

葡萄基因电子表达分析平台的验证与应用

上官凌飞, 韩 键, 任国慧, 王西成, 孙 欣, 房经贵^①

(南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 为了验证作者建立的葡萄(*Vitis vinifera* L.)基因电子表达分析平台在葡萄果实发育相关基因的表达预测及特定序列快速检索等方面的应用效果,利用 NCBI 上公布的大量葡萄 EST 序列及半定量 PCR 和 RT-PCR 技术,对葡萄不同器官中 *VvANR*、*VvCHI*、*VvCHS2* 和 *VvDFR* 基因的表达分析预测结果进行验证,并对该平台具有的特定序列快速检索功能进行了简介。预测结果表明:葡萄各器官中 *VvANR*、*VvCHI*、*VvCHS2* 和 *VvDFR* 基因的无冗余 EST 序列数量均较多,分别为 33 条、36 条、55 条和 46 条;4 个基因的表达量有一定差异,*VvANR* 在花序和芽中表达量较高,*VvCHI* 在花序、果实和芽中表达量较高,*VvCHS2* 在果实、芽、花序和花中表达量较高,*VvDFR* 在花序、芽、花、果实和根中表达量均较高。半定量 PCR 和 RT-PCR 实验结果显示:*VvANR* 主要在花序、花和小果中表达;*VvCHI* 主要在小果、花、茎和花序中表达;*VvCHS2* 主要在茎、花序、花和小果中表达;*VvDFR* 在各组织中表达量从高至低依次排序为花、花序、茎、叶、小果、中果、大果。验证结果表明:采用葡萄基因电子表达分析平台识别表达量较高的组织时,平台的预测结果与实验结果基本一致;而在预测一些表达量较低的组织时效果较差。应用该平台、通过 5 个步骤,可以简便、快速检索出特定组织或特定状况下的特定 cDNA 文库信息。

关键词: 葡萄; 基因电子表达分析平台; 表达序列标签; 序列检索; 预测

中图分类号: Q786; Q943.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2012)03-0080-07

Verification and application of gene *in-silico* expression analysis platform for grape (*Vitis vinifera*)

SHANGGUAN Ling-fei, HAN Jian, REN Guo-hui, WANG Xi-cheng, SUN Xin, FANG Jing-gui^①
(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2012, 21(3): 80-86

Abstract: In order to verify the application effect of gene *in-silico* expression analysis platform for grape (*Vitis vinifera* L.) on expression prediction and rapid retrieval of specific sequences of fruit development genes, the prediction result on expression of four genes including *VvANR*, *VvCHI*, *VvCHS2* and *VvDFR* in different tissues of *V. vinifera* was verified by means of mass ESTs on NCBI and technology of RT-PCR and semi-quantitative PCR. And the brief introduction of the platform function on rapid retrieval of specific sequences was carried out, too. The prediction results show that numbers of non-redundant ESTs of *VvANR*, *VvCHI*, *VvCHS2* and *VvDFR* in different tissues of *V. vinifera* are all much more with sequences of 33, 36, 55 and 46, respectively. The expression amount of four genes has a certain difference, in which, the expression amount of *VvANR* is relatively high in inflorescence and bud, that of *VvCHI* relatively high in inflorescence, fruit and bud, that of *VvCHS2* relatively high in fruit, bud, inflorescence and flower, while that of *VvDFR* relatively high in inflorescence, bud, flower, fruit and root. The results of semi-quantitative PCR and RT-PCR show that *VvANR* mainly expresses in inflorescence, flower and small-sized fruit, *VvCHI* predominantly in small-sized fruit, flower, shoot and inflorescence, *VvCHS2* primarily in shoot, inflorescence, flower and small-sized fruit, and the order of *VvDFR* expression from high to low is flower, inflorescence, shoot, leaf, small-sized fruit, medium-sized fruit, big-sized fruit. The verification result indicates that the platform prediction result is basically in accordance with the experiment result in recognizing tissues with high expression, but it is not quite effective in predicting tissues with low expression. The information of specific cDNA libraries in specific

收稿日期: 2012-01-12

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目(0890211153)

作者简介: 上官凌飞(1986—),男,安徽黄山人,博士研究生,研究方向为果树基因组生物学。

^①通信作者 E-mail: fanggg@njau.edu.cn

tissues or status can be easily and quickly retrieved through five steps with this platform.

Key words: *Vitis vinifera* L.; gene *in-silico* expression analysis platform; expressed sequence tags (EST); sequence retrieval; prediction

植物的生长发育时刻都受到外界环境的影响,这些因素促进或抑制基因表达,进而影响蛋白质的合成和性状的表现。研究基因的表达模式对于研究植物适应外界环境的机制具有重要意义。在基因表达分析领域中,除了传统的 Northern 杂交和 RT-PCR 等实验技术外,也逐步运用了 MPSS (massively parallel signature sequencing)、SAGE (serial analysis of gene expression) 和 cDNA Chip^[1-3] 等高通量分析技术。然而,这些技术逐渐显现出一些不足之处:Northern 杂交和 RT-PCR 对实验技术要求高,不能在短时间内进行大量基因的表达分析;而 MPSS、SAGE 和 cDNA Chip 技术虽然可以用于大规模基因表达分析,但是成本高、操作复杂,导致其应用面较窄、无法普及^[4]。自 Adams 等^[5]于 1991 年首次提出表达序列标签 (expressed sequence tags, EST) 概念以来,在 NCBI (national center for biotechnology information) 上储存的 EST 序列逐年增加,EST 被广泛应用到基因识别^[6]、物理图谱构建^[7]、“电子”基因克隆^[8]、基因结构预测^[9]、蛋白质鉴定^[10]以及基因表达模式预测分析^[11]等方面。由于 EST 在基因表达模式预测分析方面具有低成本、高效率、大规模等优点,因而,针对人、老鼠、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* L.)、小麦 (*Oryza sativa* L.) 等^[11-14]物种纷纷建立了各种各样的基因表达分析平台或数据库。

葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 作为全球经济产值排名第 5 的作物,其果实发育相关基因,特别是花青素合成途径中的各种基因,如 *UDP glucose: flavonoid 3-O-glucosyltransferase* (*UFGT*)^[15]、*Myb5a*^[16]、*chalcone synthase* (*CHS*) 和 *dihydroflavonol reductase* (*DFR*)^[17] 等,一直备受研究人员的关注。本实验室结合前人的研究结果和 NCBI 上共计 362 193 条葡萄 EST 序列信息,利用生物信息学方法建立了葡萄基因电子表达分析平台^[4]。将本平台应用于葡萄果实发育相关方面的基因研究,对于葡萄果实发育相关基因的大规模分析研究具有重要意义。

鉴于此,作者利用 NCBI 上储存的大量葡萄 EST 序列以及 RT-PCR 和半定量 PCR 技术对本实验室开发的葡萄基因电子表达分析平台的预测结果进行验

证,并对该平台具有的葡萄特定胁迫、组织及文库序列的快速检索功能进行简要介绍,以期该平台在葡萄果实发育乃至花发育相关基因分析等诸多方面的应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料与数据来源

供试葡萄品种为‘夏黑’(‘Xiahei’),采自南京农业大学江浦农场。

供试各器官样品分别为叶(老、中、嫩叶混样,同浓度 mRNA 等量混合)、茎、花序、花、小果(横径为 1.370 cm,纵径为 1.770 cm)、中果(横径为 1.690 cm,纵径为 1.760 cm)、大果(横径为 1.810 cm,纵径为 2.270 cm)。EST 序列均来源于 NCBI 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

1.2 实验方法

1.2.1 基因表达信息预测 随机挑选与果实发育相关的 *VvANR* (GenBank 登录号: DQ129684.1)、*VvCHI* (GenBank 登录号: X75963.1)、*VvCHS2* (GenBank 登录号: AB066275.1) 和 *VvDFR* (GenBank 登录号: Y11749.1) 4 个基因,提取其核酸序列进行 EST 比对,物种限定为葡萄 (Taxonomy ID: txid29760),将比对结果中 score 值大于 100 且序列相似度大于 90% 的 EST 序列登录号挑取出来,利用预测平台进行表达信息预测。

1.2.2 RNA 提取与 cDNA 合成 根据张彦苹等^[18]的方法提取葡萄各器官总 RNA,葡萄 cDNA 合成参考上官凌飞等^[4]的方法。

1.2.3 半定量 PCR 及 RT-PCR 分析 用 MacVector 设计 RT-PCR 引物,6 对引物的序列和功能见表 1,并利用 Genoscope 网站 (<http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>) 进行比对,确保引物的特异性。用葡萄 *Actin* 基因 (GenBank 登录号: AF369524) 设计内标基因的特异性引物 (即引物 P03 和 P04)。

利用 Eppendorf 梯度 PCR 仪进行半定量 PCR 反应,反应体系总体积为 20 μ L,包含 10 \times PCR buffer

表1 用于葡萄 *VvANR*、*VvCHI*、*VvCHS2* 和 *VvDFR* 基因 RT-PCR 的引物信息
Table 1 Primer information used for RT-PCR of *VvANR*, *VvCHI*, *VvCHS2* and *VvDFR* genes of *Vitis vinifera* L.

引物号 No. of primer	5'→3'引物序列 5'→3' primer sequence	引物功能 Primer function	退火温度/℃ Annealing temperature	产物大小/bp Product size
P01	GCAGGACTGCAGCTGACTGACTACT ₃₀ VN	cDNA 合成 cDNA synthesis		
P02	GACCAGTGGTATCAACCGAGACTACGCCGGG			
P03	TCACCACTACTGCTGAACG	<i>Actin</i> 扩增 <i>Actin</i> amplification	56.0	180
P04	CTTCTGGACAACGGAATC			
P05	CCAGCAGCATTGGACTTGC	<i>ANR</i> 基因定量 RT-PCR	58.6	189
P06	TGGTATTGGCAGCACAGCAG	Quantitation RT-PCR of <i>ANR</i> gene		
P07	AGTCCATCATCGGCAAGCA	<i>CHI</i> 基因定量 RT-PCR	57.9	156
P08	TCCCATCTCTCTCAACCA	Quantitation RT-PCR of <i>CHI</i> gene		
P09	TGGCTGGAGACTGGTGA	<i>CHS2</i> 基因定量 RT-PCR	49.8	121
P10	AAGGAGAGAAGGCACAGG	Quantitation RT-PCR of <i>CHS2</i> gene		
P11	TCAAGAACACCAACTGCC	<i>DFR</i> 基因定量 RT-PCR	54.3	184
P12	GCCAACCACAAGAGTCG	Quantitation RT-PCR of <i>DFR</i> gene		

2 μL 、2.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 1.6 μL 、2.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 4 \times dNTPs 1.2 μL 、4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物 0.8 μL 、5 U $\cdot \text{L}^{-1}$ *Taq* DNA 聚合酶 0.1 μL 和 30 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 模板 DNA 2 μL 。反应程序为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 50 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s、49.8 $^{\circ}\text{C}$ ~58.6 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s(不同引物对应的退火温度见表1)、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 60 s,33 个循环;最后于 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增产物于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,每一实验均重复 3 次。

参考 SYBR[®] Green I (TaKaRa)说明书和上官凌飞等^[4]的方法设置 RT-PCR 反应体系及优化后的反应条件(不同引物对应的退火温度见表1),实验在 Bio-Rad PCR 仪上进行。实验数据用 Lin-RegPCR^[19] 和 Excel 软件进行统计分析。

2 结果和分析

2.1 葡萄基因电子表达分析平台的预测结果

葡萄 *VvANR*、*VvCHI*、*VvCHS2* 和 *VvDFR* 基因电子表达分析结果见表2。由表2可见:各基因的无冗余 EST 序列都较多,*VvANR*、*VvCHI*、*VvCHS2* 和 *VvDFR* 的无冗余 EST 序列分别为 33 条、36 条、55 条和 46 条。其中,*VvANR* 的 ESTs 在花序(15 条)、混样(6 条)和芽(5 条)中较多,而在花(3 条)、果实(2 条)、根(1 条)和茎尖(1 条)中较少;*VvCHI* 的 ESTs 在花序(11 条)、果实(11 条)和芽(7 条)中较多,而在混样(3 条)、叶(2 条)、根(1 条)和茎尖(1 条)中较少;*VvCHS2* 的 ESTs 在果实(16 条)、芽(11 条)、花序(10 条)和花(10 条)中较多,而在混样(6 条)和根(2 条)

中较少;*VvDFR* 的 ESTs 在花序(12 条)、芽(9 条)、花(8 条)、果实(7 条)和根(7 条)中较多,而在混样(3 条)中较少。EST 序列的数量在一定程度上反映了基因表达情况和表达丰度,从频率统计结果来看,这 4 个基因在各个组织中的表达均较为明显。

根据无冗余 EST 序列在各组织中的数量分布,可以预测:*VvANR* 基因在葡萄的花序和芽中表达量较高,*VvCHI* 基因在葡萄的花序、果实和芽中表达量较高,*VvCHS2* 基因在葡萄的果实、芽、花序和花中表达量较高,而 *VvDFR* 基因在葡萄的花序、芽、花、果实和根中表达量较高。虽然预测结果显示这些基因在其他组织中的表达量不高,但由于受葡萄 EST 序列数量及各组织数据库总量差别的影响,这些基因在葡萄其他组织中的表达状况还需要结合 RT-PCR 实验技术进行进一步验证。

2.2 RT-PCR 和半定量 PCR 的实验结果

为了进一步验证葡萄基因电子表达分析平台的预测结果,采用半定量 PCR 和 RT-PCR 对 *VvANR*、*VvCHI*、*VvCHS2* 和 *VvDFR* 基因在葡萄叶、茎、花序、花、大果、中果和小果这 7 个组织样品中的表达状况进行比较,结果见图1。由图1可以看出:半定量 PCR 与 RT-PCR 的实验结果一致(图1-B,C)。在 4 个基因中,*VvANR* 主要在花序、花和小果中表达,在叶、茎以及大果、中果中也有少量表达;*VvCHI* 主要在小果、花、茎和花序中表达,在叶、大果和中果中有少量表达;*VvCHS2* 主要在茎、花序、花和小果中表达,在叶、大果和中果中有少量表达;*VvDFR* 在各组织中的表达量从大至小依次为花、花序、茎、叶、小果、中果、大果。

将半定量 PCR 和 RT-PCR 实验结果(图 1-B,C)与平台预测结果(图 1-A)进行比较,在识别表达量较高的组织时,实验结果与预测结果基本一致。如 *VvANR* 在花序中表达量高, *VvCHI* 在花序和果实中表达量高, *VvCHS2* 在果实、花和花序中表达量高, *VvDFR* 在花序和花中表达量高。由于不同组织中 EST 序列总数有明显差异,造成某些基因在个别组织中表达水平较高而在平台预测结果中表达水平较低的现象。例如:从实验结果来看, *VvDFR* 在叶中表达水平较高,

而平台预测结果则显示在叶中不存在表达。这主要是由于来自于叶的 EST 总数较少(6 591 条),远少于果实(61 051 条)和花序(30 643 条)中的 EST 数量,使表达平台在预测这一类基因的表达情况时其预测结果还不能完全与实验结果相接近。但从整体预测效果来看,对于表达量较高的组织,平台预测结果与实验结果基本一致,表明葡萄基因电子表达分析平台的可靠性较高。

表 2 葡萄不同组织中 *VvANR*、*VvCHI*、*VvCHS2* 和 *VvDFR* 基因电子表达分析结果
Table 2 The gene *in-silico* expression analysis results of *VvANR*, *VvCHI*, *VvCHS2* and *VvDFR* in different tissues of *Vitis vinifera* L.

基因 Gene	无冗余 EST 序列数量 ¹⁾ Number of non-redundant ESTs ¹⁾	组织类型 ²⁾ Tissue type ²⁾	各组织中 EST 数量 Number of ESTs in each tissue	数据库中 EST 总量 Total number of ESTs in database	频率 ³⁾ / % Frequency ³⁾
<i>VvANR</i>	33	芽 Bud	5	26 000	0.019
		花 Flower	3	16 056	0.019
		果实 Fruit	2	61 051	0.003
		花序 Inflorescence	15	30 643	0.049
		混样 Mixed sample	6	9 660	0.062
		根 Root	1	17 972	0.006
		茎尖 Shoot-tip	1	857	0.117
<i>VvCHI</i>	36	芽 Bud	7	26 000	0.027
		果实 Fruit	11	61 051	0.018
		花序 Inflorescence	11	30 643	0.036
		叶 Leaf	2	6 591	0.030
		混样 Mixed sample	3	9 660	0.031
		根 Root	1	17 972	0.006
		茎尖 Shoot-tip	1	857	0.117
<i>VvCHS2</i>	55	芽 Bud	11	26 000	0.042
		花 Flower	10	16 056	0.062
		果实 Fruit	16	61 051	0.026
		花序 Inflorescence	10	30 643	0.033
		混样 Mixed sample	6	9 660	0.062
		根 Root	2	17 972	0.011
<i>VvDFR</i>	46	芽 Bud	9	26 000	0.035
		花 Flower	8	16 056	0.050
		果实 Fruit	7	61 051	0.011
		花序 Inflorescence	12	30 643	0.039
		混样 Mixed sample	3	9 660	0.031
		根 Root	7	17 972	0.039

¹⁾指基因在进行 EST 比对后,经过条件筛选(score>100, similarity>90%)和去冗余后剩下的无冗余 EST 序列的数量 Representing the number of non-redundant ESTs by selection (score>100, similarity>90%) and removal redundancy after gene comparing.

²⁾混样:多种组织的混合样品 Mixed sample of several tissues.

³⁾各组织中无冗余 EST 序列的数量占数据库中各组织 EST 总量的比例 The ratio of the number of non-redundant ESTs in each tissue to the total number of EST in each tissue in database.

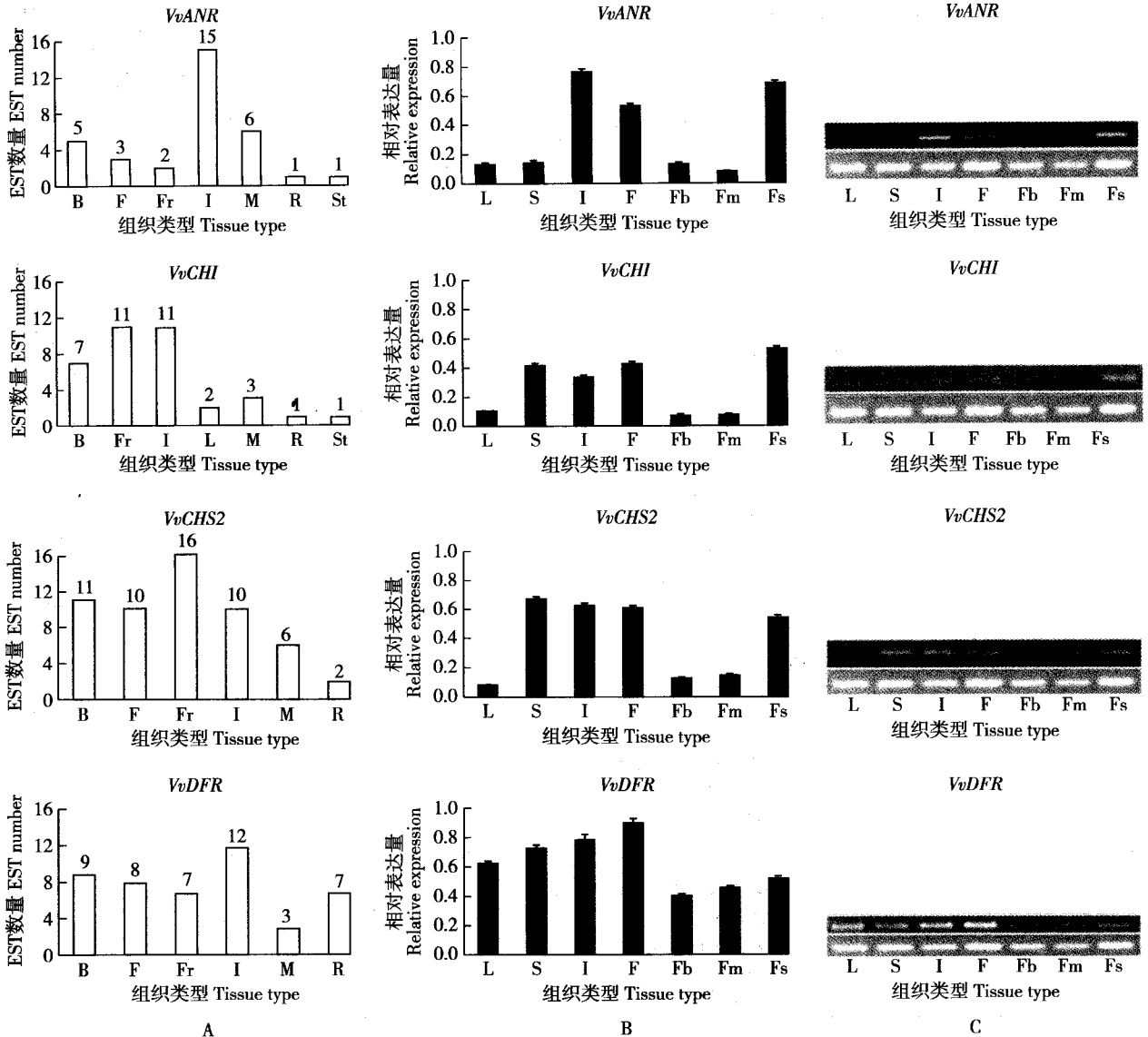
2.3 特定序列快速检索功能介绍

对不同组织、不同胁迫类型、不同品种和不同发育时期等特定状况下特定序列的检索也是葡萄基因

电子表达分析平台的重要功能之一,利用本地化分析平台和 NCBI 在线工具的检索功能,可以实现特定序列的快速检索。

以检索果实中任意 cDNA 文库为例(图 2),在分析平台界面(图 2-A)的组织类型栏内输入“fruit”,点击提交后可以弹出所有组织类型为果实的 cDNA 文库信息(图 2-B),挑选第 1 个文库“‘Fleshless’ Ugni blanc SSH Library”,在平台界面的“Get GI numbers of specific cDNA library”中输入文库名,点击提交后,会列出该文库中所有 919 条 EST 序列的 GI 号(图 2-

C),将 GI 号保存成文本文件后,利用 NCBI 的 Batch Entrez 在线工具(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/batchentrez>,图 2-D)可以得到这些 EST 的序列并下载(图 2-E),整个检索过程在 1 min 内即可完成。针对各种胁迫类型、不同品种或者不同发育时期、不同器官的序列也可以通过类似途径进行检索,方便快捷。



B: 芽 Bud; F: 花 Flower; Fr: 果实 Fruit; Fb: 大果 Big-sized fruit; Fm: 中果 Medium-sized fruit; Fs: 小果 Small-sized fruit; I: 花序 Inflorescence; L: 叶 Leaf; S: 茎 Shoot; St: 茎尖 Shoot-tip; R: 根 Root; M: 混样 Mixed sample.

A: 葡萄基因电子表达分析平台的预测结果 Prediction result with gene *in-silico* expression analysis platform; B: RT-PCR 结果 RT-PCR result; C: 半定量 PCR 结果,上部条带为对应基因的表达情况,下面条带为 *Actin* 的表达情况 Semi-quantitative PCR result, upper bands are the expression pattern of the corresponding genes and below bands are the expression pattern of *Actin*.

图 1 葡萄不同组织中 *VvANR*、*VvCHI*、*VvCHS2* 和 *VvDFR* 基因的表达模式图
Fig. 1 The gene expression profile graph of *VvANR*, *VvCHI*, *VvCHS2* and *VvDFR* in different tissues of *Vitis vinifera* L.

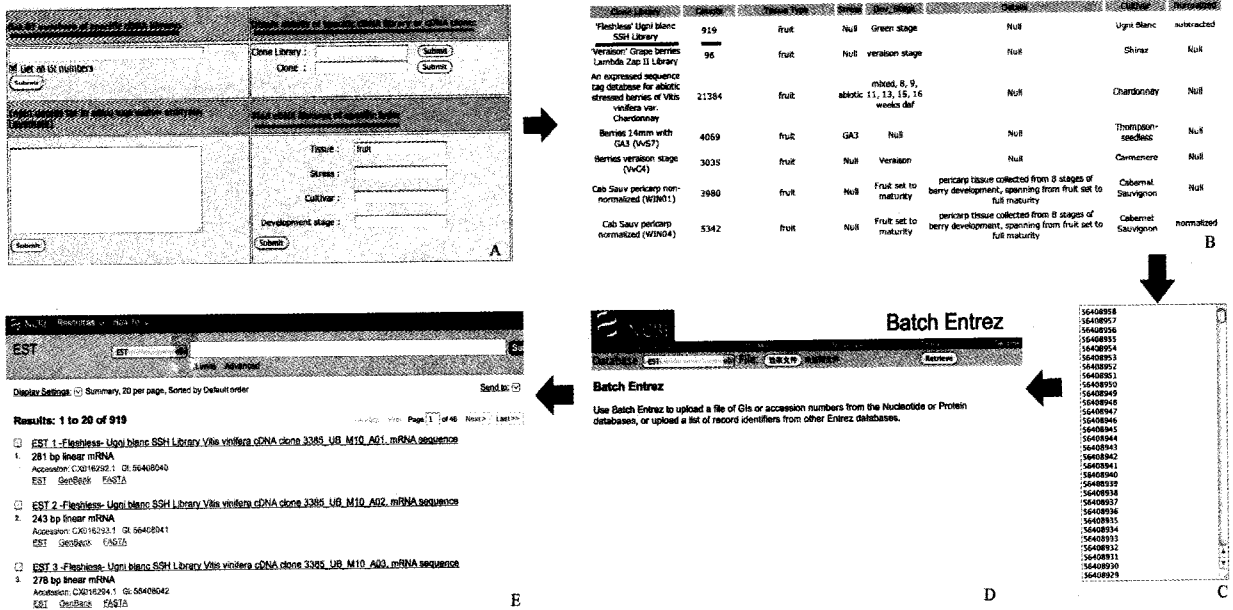


图 2 利用葡萄基因电子表达分析平台快速检索 cDNA 文库的流程

Fig. 2 The flowchart of quickly retrieving cDNA libraries with the gene in-silico expression analysis platform of Vitis vinifera L.

3 讨论和结论

基因电子表达分析是利用无冗余 EST 序列在各组织中的分布数量来大规模快速预测基因表达模式的生物信息学方法, 例如: Yu 等^[20]在进行玉米 (*Zea mays* L.) *FKBP* 基因家族成员的鉴定与分析时, 就利用了 NCBI 上的 EST 序列进行玉米 *FKBP* 基因 24 个家族成员基因表达模式的预测。但是, 这类研究仅仅是利用 EST 序列对基因在组织中的表达进行识别, 对于表达部位信号的强弱并未进行比较。而葡萄基因电子表达分析平台可以在短时间内进行大量基因的表达模式预测, 而且整个过程可以脱离网络环境进行 (EST 比对依靠本地 BLAST), 依赖性小、可移植性高, 同时对仪器设备硬件配置要求不高, 使用普通 PC 机即可, 整个过程图形化操作, 且不需要使用者精通电脑编程等技术。

基因电子表达分析平台的预测准确性主要依赖于各组织中的 EST 序列数量及质量, 而由于不同研究者的研究目的和侧重点不同, 向 NCBI 提交的 EST 序列的来源组织和数量也各不相同, 序列质量也相差很大, 因此, 用葡萄基因电子表达分析平台对表达量低的组织进行预测, 其结果受各种因素的影响较大。但

从整体的分析效果来看, 对于表达量较高的组织, 其预测结果基本与实验结果相接近。

大规模、低成本、高效率的基因预测工作可以为研究人员提供较为详细的预测信息, 便于有针对性地进行后续的实验分析工作; 同时, 特定文库的快速检索也为特定序列的深入分析提供了便利。然而, 随着 NCBI 中 EST 序列数量的爆发性增长, 葡萄各组织的 EST 序列总数也在不断增加, 各组织的 EST 数量也将逐渐趋于平衡, 最终, 葡萄基因电子表达分析平台的预测效果也会更加接近于实验结果。

参考文献:

- [1] BRENNER S, JOHNSON M, BRIDGHAM J, et al. Gene expression analysis by massively parallel signature sequencing (MPSS) on microbead arrays[J]. Nature Biotechnology, 2000, 18(6): 630-634.
- [2] VELCULESCU V E, ZHANG L, VOGELSTEIN B, et al. Serial analysis of gene expression[J]. Science, 1995, 270(5235): 484-487.
- [3] MA L, CHEN C, LIU X, et al. A microarray analysis of the rice transcriptome and its comparison to *Arabidopsis* [J]. Genome Research, 2005, 15: 1274-1283.
- [4] 上官凌飞, 王晨, 房经贵, 等. 利用 GenBank 中大量葡萄 EST 序列分离有效基因的电子表达分析平台[J]. 中国农业科学, 2011, 44(13): 2748-2759.
- [5] ADAMS M D, KELLEY J M, GOCAYNE J D, et al. Complemen-

- ary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project[J]. *Science*, 1991, 252(5013): 1651-1656.
- [6] WILCOX A S, KHAN A S, HOPKINS J A, et al. Use of 3' untranslated sequences of human cDNAs for rapid chromosome assignment and conversion to STSs: implications for an expression map of the genome[J]. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19(8): 1837-1843.
- [7] SCHULER G D, BOGUSKI M S, STEWART E A, et al. A gene map of the human genome[J]. *Science*, 1996, 274(5287): 540-546.
- [8] 陈大福, 牛宝龙, 翁宏飏, 等. 利用 EST 库资源克隆家蚕腺苷酸转移酶基因[J]. *蚕业科学*, 2004, 30(2): 151-155.
- [9] KAN Z, ROUCHKA E C, GISH W R, et al. Gene structure prediction and alternative splicing analysis using genomically aligned ESTs[J]. *Genome Research*, 2001, 11(5): 889-900.
- [10] EDWARDS N J. Novel peptide identification from tandem mass spectra using ESTs and sequence database compression [J]. *Molecular Systems Biology*, 2007, 3: 102.
- [11] HISHIKI T, KAWAMOTO S, MORISHITA S, et al. BodyMap: a human and mouse gene expression database [J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 136-138.
- [12] SCHEURLE D, DEYOUNG M P, BINNINGER D M, et al. Cancer gene discovery using digital differential display [J]. *Cancer Research*, 2000, 60(15): 4037-4043.
- [13] WHITE J A, TODD J, NEWMAN T, et al. A new set of *Arabidopsis* expressed sequence tags from developing seeds. The metabolic pathway from carbohydrates to seed oil [J]. *Plant Physiology*, 2000, 124: 1582-1594.
- [14] MOCHIDA K, KAWAURA K, SHIMOSAKA E, et al. Tissue expression map of a large number of expressed sequence tags and its application to *in silico* screening of stress response genes in common wheat[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2006, 276(3): 304-312.
- [15] FORD C M, BOSS P K, HOJ P B. Cloning and characterization of *Vitis vinifera* UDP-glucose: flavonoid 3-O-glucosyltransferase, a homologue of the enzyme encoded by the maize *Bronze-1* locus that may primarily serve to glucosylate anthocyanidins *in vivo* [J]. *Journal of Biology Chemistry*, 1998, 273(15): 9224-9233.
- [16] DELUC L, BARRIEU F, MARCHIVE C, et al. Characterization of a grapevine R2R3-MYB transcription factor that regulates the phenylpropanoid pathway[J]. *Plant Physiology*, 2006, 140(2): 499-511.
- [17] SPARVOLI F, MARTIN C, SCIENZA A, et al. Cloning and molecular analysis of structural genes involved in flavonoid and stilbene biosynthesis in grape (*Vitis vinifera* L.) [J]. *Plant Molecular Biology*, 1994, 24(5): 743-755.
- [18] 张彦苹, 王晨, 于华平, 等. 适于葡萄不同组织 RNA 提取方法的筛选[J]. *西北农业学报*, 2010, 19(11): 135-140.
- [19] RAMAKERS C, RUIJTER J M, DEPREZ R H, et al. Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data[J]. *Neuroscience Letters*, 2003, 339(1): 62-66.
- [20] YU Y L, ZHANG H, LI W C, et al. Genome-wide analysis and environmental response profiling of the FK506-binding protein gene family in maize[J]. *Gene*, 2012, 498: 212-222.

(责任编辑: 惠红)

《植物遗传资源学报》2013 年征订启事

中国科技核心期刊 中国农业核心期刊
全国中文核心期刊 全国优秀农业期刊

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院作物科学研究所和中国农学会共同主办的学术期刊,为中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库来源期刊(核心期刊)、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,被《中国生物学文摘》、中国生物学文献数据库和中文科技期刊数据库所收录。据中国期刊引证研究报告统计,2011 年度《植物遗传资源学报》影响因子 1.396,在自然科学与工程技术类学科中排序第 9 名。

报道内容为大田和园艺作物、观赏和药用植物、林用植物、草类植物及其一切经济植物的遗传资源基础理论研究、应用研究方面的研究成果、创新性学术论文和高水平综述或评论。诸如:种质资源的考察、收集、保存、评价、利用和创新等,信息学和管理学等;起源、演化和分类等系统学;基因发掘、鉴定、克隆、基因文库建立和遗传多样性等方面的研究。

本刊为双月刊,大 16 开本,128 页,国内统一连续出版物号 CN 11-4996/S,国际标准连续出版物号 ISSN 1672-1810。各地邮局发行,邮发代号:82-643,每期定价 20 元,全年定价 120 元。本刊编辑部常年办理订阅手续,如需邮挂每期另加 3 元。地址:北京市中关村南大街 12 号 中国农业科学院《植物遗传资源学报》编辑部(邮编 100081);电话:010-82105794,010-82105796(兼传真);网址:<http://www.zwyczy.cn>;E-mail:zwyczyxb2003@163.com,zwyczyxb2003@sina.com。