

# 玉米中3个CIPK同源基因在干旱和低温胁迫下的表达分析

王琦 王伟 申腾飞 薛瑞丽 郇付菊

河南农业大学生命科学院/河南省粮食作物生理生态与遗传改良重点实验室, 郑州 450002

**摘要** 应用生物信息学分析,筛选获得了玉米中的3个CIPK基因同源序列(登录号分别为AY104819, EU974290和EU968441),它们编码的氨基酸序列都具有CIPK家族典型的功能结构域,推测属于CIPK家族成员。根据同源性,分别将它们暂命名为ZmCIPK1、ZmCIPK17和ZmCIPK18。RT-PCR分析结果表明,在干旱和低温胁迫下,这3个基因的表达模式都发生改变。在干旱胁迫条件下,ZmCIPK1在根中表达量明显改变,而低温胁迫下变化不大。ZmCIPK17和ZmCIPK18在2种胁迫下都被强烈诱导,但在不同胁迫下表达模式存在差异,而且在叶与根中的表达模式也不尽相同,暗示了这2个基因在干旱和低温胁迫下发挥重要的调控作用,但其调控机制存在差异。

**关键词** CIPK基因;玉米;生物信息学;干旱胁迫;低温胁迫;表达量

**中图分类号** S 513: Q 786 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2011)05-0545-07

胞质钙离子作为第二信使,在植物逆境胁迫信号转导中发挥重要作用,其浓度的变化能被许多钙离子结合蛋白识别,然后把信号传递到下游,从而引起细胞发生一系列应激反应<sup>[1]</sup>。目前发现植物体内存在3种类型的钙离子结合蛋白:钙调素CaM及其相关蛋白、钙依赖性蛋白激酶(Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinases, CDPK)、钙调磷酸酶B类蛋白(calcineurin B-like proteins, CBL)<sup>[2]</sup>。CBL本身没有酶活性,必须和其靶蛋白CIPK(CBL-interacting protein kinase)结合才能发挥作用。CIPK是一类具有丝氨酸/苏氨酸结合位点的蛋白激酶,它具有N端激酶域和C端调节域,该区域高度保守并且也是CBL和CIPK互作的部位<sup>[3]</sup>。另有研究发现,CIPK是由多基因家族编码的蛋白,在高等植物中广泛存在。例如,在拟南芥中已鉴定了25个CIPK基因,水稻和杨树中也都发现了30个CIPK基因<sup>[4-6]</sup>。许多研究结果显示,CIPK基因与非生物逆境胁迫(干旱、高盐和ABA等)信号转导有关,如OsCIPK9与冷、干旱、ABA及高盐胁迫有关<sup>[7]</sup>;AtCIPK24与盐胁迫有关,在维持Na<sup>+</sup>平衡中发挥作用<sup>[8]</sup>;OsCIPK23与干旱胁迫有关<sup>[9]</sup>;

AtCIPK23介导钾离子信号通道<sup>[10]</sup>;OsCIPK24与ABA、PEG及干旱胁迫有关,与高盐胁迫没有关系<sup>[8,11]</sup>。

大量研究表明,过量表达CIPK基因可以增强植物的抗逆性<sup>[12-14]</sup>;过量表达ZmCIPK16及ZmCIPK31,可提高转基因拟南芥的抗盐性<sup>[2,15]</sup>。因此,CIPK在逆境胁迫下发挥着重要调控作用。

玉米是我国重要的粮食作物,在保障国家粮食安全中发挥着不可替代的作用。然而,近年来干旱等非生物胁迫严重影响了玉米的产量,特别是在玉米播种到幼苗阶段,干旱和短期的低温对玉米的生长造成不可逆转的影响。因此,挖掘玉米抗干旱和低温胁迫相关基因,进而提高玉米抗逆性具有重要意义。但是,玉米中有关CIPK的研究甚少<sup>[2,15-16]</sup>。而生物信息学分析发现,玉米ZmCIPKs成员的数量至少与拟南芥相当<sup>[17]</sup>。

本研究采用生物信息学方法,得到3个推断的玉米CIPK功能基因(GenBank登录号分别为AY104819、EU974290、EU968441,根据同源性暂命名为ZmCIPK1、ZmCIPK17、ZmCIPK18),利用RT-

收稿日期:2011-04-14

基金项目:国家自然科学基金项目(30800667)和河南农业大学引进人才科研启动基金项目(30500247)

王琦,硕士研究生。研究方向:植物抗逆分子生物学。E-mail: wangqi20092012@163.com

通讯作者:郇付菊,博士,副教授。研究方向:植物抗逆分子生物学。E-mail: taifj2008@163.com

PCR,对这 3 个基因在干旱和低温胁迫下的表达模式进行初步分析,以期为进一步研究这些基因的功能奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料处理

以玉米 (*Zea mays* L.) 品种郑单 958 为试验材料,先用 0.5% NaClO 对玉米种子表面消毒 15 min,再用蒸馏水充分洗涤,置于人工气候箱中吸胀 24 h,然后转移至垫有 2 层湿润滤纸的周转箱中,于 28 °C 下暗萌发 2 d,每天喷洒蒸馏水 3 次,以保持滤纸湿润。取长势良好且一致的幼苗于光照培养箱内继续培养,待幼苗长至二叶一心时分别进行 18% PEG 和 4 °C 低温胁迫处理,处理时间分别为 0、2、6、12、24 h,在处理的不同时间段,用剪刀分别截取试验组和对照组玉米幼苗 2 片叶及全部根,液氮处理后,保存于一 70 °C 超低温冰箱备用。

### 1.2 序列的获得及生物信息学分析

利用水稻及拟南芥中已知的 *CIPK* 序列,在 NCBI 数据库 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> 中进行比对,找出同源性较高且来源于玉米中的序列,获得序列信息。然后利用 NCBI 进行同源性分析,并结合 DNASTar 和 Genedoc 软件分析;蛋白功能位点分析通过在线工具 (<http://www.expasy.ch/prosite/>) 进行。

### 1.3 玉米叶片与根总 RNA 提取和 cDNA 第一链的合成

用 Trizol 法提取试验组和对照组玉米叶和根总 RNA,用常规方法纯化,经 DnaseI (Promega 公司) 处理后,取 1 μg RNA,以 Oligo dT 为引物,在 M-MLV 逆转录酶的作用下,按照 Fermentas 公司的 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 说明书,逆转录合成 cDNA 第一链。

### 1.4 引物设计

参考 GenBank 中登录号分别为 AY104819、EU974290、EU968441 的 3 个玉米基因的核苷酸序列,根据基因表达引物的设计原则,利用 Premier 5.0 软件设计其特异性引物。所有引物均由 BioSune Biotechnology Co., Ltd. 合成。使用前将引物稀释至 2.5 mmol/L。引物序列及片段长度如表 1 所示。

### 1.5 干旱和低温胁迫下 *ZmCIPKs* 的表达分析

利用逆转录合成的 cDNA 为模板,特异性的基

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因 Gene	引物 Primer	序列 Sequences(5'-3')
<i>Actin2</i>	P1	GTGACAATGGCACTGGAATG
	P2	GACCTGACCATCAGGCATCT
<i>ZmCIPK1</i>	P1	GTCGTAGAGCTTAGGAAATC
	P2	CAACCCGGTGGCTAATTTC
<i>ZmCIPK17</i>	P1	AGACAGCCAT GGCTAGTTCG
	P2	TGCAAGCCGA TCGAACACTC
<i>ZmCIPK18</i>	P1	GTTGTAGCAACTTTGCGTAG
	P2	TGTATGCACACATCTCCAGA

因序列作为引物,进行 RT-PCR 分析。PCR 反应体系为:10×PCR buffer 2 μL,2.5 mmol/L 的 dNTP mix 1.5 μL,10 μmol/L 引物各 1 μL,2.5 U/μL *Taq* 酶(天根) 0.2 μL,cDNA 1 μL,超纯水 13.3 μL,总体积为 20 μL。PCR 反应程序为 95 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,退火 30 s,72 °C 延伸 90 s,共 30 个循环,72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存 1 h;然后进行琼脂糖凝胶电泳。以  $\beta$ -*Actin2* 作为内标,检测基因的相对表达水平(每个反应至少重复 3 次)。

## 2 结果与分析

### 2.1 生物信息学分析

利用水稻及拟南芥中已知的 *CIPK* 序列,通过 NCBI 数据库,搜索获得多条目标序列,经再次同源性比对和功能位点分析,获得了 3 个可能的玉米 *CIPKs* 序列,将其与水稻、拟南芥中的 *CIPK* 比较(图 1),发现它们含有 *CIPK* 家族的特征性结构域。

进一步研究表明:*ZmCIPK1* 含有 1 395 bp 的开放阅读框(ORF),编码 464 个氨基酸,分子质量是 51.87 ku,等电点为 7.38(表 2)。将该基因编码的氨基酸序列与 GenBank 中其他生物的氨基酸序列进行比对,发现其与水稻 *OsCIPK1* 和拟南芥 *AtCIPK1* 序列同源性分别为 84% 和 61%。蛋白功能位点分析结果见表 2,27~50 位氨基酸是 ATP 结合位点,在 140~152 位含有色氨酸/苏氨酸激酶位点即 N-激酶催化结构域,310~334 位为 C-调节域即 NAF 保守域,NAF 在所有的 *CIPK* 中都高度保守(图 1),而且是与 CBL 互作所必需的结合位点。NAF 除了具有与 CBL 结合的作用外,还能抑制 *CIPK* 蛋白本身的激酶活性,N-激酶域和 C-调节域是 *CIPK* 蛋白的特征性结构域<sup>[2]</sup>。

*ZmCIPK17* 含有 1 389 bp 的 ORF,编码 462 个

氨基酸, 分子质量为 50.46 ku, 等电点 9.32(表 2)。将该基因所编码的氨基酸序列与其他植物序列进行比对, 发现其与玉米 *ZmCIPK16*、水稻 *OsCIPK16* 和拟南芥 *AtCIPK5* 同源性分别高达 96%、81% 和 55%; 蛋白功能位点分析结果(表 2)发现: 该基因编码

的氨基酸 28~57 位是蛋白激酶 ATP 结合位点, 147~159 位是色氨酸/苏氨酸结合位点, 324~349 位是 C 端调节域, 即 NAF 保守区, 其中 NAF 中 A(丙氨酸)、F(苯丙氨酸)、L(亮氨酸)是高度保守的(图 1)。

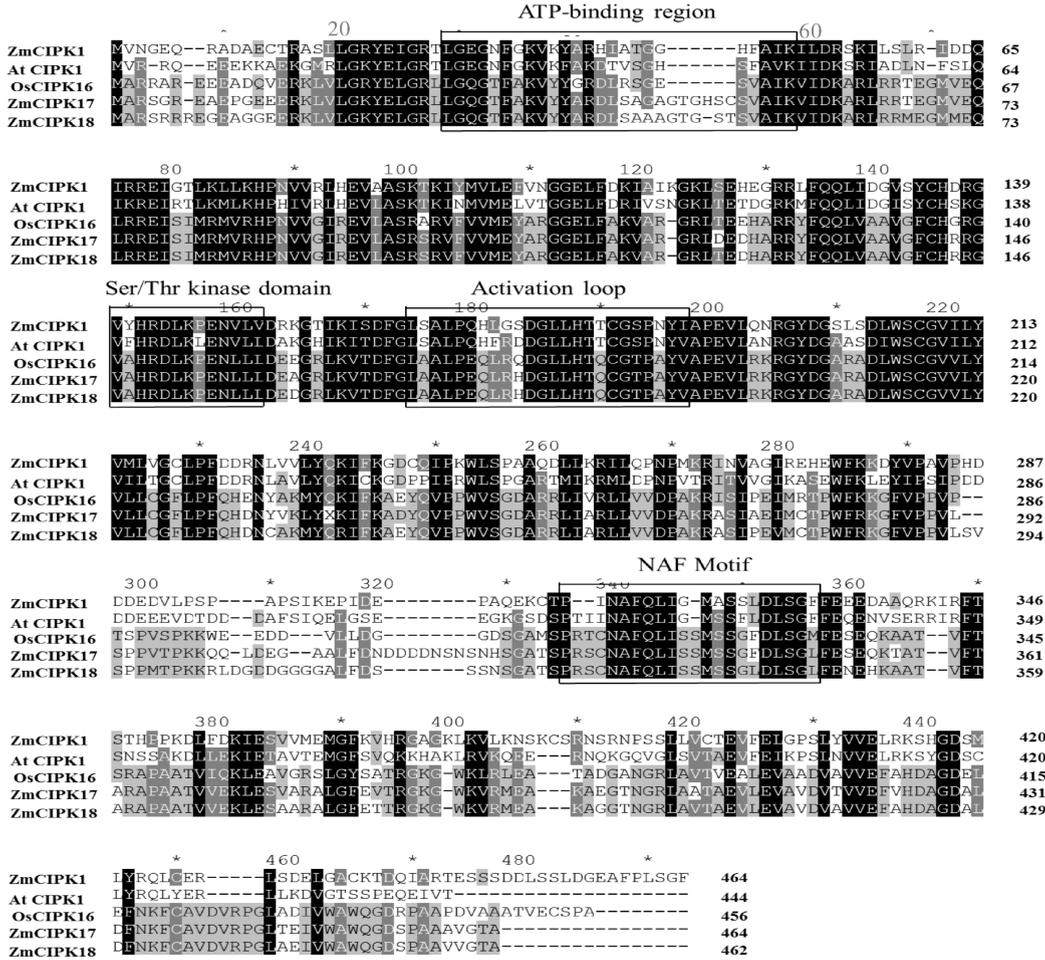


图 1 玉米 *ZmCIPK1*、*ZmCIPK17*、*ZmCIPK18* 与其他植物 CIPK 的同源性分析及结构位点分析

Fig. 1 Multiple sequences alignment of plant CIPKs and analysis of the structure

*ZmCIPK18* 有 1 395 bp 的 ORF, 编码 464 个氨基酸, 分子质量为 51.00 ku, 等电点 8.41(表 2)。将基因所编码的氨基酸序列与 GenBank 中其他植物序列进行比对发现其与玉米 *ZmCIPK16* 同源性高达 89%, 与水稻 *OsCIPK16* 同源性为 81%, 与拟

南芥 *AtCIPK5* 的同源性为 57%。基因所编码氨基酸蛋白功能位点分析(表 2)表明: 28~57 位氨基酸是 ATP 结合位点, 147~159 位氨基酸是丝氨酸/苏氨酸激酶位点, 326~351 位是高度保守的 NAF 结构域。

表 2 3 个基因所编码的蛋白性质和蛋白功能位点分析

Table 2 Analysis of the properties and domains of the proteins encoded by the three genes

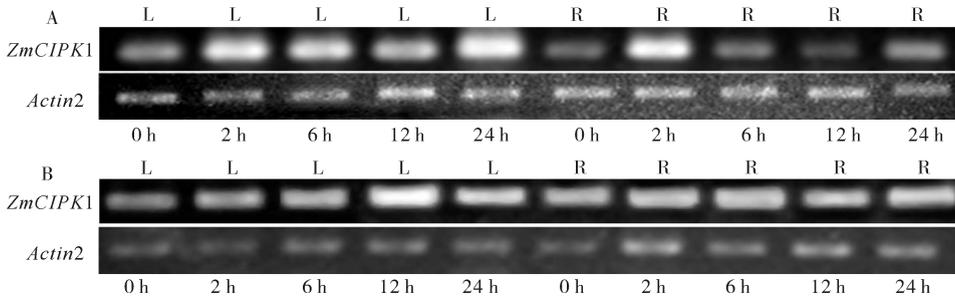
基因 Gene	开放阅读框/bp ORF	氨基酸数目 Numbers of amino acid	分子质量/kDa M	等电点 pI	蛋白功能位点分析 Analysis of prosite		
					蛋白激酶 ATP 结合位点 Protein kinases ATP-binding region signature	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性位点 Serine/Threonine protein kinases active-site signature	NAF 结构域 NAF motif
<i>ZmCIPK1</i>	13 95	464	51.87	7.38	27~50	140~152	310~340
<i>ZmCIPK17</i>	1 389	462	50.46	9.32	28~57	147~159	324~349
<i>ZmCIPK18</i>	1 395	464	51.00	8.41	29~57	147~159	326~351

## 2.2 RT-PCR 结果分析

1) *ZmCIPK1* 在 PEG 及低温胁迫下的表达模式。在 18%PEG 胁迫下, *ZmCIPK1* 在叶片中表达量明显升高, 24 h 达到最高; 在根部, 其表达量在胁迫后 2 h 达到最高, 6 h 时即开始降低, 随后一直处于较低水平(图 2-A)。在 4 °C 胁迫下, *ZmCIPK1* 在叶片中表达水平缓慢升高, 在胁迫 2、6 h 时变化不明显, 胁迫 12 h 时在叶片中表达量达到最高水平, 随后在 24 h 有少许降低。在根部, *ZmCIPK1* 的表达量变化不是很大, 在胁迫下稍高于对照(图 2-B)。上述结果表明: 干旱胁迫下, *ZmCIPK1* 在叶中的反应要强于根中的, 一直保持较高水平; 而

根中则先升高而后又降为原有表达量。根对干旱的响应要更为敏感, 暗示了 *ZmCIPK1* 在根与叶中可能参与了 2 个不同调节干旱胁迫的途径。而在低温胁迫下, *ZmCIPK1* 在叶片及根中表达变化趋势较为一致, 而且变化较为缓和。

我们推测在经受低温胁迫时, 植物体内发生了一系列的变化, 包括 *ZmCIPK1* 表达的调节, 然后引起相应的生理生化变化, 使得植物适应低温环境, 因此, 胁迫一段时间后 *ZmCIPK1* 的表达水平又有所恢复。而根对低温的感应一般要晚于叶, 这也许是 *ZmCIPK1* 在根中表达变化并不明显的一个原因。



A: 18%PEG 处理 18% PEG treatment; B: 4 °C 处理 4 °C treatment; L: 叶 Leaf; R: 根 Root; *Actin2*: 内参 Standard control.

图 2 *ZmCIPK1* 在干旱和低温处理下玉米幼苗叶和根中的表达

Fig. 2 Expressions of *ZmCIPK1* in maize seedlings under drought and cold stresses

2) *ZmCIPK17* 在 PEG 及低温胁迫下的表达模式。在 18%PEG 胁迫下, 叶片中 *ZmCIPK17* 在对照表达量极少, 2 h 明显升高, 6~12 h 表达量略微下降, 24 h 达到最高, 即在干旱胁迫下, *ZmCIPK17* 在叶片中表达量一直持续较高水平。在根部, 对照中 *ZmCIPK17* 几乎不表达, 2 h 表达量达到最高, 之后逐渐下降恢复至对照水平, 即该基因表达量先升高后降低(图 3-A)。在 4 °C 胁迫下, *ZmCIPK17* 在对照叶和根中表达量几乎为 0, 但胁迫 2 h, 在叶与根中表达量都迅速升高, 但叶中 2~12 h 表达量一直持续很高, 12 h 之后逐渐下降, 24 h 表达量较低。在根部, 胁迫后 2~24 h 表达量有逐渐升高的

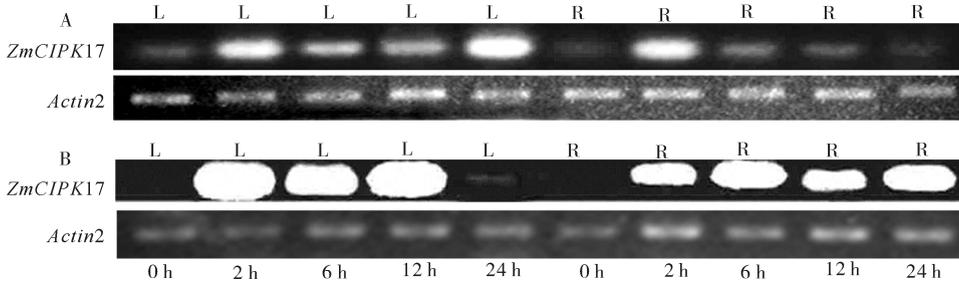
趋势, 且 24 h 表达量最高(图 3-B)。这暗示了在干旱或低温胁迫的较短时间内, *ZmCIPK17* 就大量被诱导表达, 且在一定时间段内维持较高水平, 以调节植物体对不良环境的对抗。因此, 我们推测 *ZmCIPK17* 在干旱和低温胁迫下都发挥重要作用。

3) *ZmCIPK18* 在 PEG 及低温胁迫下的表达模式。在 18%PEG 胁迫下, 叶片中 *ZmCIPK18* 在对照表达量极低, 干旱胁迫 2 h 后表达量就迅速增加, 胁迫 12 h 表达量略微下降, 24 h 表达水平达到最高; 根部中, 在对照有少量表达, 2~24 h 表达量呈逐渐增加的趋势(图 4-A)。可见, *ZmCIPK18* 基因在短时间的干旱胁迫下, 在叶片和根中表达量明显

升高,且在根和叶中的表达趋势相似,推测 *ZmCIPK18* 在响应干旱胁迫中发挥重要作用。

在 4 °C 胁迫下,*ZmCIPK18* 在叶片对照中没有表达,在低温胁迫的 6 h 内,表达水平没有升高趋势。直到胁迫后 12 h,该基因表达量有所升高,但 24 h 表达量有降低趋势;根部 *ZmCIPK18* 在对照中几乎没有表达,但胁迫后 2 h,表达量即大量上

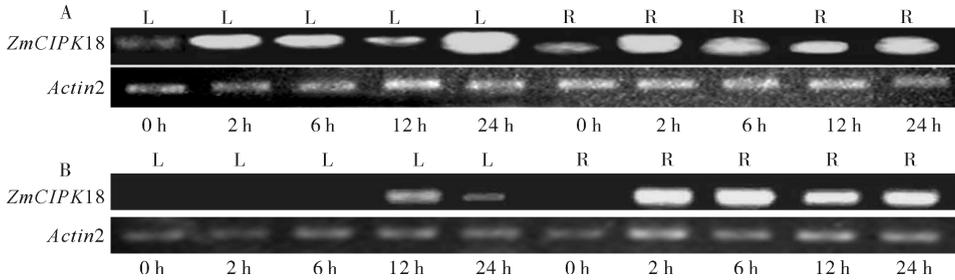
升,到 24 h 表达量仍维持较高水平(图 4-B)。因此,低温胁迫下,*ZmCIPK18* 在叶片和根部的表达变化趋势差异明显,推测该基因在叶片和根部的表达可能受不同的信号转导途径调控,在对抗低温胁迫中发挥重要作用。同时根中表达量持续升高的结果也暗示了 *ZmCIPK18* 在根中的调控作用可能更为重要。



A:18%PEG 处理 18% PEG treatment; B:4 °C 处理 4 °C treatment; L:叶 Leaf; R:根 Root; *Actin2*:内参 Standard control.

图 3 *ZmCIPK17* 在干旱和低温处理下玉米幼苗叶和根中的表达

Fig. 3 Expressions of *ZmCIPK17* in maize seedlings under drought and cold stresses



A:18%PEG 处理 18% PEG treatment; B:4 °C 处理 4 °C treatment; L:叶 Leaf; R:根 Root; *Actin2*:内参 Standard control.

图 4 *ZmCIPK18* 在干旱和低温处理下玉米幼苗叶和根中的表达

Fig. 4 Expressions of *ZmCIPK18* in maize seedlings under drought and cold stresses

### 3 讨论

许多研究表明,*CIPK* 在逆境胁迫中发挥重要作用,且同一植物 *CIPK* 家族的不同成员在逆境胁迫下的表达调控及功能存在很大差异,其作用机制也不相同<sup>[8,10,13]</sup>。对 *CIPK* 基因家族在逆境胁迫下的功能比较发现,一些 CBL-*CIPK* 信号途径在不同物种间具有一定的保守性<sup>[18]</sup>,但同源基因对逆境胁迫的响应和生物学功能在不同的物种中可能存在差异<sup>[10,13,19-20]</sup>。因此,模式植物中关于 CBL-*CIPK* 的研究并不能完全代表众多高等植物中 CBL-*CIPK* 系统的功能及调控机制。

叶与根中合成并积累 ABA 的能力可能也存在差异。另有研究发现, *AtCIPK1* 可以与 *CBL1* 和 *CBL9* 相互作用,分别介导 ABA 依赖和非 ABA 依赖 2 种信号途径,*CIPK1* 作为这 2 种信号途径的交叉点参与调控下游抗逆基因的表达<sup>[21]</sup>。本研究发现 *ZmCIPK1* 及 *ZmCIPK17* 在干旱胁迫下,在叶与根中的表达模式都存在显著差异。在干旱胁迫下,*ZmCIPK1* 与 *ZmCIPK17* 在叶中表达量一直处于较高水平,而在根中胁迫 2 h 表达量较高,而后表达水平降低。推测它们在对于旱较为敏感的根部及在叶中可能参与了 2 种不同的调控途径,从而在不同组织中发挥不同的作用。而其在根与叶中的差异表达是否与内源 ABA 的积累有关,该基因是否

干旱胁迫下植物体内会积累大量的 ABA,其中

也可以同时介导 ABA 依赖及非 ABA 依赖途径还需进一步的实验验证。此外, *ZmCIPK17* 在对照中几乎没有表达, 在胁迫条件下, 其在根与叶中都能较早且强烈地感受胁迫信号并作出应答, 而且对低温胁迫的响应要强于对干旱胁迫的响应, 暗示该基因可能同时参与了抗旱及抗冷途径, 但其具体作用机制有待进一步研究。

大量的研究表明, 每一种 CBL 和其特定的一套 CIPK 相互作用, 每一种 CIPK 作用于 1 种或者更多的 CBL, 它们形成不同的复合体在逆境胁迫中发挥不同的作用<sup>[11, 22-23]</sup>。比如, 复合体 CBL4/CIPK24 在根中将植物体内多余的  $\text{Na}^+$  泵出体外, 以减少其对植物的毒害, 而 CBL10/CIPK24 在地上部分叶中将  $\text{Na}^+$  转到液泡中以调节  $\text{Na}^+$  的平衡, 这说明根和叶可以利用不同的 CBL-CIPK 组合通过特异的途径介导盐胁迫信号通路<sup>[11, 23]</sup>。本研究结果暗示了 *ZmCIPK18* 可能在玉米幼苗耐旱性和耐冷性上发挥一定的作用, 其中尤以耐旱性较为显著。此外, 在低温胁迫下, *ZmCIPK18* 在根中表达量被迅速诱导, 在叶中的响应较滞后。而植物在感受低温时, 叶往往敏感于根, 这暗示了 *ZmCIPK18* 在叶与根中可能通过与不同的 CBL 结合形成不同的复合体参与 2 种不同的信号途径, 其中在根中参与的信号途径能够迅速响应低温胁迫。可见, *ZmCIPK1*、*ZmCIPK17* 与 *ZmCIPK18* 的表达模式存在特异性, 它们是否也通过与不同的 CBL 结合, 在不同组织中发挥调控作用? 这些基因参与了 ABA 依赖或是非 ABA 依赖的途径也并不清楚。在干旱和低温胁迫下, 它们到底发挥正向还是负向的调控作用也有待于进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] LI R F, ZHANG J W, WEI J H, et al. Functions and mechanisms of the CBL-CIPK signaling system in plant response to abiotic stress[J]. *Progress in Natural Science*, 19(6): 667-676.
- [2] ZHAO J F, SUN Z F, ZHENG J. Cloning and characterization of a novel CBL-interacting protein kinase from maize[J]. *Plant Mol Biol*, 2009, 69(6): 661-674.
- [3] LUAN S, KUDLA J. Calmodulins and calcineurin B-like proteins calcium sensors for specific signal response coupling in plants[J]. *The Plant Cell*, 2002, 14: 389-400.
- [4] ALBRECHT V, RITZ O, LINDER S, et al. The NAF domain defines a novel protein-protein interaction module conserved in Ca-regulated kinases[J]. *The EMBO Journal*, 2001, 20(5): 1051-1063.
- [5] KUDLA J. Calcium sensors and their interacting protein kinases genomics of the *Arabidopsis* and rice CBL-CIPK signaling networks [J]. *Plant Physiology*, 2004, 134: 43-58.
- [6] GIRDHAR K, LUAN S. Calcineurin B-like protein CBL9 interacts with target kinase CIPK3 in the regulation of ABA response in seed germination[J]. *Mol Plant*, 2008, 1(2): 238-248.
- [7] PANDEY G K, CHEONG Y H, KIM B, et al. CIPK9: a calcium sensor-interacting protein kinase required for low-potassium tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Cell Research*, 2007, 17: 411-421.
- [8] XIANG Y, HUANG Y, XIONG L Z. Characterization of stress-responsive CIPK genes in rice for stress tolerance improvement[J]. *Plant Physiology*, 2007, 144: 1416-1428.
- [9] YANG W Q, KONG Z S, OMO-IKERODAH E, et al. Calcineurin B-like interacting protein kinase OsCIPK23 functions in pollination and drought stress responses in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2008, 35(9): 531.
- [10] XU J, LI H D, CHEN L Q, et al. A protein kinase, interacting with two calcineurin B-like proteins, regulates  $\text{K}^+$  transporter AKT1 in *Arabidopsis*[J]. *Cell*, 2006, 125: 1347-1360.
- [11] QUAN R D, LIN H X, MENDOZA I, et al. SCABP8/CBL10, a putative calcium sensor, interacts with the protein kinase SOS2 to protect *Arabidopsis* shoots from salt stress[J]. *The Plant Cell*, 2007, 19: 1415-1431.
- [12] HWANG Y S, BETHKE P C, CHEONG Y H, et al. A gibberellin-regulated calcineurin B in rice localizes to the tonoplast and is implicated in vacuole function[J]. *Plant Physiol*, 2005, 138: 1347-1358.
- [13] HU H C, WANG Y Y, TSAY Y F. AtCIPK8, a CBL-interacting protein kinase, regulates the low-affinity phase of the primary nitrate response[J]. *Plant J*, 2009, 57: 264-278.
- [14] TRIPATHI V, PARASURAMAN B, LAXMI A, et al. CIPK6, a CBL-interacting protein kinase is required for development and salt tolerance in plant[J]. *Plant J*, 2009, 58: 778-790.
- [15] 张成伟. 玉米 *ZmCIPK31* 基因的克隆与功能分析[D]. 北京: 中国农业科学院研究生院, 2009.
- [16] 边鸣镝, 李文亮, 郭庆勋, 等. 非生物胁迫诱导的玉米蛋白激酶基因 *ZmCIPK3* 的 cDNA 克隆和表达特性[J]. *玉米科学*, 2008, 16(6): 52-57.
- [17] 王茅雁. 玉米类钙调磷酸酶 B 蛋白 ZmCBL1 与 ZmCBL4 基因的克隆与功能分析[D]. 北京: 中国农业大学图书馆, 2007.
- [18] MARTINEZ-ATIENZA J, JIANG X, GARCIADEBLAS B, et al. Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice[J]. *Plant Physiology*, 2007, 143: 1001-1012.
- [19] ZHANG H C, YIN W L, XIA X L. Shaker-like potassium channels in *Populus*, regulated by the CBL-CIPK signal transduction pathway, increase tolerance to low- $\text{K}^+$  stress[J]. *Plant Cell Rep*, 2010, 29: 1007-1012.
- [20] 周桂, 邹成林, 丘立杭, 等. 聚乙二醇胁迫下甘蔗根系蛋白质差异表达图谱分析[J]. *华中农业大学学报*, 2010, 29(4): 408-

412.

- [21] D'ANGELO C, WEINL S, BATISTIC O, et al. Alternative complex formation of the Ca-regulated protein kinase CIPK1 controls abscisic acid-dependent and independent stress responses in *Arabidopsis*[J]. *Plant J*, 2006, 48: 857-872.

- [22] BATISTIC O, WAADT R, STEINHORST L, et al. CBL-mediated

targeting of CIPKs facilitates the decoding of calcium signals emanating from distinct cellular stores [J]. *The Plant Journal*, 2010, 61: 211-222.

- [23] KIM B G, WAADT R, CHEONG Y H, et al. The calcium sensor CBL10 mediates salt tolerance by regulating ion homeostasis in *Arabidopsis*[J]. *Plant J*, 2007, 52(3): 473-484.

## Expression analysis of three CIPKs homologous gene in maize under drought and cold stresses

WANG Qi WANG Wei SHEN Teng-fei XUE Rui-li TAI Fu-ju

*Henan Key Laboratory of Food Crops Physiological Ecology and Genetic Improvement /  
College of Life Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China*

**Abstract** Three CIPK homologous sequences (GenBank accession number: AY104819, EU974290 and EU968441) were bioinformatically isolated from maize. Then a sequence coded by them included the motif of the CIPK family and were named as *ZmCIPK1*, *ZmCIPK17*, *ZmCIPK18* based on its homologies. RT-PCR analysis showed that the expression levels of the three genes changed under the treatment of 18% PEG and 4 °C. The expression of *ZmCIPK1* was changed obviously in roots under the drought stress, but changed little under the cold stress. The expressions of *ZmCIPK17* and *ZmCIPK18* were both strongly induced. However, there are differences for the expression profiles of the two genes in different stress. At the same time, the expression profiles of the gene in leaves and roots were also different. These results showed that *ZmCIPK17* and *ZmCIPK18* may play a key role under drought and cold stresses with different mechanism of regulation.

**Key words** CIPK; maize; bioinformatics; drought stress; cold stress; expression level

(责任编辑: 张志钰)