

菊花 *CmJAZ1* 基因负调控干旱胁迫的功能分析

李家群 张煜婷 张新仪 保嘉佳 严瑞*

(宁夏大学葡萄酒与园艺学院, 银川 750021)

Functional Analysis of Chrysanthemum *CmJAZ1* Gene in Negative Regulation of Drought Stress

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2025-1228

附表 1 基因引物序列

Appendix 1 Gene primer sequences

名称	序列(5'-3')	用途
Name	Sequence(5'-3')	Purpose
<i>CmJAZ1-F</i>	AAGACGAGCATCGCTAAACA	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ1-R</i>	ATTCAAAGAAGCATCCACCATAAC	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ2-F</i>	TGCCTCAAGGATCTCATCAAC	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ2-R</i>	GCCTTGATCTTCCATGCTACT	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ3-F</i>	CTCAGCAACGCCTACTGATAC	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ3-R</i>	TCAAGAAACCGAGCCAAAGA	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ4-F</i>	CTTGGAAGAAGAGGAAAGACAGAA	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ4-R</i>	CCAAGTCCCAACCATGTCTTA	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ5-F</i>	TCCAGGTGGAGATAGGATGAA	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ5-R</i>	ATTGACCACGATGACCTGAC	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ6-F</i>	CTAAGGATTCGGATTTGCCTATTG	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ6-R</i>	CTGGTCTGGTTCGGTTAT	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ7-F</i>	TCCGTCTGTTGGTTCCTTTC	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ7-R</i>	ACGTTCAACATTCCACCATAA	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ8-F</i>	GCGGTATGGTGAATGTCTATGA	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ8-R</i>	GTGTCCTGGTTGAGGTGAA	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ9-F</i>	GCTTTCGGATCGTCGAGATATT	RT-qPCR 分析
<i>CmJAZ9-R</i>	GAAACCCGAGCTAGCAGATG	RT-qPCR 分析
<i>EF1a-F</i>	TTTTGGTATCTGGTCTCGGAG	RT-qPCR 分析
<i>EF1a-R</i>	CCATTCAAGCGACAGACTCA	RT-qPCR 分析
Sac I	gAgAgAACACgggggACgAgCTC	<i>CmJAZ1 RNAi</i> 载体的构建
BamH I	gTTCTACTTACgTAATCggATCC	<i>CmJAZ1 RNAi</i> 载体的构建
Xba I	TCTTGTGTGTTTGAGGTCTAGA	<i>CmJAZ1 RNAi</i> 载体的构建
Sal I	gAACgAAAgCTCTgCAggTCgAC	<i>CmJAZ1 RNAi</i> 载体的构建

附表 2 双酶切反应体系

Table 2 Double enzyme digestion reaction system

试剂 reagent	使用量 (μl) Usage (μl)
Quick SacI	0.5
Quick XbaI	0.5
10×Q cut Buffer	2.0
2300-eGFP	2.5
ddH ₂ O	14.5
Total	20.0

附表 3 连接反应体系

Table3 Connection reaction system

试剂 reagent	使用量 (μl) Usage (μl)
线性化载体	1.0
基因片段	4.0
5×反应缓冲液	2.0
NovoRec®plus 重组酶	1.0
ddH ₂ O	2.0
总体积	10.0

附表 4 菌落鉴定 PCR 反应体系

Table4 The PCR reaction system for colony identification

试剂 reagent	使用量 (μl) Usage (μl)
2×EasyTaq®PCRSuperMix(+dye)	10.0
正向引物	1.0
反向引物	1.0
cDNA	1.0
ddH ₂ O	7.0
总体积	20.0

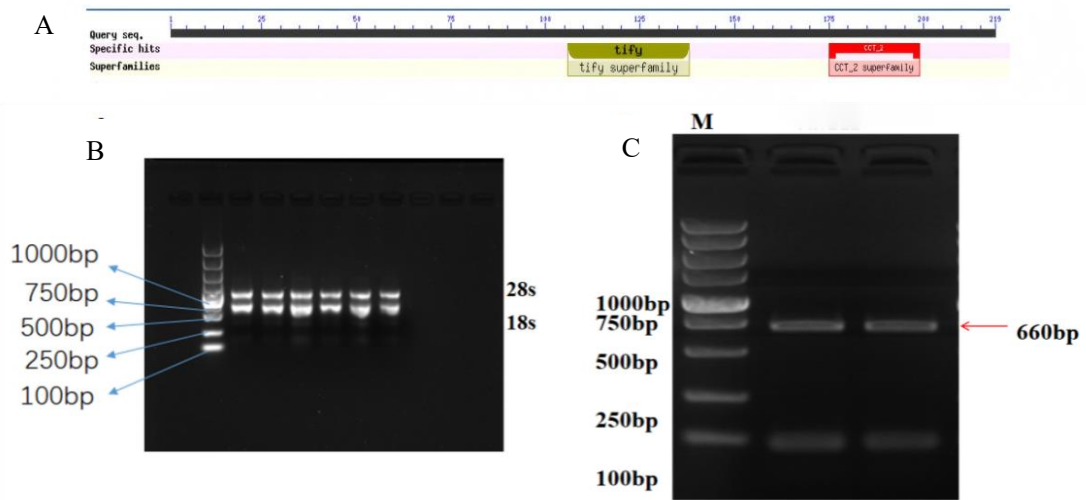
附表 5 菌落鉴定 PCR 反应程序

Table5 The protocol of PCR reaction for colony identification

反应程序 Reaction program	反应条件 reaction condition
--------------------------	----------------------------

预变性	95°C, 3min
变性	95°C, 30sec
退火	58°C, 30sec
延伸	72°C, 1min
重复 2-3 步	30cycles
终延伸	72°C, 5min

附图：

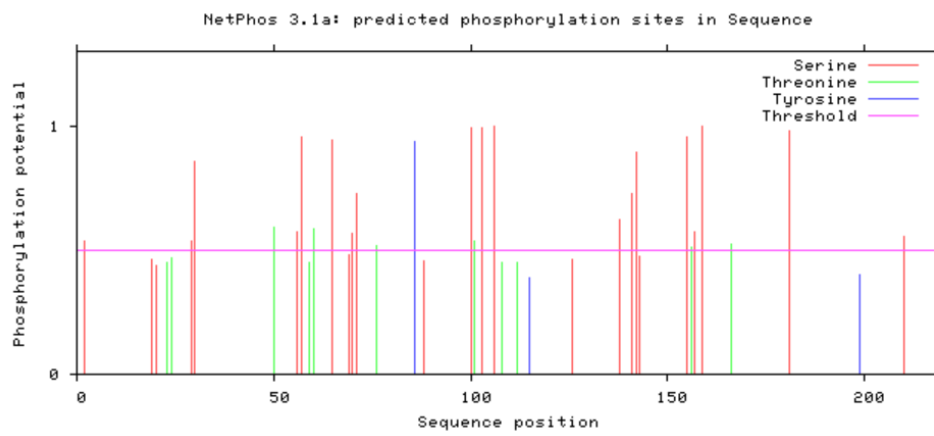


A: *CmJAZ1* 的保守域分析; B: RNA 质量检测; C: 基因克隆

A :RNA quality detection. B: Gene cloning

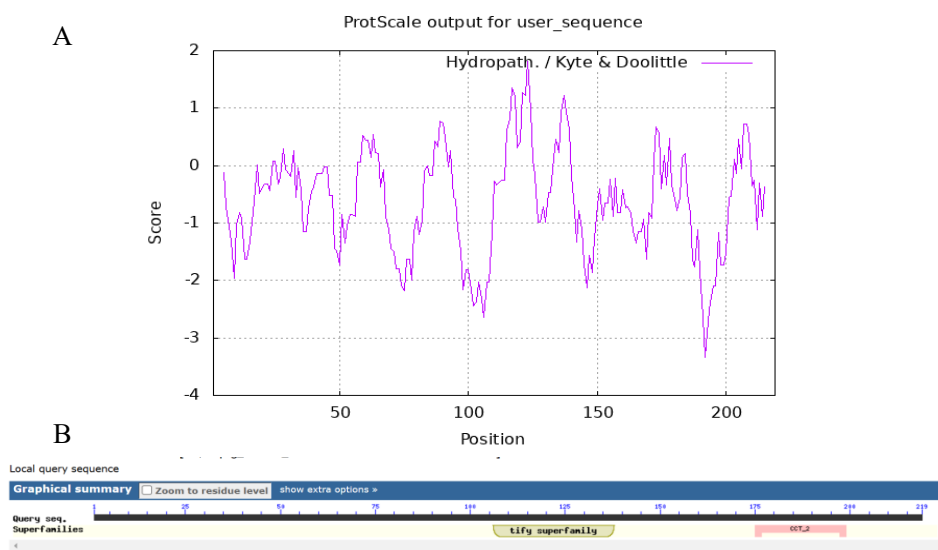
附图 1 菊花 *CmJAZ1* 基因的克隆

Fig.1 Cloning of *CmJAZ1* gene in chrysanthemum



附图 2 *CmJAZ1* 蛋白磷酸化位点分析

Fig.2 Analysis of phosphorylation sites of *CmJAZ1* protein

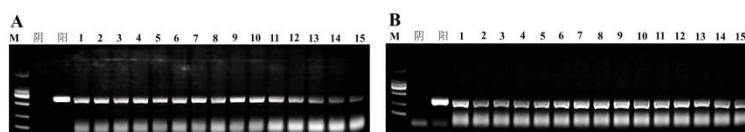


A: 蛋白亲水性分析; B: 蛋白功能结构域预测

A:protein hydrophilicity analysis. B:protein protein domain prediction

附图 3 *CmJAZ1* 蛋白的生物信息学分析

Fig.3 *CmJAZ1* protein bioinformatics analysis



A: *CmJAZ1*-2300 转基因植株 PCR 鉴定; B: *CmJAZ1*-RNAi 转基因植株 PCR 鉴定 (M 表示 Marker,数字表示重复)

A: PCR identification of *CmJAZ1*-2300 transgenic plants. B: PCR identification of *CmJAZ1*-RNAi transgenic plants. ('M' stands for Marker, and numbers indicate repetitions.)

附图 4 转基因植株 PCR 鉴定

Fig.4 PCR identification of transgenic plants