

赤桉ACT1和ACT2基因的克隆与生物信息学分析

陈鸿鹏¹, 朱凤云², 吴志华¹, 谢耀坚^{1*}

(1. 国家林业局桉树研究开发中心, 广东 湛江 524022; 2. 黄淮学院生物工程系, 河南 驻马店 463000)

摘要: 为了解赤桉(*Eucalyptus camaldulensis*)肌动蛋白(Actin)在生长发育过程中的功能,根据赤桉幼苗转录组数据库中的肌动蛋白基因序列,从赤桉嫩叶中克隆了2条Actin基因片段,并利用RACE技术获得Actin基因的全长cDNA,分别命名为EC-ACT1和EC-ACT2基因。生物信息学分析表明,这两条基因的全长cDNA分别为1533 bp和1387 bp,均含有1个编码377个氨基酸的开放阅读框。经比对分析,赤桉Actin蛋白的氨基酸序列与其他植物Actin蛋白的具有较高的相似性,并且具有Actin蛋白特有的保守序列和相关特征。因此推测这两条基因对桉树的生长发育具有一定的调控作用。

关键词: 赤桉; Actin基因; 克隆; 生物信息学分析

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.03.005

Cloning and Bioinformatics Analysis of ACT1 and ACT2 Genes from *Eucalyptus camaldulensis*

CHEN Hong-peng¹, ZHU Feng-yun², WU Zhi-hua¹, XIE Yao-jian^{1*}

(1. China Eucalypt Research Center, Zhanjiang 524022, China; 2. Department of Biological Engineering, Huanghuai University, Zhumadian 463000, China)

Abstract: In order to reveal the biological function of Actin in growth and development of *Eucalyptus camaldulensis*, two fragments were cloned from the transcriptome database of *E. camaldulensis* seedlings at different developmental stages, named as EC-ACT1 and EC-ACT2, and their full-length cDNA were obtained by RACE method. Bioinformatics analysis showed that the full-length cDNA of EC-ACT1 and EC-ACT2 were 1533 bp and 1387 bp, respectively, and both with 1131 bp ORF encoding 377 amino acids. The amino acid sequence of Actin in *E. camaldulensis* had high similarity to those of other plants with typical conserved domains of Actin. Therefore, the EC-ACT1 and EC-ACT2 genes might play a role in regulating growth and development of *E. camaldulensis*.

Key words: *Eucalyptus camaldulensis*; Actin; Clone; Bioinformatics analysis

肌动蛋白(Actin)是构成细胞骨架的主要成分,普遍存在于真核生物中,对于生物的形态、组织结构和生长起着重要作用^[1-2]。同时,植物肌动蛋白还与信号转导、细胞器运动和定位、细胞分裂、细胞形状、细胞壁的沉积、细胞伸长、顶端生长、生长素的极性运输等生命活动有关^[3-7],甚至还与雄蕊

花粉的不育和自交不亲和有关^[8-10]。目前,在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)、杨树(*Populus trichocarpa*)、棉花(*Gossypium hirsutum*)、茶树(*Camellia sinensis*)^[11]、花生(*Arachis hypogaea*)^[12]、木薯(*Manihot esculenta*)^[13]以及蚊子(*Anopheles gambiae*)^[14]和对虾(*Penaeus vannamei*)^[15]中均报道存

收稿日期: 2013-07-31 接受日期: 2013-11-23

基金项目: 广东省林业科技创新专项基金项目(2011KJCX019); 桉树生态经营及产业升级关键技术研究项目(201104003); 湛江市科技计划项目(2013A03016); 湛江市科技计划项目(2012C02139)资助

作者简介: 陈鸿鹏(1979~),男,博士,助理研究员,主要从事林业生物技术和植物资源应用等方面的研究。E-mail: chenhognpeng007@126.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xiejy@21cn.com

在肌动蛋白基因,并且多数以基因家族的形式存在^[16-17]。此外,由于肌动蛋白基因表达稳定,在植物中分布较广,肌动蛋白基因常作为内参基因以衡量其他基因的表达情况。

桉树(*Eucalyptus* sp.)是重要的用材、能源树种,用途广泛,经济效益高,为工业发展提供了高质量的木质原材料,被近百个国家与地区引种,是世界公认的三大人工林树种之一。本实验室为研究桉树的生长发育特点,构建了不同发育时期的赤桉幼苗转录组数据库,并从中获得了一条与 *Actin* 基因高度同源的基因片段。在此基础上,本研究采用 RT-PCR 结合 RACE 技术对赤桉(*Eucalyptus camaldulensis*)的肌动蛋白基因进行了克隆和生物信息学分析,为揭示桉树的生长机理和其他相关调控基因提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

本研究选用赤桉(*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh)幼苗的嫩叶为材料,采自国家林业局桉树研究开发中心南方种苗基地,于液氮中保存备用。

Prime-star 高保真酶购自 TaKaRa 公司;感受态细胞为大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5 α 、dNTPs、DNase、DNA 凝胶回收试剂盒等购自 Ambio 公司;cDNA Synthesis Kit 购自 Thermo 公司;100 bp plus DNA Ladder、DNase、Total RNA Purification System、5' RACE 以及 3' RACE 试剂盒等购自 Invitrogen 公司;pEASY-Blunt Simple 载体购自北京全式金公司;其它生化试剂和常规试剂,如 DEPC、H₂O、Tris、EDTA、无水乙醇、EB、巯基乙醇等均作为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。

生物信息学分析软件主要有 Vector NI 11.0、GENDOC、GeneTree、Chromas、Primer Premier 5.0、Anthprot 5.0、ClustalX 2.0 以及 MEGA 4.0 等。

1.2 赤桉叶片总RNA的提取与cDNA合成

赤桉嫩叶在液氮中研磨成粉末状,参照 Invitrogen 公司试剂盒的操作说明书进行总 RNA 的提取,经电泳检测后,用 cDNA Synthesis Kit 试剂盒将总 RNA 分别反转录成 cDNA、5' RACE cDNA 和 3' RACE cDNA,于 -20℃ 下保存备用。

1.3 *Actin*基因保守区片段的克隆

Actin 蛋白是一种在进化上比较保守的蛋白,尤其是功能性区域,通过将转录组数据库中的 *EC-ACT* 基因片段编码的氨基酸序列与 NCBI 数据库中 *Actin* 蛋白的氨基酸序列进行分析和比对,*Actin* 蛋白保守区的序列为:PIYEGYALPHAILRL-DLAGRDLT 和 GIHETTYNSIMKCDVDIRKDLYG-NIVLSGG。根据保守区序列设计引物:EC-ACT F1 (5'-GTTCCCATTTACGAAGGCTACGCCCT-3')和 EC-ACT R1 (5'-GTCCTTGCAGTTTCCAACCTCCTGT-3')。

以赤桉嫩叶 cDNA 为模板,以 EC-ACT F1 和 EC-ACT R1 为引物对保守区进行 PCR 扩增。PCR 反应体系总体积为 50 μ L,包含 0.5 μ L *Prime-star* 聚合酶(5 U μ L⁻¹), 5.0 μ L 10 \times PCR buffer (含 Mg²⁺), 4.0 μ L dNTPs (各 2.5 mmol L⁻¹), 2.0 μ L cDNA, 1.0 μ L EC-ACT F1 (10 μ mol L⁻¹), 1.0 μ L EC-ACT R1 (10 μ mol L⁻¹), 31.5 μ L ddH₂O。PCR 扩增条件:98℃ 预变性 5 min;然后 98℃ 变性 10 s, 62℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min,共 5 个循环;98℃ 变性 10 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min,共 5 个循环;98℃ 变性 10 s, 58℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min,共 25 个循环;最后 72℃ 延伸 5 min。在 4℃ 下保温。反应结束后,对产物进行回收、克隆和测序。

1.4 *Actin*基因RACE片段的克隆

根据获得的基因片段的序列信息,通过 Primer Premier 5.0 分别设计了 *EC-ACT* 基因的 5' RACE 和 3' RACE 引物(表 1),由上海铂尚生物公司合成并通过 PAGE 方式进行纯化。

以赤桉嫩叶 5' RACE cDNA 为模板,以 5' RACE 的引物(5GSP 1、5GSP 3)与 UPM 为引物进行巢式 PCR 扩增,反应体系同上。以第一轮 PCR 的产物为模板,用 5GSP 2、5GSP 4 与 UPM 进行巢式第二轮 PCR。RACE 产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测,回收目的片段进行克隆,挑选阳性克隆进行测序。

3' RACE 扩增与 5' RACE 类似,以 3' RACE cDNA 为模板,反应体系同上,分别用 AUAP 和 3GSP 1、3GSP 3、3GSP 5,以及 AUAP 和 3GSP 2、3GSP 4、3GSP 6 为引物进行两轮巢式 PCR 扩增。PCR 扩增条件为:98℃ 预变性 5 min;然后 98℃ 变性 10 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min,共 35 个

表 1 *EC-ACT* 基因的 RACE 特异引物Table 1 RACE primers for *EC-ACT* genes

	基因 Gene	编号 No.	序列 Sequence
5' RACE	<i>EC-ACT 1</i>	5GSP 1	5'-CAGCTGAACTTGTCTTTGCAGTTTCCA-3'
		5GSP 2	5'-GTAGTGAAAGAATAGCCACGCTCA-3'
	<i>EC-ACT 2</i>	5GSP 3	5'-GCAGAGCTAGACTTGGCTGTCTCCA-3'
		5GSP 4	5'-GGATCTTCATCAAATGATCAGTGA-3'
		UPM	5'-CTAATACGACTCACTATAGGGCAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT-3'
			5'-CTAATACGACTCACTATAGGGC-3'
3' RACE	<i>EC-ACT 1</i>	3GSP 1	5'-GAGCGTGGCTATTCTTTCCTACTACCCT-3'
		3GSP 2	5'-CTGCAAAGACAAGTTCAGCTGTTGA-3'
	<i>EC-ACT 2</i>	3GSP 3	5'-CTCACTGATCATTGATGAAGATCCTCA-3'
		3GSP 4	5'-GCTGGCTTACATTGCCCTTGACTA-3'
		AUAP	5'-GGCCACGCGTCGACTAGTAC-3'

循环;最后 72℃延伸 5 min;于 4℃下保温。RACE 产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测,回收目的片段进行克隆,挑选阳性克隆进行测序。

1.5 *EC-ACT* 基因的生物信息学分析

对 *EC-ACT* 基因保守区片段、5' 端和 3' 端序列进行拼接,获得 *EC-ACT* 基因的全长 cDNA,通过网上资源和生物信息学软件对基因的开放阅读框(ORF)、功能以及其他特性进行分析和预测。

2 结果和分析

2.1 总 RNA 的提取

总 RNA 提取后,取 3 μL 的 RNA 样品进行琼脂糖水平电泳检测,采用凝胶成像系统观察 RNA 条带的清晰度和完整性。由图 1 可以看出,赤桉嫩

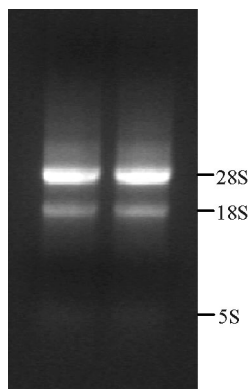


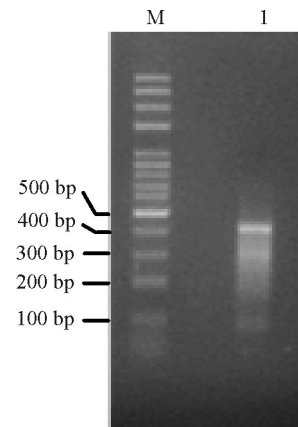
图 1 赤桉总 RNA 的电泳图谱

Fig. 1 Electrophoretogram of total RNA of *Eucalyptus camaldulensis*

叶中所提取的总 RNA 效果较好,其电泳条带清晰整齐,无拖尾,而且 28S 条带的亮度约为 18S 的两倍。经 NanoDrop2000 检测,OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的比值为 1.95, OD₂₆₀/OD₂₃₀ 的比值为 2.20,说明所获得的 RNA 具有较高的纯度和完整性,可以用于后续试验。

2.2 *EC-ACT* 基因保守区片段的克隆和测序

以反转录的 cDNA 为模板,用 *EC-ACT* F1 和 *EC-ACT* R1 为引物进行 PCR 扩增,得到 1 条长度约为 400 bp 的片段(图 2)。将此片段进行回收、克隆和测序。经由 Vector NTI 11.0 和 NCBI BLAST 进行比对分析,确认此片段是 *Actin* 基因的保守区部分片段。

图 2 *EC-ACT* 基因保守区片段的 PCR 扩增。M: DNA 分子标记。Fig. 2 PCR amplification of *EC-ACT* conserved fragment. M: DNA marker.

以 5' RACE cDNA 为模板,用 5' RACE 引物和 UPM 为引物进行 PCR 扩增。PCR 产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶检测,获得了条带清晰特异,大小分别为 700 bp 和 650 bp 左右的条带(图 3)。同样,利用 3' RACE cDNA 为模板,用 3' RACE 引物和 UPM 为引物进行 PCR 扩增。PCR 产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测,获得了条带清晰特异,大小分别为 490 bp 和 470 bp 左右的条带(图 4)。

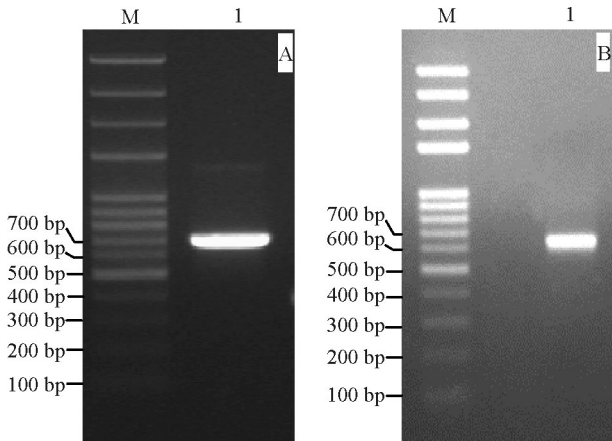


图 3 5' RACE PCR 产物。M: DNA 分子标记; A: *EC-ACT1*; B: *EC-ACT2*。

Fig. 3 PCR production of 5' RACE. M: DNA marker; A: *EC-ACT1*; B: *EC-ACT2*。

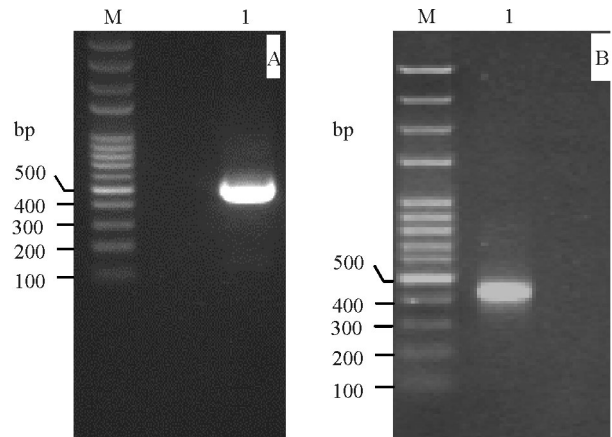


图 4 3' RACE PCR 产物。M: DNA 分子标记; A: *EC-ACT1*; B: *EC-ACT2*。

Fig. 4 PCR production of 3' RACE. M: DNA marker; A: *EC-ACT1*; B: *EC-ACT2*。

2.4 生物信息学分析

2.4.1 *EC-ACT* 基因的全长 cDNA 序列分析

去除 5' RACE 和 3' RACE 片段中的载体序

列部分,与保守区片段进行拼接,分别获得了 *EC-ACT1* 和 *EC-ACT2* 基因的全长 cDNA。通过 Vector NTI 11.0 软件分析, *EC-ACT1* 基因的 cDNA 全长为 1533 bp,包括 5' 端非编码区 88 bp、3' 端非编码区 311 bp 和 1 个长度为 1131 bp 的编码区,起始密码子为 ATG,终止密码子为 TAA,推测其开放阅读框编码 377 个氨基酸。*EC-ACT2* 基因的 cDNA 全长为 1387 bp,包括 5' 端非编码区 53 bp、3' 端非编码区 200 bp 和 1 个长度为 1131 bp 的编码区,起始密码子为 ATG,终止密码子为 TAA,推测其开放阅读框编码 377 个氨基酸。

2.4.2 *EC-ACT* 蛋白的序列结构分析

应用 Vector NTI 11.0 软件将 *EC-ACT* 基因的 ORF 翻译成氨基酸序列,并与其它不同来源的 Actin 蛋白进行比对(图 6),结果表明赤桉的 Actin 蛋白与其他物种的 Actin 蛋白具有较高的同源性,均达 90% 以上,由此可推测该基因是 Actin 基因。Actin 氨基酸序列的 N 端和 C 端部分缺乏明显的同源性,但中部的序列相对保守, *EC-Actin* 具有和其他物种 Actin 特有的高度保守区:肌动蛋白(Actin)的特征信号序列 YVGDEAQS_KR_G (55 ~ 65) 和 WISKGEYDE (358 ~ 366),以及肌动蛋白和肌动蛋白类似蛋白(Actin and Actin-like protein)的特征序列 LLTEAPLNPKANR (106 ~ 118)。

2.4.3 分子系统进化聚类分析

为探讨 *EC-ACT* 基因与其他植物同类基因的亲缘关系和可能的作用方式,应用 Clustal X 2.0 和 MEGA 4.0 软件对该基因编码的氨基酸与柠条锦鸡儿(*Caragana korshinskii*)、欧洲草莓(*Fragaria vesca*)、大豆(*Glycine max*)等物种的 Actin 氨基酸序列进行比对。结果表明(图 7), Actin 是一种在进化上非常保守的蛋白质,整个进化树的遗传距离为 0.02 ~ 0.0133,种间遗传距离为 0.020 ~ 0.0104;大豆和绿豆(*Vigna radiata*)的 Actin 同 *EC-Actin 2* 聚为一类,之后再与 *EC-Actin 1* 聚在一起。同时 *EC-Actin 1* 位于系统进化树的前端,处于较原始的地位;*EC-Actin 2* 位于系统进化树的最后面,处于最进化的地位,这与它们序列上的差异有一定的关系。

2.4.4 *EC-Actin* 的理化特性分析

运用生物软件 Antheptot 5.0 和网上数据库资源对 *EC-Actin* 蛋白质进行理化性质的分析和预测。结果表明, *EC-Actin 1* 的分子式为

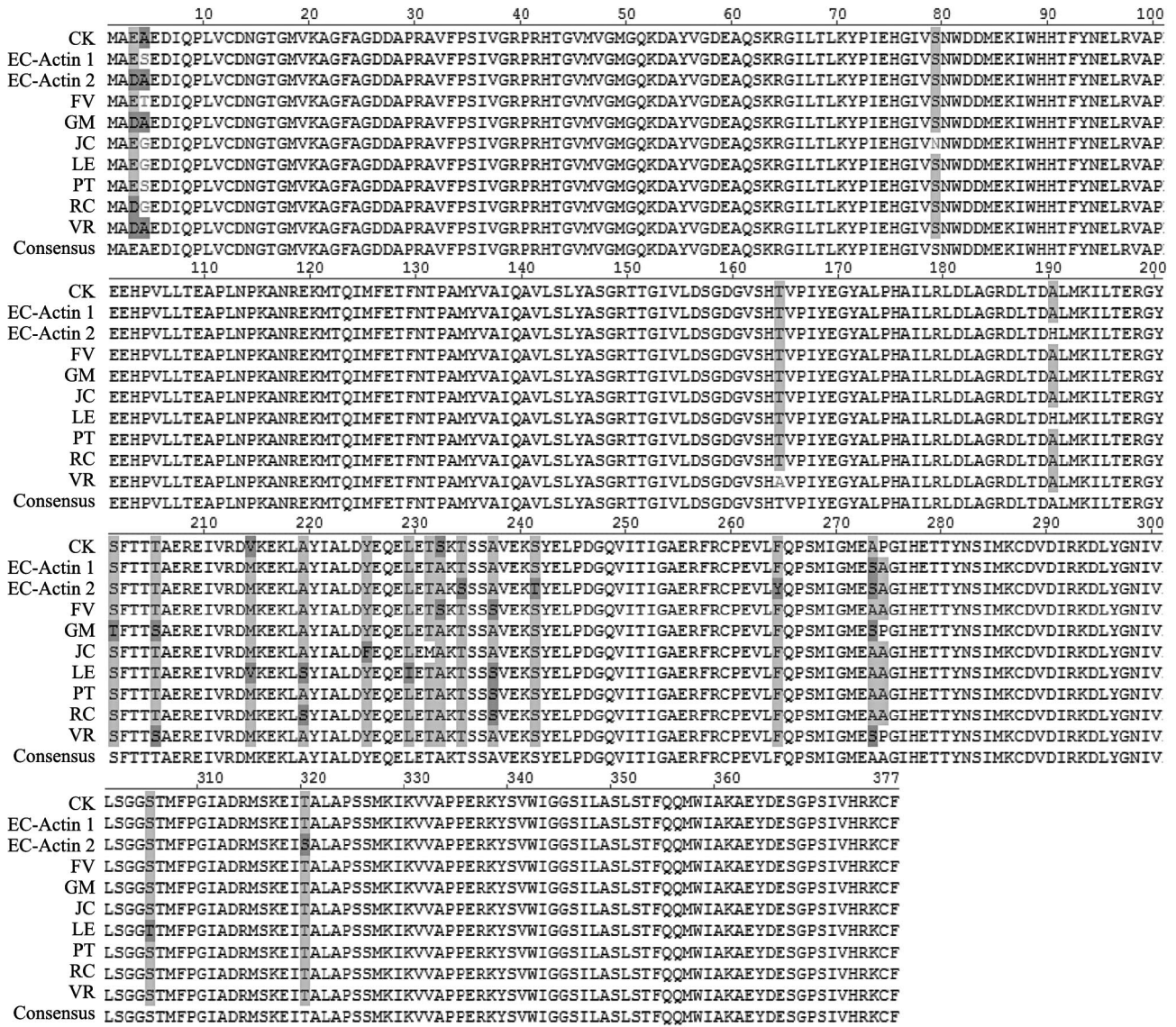


图6 EC-Actin与其它植物 Actin 的氨基酸序列的比较。CK: 柠条锦鸡儿; FV: 欧洲草莓; GM: 大豆; JC: 麻疯树; LE: 番茄; PT: 杨树; RC: 蓖麻; VR: 绿豆。

Fig. 6 Alignment of amino acid sequences of EC-Actin and Actins from other plants. CK: *Caragana korshinskii*; FV: *Fragaria vesca*; GM: *Glycine max*; JC: *Jatropha curcas*; LE: *Lycopersicon esculentum*; PT: *Populus trichocarpa*; RC: *Ricinus communis*; VR: *Vigna radiata*.

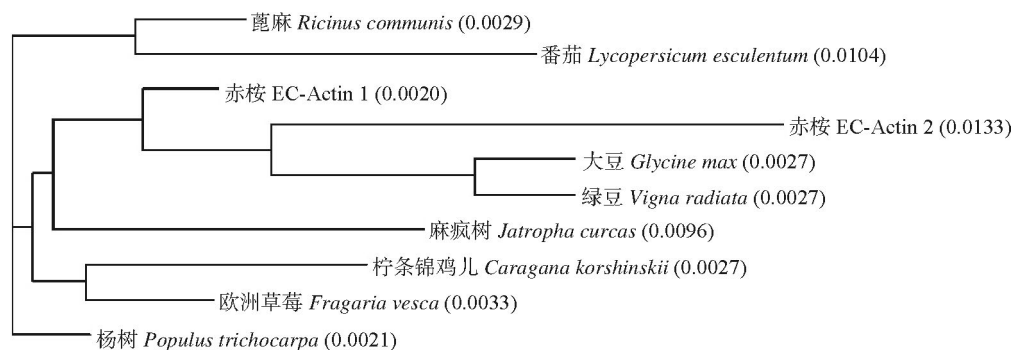


图7 EC-Actin 与其他植物 Actin 的系统进化树

Fig. 7 Phylogenetic tree of EC-Actin and Actins from other plants

C₁₈₅₁H₂₉₁₉N₄₉₁O₅₆₁S₂₁,分子量约为 41.70 kDa,理论等电点 5.155。其中正电荷氨基酸残基数目为 38,负电荷氨基酸残基数目为 50,蛋白质不稳定系数为 36.12,亲水指数为 -0.175,属于一种亲水性的稳定蛋白质。

EC-Actin 2 的分子式为 C₁₈₅₂H₂₉₁₇N₄₉₃O₅₆₁S₂₁,分子量约为 41.74 kDa,理论等电点 5.225。其中正电荷氨基酸残基数目为 38,负电荷氨基酸残基数目为 50,蛋白质不稳定系数为 35.38,亲水指数

为 -0.192,属于一种亲水性的稳定蛋白质。

利用 Softberry (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml>)在线工具对 EC-Actin 1 和 EC-Actin 2 的亚细胞定位进行预测,结果表明这两种蛋白质主要定位于细胞质中(表 2),这与其在细胞质中发挥作用相一致。

通过 Antheprot 5.0 软件分析表明,EC-Actin 1 和 EC-Actin 2 蛋白不具备明显的跨膜区(图 8),说明 EC-Actin 蛋白不是膜结合蛋白,这与 EC-Actin 1

表 2 EC-Actin 蛋白的亚细胞定位预测

Table 2 Sub-cellular localization of EC-Actin proteins

目的蛋白 Target protein	定位 Location	同源性 Homology	理论 Theory	神经性 Nerve	相似性 Similar	综合 Integration
EC-Actin 1	细胞质 Cytoplasm	10.00	3.00	2.58	5.11	9.89
EC-Actin 2	细胞质 Cytoplasm	10.00	3.00	2.59	5.19	9.95

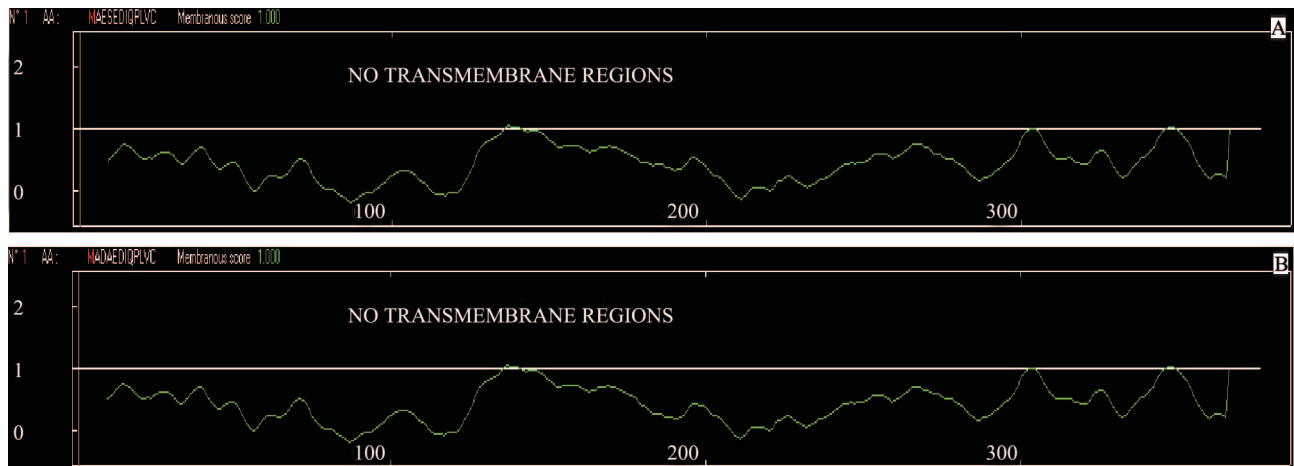


图 8 EC-Actin 跨膜结构域的预测。A: EC-Actin 1; B: EC-Actin 2。

Fig. 8 Prediction of transmembrane domain in EC-Actin. A: EC-Actin 1; B: EC-Actin 2.

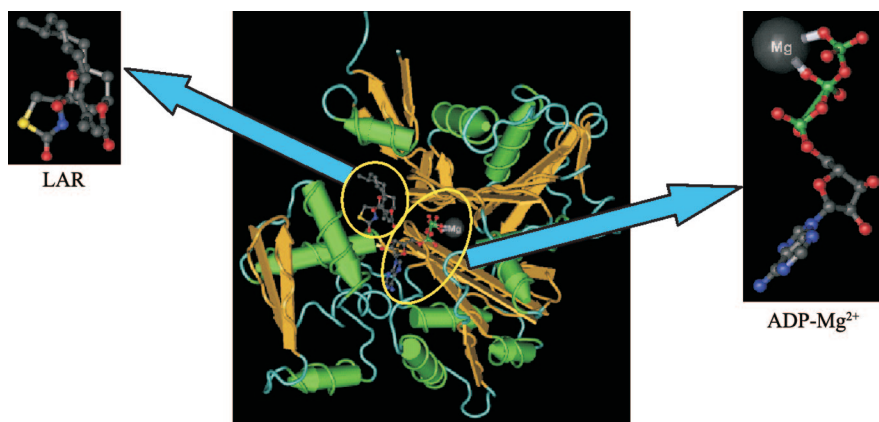


图 9 EC-Actin 的三维立体结构图。绿色: α -螺旋; 黄色: β -折叠; 青色: 转角。

Fig. 9 Theoretical 3D structure of EC-Actin. Green: α -Helix; Yellow: β -Sheet; Cyan: Turn.

和 EC-Actin 2 蛋白在细胞质中行使功能的特点相符合。

采用 AntheProt 5.0 和 SignalP 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)进行信号肽的预测,结果表明在 EC-Actin 1 的氨基酸序列中,原始剪切位点的最高分值(C score)在第 22 个氨基酸位置上,分值为 0.121,综合剪切点分值(Y score)在第 22 个氨基酸处最大,只有 0.107,信号肽最大分值(S score)在第 57 个氨基酸位置上,为 0.114,第 1~21 个氨基酸的平均 S score 为 0.094,因此推断 EC-Actin 1 蛋白没有明显的信号肽剪切位点,为非分泌性蛋白。

同理,在 EC-Actin 2 的氨基酸序列中,原始剪切位点的最高分值(C score)在第 22 个氨基酸位置,分值为 0.122,综合剪切点分值(Y score)在第 22 个氨基酸处最大,只有 0.106,信号肽最大分值(S score)在第 57 个氨基酸位置,为 0.115,第 1~21 个氨基酸的平均 S score 为 0.092,因此推断 EC-Actin 2 蛋白没有明显的信号肽剪切位点,也是非分泌性蛋白。

采用 Swissmodel Server 和 VMD1.8.5 软件进行分析,EC-Actin 1 和 EC-Actin 2 经过多次折叠后,结构非常相似,形成了具有活性催化功能的三维立体结构(图 9),并且主要以 α -螺旋和 β -折叠为主,其间由转角等结构连接起来。三维立体结构中形成了 1 个 ADP-Mg²⁺ 结合区以及酪氨酸磷酸化位点(LAR),从而使 Actin 蛋白在细胞运动、细胞生长以及信号转导等方面具有关键的活性功能。

3 讨论

肌动蛋白作为一种重要的结构蛋白,广泛存在于生物的各种组织细胞中,并参与许多重要的生命活动。高等植物的肌动蛋白一般由 375~377 个氨基酸组成,具有高度的保守性和同源性,这与肌动蛋白作为细胞骨架的保守功能是一致的,也表明 *Actin* 作为看家基因在植物生命活动过程中起着非常重要的作用^[18]。

高等植物的 *Actin* 基因也是一个包含有多种类型的基因家族,现已发现拟南芥、棉花、杨树、水稻等植物中分别有 15 个、20 个、22 个和 18 个 *Actin* 基因^[17-20]。本研究通过构建不同发育时期的赤桉幼苗的转录组数据库,并克隆了两条 *Actin* 基

因,其编码的蛋白由 377 个氨基酸构成。生物信息学分析表明 EC-Actin 1 和 EC-Actin 2 蛋白与其他植物的 Actin 蛋白具有高度的保守性和同源性,也具有 ADP-Mg²⁺ 结合区和 LAR 等活性位点,能够在一定浓度 Mg²⁺ 存在的条件下聚合成微丝,从而参与细胞骨架的构成,维持细胞形态以及其他的细胞活动。所以,本研究所获得的基因为 *Actin* 基因,对于桉树的生长发育可能具有一定的调控作用。在后续的研究中,我们将继续克隆和分析 *Actin* 基因家族中其它的成员,并系统研究他们所属的类型,以及这些基因的功能和在桉树生长发育中的作用。此外, *Actin* 基因作为一种重要的内参基因,还可以用来分析和研究其他基因的定量表达情况。

参考文献

- [1] An S S, Möppts B, Weber K, et al. The origin and evolution of green algal and plant Actins [J]. *Mol Biol Evol*, 1999, 16(2): 275-285.
- [2] Bhattacharya D, Aubry J, Twait E C, et al. *Actin* gene duplication and the evolution of morphological complexity in land plants [J]. *J Phycol*, 2000, 36(5): 813-820.
- [3] Volkmann D, Baluska F. Actin cytoskeleton in plants: From transport networks to signaling networks [J]. *Microsc Res Techn*, 1999, 47(2): 135-154.
- [4] Vogel H, Grieninger G E, Zetsche K H. Differential messenger RNA gradients in the unicellular alga *Acetabularia acetabulum* role of the cytoskeleton [J]. *Plant Physiol*, 2002, 129(3): 1407-1416.
- [5] Ketelaar T, Allwood E G, Anthony R, et al. The Actin-interacting protein AIP1 is essential for actin organization and plant development [J]. *Curr Biol*, 2004, 14(2): 145-149.
- [6] Hussey P J, Ketelaar T, Deeks M J. Control of the Actin cytoskeleton in plant cell growth [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57(1): 109-125.
- [7] Liu X, Zhang S B, Wang C. Research progress of plant Actin function [J]. *Biotechn Bull*, 2010(3): 13-16.
刘曦, 张少斌, 汪澈. 植物肌动蛋白功能的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2010(3): 13-16.
- [8] Staiger C J, Franklin-Tong V E. The Actin cytoskeleton is a target of the self-incompatibility response in *Papaver rhoeas* [J]. *J Exp Bot*, 2003, 54(380): 103-113.
- [9] Thomas S G, Huang S J, Li S T, et al. Actin depolymerization is sufficient to induce programmed cell death in self-incompatible pollen [J]. *J Cell Biol*, 2006, 174(2): 221-229.
- [10] Muday G K, DeLong A. Polar auxin transport: Controlling where and how much [J]. *Trends Plant Sci*, 2001, 6(11): 535-

- 542.
- [11] Yang Y J, Wang X C, Ma C L. Cloning and bioinformatics analysis of full-length cDNA of Actin gene (*CsActin1*) from tea plant [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] [J]. Bull Bot Res, 2012, 32(1): 69–76.
杨亚军, 王新超, 马春雷. 茶树肌动蛋白基因(*CsActin1*)全长cDNA克隆与生物信息学分析 [J]. 植物研究, 2012, 32(1): 69–76.
- [12] Tian X H, Gao J M, Xiao Q, et al. Cloning and sequence analysis of Actin fragment from *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb [J]. Biotechnology, 2006, 16(3): 13–14.
田秀红, 高建明, 肖强, 等. 水花生Actin基因片段的克隆及序列分析 [J]. 生物技术, 2006, 16(3): 13–14.
- [13] Xu J, Luo X L. Cloning and sequence analysis of Actin gene fragment from cassava [J]. Biotechn Bull, 2011(6): 65–70.
许娟, 罗兴录. 木薯Actin基因片段的克隆及序列分析 [J]. 生物技术通报, 2011(6): 65–70.
- [14] Wang X Y, Liu H Q. Cloning and bioinformatics analysis of full-length Actin gene of *Culex pipiens pallens* [J]. Acta Agri Bor-Occid Sin, 2012, 21(5): 49–53.
王晓宇, 刘虎岐. 淡色库蚊肌动蛋白全长基因的克隆及生物信息学分析 [J]. 西北农业学报, 2012, 21(5): 49–53.
- [15] Wu W L, Xu W F, Dai C J. Cloning expression and purification of β -Actin of *Penaeus japonicus* [J]. J Quanzhou Nor Univ (Nat Sci), 2010, 28(2): 56–58,79.
吴文林, 许婉芳, 戴聪杰. 日本对虾 β -Actin基因的克隆表达与纯化 [J]. 泉州师范学院学报: 自然科学版, 2010, 28(2): 56–58,79.
- [16] Guo J K, Chen Q Y, Ji Q, et al. Genome-wide analysis of Actin families in *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* and *Populus trichocarpa* [J]. J Shanghai Univ (Nat Sci), 2009, 18(4): 426–431.
郭景康, 陈青云, 戢茜, 等. 拟南芥、水稻和杨树Actin家族全基因组分析 [J]. 上海大学学报: 自然科学版, 2009, 18(4): 426–431.
- [17] Li X B, Fan X P, Wang X L, et al. The cotton ACTIN1 gene is functionally expressed in fibers and participates in fiber elongation [J]. Plant Cell, 2005, 17(3): 859–875.
- [18] Liang W H, Tang C R, Wu N H. Cloning and characterization of a new Actin gene from *Oryza sativa* L. [J]. Prog Nat Sci, 2004, 14(10): 867–874.
- [19] Ketelaar T. The Actin cytoskeleton in root hairs: All is fine at the tip [J]. Curr Opin Plant Biol, 2013, 16(6): 749–756.
- [20] Henty-Ridilla J L, Li J J, Blanchoin L, et al. Actin dynamics in the cortical array of plant cells [J]. Curr Opin Plant Biol, 2013, 16(6): 749–756.