

Bioinformatic Analysis of the 14-3-3 Gene Family in Rice

JIN Gu-Lei, WANG Xu-Sheng, ZHU Jun^①

(Institution of bioinformatics, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract : Using two-step HMM (hidden markov model) scan strategy ,eight 14-3-3-like proteins were identified by searching the *Oryza sativa* L. ssp. *japonica* protein database. From them four genes were newly detected in this study. We confined the genes expressing in Nipponbare by EST search. Expression analysis also showed each gene expressed diversely within any individual ,this tends suggested specific function of particular gene. Alignment of amino acid sequences suggested that there could be isoform function of the specific residues. The analyses of gene structure and chromosome location indicated that rice genome contains both ϵ and no- ϵ forms of 14-3-3 proteins. In addition ,we analyzed the evolution of the rice 14-3-3 protein family.

Key words : rice ; 14-3-3 protein ; gene family ; phylogenic analysis ; gene structure

水稻 14-3-3 蛋白家族的生物信息学分析

金谷雷, 汪旭升, 朱 军^①

(浙江大学生物信息学研究所, 杭州 310029)

摘 要 : 通过隐马尔柯夫模型(Hidden Markov Model ,HMM) ,对粳稻(*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*)基因组的蛋白质数据库进行搜索 ,结果获得 8 个 14-3-3 蛋白的同源序列 ,其中发现 4 个新基因。通过对所有粳稻的 14-3-3 蛋白的 DNA 序列与各种表达序列标签(Expression Sequence Tags ,ESTs) 进一步比对 ,为 14-3-3 蛋白找到了 ESTs 的证据。结果说明这些基因在水稻不同的处理和不同的部位都有所表达 ,而且不同成员之间的表达模式存在较大的差异。蛋白质多序列联配分析结果表明 ,存在可能的功能多态位点。通过基因结构和染色体定位的分析 ,确认了水稻基因组中存在 ϵ 样和非 ϵ 样两类 14-3-3 蛋白。此外 ,对目前植物中的 14-3-3 家族作了初步的进化分析。

关键词 : 水稻 ; 14-3-3 蛋白 ; 基因家族 ; 进化分析 ; 基因结构

中图分类号 : Q816 文献标识码 : A 文章编号 : 0379-4172(2005)07-0726-07

1967 年 ,Moore 和 Perez 等最早在牛脑细胞中发现一种酸性的可溶异源二聚体蛋白 ,大小在 25 ~ 32 kD 之间 ,因其迁移率而命名为 14-3-3^[1]。随后的研究显示它们不仅出现在哺乳动物的大脑中 ,几乎所有真核生物中都存在 14-3-3 蛋白^[2]。以往研究根据序列的同源性分析将 14-3-3 蛋白分为两

大类 ϵ 样和非 ϵ 样^[2]。在植物中 ,14-3-3 蛋白是基础代谢和膜转运的重要调控因子^[3]。近来的研究表明不同 14-3-3 蛋白对靶蛋白的调控有较强的特异性^[3]。随着拟南芥基因组测序的完成 ,14-3-3 基因家族在拟南芥中相对较多 ,共有 13 个蛋白成员^[4]。目前已有 4 个 14-3-3 蛋白在水稻中报道

收稿日期 2004 - 09 - 21 ;修回日期 2004 - 12 - 06

基金项目 :国家“ 863 ”计划(编号 2002AA234031) 资助[Supported by the Chinese National Programs for High Technology Research and Development (No. 2002AA234031)]

作者简介 :金谷雷(1982 -) ,男,浙江温州人,硕士研究生,研究方向:生物信息学

① 通讯作者。E-mail :Jzhu@zju.edu.cn

过,它们分别被命名为 *GF14a/S94* (GenBank No. D16140)、*GF14b* (GenBank No. U65956)、*GF14c* (GenBank No. U65957) 和 *GF14d* (GenBank No. U65958)。对水稻中 14-3-3 蛋白的研究表明,它可能通过增强或削弱转录因子之间的蛋白-蛋白互作来实现功能响应胁迫,和发育调控方面的作用^[5]。对拟南芥 14-3-3 家族成员的一级结构分析表明,除了 C 端区域外,其余部分均相对保守,其中 N 端同源性较低(14%),中间区域同源性则较高(51%)^[6]。此外研究还显示不同 14-3-3 蛋白的成员之间的表达存在显著差异,这可能是由于部分氨基酸残基的变异导致的^[7]。

水稻不仅是重要的粮食作物,而且是模式植物。通过私人公司(Syngenta 和 Monsanto)和研究所(美国基因组研究所 TIGR 及北京基因研究中心)共同的努力,已经发布了水稻两个亚种稻和籼稻的草图序列^[8,9]。同时粳稻的两条染色体(1 号和 4 号)已经发布了精细的序列图谱^[10,11]。本文基于水稻基因组序列和 14-3-3 蛋白氨基酸序列保守的特性,利用 Pfam 中对应的保守特征序列搜索水稻全基因组寻找 14-3-3 相似的候选基因。同时,对找到的这些基因进行了 EST 分析,并对其进行了基因结构和染色体进行了定位。此外,我们对所有的 14-3-3 的基因家族还做了进化分析。

1 材料和方法

1.1 数据库搜索

粳稻的日本晴和籼稻的 93-11 的基因组数据分别来自基因组测序中心 TIGR^[12]和北京基因研究所 BGI^[13]的网站,更新时间为 2004 年 4 月。HMM 搜索是依据来自 Pfam^[14]的 14-3-3 特征文件。使用软件 Hmmer2.2 的 hmmsearch 功能模块,搜索粳稻 IRGSP 蛋白数据库,采用默认参数, $E \leq 10^{-20}$ 的序列认为候选蛋白,由相应的程序和索引文件提取所有含 14-3-3 的蛋白序列,并构建列表。

1.2 序列联配和基因结构分析

利用 SIM4^[15]程序,对 14-3-3 的 CDS 序列与基因组序列进行比较,从而了解基因的内含子和外

显子结构。使用 ClustalX 1.81^[16]对水稻 14-3-3 蛋白家族的氨基酸序列进行多序列联配,采用默认参数设置。

1.3 系统进化树分析

根据上述的多序列联配中的保守部分,使用 BioEdit^[17]对联配结果和格式进行编辑。采用 TreeView 1.6.1^[18]显示 ClustalX 软件中 Neighbor-joining method (NJ) 的方法并进行 1 000 次 Bootstrap 抽样。

1.4 基因表达分析

水稻的 EST 数据主要来源于 NCBI^[19],更新时间为 2004 年 8 月。通过水稻 14-3-3 蛋白所对应的 cDNA 序列和 EST 数据库进行 BLASTN^[20] 比对,取匹配率大于 95%、长度大于 160 bp 的结果作为对应得 EST 序列,对序列联配结果按组织来源和功能分类,从而比较不同相似蛋白之间的表达差异。

2 结果

2.1 水稻中的 14-3-3 相似蛋白

通过 HMM 搜索,在 IRGSP 数据库中共发现 18 个水稻 14-3-3 相似蛋白。通过克隆的定位和在 Gramene database^[21]中确定染色体位点去除了由于克隆重叠导致的基因重复,最终确定了 8 个同源蛋白,其中有 4 个已被报道,另外一个蛋白曾被报道与小麦的创伤诱导蛋白 WIN2 相似,但并未将其明确归入 14-3-3 蛋白^[7],结果如表 1 所示,并将所有基因统一命名。与拟南芥的 14-3-3 基因家族相比基因数目较少,染色体分布于第 1、2、3、4、8 和 11 号染色体,其中第 8 和第 11 号染色体上存在两个基因。其中除 *GF14h* 基因为 3 个内含子外,其余基因均包含 4 个内含子。*GF14b* 蛋白在 IRGSP 基因组序列中找到,但没有在 BGI 基因组中发现匹配的序列。在后面的 EST 数据库搜索时,我们在 BGI 的 EST 数据库中找到了匹配的 EST 序列,而 *GF14e* 却没有发现,这可能是由于 BGI 数据库不完全的原因。

表 1 水稻中 14-3-3 相似蛋白及其 EST 表达证据

Table 1 The number of 14-3-3 like proteins in rice and the hits number of EST

基因名称 Gene name	IRGSP 编号 IRGSP No.	染色体 Chromosome	BGI 编号 BGI No.	蛋白序列长度 Protein length	匹配 EST 数量 EST number	内含子数目 Intron number
<i>GF14a/S94</i> *	902.m00112	3	Scaffold001150	260	90	4
<i>GF14b</i>	8245.m00176	4	-	262	56	4
<i>GF14c</i>	9636.m03342	8	Scaffold000291	256	68	4
<i>GF14d</i>	7175.m00182	11	Scaffold000039	239	20	4
<i>GF14e</i>	6764.m00142	2	Scaffold004905	308	36	4
<i>GF14f</i>	4724.m00169	1	Scaffold000152	235	3	4
<i>GF14g</i>	9493.m00150	11	Scaffold006955	230	3	4
<i>GF14h/WIN2-like</i>	7458.m00140	8	Scaffold000086	264	20	3

* “/”前为本文统一命名，“/”后为以往报道命名。

* .Before“/” is defined by this paper ,after“/” is by others.

2.2 EST 表达分析

对所有水稻 14-3-3 基因的 cDNA 克隆进行 EST 搜索(表 2),共搜索到 343 条 ESTs,每个蛋白所对应 ESTs 数目在 3~100 条之间,且不同基因的表达情况有较大差异。其中 *GF14g* 蛋白在不同胁迫条件处理后的水稻 EST 数据库中未找到匹配的 EST 序列,这可能是由于变异较大造成功能缺失而降低表达。值得注意的是每个基因的 ESTs 表达情况都表现出不同的分布模式,这表明水稻的 14-3-3 蛋白可能不是共调控。进一步对 EST 序列

的来源分析表明,14-3-3 蛋白主要存在于稻瘟病处理和 ABA 处理相关 EST 文库及叶片和愈伤组织的表达组织。其中 *GF14a* 蛋白的 ESTs 来源比较广泛,*GF14b* 对于稻瘟病菌处理的表达显著高于其他蛋白,*GF14c* 则对 ABA 处理与其他蛋白有较大差异,同时发现 *GF14c* 和 *GF14d* 存在一定的互补性。这些结果暗示了不同 14-3-3 蛋白之间在功能上可能存在互补,部分功能上可能存在冗余,通过不同的表达和对靶蛋白亲和性差异共同实现对不同蛋白和信号途径的调控。

表 2 水稻 14-3-3 基因的 ESTs 分布
Table 2 The frequencies of expressed ESTs

ESTs 库 ESTs library	<i>GF14a</i>	<i>GF14b</i>	<i>GF14c</i>	<i>GF14d</i>	<i>GF14e</i>	<i>GF14f</i>	<i>GF14g</i>	<i>GF14h</i>
渗透 Salt stressed	0	0	1	0	0	0	0	1
伤害 Wounded	1	0	0	4	0	0	0	0
冷害 Cold-treated	7	0	1	0	0	1	0	2
干旱 Drought-stressed	1	0	1	1	0	0	0	1
稻瘟病菌 Rice Blast	12	30	4	2	5	0	0	5
ABA 处理 ABA treated	6	2	12	3	2	0	0	0
圆锥花序 Panicle	9	1	4	3	3	0	0	3
叶片 Leaf	20	6	17	3	11	2	0	3
芽 Shoot	4	2	0	2	1	0	0	0
胚乳 Endosperm	4	1	4	0	3	0	1	2
根 Root	5	7	5	1	4	0	0	2
愈伤组织 Callus	21	7	15	0	5	0	0	1
细胞悬浮液 Suspension culture	0	0	0	1	0	0	0	0
早期胚胎 Early embryogenesis	0	0	1	0	0	0	0	0
雄蕊 Androecium	0	0	1	0	1	0	0	0
茎 Stem	0	0	2	0	1	0	0	0

2.3 蛋白质的多序列联配

14-3-3 蛋白多序列联配结果如图 1 所示,表明

水稻 14-3-3 蛋白在各功能区段相当保守。而通过对单个 14-3-3 基因在水稻不同组织来源 cDNA 文库中丰度的分析,结果表明 14-3-3 蛋白在不同组织

中的表达存在显著差异。结合以往对人类和拟南芥 14-3-3 蛋白三维结构的研究^[22],对这些区段的氨基酸残基进行比对分析,结果显示除 *GF14g* 变异较大,其他基因在功能区段内均极为保守,仅个别位点存在差异,这表明这些基因表达的差异可能是由其他位点上的差异造成。对氨基酸序列进一步分析后,在图 1 中将可能造成这种表达差异的位点在图中标示出来。有报道显示 *GF14b* 相比 *GF14c* 和

GF14a/S94 对 VP1 同源蛋白的调控能力要高出许多,而去除了 1~101 位氨基酸残基的 *GF14b* 则和其他两个蛋白在对 VP1 的调控能力上没有显著差异^[23]。这暗示在去除区段内可能有促使 *GF14b* 和 VP1 高亲和的位点存在。通过比较该区段的氨基酸序列,结果表明 *GF14b* 的第四个 α -螺旋位于 85 位的氨基酸残基 R 在 *GF14a* 和 *GF14c* 中分别变异为 Y 和 H,有可能是造成亲和力差异的位点。

图 1 14-3-3 蛋白氨基酸序列联配结果

选取了水稻 8 个 14-3-3 相似蛋白和拟南芥的 *chi* 蛋白 (GenBank No. P42643) 及人类的 Zeta 蛋白 (GenBank No. 4507953)。在图中序列黑色部分表示完全匹配部分,灰色为部分匹配。序列上部的横线表示的是蛋白的 9 个 α -螺旋区域,黑点表示可能的多肽直接结合位点^[22]。箭头表示的是推测的功能多态位点。

Fig. 1 Alignment of 14-3-3 Amino Acid Sequences

Alignment of the derived amino acid sequences of 8 rice 14-3-3 proteins and *Arabidopsis chi* protein (GenBank No. P42643), human Zeta protein (GenBank No. 4507953). Residues shaded in black are highly conserved. Shaded in grey are similarly amino acid positions. Black lines indicate alpha-helical regions. Black dots indicate residues directly involved in peptide binding^[22]. Arrowheads indicate predicted isoform specific positions.

2.4 基因外显子/内含子结构分析

通过对水稻 8 个 14-3-3 相似蛋白基因结构(外显子/内含子)及其与拟南芥的 14-3-3 家族部分成员的基因结构比较,结果表明水稻的 *GF14b*、*GF14c*、*GF14d*、*GF14e* 以及 *GF14a* 基因均包含 5

个外显子,其中第 3、4、5 位的 3 个外显子长度和内含子所在位置与拟南芥的 *chi* 和 *omega* 及 *psi* 基因相应的 3 个外显子和内含子完全一致,但水稻上的 14-3-3 基因和拟南芥上的 14-3-3 基因相比都多出了第一个内含子(图 2)。而在 *GF14h* 中并没有发现有该内含子,其基因结构与拟南芥的非 ϵ 的 14-3-

3 蛋白基因结构一致。GF14f 基因的第 3 位和第 4 位的外显子以及 GF14g 的基因结构则与拟南芥 ϵ

样 14-3-3 蛋白相应的基因结构一致。这表明 GF14f 和 GF14g 基因应属于 ϵ 样 14-3-3 基因。

图 2 水稻 14-3-3 蛋白基因外显子/内含子结构示意图

外显子部分用黑色区段表示,内含子为白色,区段内数字为长度,交接部分上方标示出了氨基酸残基及其位置。水稻基因可以分为两大类,GF14a、GF14b、GF14c、GF14d、GF14e 以及 GF14h 为非 ϵ 样蛋白,GF14f 和 GF14g 则为 ϵ 样蛋白。图下半部分为部分拟南芥 14-3-3 基因,同样分为两类,grf9 和 grf12 为 ϵ 样蛋白,grf1、grf2、grf3 为非 ϵ 样蛋白。

Fig. 2 Gene maps of all rice 14-3-3(GF14) genes

Exons are indicated as black boxes and introns as white boxes. Exon and intron size are indicated with the number of bases within each box. The genes can be divided into two groups based on exon patterns :GF14a ,GF14h ,GF14b through e are ϵ group ;GF14f and GF14g are non- ϵ group. The nether part is some Arabidopsis 14-3-3 genes ,they also can be divided into two groups ,grf1、grf2 and grf3 are ϵ group ,grf1、grf2、grf3 are non- ϵ group.

2.5 系统进化树分析

对水稻和拟南芥的 14-3-3 蛋白进行了系统进化树分析(图 3)。结果表明 ϵ 样 14-3-3 蛋白分布在同一分支,非 ϵ 样蛋白则处于不同分支,表明非 ϵ 样蛋白经历了较大的变异。根据系统进化分析推测部分水稻 14-3-3 基因大致进化过程:在单子叶和双子叶分化前植物祖先基因组中原有两类 14-3-3 蛋白^[24 25],单子叶植物的非 ϵ 样 14-3-3 蛋白可能经过第一次复制产生了水稻中的 GF14g 和 GF14b 蛋白,GF14d 在随后的进化过程中在原有的第一外显子的 R 残基位置获得了一个内含子,随后 GF14d 又经一系列的复制事件,产生了包括 GF14a、GF14b、GF14c、GF14e 几个相似性较高的基因。其中 GF14b 与玉米中发现的 GF14-6 和 GF14-12 蛋白^[24]非常相似,且拥有同源性相当高的内含子序列。对水稻 japonica 和 indica 两亚种基因序列的

比对结果显示其中 7 个 14-3-3 相似蛋白的序列几乎完全相同,这说明水稻两亚种分离之前所有水稻 14-3-3 蛋白均已形成。

3 讨论

利用 HMM 模型对水稻蛋白质数据库进行搜索是一种较为全面和准确的方法,结合 ESTs 匹配进行验证确保了结果的可靠性。搜索结果仍受到数据库完整性的限制,如没有在 BGI 数据库中找到 GF14b 蛋白,ESTs 结果却显示籼稻(93-11)基因组应该存在 GF14b 表达,说明 BGI 数据库仍不完整。

本文研究结果表明水稻存在 ϵ 样的 14-3-3 蛋白(GF14g 和 GF14f),这也证实了以往关于单子叶植物中也存在 ϵ 样 14-3-3 蛋白的猜测^[4],支持了关于植物早期 14-3-3 蛋白包含两支的进化观点^[4]。

图3 水稻 14-3-3 相似蛋白的系统进化树
由 NJ 法构建的系统树, 枝长代表分歧度,
枝上的数字为 Bootstrap 1 000 次的支持率。

**Fig. 3 Phylogenetic tree of 14-3-3 proteins
in rice and *Arabidopsis***

The trees were generated using TreeView with neighbor joining method. Branch numbers represent as percentage of bootstrap values in 1 000 resampling replicates.

结果中提到 14-3-3 蛋白的进化过程,我们认为由于不同的 14-3-3 蛋白位于不同的染色体,因此这些基因不是串联复制(tandem duplication)产生,而是通过基因组复制的方式产生目前的整个 14-3-3 蛋白家簇,而且这一结论与 Paterson 等人报道的 2 号与 4 号部分染色体及 3 号与 8 号部分染色体是经过一次基因组复制产生的结论相一致^[27]。GF14g 蛋白相对于其他 14-3-3 同源蛋白而言,其氨基酸序列变异较大,在第 6 和第 7 个 α -螺旋区域都存在部分缺失,这可能导致 GF14g 蛋白失去相应的功能。此外 ESTs 搜索的结果表明,GF14g 在表达上不如其他蛋白,胁迫处理条件下没有发现匹配的 ESTs,这在一定程度上表明可能丧失功能。另一蛋白 GF14f 也存在较大的变异,它和 GF14d 一样缺失了第一个 α -螺旋区域,而且在第 4 和第 6 个 α -螺旋区域也存在较多变异,GF14f 仅在冷害处理的 ESTs 库中有发现。

对 ESTs 的分布研究表明,水稻 14-3-3 蛋白主

要存在于叶片和愈伤组织中,同时在稻瘟病和 ABA 处理后表达也较多。这与以往认为 14-3-3 蛋白主要对胁迫反应和发育调控起作用的观点基本一致^[7, 28]。此外,可能不同 14-3-3 蛋白之间在调控上存在互补和冗余,14-3-3 蛋白的差异表达可能是由于启动子部分的差异和剪切变化或是由于氨基酸残基差异导致了不同靶蛋白亲和性的差异造成的。为此我们对所有氨基酸序列联配进行分析,根据结果推测了可能导致不同蛋白亲和性的差异位点。对启动子部分的分析还有待进一步的研究。

对水稻 14-3-3 蛋白家族的基因结构分析后发现存在保守位点上的内含子变化,这为进化分析提供了清晰可靠的工具,将可能成为一种分析基因种间进化的有力工具。随着对 14-3-3 蛋白研究的深入,越来越多的靶蛋白被发现,14-3-3 蛋白功能将会被进一步了解。对不同 14-3-3 蛋白的表达和调控差异和对 14-3-3 蛋白调控机理的研究将是下一步的主要任务。

参考文献(References):

- [1] Moore B W, Perez V J. Specific acidic proteins of the nervous system. In: Physiological and biochemical aspects of nervous integration, FD Carlson ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1967: 343 ~ 359.
- [2] Ferl R J. 14-3-3 proteins and signal transduction. Annu Rev Plant Physiol. *Plant Mol Biol*, 1996, 47: 49 ~ 73.
- [3] Daugherty C J, Rooney M F, Miller P W, Ferl R J. Molecular organization and tissue-specific expression of an *Arabidopsis* 14-3-3 gene. *The Plant Cell*, 1996, 8: 1239 ~ 1248.
- [4] Wu K, Rooney M F, Ferl R J. The *Arabidopsis* 14-3-3 multigene family. *Plant Physiol*, 1997, 114: 1421 ~ 1431.
- [5] Sehne P C, Henry R, Cline K, Ferl R J. Interaction of a plant 14-3-3 protein with the signal peptide of a thylakoid-targeted chloroplast precursor protein and the presence of 14-3-3 isoforms in the chloroplast stroma. *Plant Physiol*, 2000, 122: 235 ~ 242.
- [6] Chung H J, Sehne P C, Ferl R J. The 14-3-3 proteins: cellular regulators of plant metabolism. *Trends Plant Sci*, 1999, 4(9): 367 ~ 371.
- [7] Cooper B, Clarke J D, Budworth P, Kreps J, Hutchison D, Park S, Guimil S, Dunn M, Luginbuhl P, Ellero C, Goff S A, Glazebrook J. A network of rice genes associated with stress response and seed development. *Proc Natl Acad Sci* 2003, 100(8): 4945 ~ 4950.
- [8] Yu J, Hu S N, Wang J, Wong G K, Li S G, Liu B, Deng Y J, Dai L, Zhou Y, Zhang X Q, Cao M L, Liu J, Sun J D, Tang J

- B, Chen Y J, Huang X B, Lin W, Ye C, Tong W, Cong L J, Geng J N, Han Y J, Li L, Li W, Hu G Q, Huang X Q, Li W J, Li J, Liu Z W, Li L, Liu J P, Qi Q H, Liu J S, Li L, Li T, Wang X G, Lu H, Wu T T, Zhu M, Ni P X, Han H, Dong W, Ren X Y, Feng X L, Cui P, Li X R, Wang H, Xu X, Zhai W X, Xu Z, Zhang J S, He S J, Zhang J G, Xu J C, Zhang K L, Zheng X W, Dong J H, Zeng W Y, Tao L, Ye J, Tan J, Ren X, Chen X W, He J, Liu D F, Tian W, Tian C G, Xia H G, Bao Q Y, Li G, Gao H, Cao T, Wang J, Zhao W M, Li P, Chen W, Wang X D, Zhang Y, Hu J F, Wang J, Liu S, Yang J, Zhang G Y, Xiong Y Q, Li Z J, Mao L, Zhou C S, Zhu Z, Chen R S, Hao B L, Zheng W M, Chen S Y, Guo W, Li G J, Liu S Q, Tao M, Wang J, Zhu L H, Yuan L P, Yang H M. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science* 2002 296 :79 ~ 92.
- [9] Goff S A, Ricke D, Lan T H, Presting G, Wang R, Dunn M, Glazebrook J, Sessions A, Oeller P, Varma H, Hadley D, Hutchison D, Martin C, Katagiri F, Lange B M, Moughamer M, Xia Y, Budworth P, Zhong J, Miguel T, Paszkowski U, Zhang S, Colbert M, Sun W, Chen L, Cooper B, Park S, Wood T C, Mao L, Quail P, Wing R, Dean R, Yu Y, Zharkikh A, Shen R, Sahasrabudhe S, Thomas A, Cannings R, Gutin A, Pruss D, Reid J, Tavtigian S, Mitchell J, Eldredge G, Scholl T, Miller R M, Bhatnagar S, Adey N, Rubano T, Tusneem N, Robinson R, Feldhaus J, Macalma T, Oliphant A, Briggs S. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science* 2002 296 :92 ~ 100.
- [10] Sasaki T, Matsumoto T, Yamamoto K, Sakata K, Baba T, Katayose Y, Wu J, Niimura Y, Cheng Z, Nagamura Y, Antonio B A, Kanamori H, Hosokawa S, Masukawa M, Arikawa K, Chiden Y, Hayashi M, Okamoto M, Ando T, Aoki H, Arita K, Hamada M, Harada C, Hijishita S, Honda M, Ichikawa Y, Idonuma A, Jijima M, Ikeda M, Ikeno M, Ito S, Ito T, Ito Y, Ito Y, Iwabuchi A, Kamiya K, Karasawa W, Katagiri S, Kikuta A, Kobayashi N, Kono I, Machita K, Maehara T, Mizuno H, Mizubayashi T, Mukai Y, Nagasaki H, Nakashima M, Nakama Y, Nakamichi Y, Nakamura M, Namiki N, Negishi M, Ohta I, Ono N, Saji S, Sakai K, Shibata M, Shimokawa T, Shomura A, Song J, Takazaki Y, Terasawa K, Tsuji K, Waki K, Yamagata H, Yamane H, Yoshiki S, Yoshihara R, Yukawa K, Zhong H, Iwama H, Endo T, Ito H, Hahn J H, Kim H I, Eun M Y, Yano M, Jiang J, Gojobori T. The genome sequence and structure of rice chromosome 1. *Nature* 2002, 420(6913) 312 ~ 316.
- [11] Zhao Q, Zhang Y, Cheng Z, Chen M, Wang S, Feng Q, Huang Y, Li Y, Tang Y, Zhou B, Chen Z, Yu S, Zhu J, Hu X, Mu J, Ying K, Hao P, Zhang L, Lu Y, Zhang LS, Liu Y, Yu Z, Fan D, Weng Q, Chen L, Lu T, Liu X, Jia P, Sun T, Wu Y, Zhang Y, Lu Y, Li C, Wang R, Lei H, Li T, Hu H, Wu M, Zhang R, Guan J, Zhu J, Fu G, Gu M, Hong G, Xue Y, Wing R, Jiang J, Han B. A fine physical map of the rice chromosome 4. *Genome Res* 2002, 12 :817 ~ 823.
- [12] <ftp://ftp.tigr.org>
- [13] <http://rise.genome.org.ac>
- [14] <http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/tsearch.shtml>
- [15] Florea L, Hartzell G, Zhang Z, Rubin G M, Miller W. A computer program for aligning a cDNA sequence with a genomic DNA sequence. *Genome Res*, 1998 8(9) 967 ~ 974.
- [16] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins D G. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 1997 24 :4876 ~ 4882.
- [17] Hall T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 1999 41 95 ~ 98.
- [18] Roderic D M. TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biological Sciences*, 1996, 12 357 ~ 358.
- [19] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- [20] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/fasta.html>
- [21] <http://www.gramene.org>
- [22] Rittinger K, Budman J, Xu J, Volinia S, Cantley L C, Smerdon S J, Gamblin S J, Yaffe M B. Structural analysis of 14-3-3 phosphopeptide complexes identifies a dual role for the nuclear export signal of 14-3-3 in ligand binding. *Mol Cell*, 1999 4 :153 ~ 166.
- [23] Thomas F S, Joaquin M, Alison H, Ralph S Q. 14-3-3 proteins are part of an abscisic acid-VIVIPAROUS1 (VP1) response complex in the Em promoter and interact with VP1 and EmBP1. *The Plant Cell*, 1998, 10 837 ~ 847.
- [24] Wang W, Shakes D C. Molecular evolution of the 14-3-3 protein family. *J Mol Evol*, 1996 43 384 ~ 398.
- [25] Rosenquist M, Sehnke P, Ferl R J, Sommarin M, Larsson C. Evolution of the 14-3-3 protein family: does the large number of isoforms in multicellular organisms reflect functional specificity? *J Mol Evol* 2000 51 446 ~ 458.
- [26] de Vetten N C, Ferl R J. Two genes encoding GF14 (14-3-3) proteins in *Zea mays*. *Plant Physiol*, 1994, 106 :1593 ~ 1604.
- [27] Baunsgaard L, Fuglsang A T, Jahn T, Korthout H A, de Boer A H, Palmgren M G. The 14-3-3 proteins associate with the plant plasma membrane H⁺ -ATPase to generate a fusicoccin binding complex and a fusicoccin responsive system. *Plant J*, 1998, 13 661 ~ 671.