttg
  P M S V Y S A G S E I N Q L Q W S S S L
961 cctgattgattggcattgcgtttgctaacaaatgcagctccttagagtttga (1014)
  P D W I G I A F A N K M Q L L R V *
    
```

图2 '津田' 芜菁 *BrTTG1* 基因的cDNA序列及其推测的氨基酸序列

Fig.2 cDNA sequence of *BrTTG1* gene and its deduced amino acid sequence in *B. rapa* L. cv. 'Tsuda'

用 * 号标出的为终止密码子, 下划线处碱基编码 WD40 结构域。

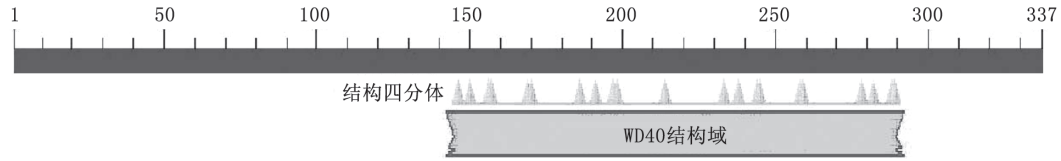


图3 ‘津田’芜菁BrTTG1蛋白WD40功能域

Fig.3 WD40 domain of BrTTG1 in *B. rapa* L. cv. ‘Tsuda’

甘蓝型油菜	MDNSAPDSLPRSETAVTYDSPYPLYAMSFSSST	-----	HRIAVGSFLEDYNNRIDILSFDSDSMSLKPLPS
‘津田’芜菁	MDNAAPDSLPRSETAVTYDSPYPLYAMSFSSST	-----	HRIAVGSFLEDYNNRIDILSFDSDSMSLKPLPS
花椰菜	MDNSAPDSLPRSETAVTYDSPYPLYAMSFSSST	-----	HRIAVGSFLEDYNNRIDILSFDSDSMSLKPLPS
拟南芥	MDNSAPDSLRSRSETAVTYDSPYPLYAMAFSSLRSS	SGHRIAVGSFLEDYNNRIDILSFDSDSMTVKPLPN	
烟草	MDNSAPDSLRSRSETAVTYDSPYPLYAMAFSSLRSS	SGHRIAVGSFLEDYNNRIDILSFDSDSMTVKPLPN	
紫罗兰	-----RSEAAVTYDSPYPLYAMAFSSSR	AGOR	IHAVGSFLEDYNNRIDILSFDSDSMTVKPLPN
甘蓝型油菜	LSFEHPYPPTKLMFSPPSLRSGGGDLLASSGDFLRLWEVNE	SSSAEPVSVLNN	SKTSEFCAPLTSFDW
‘津田’芜菁	LSFEHPYPPTKLMFSPPSLRSGGGDLLASSGDFLRLWEVNE	SSSAEPVSVLNN	SKTSEFCAPLTSFDW
花椰菜	LSFEHPYPPTKLMFSPPSLRSGGGDLLASSGDFLRLWEVNE	SSSAEPVSVLNN	SKTSEFCAPLTSFDW
拟南芥	LSFEHPYPPTKLMFSPPSLRPSGGDLLASSGDFLRLWEVNE	SSSVEPISV	LNNKTSSEFCAPLTSFDW
烟草	LSFEHPYPPTKLMFSPPSLRPSGGDLLASSGDFLRLWEVNE	SSSVEPISV	LNNKTSSEFCAPLTSFDW
紫罗兰	LSFEHPYPPTKLMFSPPSLRPSGGDLLASSGDFLRLWEVNE	SSSVEPISV	LNNKTSSEFCAPLTSFDW
甘蓝型油菜	NDVEPKRLGTCSIDTTCIWDVERS	VVETQLIAHDKEVHDIAWGEARVFASVSADGSVRI	FDLRDKEHST
‘津田’芜菁	NDVEPKRLGTCSIDTTCIWDVERS	VVETQLIAHDKEVHDIAWGEARVFASVSADGSVRI	FDLRDKEHST
花椰菜	NDVEPKRLGTCSIDTTCIWDVERS	VVETQLIAHDKEVHDIAWGEARVFASVSADGSVRI	FDLRDKEHST
拟南芥	NDVEPKRLGTCSIDTTCIWDIEKSVVETQLIAHDKEVHDIAWGEARVFASVSADGSVRI		FDLRDKEHST
烟草	NDVEPKRLGTCSIDTTCIWDIEKSVVETQLIAHDKEVHDIAWGEARVFASVSADGSVRI		FDLRDKEHST
紫罗兰	NDVEPKRLGTCSIDTTCIWDIEKSVVETQLIAHDKEVHDIAWGEARVFASVSADGSVRI		FDLRDKEHST
甘蓝型油菜	IIYESQPDPDTPLLRLAWNKQDLRCMATILMDSNKVVILDIRSPTMPVAELERHQGSVNAIAWAPQSKHI		
‘津田’芜菁	IIYESQPDPDTPLLRLAWNKQDLRCMATILMDSNKVVILDIRSPTMPVAELERHQGSVNAIAWAPQSKHI		
花椰菜	IIYESQPDPDTPLLRLAWNKQDLRCMATILMDSNKVVILDIRSPTMPVAELERHQGSVNAIAWAPQSKHI		
拟南芥	IIYESQPDPDTPLLRLAWNKQDLRYMATILMDSNKVVILDIRSPTMPVAELERHQASVNAIAWAPQSKHI		
烟草	IIYESQPDPDTPLLRLAWNKQDLRYMATILMDSNKVVILDIRSPTMPVAELERHQASVNAIAWAPQSKHI		
紫罗兰	IIYESQPDPDTPLLRLAWNKQDLRYMATILMDSNKVVILDIRSPTMPVAELERHQASVNAIAWAPQSKHI		
甘蓝型油菜	CSGGDDAQALIWELEPTMAGPNGIDPMSVYSAGSEINQLQWSSSLPDWIGIAFANKMQLLRV		
‘津田’芜菁	CSGGDDAQALIWELEPTMAGPNGIDPMSVYSAGSEINQLQWSSSLPDWIGIAFANKMQLLRV		
花椰菜	CSGGDDAQALIWELEPTMAGPNGIDPMSVYSAGSEINQLQWSSSLPDWIGIAFANKMQLLRV		
拟南芥	CSGGDDTQALIWELEPTVAGPNGIDPMSVYSAGSEINQLQWSSSQPDWIGIAFANKMQLLRV		
烟草	CSGGDDTQALIWELEPTVAGPNGIDPMSVYSAGSEINQLQWSSSQPDWIGIAFANKMQLLRV		
紫罗兰	CSAGDDTQALIWELEPTVAGPNGIDPMSVYSAGSEINQLQWSSSQPDWIGIAFANKMQLLRV		

图4 BrTTG1与其他同源蛋白氨基酸序列比对

Fig.4 Alignment of the amino acid sequence of BrTTG1 with that of other homologous

黑色阴影显示相同位点(指的是用来比对的所有序列在这些位点均相同), 灰色阴影显示保守位点(指的是所有对比序列在这些位点大部分相同)。各物种同源蛋白有: 甘蓝型油菜(*Brassica napus*, TTG1-1, EF175929); ‘津田’芜菁(*Brassica rapa*, BrTTG1, HM208590); 花椰菜(*Brassica oleracea*, BoTTG1, GU219991); 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*, AtTTG1, AJ251523); 烟草(*Nicotiana tabacum*, NtTTG1, FJ346578); 紫罗兰(*Matthiola incana*, MiTTG1, AJ586861)。

蛋白进行了系统发生分析。如图5所示, '津田' 芜菁 *BrTTG1* 与甘蓝型油菜 *TTG1* 和花椰菜 *WD40* 属于同一亚簇, 与甘蓝型油菜 *TTG1* 的亲缘关系更为相近, 而与拟南芥、烟草和紫罗兰则相对较远。这与我们克隆基因时, 参考物种序列设计引物遇到的问题一致, 我们最初克隆 *BrTTG1* 基因时参考拟南芥 *TTG1* 基因设计了引物, 未得到相应长度的克隆片段(结果未显示)。

3 *BrTTG1* 的组织表达特征分析

基因的表达特性与其生理功能密切相关。我们提取 '津田' 芜菁不同组织来源的总RNA, 以 '津田' 芜菁的 *ACTIN* 基因作为内参照, 对 *BrTTG1* 基因进行定量PCR分析。结果(图6)显示: '津田' 芜菁 *BrTTG1* 基因在产生大量花青素的红色根皮部大量表达, 说明 *BrTTG1* 基因的表达与花青素的合成直接相关, 在 '津田' 芜菁根部肉质中表达次之, 有较

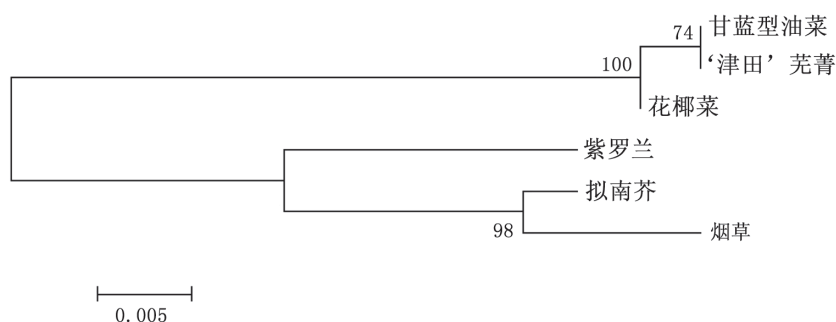


图5 六种植物中TTG1进化分析

Fig.5 Phylogenetic analysis of TTG1 in six plants

蛋白质及其索引号同图4。

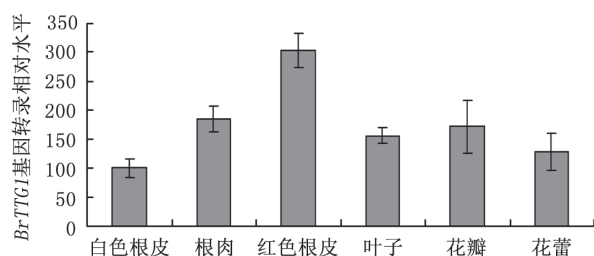


图6 定量PCR分析 '津田' 芜菁不同组织 *BrTTG1* 基因表达

Fig.6 Expression of *BrTTG1* gene in various *B. rapa* L.

cv. 'Tsuda' tissues by Quantitative-PCR assay

少量表达, 而此部分与大量花青素合成的根皮紧邻, 也有微量花青素合成(闫海芳2003)。而在无花青素合成的白色根皮、叶子、花瓣、花蕾中也有少量表达。说明 '津田' 芜菁 *WD40* 家族蛋白 *BrTTG1* 在不同组织中都有表达, 只是表达量有所不同, 进一步证明 *BrTTG1* 蛋白在 '津田' 芜菁中发挥的功能也相当广泛。这与在拟南芥中发现的 *TTG1* 蛋白功能相一致, 调控类黄酮/花青素的合成(Ramsay和Glover 2005)、种皮的发育以及叶表皮毛的形成等多种功能(Larkin等1994, 1999; Walker等1999; Payne等2000; Ramsay和Glover 2005)。目前

只知道 *WD40* 蛋白可以与 *bHLH* 类以及 *MYB* 类调控因子广泛的作用, 定位于细胞质或细胞核中, 但是作用机理还不清楚(Baudry等2004; de Vetten等1997; Sompornpailin等2002)。总之, *BrTTG1* 基因的克隆, 以及对该基因在 '津田' 芜菁中不同组织中表达的分析为进一步研究 *TTG1* 在 '津田' 芜菁中的功能, 进一步探讨其作用机理奠定了基础。

参考文献

闫海芳(2003). 光环境影响花青素合成途径中相关基因的表达机制 [硕士论文]. 哈尔滨: 东北林业大学

Baudry A, Heim MA, Dubreucq B, Caboche M, Weisshaar B, Lepiniec L (2004). TT2, TT8, and TTG1 synergistically specify the expression of *BANYULS* and proanthocyanidin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 39: 366-380

Bogs J, Downey MO, Harvey JS, Ashton AR, Tanner GJ, Robinson SP (2005). Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase in developing grape berries and grapevine leaves. *Plant Physiol*, 139: 652-663

de Vetten N, Quattrocchio F, Mol J, Koes R (1997). The *an11* locus controlling flower pigmentation in petunia encodes a novel WD-repeat protein conserved in yeast, plants and animals. *Gene Dev*, 11: 1422-1434

Larkin JC, Oppenheimer DG, Lloyd AM, Papparozzi ET, Marks MD

- (1994). Roles of the *GLABROUS1* and *TRANSPARENT TESTA GLABRA* genes in *Arabidopsis* trichome development. *Plant Cell*, 6 (8): 1065~1076
- Larkin JC, Walker JD, Bolognesi-Winfield AC, Gray JC, Walker AR (1999). Allele-specific interactions between *ttg* and *gl1* during trichome development in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 151: 1591~1604
- Neer EJ, Schmidt CJ, Nambudripad R, Smith TF (1994). The ancient regulatory-protein family of WD-repeat proteins. *Nature*, 371: 297~300
- Nesi N, Jond C, Debeaujon I, Caboche M, Lepiniec L (2001). The *Arabidopsis TT2* gene encodes an R2R3 MYB domain protein that acts as a key determinant for proanthocyanidin accumulation in developing seed. *Plant Cell*, 13: 2099~2114
- Payne GT, Zhang F, Lloyd AM (2000). *GL3* encodes a Bhlh protein that regulates trichome development in *Arabidopsis* through interaction with *GL1* and *TTG1*. *Genetics*, 156: 1349~1362
- Ramsay NA, Glover BJ (2005). MYB-bHLH-WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity. *Trends Plant Sci*, 10 (2): 63~70
- Smith TF, Gaitatzes C, Saxena K, Neer EJ (1999). The WD repeat: a common architecture for diverse functions. *Trends Biochem Sci*, 24 (5): 181~185
- Sompornpailin K, Makita Y, Yamazaki M, Saito K (2002). A WD-repeat-containing putative regulatory protein in anthocyanin biosynthesis in *Perilla frutescens*. *Plant Mol Biol*, 50: 485~495
- Tyers M, Willems AR (1999). One ring to rule a superfamily of E3 ubiquitin ligases. *Science*, 284 (5414): 603~604
- Ullah H, Chen JG, Temple B, Boyes DC, Alonso JM, Davis KR, Ecker JR, Jones AM (2003). The β -subunit of the *Arabidopsis* G protein negatively regulates auxin-induced cell division and affects multiple developmental processes. *Plant Cell*, 15: 393~409
- Walker AR, Davison PA, Bolognesi-Winfield AC, James CM, Srinivasan N, Blundell TL, Esch JJ, Marks MD, Gray JC (1999). The *TRANSPARENT TESTA GLABRA1* locus, which regulates trichome differentiation and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*, encodes a WD40 repeat protein. *Plant Cell*, 11: 1337~1350
- Yamagishi K, Nagata N, Yee KM, Braybrook SA, Pelletier J, Fujioka S, Yoshida S, Fischer RL, Goldberg RB, Harada JJ (2005). *TANME1/EMB2757* encodes a WD repeat protein required for embryo development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 139 (1): 163~173
- Zhang F, Gonzalez A, Zhao M, Payne CT, Lloyd A (2003). A network of redundant bHLH proteins functions in all TTG1-dependent pathways of *Arabidopsis*. *Development*, 130: 4859~4869
- Zhou B, Li Y, Xu Z, Yan H, Homma S, Kawabata S (2007). Ultraviolet A-specific induction of anthocyanin biosynthesis in the swollen hypocotyls of turnip (*Brassica rapa*). *J Exp Bot*, 58 (7): 1771~1781