



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101993482 B

(45) 授权公告日 2013. 04. 03

(21) 申请号 200910091728. 9

(22) 申请日 2009. 08. 24

(73) 专利权人 夏新界

地址 410125 湖南省长沙市芙蓉区马坡岭中
国科学院亚热带农业生态研究所

(72) 发明人 夏新界 卢学丹

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限
公司 11245

代理人 关畅 任凤华

(51) Int. Cl.

C07K 14/415 (2006. 01)

C12N 15/29 (2006. 01)

C12N 5/10 (2006. 01)

C12N 1/00 (2006. 01)

C12N 15/63 (2006. 01)

C12N 15/66 (2006. 01)

C12N 15/82 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1306579 A, 2001. 08. 01, 全文.

CN 1563084 A, 2005. 01. 12, 全文.

GenBank. NP_001045810. 1. 《GenBank》. 2008,

GenBank. NM_001052345. 《GenBank》. 2008,

审查员 朱镜羲

权利要求书 1 页 说明书 9 页 附图 7 页

(54) 发明名称

与水稻长粒卷叶相关的蛋白及其编码基因与
应用

(57) 摘要

本发明公开了一种蛋白, 命名为 OsXCL, 是如下 1) 或 2) 的蛋白: 1) 序列表中序列 2 所示的氨基酸序列组成的蛋白质; 2) 在序列表中序列 2 的氨基酸序列经过取代和 / 或缺失和 / 或添加一个或几个氨基酸且具有促使水稻长粒卷叶功能的由 1) 衍生的蛋白质。本发明还提供所述蛋白的编码基因。将该编码基因导入水稻中得到的转 OsXCL 水稻的百粒重达到 4. 224g, 与野生型对照相比增重 25. 1%; 谷粒增长 1/4。

1. 一种培育粒重增加的转基因植物的方法,是将序列表中序列 2 所示的氨基酸序列组成的蛋白质的编码基因导入目的植物,得到转基因植物,所述转基因植物的粒重大于所述目的植物。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于:所述编码基因是如下 1) 或 2) 的基因:

1) 编码序列是序列表中序列 1 的自 5' 端第 106 位 - 第 870 位所示的基因;

2) 编码序列是序列表中序列 1 的自 5' 端第 50 位 - 第 873 位所示的基因。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的方法,其特征在于:所述植物为双子叶植物或单子叶植物;所述单子叶植物为水稻。

4. 一种培育长粒卷叶转基因植物的方法,是将序列表中序列 2 所示的氨基酸序列组成的蛋白质的编码基因导入目的植物,得到转基因植物,所述转基因植物的粒长大于所述目的植物。

5. 根据权利要求 4 所述的方法,其特征在于:所述编码基因是如下 1) 或 2) 的基因:

1) 编码序列是序列表中序列 1 的自 5' 端第 106 位 - 第 870 位所示的基因;

2) 编码序列是序列表中序列 1 的自 5' 端第 50 位 - 第 873 位所示的基因。

6. 根据权利要求 4 或 5 所述的方法,其特征在于:所述植物为双子叶植物或单子叶植物;所述单子叶植物为水稻。

与水稻长粒卷叶相关的蛋白及其编码基因与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,特别涉及与水稻长粒卷叶相关的蛋白及其编码基因与应用。

背景技术

[0002] 水稻是人类赖以生存的主要粮食作物之一,全球约有一半的人口以稻米为主食。在我国,水稻产量居粮食作物之首,稻米在居民口粮消费中占 60%,从事稻作生产的农户接近农户总数的 50%,因此,水稻在我国粮食作物中占据龙头地位。随着全球人口的不断增加(稻米消费国人口增速快于世界人口平均增速),与此同时由于工业化、城镇化的快速发展、自然灾害损毁等原因,稻田呈逐渐减少趋势,因此,世界稻米的供求矛盾将越来越突出,如何在更小的稻田面积上生产出更多的粮食以确保稻米安全供应是全球面临的急迫而必需解决的重大问题。但是,水稻大面积生产上的产量都很低,据联合国粮农组织 (FAO) 1999 年统计,全世界水稻平均单产仅为 3.8t. ha⁻¹ (中国为 6.3t. ha⁻¹)。为此,近 30 年里,我国先后提出了水稻超高产育种计划(超级稻育种计划),挖掘高产品种的产量潜力,达到大幅提高水稻单产的目的。粒重是影响作物产量的重要因素之一,增加谷粒的大小粒重,是提高水稻产量的有效途径之一,而谷粒的长度又是决定稻米质量的重要形态指标。如在增加产量的同时,又能提高稻米质量,则是我们生物学家、农学家所最为追求的目标。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种蛋白,命名为 OsXCL,来源于水稻,是如下 1) 或 2) 的蛋白:

[0004] 1) 序列表中序列 2 所示的氨基酸序列组成的蛋白质;

[0005] 2) 在序列表中序列 2 的氨基酸序列经过取代和/或缺失和/或添加一个或几个氨基酸且与植物粒形和叶形相关的由 1) 衍生的蛋白质。

[0006] 序列表 2 为 OsXCL 的氨基酸序列,包括氨基酸 255 个,疏水性氨基酸 72 个(包括脯氨酸),亲水性氨基酸 183 个,酸性氨基酸 34 个,碱性氨基酸 38 个,蛋白质分子量为: 26.73Kda,等电点:9.8。该蛋白质是国际上未曾报道的新蛋白质。

[0007] 为了使 1) 中的 OsXCL 便于纯化,可在由序列表中序列 2 所示的氨基酸序列组成的蛋白质的氨基末端或羧基末端连接上如表 1 所示的标签。

[0008] 表 1. 标签的序列

[0009]

标签	残基	序列
Poly-Arg	5-6(通常为 5 个)	RRRRR
Poly-His	2-10(通常为 6 个)	HHHHHH

FLAG	8	DYKDDDDK
Strep-tag II	8	WSHPQFEK
c-myc	10	EQKLISEEDL

[0010] 上述 2) 中的 OsXCL 可人工合成,也可先合成其编码基因,再进行生物表达得到。上述 2) 中的 OsXCL 的编码基因可通过将序列表中序列 1 自 5' 末端第 106 到 870 位碱基所示的 DNA 序列中缺失一个或几个氨基酸残基的密码子,和 / 或进行一个或几个碱基对的错义突变,和 / 或在其 5' 端和 / 或 3' 端连上表 1 所示的标签的编码序列得到。

[0011] 上述蛋白的编码基因,命名为 OsXCL,也属于本发明的保护范围之内。

[0012] 上述编码基因是如下 1) 或 2) 或 3) 或 4) 的基因:

[0013] 1) 编码序列是序列表中序列 1 的自 5' 端第 106 位 - 第 870 位所示的基因;

[0014] 2) 编码序列是序列表中序列 1 的自 5' 端第 50 位 - 第 873 位所示的基因;

[0015] 3) 在高严谨条件下与 1) 或 2) 限定的基因杂交且编码所述蛋白的基因;

[0016] 4) 与 1) 或 2) 限定的基因具有 90% 以上的同源性且编码所述蛋白的基因。

[0017] 序列表 1 为编码 OsXCL 的全长 cDNA。该序列共由 1062 碱基组成,其中,5' 端未翻译区包括 105 个碱基,3' 端未翻译区包括 192 个碱基,编码区由 765 个碱基 (从 106 位到 870 位) 组成,编码具有序列表中序列 2 的氨基酸序列的 OsXCL 蛋白,编码区中,A 占 15.16% (116 个),C 占 40.65% (311 个),G 占 32.29% (247 个),T 占 11.9% (91 个),A+T 占 27.06% (207 个),C+G 占 72.94% (558 个)。

[0018] 上述的高严谨杂交条件是指,将杂交膜置于预杂交液 (0.25mol/L 磷酸钠缓冲液, pH7.2, 7% SDS) 中,65℃ 预杂交 30min;弃预杂交液,加入杂交液 (0.25mol/L 磷酸钠缓冲液, pH7.2, 7% SDS, 同位素标记的核苷酸片段),65℃ 杂交 12hr;弃杂交液,加入洗膜液 I (20mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH7.2, 5% SDS),65℃ 洗膜 2 次,每次 30min;加入洗膜液 II (20mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH7.2, 1% SDS),65℃ 洗膜 30min。

[0019] 扩增上述 OsXCL 基因全长或其任一片段的引物对也属于本发明的保护范围。

[0020] 含有上述基因的转基因细胞系也属于本发明的保护范围。

[0021] 含有上述基因的重组菌也属于本发明的保护范围。

[0022] 含有上述基因的重组载体也属于本发明的保护范围。

[0023] 可用现有的植物表达载体构建含有 OsXCL 基因的重组表达载体。所述植物表达载体包括双元农杆菌载体和可用于植物微弹轰击的载体等,如 pCambia3301、pCambia1300、pBI121、pBin19、pCambia2301、pCambia1301-UbiN、pBY505 或其它衍生植物表达载体。使用 OsXCL 基因构建重组表达载体时,可在其转录起始核苷酸前加上任何一种增强型、组成型、组织特异型或诱导型启动子,如花椰菜花叶病毒 (CAMV) 35S 启动子、泛素 (Ubiquitin) 基因启动子 (pUbi)、Actin 启动子等,它们可单独使用或与其它植物启动子结合使用。

[0024] 此外,使用本发明的基因构建植物表达载体时,还可使用增强子,包括翻译增强子或转录增强子,这些增强子区域可以是 ATG 起始密码子或邻接区域起始密码子等,但必需与编码序列的阅读框相同,以保证整个序列的正确翻译。所述翻译控制信号和起始密码子的来源是广泛的,可以是天然的,也可以是合成的。翻译起始区域可以来自转录起始区域或

结构基因。

[0025] 为了便于对转基因植物细胞或植物进行鉴定及筛选,可对所用植物表达载体进行加工,如加入在植物中表达可产生颜色变化的酶或发光化合物的基因(GUS 基因、GFP 基因、萤光素酶基因等)、具有抗性的抗生素标记物(庆大霉素标记物、卡那霉素标记物等)或是抗化学试剂标记基因(如抗除草剂基因)等。

[0026] 上述重组载体具体可以是将上述的基因插入表达载体 163-1300 的多克隆位点,得到的重组载体;

[0027] 其中,所述表达载体 163-1300 的构建方法是:将 pJIT163 用 KpnI 和 XhoI 酶切得到的含 Double 35S 启动子的 DNA 条带与经 KpnI 和 SalI 酶切 pCambia1300 得到的大片段连接,得到重组表达载体。

[0028] 本发明的另一目的在于提供一种培育长粒卷叶转基因植物的方法,是将上述的基因导入目的植物,得到转基因植物,该转基因植物的粒长大于目的植物。

[0029] 本发明的又一目的在于提供一种培育粒重增加的转基因植物的方法,是将所述的基因导入目的植物,得到转基因植物,所述转基因植物的粒重大于所述目的植物。

[0030] 上述的基因是通过上述的重组载体导入目的植物中。携带有本发明的 OsXCL 基因的植物表达载体可通过 Ti 质粒、Ri 质粒、植物病毒载体、如基因枪法、花粉管通道、显微注射、电导、农杆菌介导等常规生物学方法转化到植物细胞或组织中。

[0031] 上述植物为双子叶植物或单子叶植物;该单子叶植物具体可为水稻。

[0032] 实验证明:本发明培育出的转 OsXCL 水稻的百粒重达到 4.224g,与野生型对照相比增重 25.1%;谷粒增长 1/4。在水稻中过量表达 OsXCL,导致水稻叶片卷起、谷粒显著增长、千粒重显著增加、米质提高。OsXCL 的应用,即能增加产量,又能提高稻米质量,对水稻生长发育没有任何负面影响,是生物技术基因工程改良水稻等作物较为理想的基因,在稻米粮食安全上上将发挥积极作用。

附图说明

[0033] 图 1 为琼脂糖凝胶电泳分析 PCR 扩增得到的 OsXCL cDNA 结果图,其中,1 为 DNAMarker;2,3 为 OsXCL cDNA。

[0034] 图 2 为 OsXCL 连接到 T 载体后 HindIII 和 EcoRI 酶切验证图,其中,1 为 DNAMarker;2-5 为 OsXCL cDNA 的克隆载体经 EcoRI 和 HindIII 双酶切后的结果。

[0035] 图 3 为 OsXCL cDNA 连接到 T 载体后 BamHI 酶切验证;P1、P2、P3、P4 是 BamHI 酶切前的 OsXCL cDNA 质粒条带;1、2、3、4 是 OsXCL cDNA 质粒经 BamHI 酶切后的条带。

[0036] 图 4 为 pJIT163 的图谱。

[0037] 图 5 为 pCambia1300 的图谱。

[0038] 图 6 为含 OsXCL 的 pMD18-T 载体的部分图谱。

[0039] 图 7 为 OsXCL 连接到表达载体后 EcoRI 酶切验证图,1-5 为 EcoRI 酶切后的 OsXCL 表达载体的酶切结果。

[0040] 图 8 为 OsXCL 连接到表达载体后 HindIII 酶切验证图,1-5 为 HindIII 酶切后的 OsXCL 表达载体。

[0041] 图 9 为从农杆菌提取质粒分别进行 EcoRI 和 HindIII 单酶切验证图,1,

DNA marker ;2, OsXCL 表达载体质粒经 EcoRI 酶切后的结果 ;3, OsXCL 表达载体质粒经 HindIII 酶切后的结果。

[0042] 图 10 为根据潮霉素抗性基因设计引物进行 PCR 验证图,其中 ;M 为 DNA marker ;1-9、12-21,以转 OsXCL 水稻植株基因组 DNA 为模板进行的潮霉素抗性基因 PCR 结果 ;10、22,以表达载体质粒为模板扩增潮霉素酶抗性基因作为阳性对照 ;11、23,无模板(水)阴性对照。

[0043] 图 11 为转 OsXCL 基因 T0 代 93-11 植株定量实时 RT-PCR 相对表达量分析 .S1 为非转基因对照水稻 ;S2 为不含 OsXCL 基因的空载体对照水稻 ;S3-S25 为转 OsXCL 基因 T0 代 93-11 水稻植株

[0044] 图 12 为转 OsXCL 水稻谷粒照片。

[0045] 图 13 转 OsXCL 水稻叶照片。

具体实施方式

[0046] 下面结合具体实施例对本发明作进一步说明,但本发明并不限于以下实施例。

[0047] 下述实施例中,如无特殊说明,均为常规方法。

[0048] 实施例 1、培育长粒卷叶转基因水稻

[0049] 一、重组表达载体的构建

[0050] 1、OsXCL 基因的克隆

[0051] 人工合成一对引物,并在其 5' 端分别加上 NcoI 和 BamHI 酶切位点。上游引物及下游引物如下 :

[0052] F :5-CCATGG GAATCCAATCCACTCCACTCCACC-3 (30)

[0053] R :5-GGATCC CTAATAGGCGGTGTGGTGTTCG-3 (29)

[0054] 提取水稻培矮 64S(中国水稻杂交育种中心,中国,长沙)的 RNA,经反转录得到 cDNA 的第一条链。

[0055] 以上述上游引物和下游引物为引物,以水稻培矮 64S 的 cDNA 为模板,PCR 扩增出序列 1 所示的 cDNA。PCR 条件为 :热盖温度 105℃,预变性 94℃ 5min,94℃变性 30s,56℃退火 30s,72℃延伸 1min20s,进行 32 个循环 ;72℃延伸 10min,22℃保温。

[0056] PCR 体系为 :

[0057] ddH₂O 3.25 μ l

[0058] 2×GC Buffer I 12.5 μ l

[0059] 引物 -1 (10 μ M) 2 μ l

[0060] 引物 -2 (10 μ M) 2 μ l

[0061] dNTP 4 μ l

[0062] 模板 cDNA 1 μ l

[0063] LA Taq 酶 0.25 μ l

[0064] 总体积 25 μ l

[0065] 使用 TAE 电泳缓冲液进行琼脂糖凝胶电泳,得到了 800bp 左右的片段(图 1),命名为 OsXCL。

[0066] 将上述 OsXCL 带回收,使用的方法是 TIANGEN 的试剂盒挤压胶块回收。将回收的

片段连入 pMD18-T 载体 (TA Cloning, 济南泰天和生物科技有限公司), 连接体系如下:

[0067]	Insert	4.5 μ l
[0068]	T-Vector	0.5 μ l
[0069]	Solution I	5 μ l
[0070]	总体积	10 μ l

[0071] 连接 2 个小时, 转化 *E. coli* DH5 α 的感受态细胞, 涂板, 用氨苄霉素筛选。挑选单克隆, 提取质粒后用 HindIII 和 EcoRI 双酶切鉴定, 结果如图 2 所示, 均有 800bp 左右 OsXCL 的条带。

[0072] 质粒用 BamHI 酶切验证目的片段 OsXCL 连入 T 载体时的方向, 结果如图 3 所示: 由于下游引物上加了 BamHI 的位点, 如果是反向插入 T 载体就会有 840bp 左右的条带, 而图中 P1、P2、P3、P4 代表未切的质粒, 由右侧的 1kb plus marker 显示条带大小。1、2、3、4 代表切后的结果, 由左边的 1kb plus marker 显示条带大小。对照结果, 表明除 4 号质粒外, 1、2、3 号质粒也已切开, 目的片段均是正向连入 (即均是 800bp 左右)。将 1、2、3 号对应的菌液测序, 测序结果表明目的片段 OsXCL 是序列 1 的自 5' 末端第 50-873 位, OsXCL 基因的 ORF (Open reading frame, 开放阅读框) 的序列与序列表中序列 1 自 5' 末端第 106 到 870 所示的序列完全一致。

[0073] 2、构建重组表达载体

[0074] 1) 表达载体 163-1300 的构建

[0075] 用 KpnI 和 XhoI 酶切如图 4 所示的 pJIT163 (pGreen, <http://www.pgreen.ac.uk/>), 琼脂糖凝胶电泳鉴定酶切结果后回收含 Double 35S 启动子的 DNA 条带。将如图 5 所示的 pCAMBIA1300 (Cambia Labs, http://www.cambia.org/daisy/bioforge_legacy/3725.html) 用 KpnI 和 SalI 酶切, 回收大片段。XhoI 和 SalI 是同尾酶, 回收到的两个片段用 T4 连接酶连接过夜, 构建成 163-1300 复合载体。

[0076] 2) 重组表达载体的构建

[0077] 将如图 6 所示的含 OsXCL 的 T 载体用酶 NcoI 和 BamHI 切开 (无论是 BamHI 作用的是 872 位设计引物所引入的酶切位点还是 887 位 T 载体上的酶切位点, 回收到的片段都包括了 OsXCL ORF 的终止密码子), 表达载体 163-1300 也用这两个酶切开, 回收后连接, 即将基因 OsXCL 连入表达载体 163-1300, 构成了重组表达载体, 命名为 OsXCL-163-1300, 并用 HindIII 和 EcoRI 分别单酶切验证。结果如图 7 和图 8 (1、2、3、4、5 均分别表示 OsXCL 表达载体经酶切后的条带) 所示, 1、3、4、5 均有正确的含 OsXCL 约 1600bp 的目的带产生。

[0078] 二、培育长粒卷叶转基因水稻及其检测

[0079] 1、长粒卷叶转基因水稻的获得

[0080] 用农杆菌冻融转化法将步骤一 2 的重组表达载体转化农杆菌 EHA105 (购于天根生化科技 (北京) 有限公司)。从农杆菌提取质粒进行 EcoRI 和 HindIII 单酶切验证 (图 9)。其中, 农杆菌冻融转化法的步骤如下:

[0081] 其中冻融法的步骤如下: 取出 -70 $^{\circ}$ C 保存的农杆菌 EHA105 感受态细胞, 冰浴融化; 取 10-20 μ l pCAMBIA1300-2 $\times$ CaMV35S-OsMsr1-CaMV35S-Term 质粒 DNA (约 1-2 μ g), 加入到 200ml 融化的农杆菌感受态细胞中, 用灭菌枪头搅匀, 静置数分钟; 置于液氮中 1min, 37 $^{\circ}$ C 水浴 5min, 加入 700-800 μ l LB 液体培养基, 28 $^{\circ}$ C、200rpm、震荡 4h; 1000g 30sec, 去部

分上清,留 100-150 μ l,用枪头吸打重新悬浮,涂布于含 50mg/L 卡那霉素、50mg/L 利福平、34mg/L 氯霉素的 LB 平板上,28℃倒置培养 2d。

[0082] 将上述经验证过的重组的农杆菌通过侵染法侵染水稻 93-11(中国水稻杂交育种中心,中国,长沙)的愈伤组织。然后将侵染后的愈伤组织在含潮霉素(50mg/L)的筛选培养基上生长,得到潮霉素抗性再生植株。

[0083] 取潮霉素抗性再生植株叶片为材料,提取基因组 DNA,以其为模板,根据潮霉素抗性基因设计的如下引物进行 PCR 验证:

[0084] pC 13-hyg-F:5' -ACCTGCCTGAAACCGAAGT-3' ;

[0085] pC 13-hyg-R:5' -CTGCTCCATACAAGCCAACC-3'。

[0086] 鉴定结果如图 10 所示,1、2、3、4、5、6、12、13、15、16、18、20 共 12 个株系扩增得到目的条带,即已转化植株 T0 代中共有 12 阳性植株(与 OsXCL 紧密连锁的潮霉素基因已整合到水稻基因组中)。

[0087] 2、检测分析

[0088] 将上述转 OsXCL 水稻移至温室培养,套袋自交,收集转基因水稻的种子。

[0089] 同时以转不含 OsXCL 基因的表达载体 163-1300 的水稻为空载体对照;以非转基因水稻同样作为对照。

[0090] 1) 定量 PCR 检测

[0091] 使用 OsXCL 基因 DNA 序列引物 108-F 和 108-R,对转 OsXCL 水稻、非转基因水稻进行定量 PCR 检测,结果如图 11 所示,非转基因水稻 93-11 中 OsXCL 表达相对水平很低;而转 OsXCL 水稻中 OsXCL 的表达量有显著提高。

[0092] 其中,RT-PCR 引物如下:

[0093] 108-F:5' -CCGCCATCATCCAAACTGA-3' (Tm 59, PCR 56);

[0094] 108-R:5' -GGTGACCACGCCCTTCTTC-3' (Tm 59, PCR 56)。

[0095] RT-PCR 体系

[0096]

试剂	浓度	容积 (μ l)	容积 (μ l)	终浓度 (μ M)
		+RT	-RT	
2x Master 反应液	2x	5.0	5.0	1x
QuantutyTec RT mix	100x	0.1	0.0	
108-F 引物	20.0 μ M	0.2	0.2	0.4
108-R 引物	20.0 μ M	0.2	0.2	0.4
RNA-free 水		0.5	0.6	
模板 RNA	5ng/ μ l	4.0	4.0	20ng/反应
总		10.0	10.0	

[0097] PCR 循环系数

溶解曲线条件

[0098] 48℃ /30min, 1cycle 95℃ /15sec

[0099] 95℃ /10min, 1cycle 60℃ /20sec

[0100] 95℃ /15sec, 56℃ /1min, 40cycles 95℃ /15sec

[0101] 2) 表型观察和统计

[0102] A. 分别称量转 OsXCL 基因水稻 93-11、空载体对照和非转基因水稻 93-11 的 T0 代植株种子的百粒重及粒长。

[0103] 实验重复 3 次, 结果如图 12 和表 1 所示, 转 OsXCL 水稻的百粒重以及粒长与非转基因水稻 93-11 和空载体对照相比, 有显著的增长。其中, 转 OsXCL 水稻的百粒重与野生型水稻相比鲜重增加 25.1%, 干重增加 23%, 谷粒增长 1/4, 垩白米率降低 (米质提高)。

[0104] 表 1. T0 代植株种子的百粒重及粒长

[0105]

	转 OsXCL 水稻	空载体对照	非转基因水稻
粒长 (mm)	11.3833±0.08868	8.7027±0.08997	8.6167±0.07836
百粒重 (鲜重) (g)	4.224±0.11	3.401±0.08	3.377±0.10
百粒重 (干重) (g)	3.36±0.09	2.761±0.07	2.73±0.09

[0106] 注: 种子干重是将种子在 37℃ 下放置 3 天, 称重得到的质量。

[0107] B. 观察和统计 T0 代植株叶片卷折的植株数。

[0108] 转 OsXCL 水稻的 T0 代植株叶片与非转基因水稻和空载体对照相比, 植株叶片略宽, 植株剑叶卷折明显 (图 13), 含卷折叶的植株占转 OsXCL 水稻的植株的比例达 90%, 并且从叶片基部开始卷曲, 到发育后期, 上部伸展开。

[0109] 序列表

[0110] <110> 夏新界

[0111] <120> 与水稻长粒卷叶相关的蛋白及其编码基因与应用

[0112] <130> CGGNARL92496

[0113] <160> 2

[0114] <210> 1

[0115] <211> 1062

[0116] <212> DNA

[0117] <213> 水稻 (*Oryza sativa*)

[0118] <400> 1

[0119] ctcacacacc acaccacacc aacatcgagc gcgtcgagtc gaatccaatc cactccactc 60

[0120] caccgccga tctcctctcc tctcgtctcc ggccaagacg acgtgatgcc acccagcgcc 120

[0121] gccgccgag ccgcgatggc gcagtcgccg cgcagcctcc acacgctgat cagcttcggc 180

[0122] cgcgggcgccg acggcgctga cgacgatgag gccacgcccc cgtcggctga cgttggtgac 240

[0123] gcggagggcg ccgggctga cctcgacttc gcgttcgcgc cgccggtgtc ggccggccgag 300

[0124]	ctggcgccgg ccgacgacat cttecgccac ggccgcatcg tgccggcgta cccggtgttc	360
[0125]	gaccgcagcc tctcgcacct ctgcccggc gacgcctcca cggcggcgcc ctccgcccac	420
[0126]	acctactgcg cgtggacgcc gcgctcggcg ccgggctcgc ccggcccgca caggttcccc	480
[0127]	aagagcgcg tccaccggcg agagtcgtcg tcgtcatcgc ggcgctggcg cctgcgcgac	540
[0128]	ctcgtcggcg ccggcggccg ctcccgcagc gacggcaagg acaagtccgc ctctctgcac	600
[0129]	caccacgccg ccgcgcgccg atcatcaaaa ctgaagactc ctctccccc tcaacaacca	660
[0130]	cagcagaaga agcagagcgc cgtgaagacg aagccggcgg cgaagaaggg cgtggtcacc	720
[0131]	gagatggaca tggccaccgc gcacaggctc ttctacagca aggccagcgc cggcggcgac	780
[0132]	cggcggccgc agcaagcctc gtacctgacg taccgaccgg cgttcagcgg cctcttcgcg	840
[0133]	ctcggccggt cgcaacacca caccgcctat tagtttaatc acttggtcaa taaccaaacc	900
[0134]	aactgattac tagtggtagt tgttgtaaaa ttaattgttt tgttgtaaaa gtgttcaaaa	960
[0135]	ttttcggcga aattcgagtc gagatttctc gtttgtaacta gaaccttate atgtacataa	1020
[0136]	atggaaaaag agaggaatga aatttgagag atgattttgt ct	1062
[0137]	<210>2	
[0138]	<211>255	
[0139]	<212>PRT	
[0140]	<213> 水稻 (Oryza sativa)	
[0141]	<400>2	
[0142]	Met Pro Pro Ser Ala Ala Ala Ala Ala Met Ala Gln Ser Pro Arg	
[0143]	1 5 10 15	
[0144]	Ser Leu His Thr Leu Ile Ser Phe Gly Arg Gly Ala Asp Gly Val Asp	
[0145]	20 25 30	
[0146]	Asp Asp Glu Ala Thr Pro Ala Ser Val Asp Val Gly Asp Ala Glu Gly	
[0147]	35 40 45	
[0148]	Ala Gly Leu Asp Leu Asp Phe Ala Phe Ala Pro Pro Val Ser Ala Ala	
[0149]	50 55 60	
[0150]	Glu Leu Ala Pro Ala Asp Asp Ile Phe Ala His Gly Arg Ile Val Pro	
[0151]	65 70 75 80	
[0152]	Ala Tyr Pro Val Phe Asp Arg Ser Leu Leu Asp Leu Ser Pro Gly Asp	
[0153]	85 90 95	
[0154]	Ala Ser Thr Ala Ala Pro Ser Ala Asp Thr Tyr Cys Ala Trp Thr Pro	
[0155]	100 105 110	
[0156]	Arg Ser Ala Pro Gly Ser Pro Gly Arg Asp Arg Phe Pro Lys Ser Ala	
[0157]	115 120 125	
[0158]	Ser Thr Gly Gly Glu Ser Ser Ser Ser Arg Arg Trp Arg Leu Arg	
[0159]	130 135 140	
[0160]	Asp Leu Val Gly Ala Gly Gly Arg Ser Arg Ser Asp Gly Lys Asp Lys	
[0161]	145 150 155 160	
[0162]	Phe Ala Phe Leu His His His Ala Ala Ala Pro Pro Ser Ser Lys Leu	

[0163]																	
[0164]	Lys	Thr	Pro	Pro	Pro	Pro	Gln	Gln	Pro	Gln	Gln	Lys	Lys	Gln	Ser	Ala	
[0165]																	
[0166]	Val	Lys	Thr	Lys	Pro	Ala	Ala	Lys	Lys	Gly	Val	Val	Thr	Glu	Met	Asp	
[0167]																	
[0168]	Met	Ala	Thr	Ala	His	Arg	Leu	Phe	Tyr	Ser	Lys	Ala	Ser	Ala	Gly	Gly	
[0169]																	
[0170]	Asp	Arg	Arg	Pro	Gln	Gln	Ala	Ser	Tyr	Leu	Thr	Tyr	Arg	Pro	Ala	Phe	
[0171]																	
[0172]	Ser	Gly	Leu	Phe	Ala	Leu	Gly	Arg	Ser	Gln	His	His	Thr	Ala	Tyr		
[0173]																	

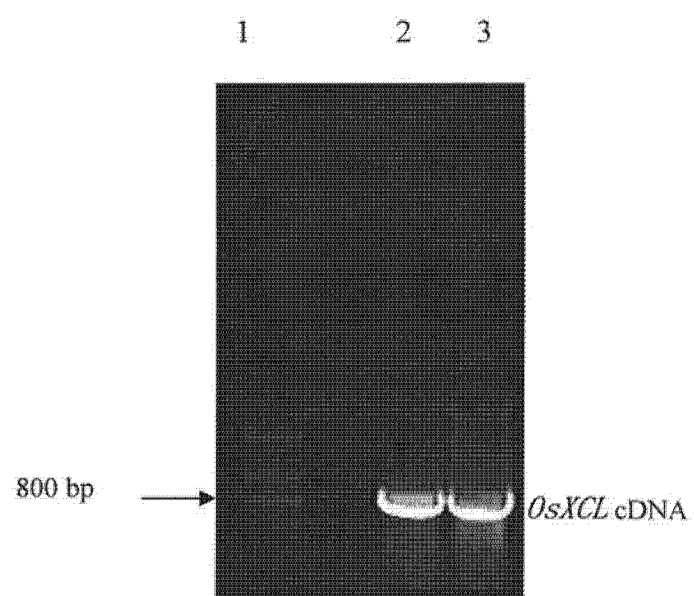


图 1

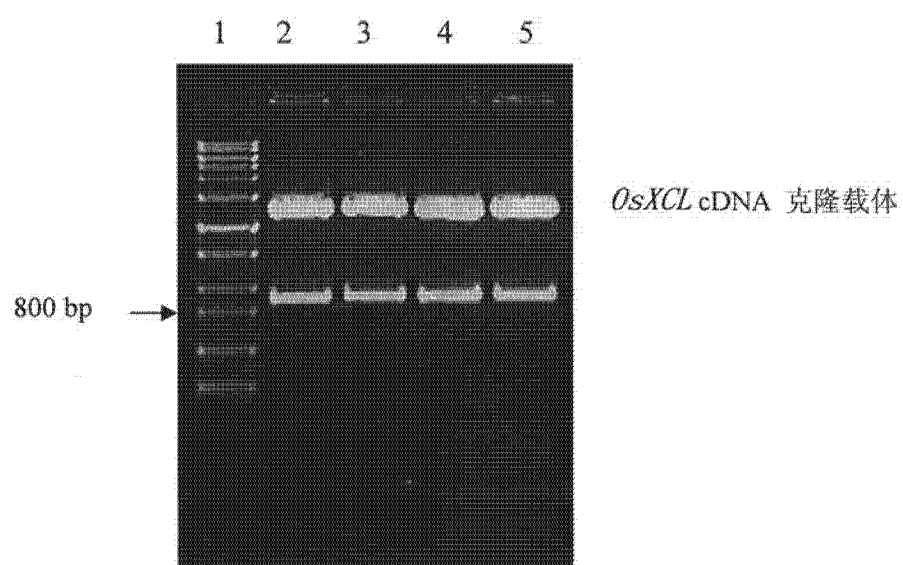


图 2

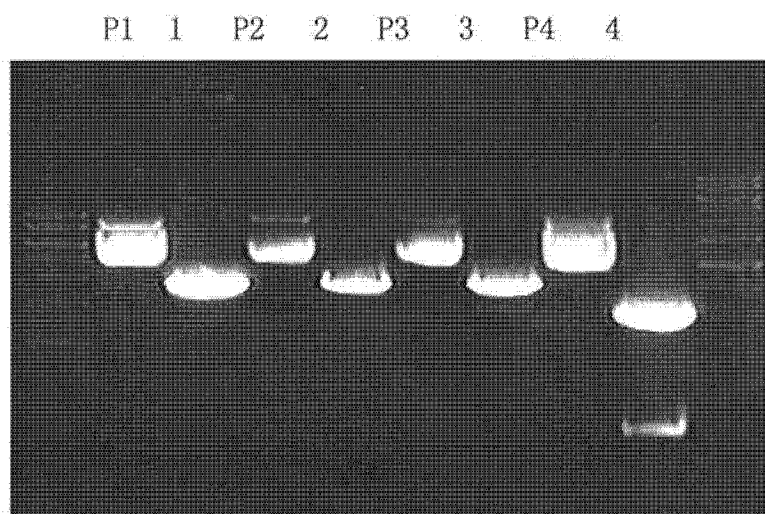


图 3

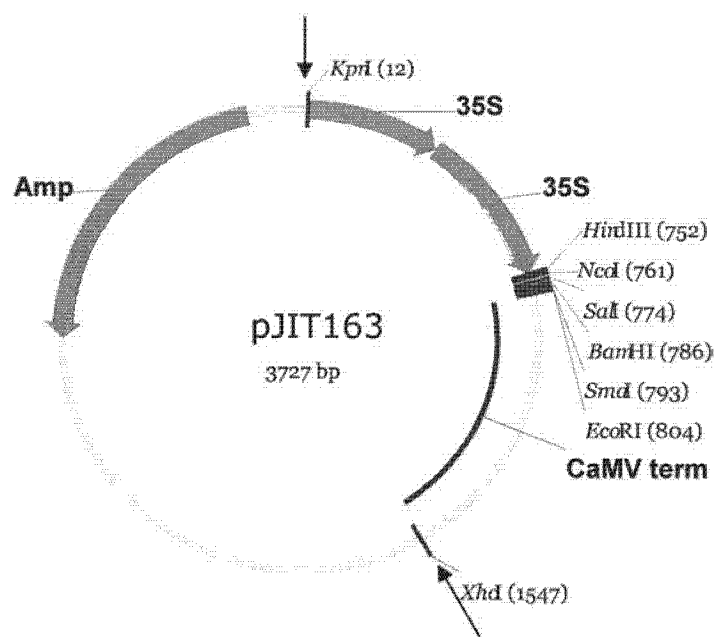


图 4

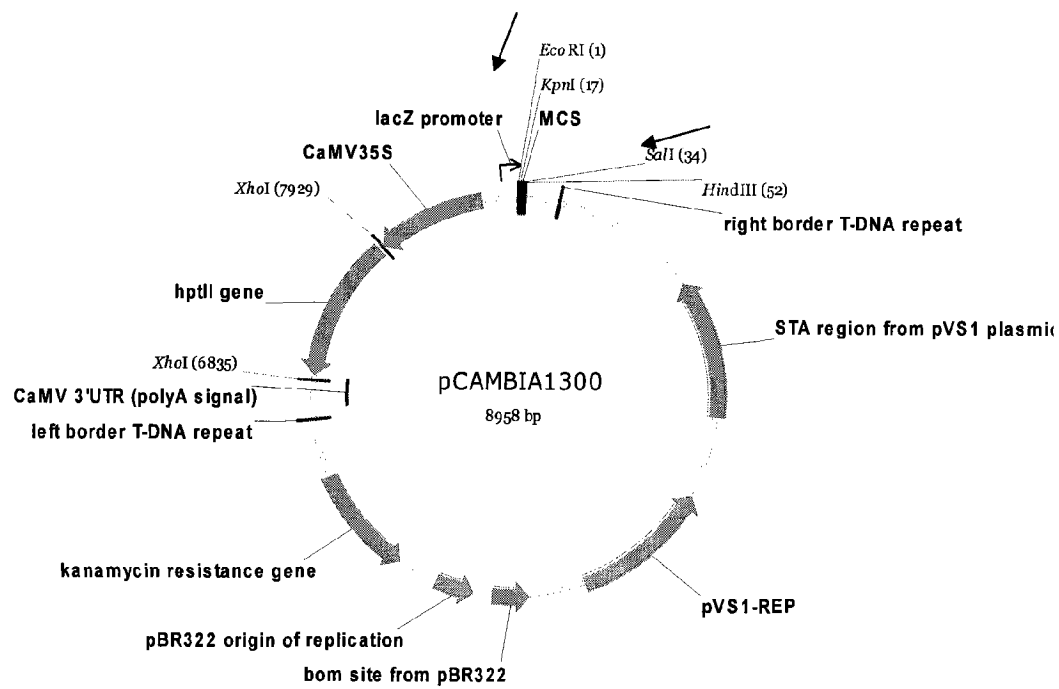


图 5

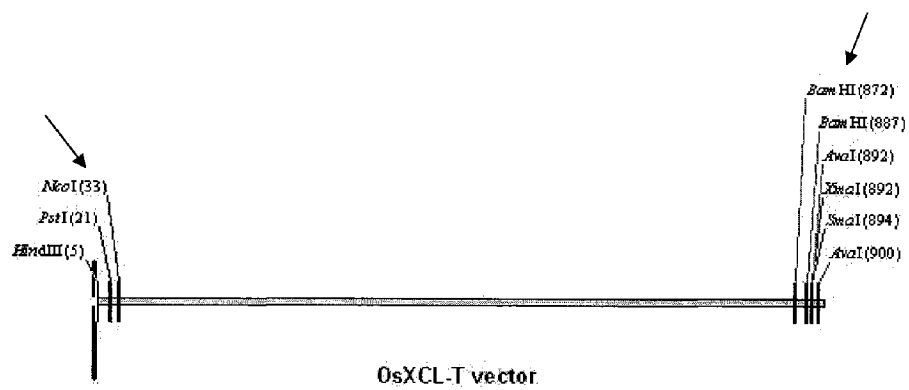


图 6

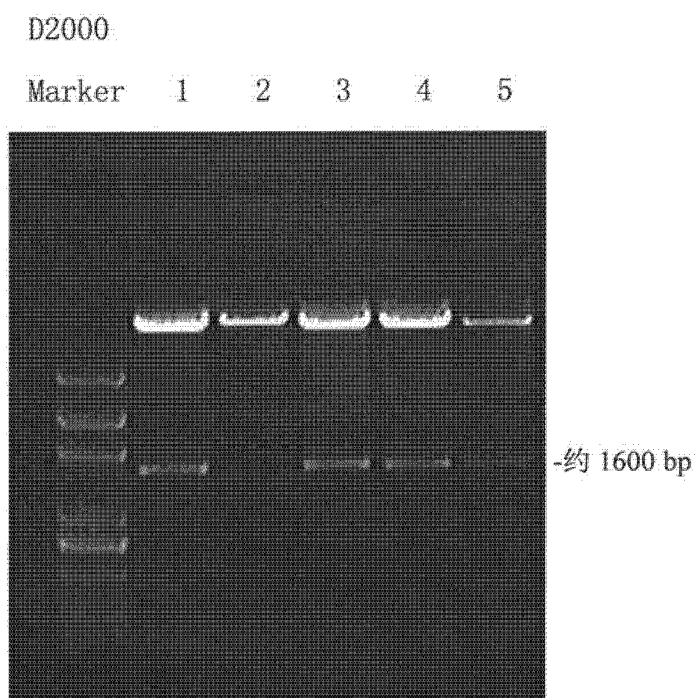


图 7

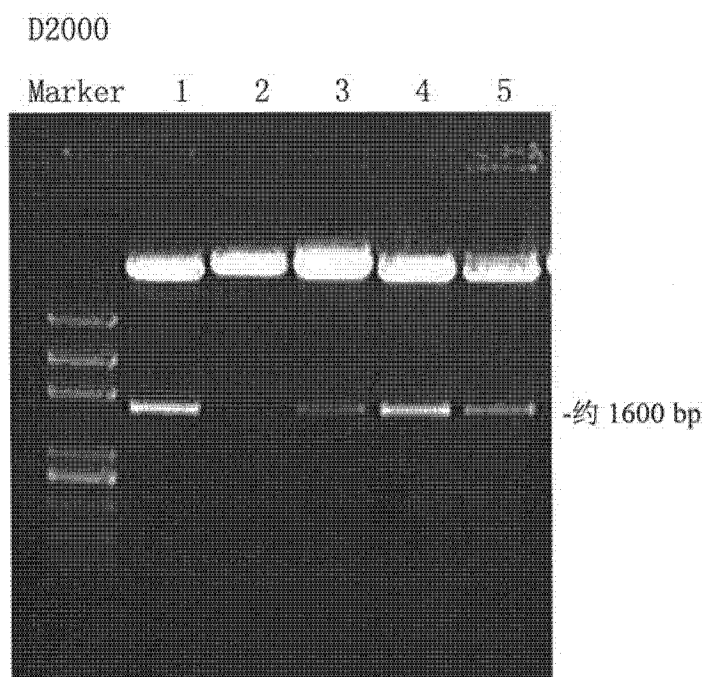


图 8

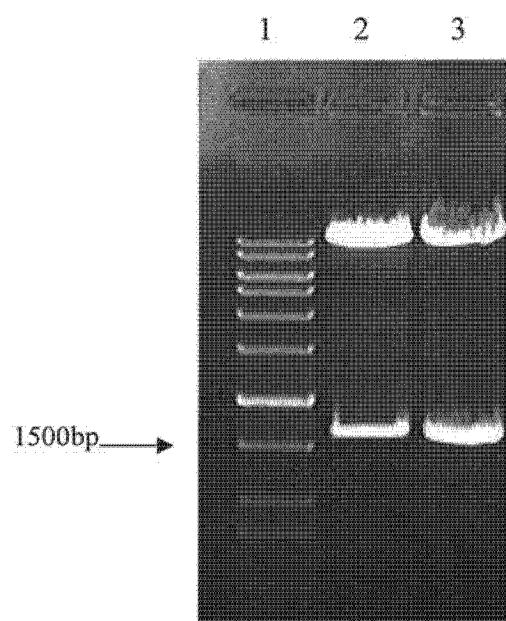


图 9

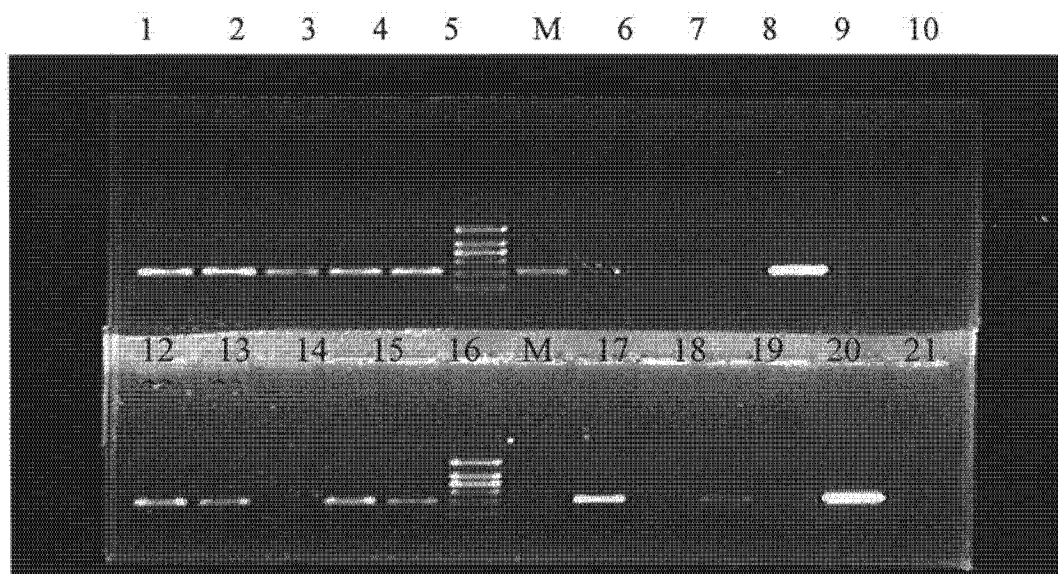


图 10

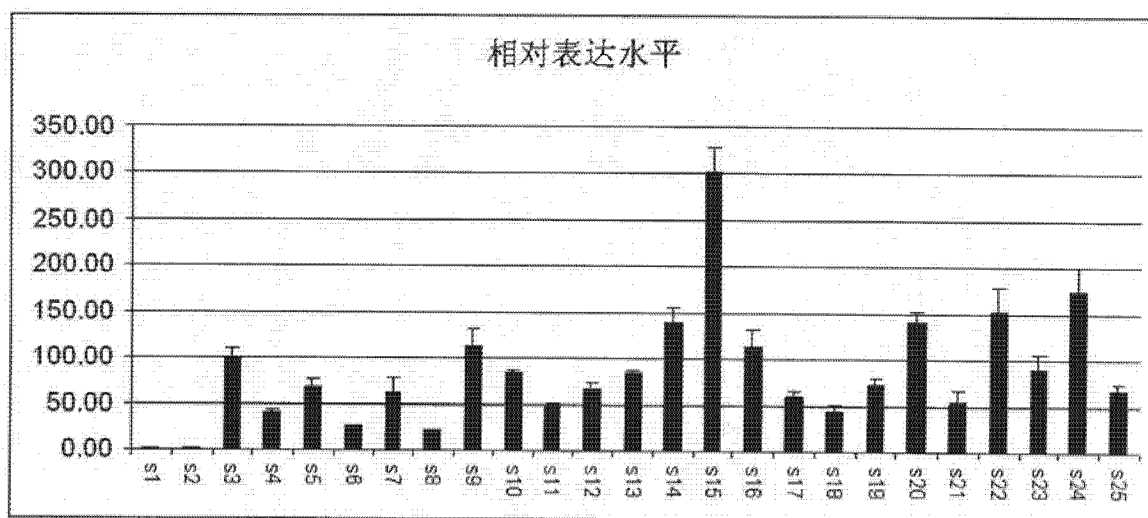


图 11

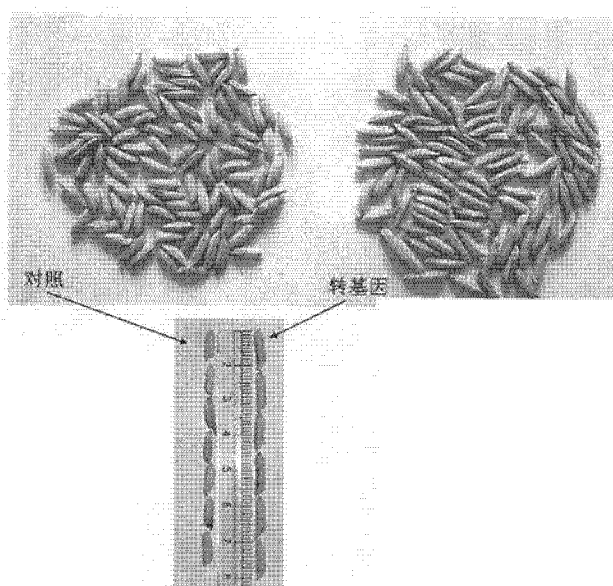


图 12



图 13