

## 稻属谷氨酰胺合成酶家族的系统分析

王江, 张景六\*

中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 上海 200032

**摘要:** 比较籼粳栽培稻和野生稻中谷氨酰胺合成酶(GS)基因和蛋白质的结果表明, 水稻GS蛋白编码区序列高度保守, 而非编码序列变异较大。GS2基因的进化比GS1基因保守。短药野生稻中GS基因进化主要是内含子的变异, 但此种内含子的变异在籼粳栽培稻中幅度要小得多。

**关键词:** 谷氨酰胺合成酶; 短药野生稻; 栽培稻; 序列比对; 分子进化树

## Comparative Phylogenetic Analysis of Glutamine Synthetase Family in *Oryza*

WANG Jiang, ZHANG Jing-Liu\*

Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China

**Abstract:** Glutamine synthetase (GS, EC 6.3.1.2) is a key enzyme that catalyzes the conversion of  $\text{NH}_4^+$  in plants. In this paper, we compared GS in the level of DNA and protein in two subspecies (*indica* and *japonica*) of cultivated rice (*Oryza sativa*) and wild rice (*Oryza brachyantha*). The results suggested that the coding sequences of GS gene were highly conserved, but non-coding sequences had a large range of variation. In wild rice, the evolution of GS gene could be mainly induced by the variation from introns, but which appeared in lower extent between two cultivated subspecies (*indica* and *japonica*).

**Key words:** glutamine synthetase; *Oryza brachyantha*; *Oryza sativa*; alignment; phylogenetic tree

谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS, EC 6.3.1.2)是高等植物氮同化过程的关键酶(印莉萍等 1995)。人们通过亚细胞定位分析, 结合离子交换层析法和蛋白质电泳技术, 发现植物中含有 2 类 GS 蛋白, 一类为 GS1, 位于细胞质中; 另一类为 GS2, 常在叶绿体中发现, 两者呈现不同的酶动力学特性(McNally 等 1983)。一般认为, GS1 蛋白质有多个成员, 由一个多基因家族分别编码; 而 GS2 蛋白质由核内一个单基因编码。

早期只发现水稻 GS1 蛋白质有 2 个成员 OsGS1;1 和 OsGS1;2, 近年来随着水稻基因组序列的发展又增加一个成员 OsGS1;3。OsGS1;1 基因在水稻各组织中都表达, 相对而言, 在叶中表达最高, 是 GS 基因家属中最主要的成员; OsGS1;2 在根中有较高的表达, 其主要功能可能是同化根系吸收的氮; OsGS1;3 表达只在穗中检测到, 但表达量比前两者低, 至今尚不明了其生物学功能(Hirel 和 Gadai 1980; Sakamoto 等 1989; Ishiyama 等 2004a; Tabuchi 等 2005)。叶绿体中 GS2 的主要功能是重新同化光呼吸过程释放出的氮(Blackwell 等 1987)。

尽管 GS 酶的研究很早就开始, 但其生理特别是形态特性迄今仍受人关注(Tabuchi 等 2005; Fei 等 2006; Martin 等 2006), 水稻 GS 基因的系统比较也未见报道, 本文用生物信息学方法比较籼、粳栽培稻与野生稻中的 GS 基因和蛋白质的特点, 为进一步研究稻属 GS 基因建立基础性资料。

### 材料与方法

粳稻 GS 蛋白质的信息在 UniProt 网站 <http://www.ebi.uniprot.org/> 使用酶“EC 6.3.1.2”和“水稻”两关键词搜索, 拟南芥和玉米 GS 蛋白质的信息同法获得。蛋白质功能域信息来源于 <http://www.ebi.ac.uk/interpro/>。基因组及 cDNA 信息是整合 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>、<http://www.gramene.org/> 和 <http://cdna01.dna.affrc.go.jp/cDNA/> 3 个网站的结果。突变体信息来源于 [收稿 2007-01-15 修定 2007-02-09  
资助 国家高技术研究发展计划“863”计划, 2006AA10A102。  
\\* 通讯作者\(E-mail: jlzhang@sippe.ac.cn; Tel: 021-54924079\)。](http://signal.</a></p>
</div>
<div data-bbox=)

salk.edu/cgi-bin/RiceGE 网站。籼稻 ‘93-11’ 全基因组框架序列来源于 <http://rise.genomics.org.cn/rice/> 网站。野生稻细菌人工染色体(bacterial artificial chromosome, BAC)克隆末端序列的搜索使用 <http://www.gramene.org/> 网站。

粳稻 ‘日本晴’ (‘Nipponbare’) 全基因组序列和其注释信息(如基因、蛋白编码序列、cDNA、蛋白质信息), 以及线粒体和叶绿体中质粒 DNA 序列下载于 <http://rice.tigr.org/> 网站。本地序列数据库的建立和比对分析见 Altschul 等 (1997), 软件下载于 <ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/executables/>。

DNA 和氨基酸序列联配采用 CLUSTAL W (Thompson 等 1994)。

系统进化树采用 MEGA3.1 软件(Kumar 等 2004)。采用邻接法(neighbor-joining tree)构建邻接树, 按 Kimura-2 参数模型计算分化距离, Bootstrap 检验使用 1 000 次重复。

## 实验结果

### 1 水稻 GS 基因、蛋白质和突变体的鉴定

在 UniProt 蛋白质数据库中, 我们共找到 4 个水稻 GS 蛋白: GLN11\_ORYSA、GLN12\_ORYSA、

GLN13\_ORYSA 和 GLNA2\_ORYSA。目前, 水稻粳稻 ‘日本晴’ 的全基因组测序已基本完成, 为了进一步分析水稻中是否还存在新的 GS 基因, 我们从 Tigr 网站上下载了最新的整个 ‘日本晴’ 全基因组序列和其注释信息(如基因、蛋白编码序列、cDNA、蛋白质等信息), 以及线粒体和叶绿体中质粒 DNA 序列, 并建立了它们的本地数据库。采用本地 BLAST 分析手段, 以发现的 4 个 GS 蛋白质及其基因序列搜索上述本地数据库的结果表明, 全基因组和线粒体和叶绿体质粒序列中都没有发现其他 GS 基因的存在。表 1 是 4 个水稻 GS 基因在一些主要注释网站(如 Tigr、Gramene、NCBI、UniProt 等)上的基本信息, 其中突变体植株可进一步深入研究其基因的功能, 是可利用的资源之一。

### 2 4 个粳稻 GS 基因和蛋白质之间的比较

由于 GS 基因及其蛋白质的结构尚未见系统比较, 我们在图 1 中比较了水稻 ‘日本晴’ 所有 4 个 GS 基因、cDNA 和蛋白质的结构。从图 1-a 中看, 各基因的内含子长度与数目、外显子的结构虽然有不同之处, 但是存在局部的一致性, *OsGS1;2* 和 *OsGS2* 的内含子长度变化相对大些。在蛋白质结构上, 除 *OsGS2* 多了一个转运肽片段

表 1 4 个水稻 GS 基因的一些主要信息

Table 1 Some main information of 4 GS genes in rice

基因名称	蛋白质亚细胞定位	Tigr 基因位点	UniGene 登录号	BAC 克隆名称	UniProt 名称
<i>OsGS1;1</i>	细胞质	LOC_Os02g50240	Os.7909	P0487D09	GLN11_ORYSA
<i>OsGS1;2</i>	细胞质	LOC_Os03g12290	Os.12728	OJ1743A09	GLN12_ORYSA
<i>OsGS1;3</i>	细胞质	LOC_Os03g50490	Os.48875	OSJNBb0033N16	GLN13_ORYSA
<i>OsGS2</i>	叶绿体	LOC_Os04g56400	Os.19294	OSJNBa0011F23	GLNA2_ORYSA
基因名称	蛋白质登录号	最佳全长 cDNA 克隆 <sup>a</sup>	突变体植株 <sup>b</sup>		
<i>OsGS1;1</i>	P14656	J013083D11	ND8037_0_402_1A、PFG_2D-11448、RMD_05Z11CD37、RMD_05Z11CD45、RMD_05Z11CD58、RMD_05Z11CD32、RMD_05Z11CD12、RMD_05Z11CD53、ND9801、NC2327		
<i>OsGS1;2</i>	P14654	J100007H13	PFG_1B-10506.R		
<i>OsGS1;3</i>	Q4W8D0	001-123-A09	PFG_1C-15818.L、M0035395、M0035421		
<i>OsGS2</i>	P14655	J013156I04	—		

a : 4 个最佳全长 cDNA 克隆可以在 NCBI(美国国立生物技术信息中心)中找到其来源, 主要来源于日本 KOMÉ 数据库。b : ND8037\_0\_402\_1A 为日本 *Tos17* 插入突变(<http://tos.nias.affrc.go.jp/>); PFG\_2D-11448、PFG\_1B-10506.R 和 PFG\_1C-15818.L 为韩国 T-DNA 插入突变(<http://an6.postech.ac.kr/pfg/index.php>); M0035395 和 M0035421 为台湾 T-DNA 插入突变(<http://trim.sinica.edu.tw/>); RMD\_05Z11CD37、RMD\_05Z11CD45、RMD\_05Z11CD58、RMD\_05Z11CD32、RMD\_05Z11CD12 和 RMD\_05Z11CD53 为华中农业大学 T-DNA 插入突变(<http://rmd.nepgr.cn/>); ND9801 和 NC2327 突变体见参考文献(Tabuchi 等 2005)。“—”表示无相应突变体。

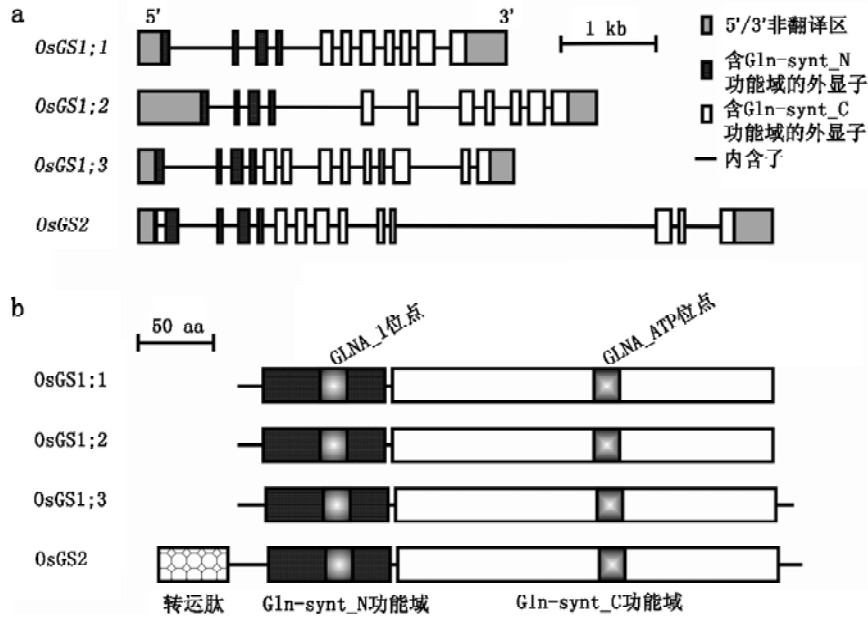


图1 4个水稻GS基因(a)和蛋白质(b)结构的比较  
 Fig.1 Comparisons of 4 GS genes (a) and proteins (b) in rice  
 长度按照实际比例绘制。

外, 其余蛋白保守区域的出现和其长度高度一致, 2个蛋白质功能位点(GLNA\_1和GLNA\_ATP)在4个水稻GS蛋白质上也十分保守(图1-b)。表2是蛋白质序列的相互比较, 表明OsGS1;1、OsGS1;2和OsGS1;3的氨基酸组成高度相似, 这些结果都支持此3个GS蛋白高度同源。

为了进一步比较4个水稻GS基因的其他信息, 我们分别比较了它们的cDNA蛋白编码区序

列、编码区外的5'非编码序列和3'非编码序列, 结果表明, 尽管cDNA的蛋白编码区序列的同源性很高, 但5'和3'非编码序列都没有较好的同源区域, 并且利用5'和3'非编码序列不能建立系统树, 而编码区序列则可以。

为了解水稻GS基因间的进化, 我们又进一步搜索了拟南芥和玉米的全部GS(表3), 并用GS的蛋白质氨基酸序列和DNA编码序列, 根据

表2 4个水稻GS蛋白结构的比较

Table 2 Comparisons on structures of 4 GS proteins in rice

蛋白质名称	蛋白质长度	转运肽区域	Gln-synt_N功能域	Gln-synt_C功能域	GLNA_1位点	GLNA_ATP位点
OsGS1;1	356 aa	—	17~97	103~355	55~72	237~253
OsGS1;2	357 aa	—	17~97	103~355	55~72	237~253
OsGS1;3	370 aa	—	19~99	105~357	57~74	239~255
OsGS2	428 aa	1~46	73~153	159~411	111~128	293~309
蛋白质名称	与 OsGS1;1 比较		与 OsGS1;2 比较		与 OsGS1;3 比较	
	aa 匹配率/%	aa 相似性/%	aa 匹配率/%	aa 相似性/%	aa 匹配率/%	aa 相似性/%
OsGS1;1	—	—	—	—	—	—
OsGS1;2	85	94	—	—	—	—
OsGS1;3	80	91	77	89	—	—
OsGS2	64	75	64	74	62	73

表3 系统进化分析中使用到的拟南芥和玉米 *GS* 基因及其他信息

Table 3 The information of *Arabidopsis* and maize *GS* used in phylogenetic tree

基因名称	UniProt 名称	NCBI 蛋白质登录号	cDNA 查询号
<i>AtGS1;1</i>	GLN11_ARATH	Q56WN1	At5g37600
<i>AtGS1;2</i>	GLN12_ARATH	Q8LCE1	At1g66200
<i>AtGS1;3</i>	GLN13_ARATH	Q9LVI8	At3g17820
<i>AtGS1;4</i>	GLN14_ARATH	Q9FMD9	At5g16570
<i>AtGS1;5</i>	GLN15_ARATH	Q8GXW5	At1g48470
<i>AtGS2</i>	GLNA2_ARATH	Q43127	At5g35630
<i>ZmGS1-1</i>	GLNA1_MAIZE	P38559	X65926
<i>ZmGS1-2</i>	GLNA2_MAIZE	P38560	X65927
<i>ZmGS1-3</i>	GLNA3_MAIZE	P38561	X65928
<i>ZmGS1-4</i>	GLNA4_MAIZE	P38562	X65929
<i>ZmGS1-5</i>	GLNA5_MAIZE	P38563	D14578
<i>ZmGS2</i>	GLNAC_MAIZE	P25462	X65931

邻接法分别计算得到它们的系统进化树, 各分支的 Bootstrap 值都大于 50% (图 2)。两套序列得到的进化树结果相似: *GS2* 基因在进化上高度保守, 形成独立的分支, 与 *GS1* 基因不同。*GS1* 基因建立的分支略有区别: 按编码序列建立的分支分成单子叶禾本科(水稻和玉米)和双子叶十字花科(拟南芥); 按氨基酸序列建立的分支也表明拟南芥的 *GS1* 与禾本科的 *GS1* 不同。在禾本科植物中, 玉米各有 2 个高度同源的 *GS1* 基因(*ZmGS1-3* 和 *ZmGS1-4*, *ZmGS1-1* 和 *ZmGS1-5*)分别对应水稻 2 个重要基因 *OsGS1;1* 和 *OsGS1;2*, 而 *OsGS1;3* 分支只有 1 个成员(图 2)。3 类 *GS1* 各成一个分支, 这说明它们在稻属和玉米属分化前就已经分化, 它们可能另有各自特殊的需求。

### 3 栽培稻中籼稻与粳稻亚种之间 *GS* 基因的比较

由于籼稻 '93-11' 全基因组框架序列早已公布并提供了注释数据下载(Zhao 等 2004), 我们根据粳稻 '日本晴' 的序列(*GS* 基因 ATG 到 TGA 之间的基因组序列), 从品种 '93-11' 中搜索出籼稻 *GS* 序列的结果见表 4。通过粳稻与籼稻 *GS* 的编码区序列的 BLAST 分析, 得到该区域碱基差异的结果也列于表 4。从表 4 可见, 籼稻与粳稻的编码区序列十分同源, 差异大多发生在内含子区域, 这一点在野生稻 *GS* 基因上也出现(见下面分析)。由于编码区序列基本上没有发生变化, 因

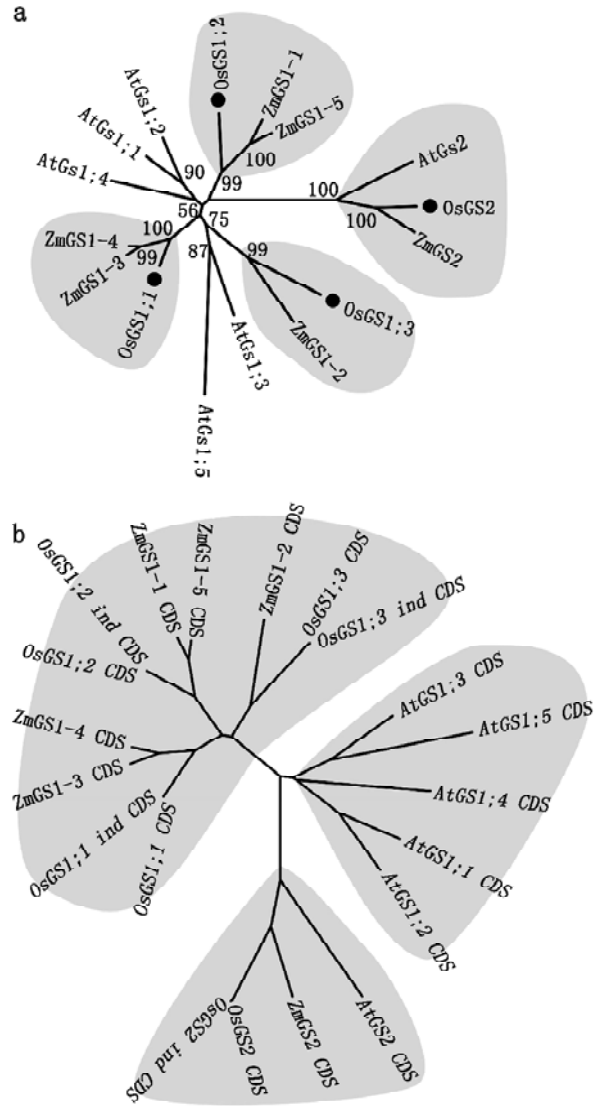


图 2 *GS* 蛋白质序列(a)和 *GS* 基因的蛋白编码序列(b)的分子进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of *GS* proteins (a) and the coding sequences of *GS* genes (b)

At 代表拟南芥, Zm 代表玉米, Os 代表水稻; OsGS 中含 ind 的代表来源于籼稻, 不含 ind 的代表来源于粳稻。节点上的数字为 Bootstrap 值(1 000 次重复)。

此其在进化树上紧靠粳稻的 *GS* 基因(图 2-b), 其蛋白质氨基酸序列进化位置也一样。

### 4 栽培稻与短药野生稻(*Oryza brachyantha*)之间 *GS* 基因的比较

野生稻是一个重要的稻属资源, 为了更好地了解和利用这些资源, 美国于 2004 年起开始 11 个野生稻品种及一个非洲栽培稻(*Oryza glaberrima*)的基因组 BAC 文库及物理图谱的构建(Ammiraju 等

表4 4个籼稻GS基因的基本信息

Table 4 The main information of 4 GS genes in *indica* rice

基因名称	NCBI 登录号	ATG 到 TGA 间	基因组序列的位置	与籼稻的碱基匹配率/%	编码区碱基变异数目
<i>OsGS1;1 ind</i>	AAAA02007341	Ctg007341	11 267~14 474	99 (3 198/3 213)	1
<i>OsGS1;2 ind</i>	AAAA02008040	Ctg008040	42 236~46 096	99 (3 848/3 861)	0
<i>OsGS1;3 ind</i>	AAAA02010865	Ctg010865	52 263~48 750	99 (3 508/3 517)	1
<i>OsGS2 ind</i>	AAAA02014998	Ctg014998	14 243~20 363	99 (6 094/6 127)	1*

\**OsGS2 ind* 基因外显子处一个碱基的变异, 但没有改变蛋白质的氨基酸组成。

2006)。这里, 我们采用 TBLASTN 方法, 将籼稻GS蛋白质序列与这些BAC克隆的末端序列进行对比, 在短药野生稻 BAC 末端序列中搜索出4个与GS基因有较高同源性——CL540405、CL591854、CL549876、CL546985 (NCBI 登录号)。由于前三者具有相同区域的匹配, 进一步分析发现它们可以组成一个连锁群——contig1。

将 contig1 和 CL546985 的碱基序列与4个籼稻GS基因比较, 发现 contig1 与 *OsGS2* 匹配最好 (外显子区域及其与内含子交界的几十碱基匹配完好, 内含子其余区域基本没有同源性, 而且长度变化也大——在籼稻 *OsGS2* 中外显子8~9、9~10、10~11之间的内含子分别长339、79、2763碱基, 而在短药野生稻中分别为296、75、320碱基), CL546985的情况也一样, 但是其与 *OsGS1;2* 匹配最好。因此它们分别命名为 *OsGS2 bra* 和 *OsGS1;2 bra*。总之, 短药野生稻与栽培稻之间的GS基因的进化主要是内含子的变异, 但是在籼、粳栽培稻之间的这种GS基因内含子的变异相对要小得多 (只有10余个碱基)。在外显子区域, 如在 *OsGS1;2* 外显子6处, 短药野生稻与栽培稻有2个碱基的变异, 导致1个氨基酸的变异; 在 *OsGS2* 外显子8~11处有14个碱基的变异, 但其氨基酸组成并没有改变。这进一步支持GS2蛋白质高度保守的说法。图3显示的是短药野生稻GS基因在DNA水平上的进化, 说明短药野生稻仍然属于稻属, 但与玉米属玉米的进化距离较远。

## 讨 论

在蛋白质比较分析中, 我们发现 *OsGS1;1*、*OsGS1;2* 和 *OsGS1;3* 的氨基酸组成高度相似。已有报道认为, 由于 *OsGS1;1* 或 *OsGS1;2* 蛋白质产生的抗体能够识别上述2个蛋白质, 以至两者不

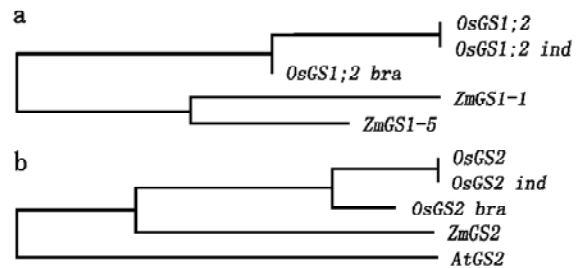


图3 *OsGS1;2 bra* (a)和 *OsGS2 bra* (b)的局部DNA编码序列的分子进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of the partial coding sequences of *OsGS1;2 bra* (a) and *OsGS2 bra* (b)

At代表拟南芥, Zm代表玉米, Os代表水稻; *OsGS* 中含 ind 的代表来源于籼稻, 不含 ind 的代表来源于粳稻, 含 bra 的代表来源于短药野生稻。

能区分(Kamachi等1992; Lin等2000)。事实上, 从大麦GS1蛋白质产生的抗体能够识别其他作物的GS1蛋白(Hirel等1984), 这些都是由于GS1蛋白质的氨基酸组成高度保守之故。但GS1蛋白质产生的抗体不能识别GS2蛋白质(Hirel等1984; Lin等2000), 这点与表2的结果——*OsGS1* 蛋白和 *OsGS2* 蛋白在氨基酸组成上有较大的差异——是一致的。这种高度的同源性表明 *OsGS1* 蛋白之间或多或少存在一些功能互补, 如 *OsGS1;1* 和 *OsGS1;2* (Tabuchi等2005)。

本文分析表明, 拟南芥的GS1基因独立于禾本科的GS1基因。已有报道也表明了拟南芥GS1酶的活性普遍低于水稻GS1酶(Ishiyama等2004a, b)。这些结果支持拟南芥GS1酶与禾本科GS1酶之间严重分化的观点。最近的研究表明, 玉米的 *ZmGS1-3* 和 *ZmGS1-4* 控制玉米粒的大小和数目 (Martin等2006), 这与水稻 *OsGS1;1* 对谷粒影响的结果一致 (Tabuchi等2005), 这些结果也支持认为这3个基因同属一个小分支的见解 (图2)。短药

野生稻中GS基因的进化主要是内含子的变异,但在籼、粳栽培稻中这种GS基因内含子的变异幅度相对要小得多(只有10余个碱基)。与DNA序列相比,GS蛋白质氨基酸序列上的变异相对要小得多。因此认为,GS的DNA序列在系统分科上可能有一定的利用价值。

进一步分析GS的cDNA序列发现,虽然cDNA的蛋白编码区序列有很大的同源性,但5'和3'非编码序列都不存在较好同源区域。Ortega等(2006)最近报道,大豆GS1基因的非编码序列的去除,可增强GS1 mRNA及其蛋白质的积累,而且3'非编码序列对硝酸钾还有应答反应。事实上,GS1基因在RNA和蛋白质水平上受多种调控(Ortega等2001)。已有的研究表明,在一些GS1基因过量表达的作物(如水稻)中并没有见到其生长上呈现出相应的变化(Tabuchi等2005; Fei等2006),但仍然有些功能得到改良,如其对土壤氮素缺乏的耐性有所增强(Sun等2005);也有些现象可能是由于GS基因在RNA和蛋白质水平上受到多种因素制约,因而未在特定器官中有所增强(Fei等2006),此外,GS受植物体内可利用氮的影响可能也是导致这一现象发生的原因。总之,今后对水稻GS不同非编码序列的特异控制功能应作进一步探讨。

### 参考文献

- 印莉萍, 刘祥林, 林忠平(1995). 植物谷氨酰胺合成酶基因以及基因表达. 生物工程进展, 15: 36~41
- Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*, 25: 3389~3402
- Amiraju JS, Luo M, Goicoechea JL, Wang W, Kudrna D, Mueller C, Talag J, Kim H, Sisneros NB, Blackmon B et al (2006). The *Oryza* bacterial artificial chromosome library resource: construction and analysis of 12 deep-coverage large-insert BAC libraries that represent the 10 genome types of the genus *Oryza*. *Genome Res*, 16: 140~147
- Blackwell RD, Murray AJS, Lea PJ (1987). Inhibition of photosynthesis in barley with decreased levels of chloroplastic glutamine synthetase activity. *J Exp Bot*, 38: 1799~1809
- Fei H, Chaillou S, Hirel B, Polowick P, Mahon JD, Vessey JK (2006). Effects of the overexpression of a soybean cytosolic glutamine synthetase gene (*GS15*) linked to organ-specific promoters on growth and nitrogen accumulation of pea plants supplied with ammonium. *Plant Physiol Biochem*, 44: 543~550
- Hirel B, Gadal P (1980). Glutamine synthetase in rice: a comparative study of the enzymes from roots and leaves. *Plant Physiol*, 66: 619~623
- Hirel B, McNally SF, Gadal P, Sumar N, Stewart GR (1984). Cytosolic glutamine synthetase in higher plants. A comparative immunological study. *Eur J Biochem*, 138: 63~66
- Ishiyama K, Inoue E, Tabuchi M, Yamaya T, Takahashi H (2004a). Biochemical backgrounds of compartmentalized functions of cytosolic glutamine synthetase for active ammonium assimilation in rice roots. *Plant Cell Physiol*, 45: 1640~1647
- Ishiyama K, Inoue E, Watanabe-Takahashi A, Obara M, Yamaya T, Takahashi H (2004b). Kinetic properties and ammonium-dependent regulation of cytosolic isoenzymes of glutamine synthetase in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 279: 16598~16605
- Kamachi K, Yamaya T, Hayakawa T, Mae T, Ojima K (1992). Vascular bundle-specific localization of cytosolic glutamine synthetase in rice leaves. *Plant Physiol*, 99: 1481~1486
- Kumar S, Tamura K, Nei M (2004). MEGA3: integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief Bioinform*, 5: 150~163
- Lin QH, Li CJ, Zhang CF, Peng J, Peng SB, Bennett J (2000). Comparative study of immunological properties on glutamine synthetase isozymes in rice plants. *Acta Bot Sin*, 42: 471~475
- Martin A, Lee J, Kichey T, Gerentes D, Zivy M, Tatout C, Dubois F, Balliau T, Valot B, Davanture M et al (2006). Two cytosolic glutamine synthetase isoforms of maize are specifically involved in the control of grain production. *Plant Cell*, 18: 3252~3274
- McNally SF, Hirel B, Gadal P, Mann AF, Stewart GR (1983). Glutamine synthetases of higher plants. Evidence for a specific isoform content related to their possible physiological role and their compartmentation within the leaf. *Plant Physiol*, 72: 22~25
- Ortega JL, Moguel-Esponda S, Potenza C, Conklin CF, Quintana A, Sengupta-Gopalan C (2006). The 3' untranslated region of a soybean cytosolic glutamine synthetase (*GS1*) affects transcript stability and protein accumulation in transgenic alfalfa. *Plant J*, 45: 832~846
- Ortega JL, Temple SJ, Sengupta-Gopalan C (2001). Constitutive overexpression of cytosolic glutamine synthetase (*GS1*) gene in transgenic alfalfa demonstrates that GS1 may be regulated at the level of RNA stability and protein turnover. *Plant Physiol*, 126: 109~121
- Sakamoto A, Ogawa M, Masumura T, Shibata D, Takeba G, Tanaka K, Fujii S (1989). Three cDNA sequences coding for glutamine synthetase polypeptides in *Oryza sativa* L. *Plant Mol Biol*, 13: 611~614
- Sun H, Huang QM, Su J (2005). Highly effective expression of glutamine synthetase genes *GS1* and *GS2* in transgenic rice plants increases nitrogen-deficiency tolerance. *J Plant Physiol Mol Boil*, 31: 492~498
- Tabuchi M, Sugiyama K, Ishiyama K, Inoue E, Sato T, Takahashi H, Yamaya T (2005). Severe reduction in growth rate and grain filling of rice mutants lacking OsGS1;1, a cytosolic glutamine synthetase1;1. *Plant J*, 42: 641~651
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, 22: 4673~4680
- Zhao W, Wang J, He X, Huang X, Jiao Y, Dai M, Wei S, Fu J, Chen Y, Ren X et al (2004). BGI-RIS: an integrated information resource and comparative analysis workbench for rice genomics. *Nucleic Acids Res*, 32: D377~D382