

# 说明书

---

## 一种玉米转录因子 ZmHsf28 及应用

### 5 技术领域

本发明属于基因工程技术领域，具体地说，涉及一种玉米转录因子 ZmHsf28 及应用。

### 背景技术

10 玉米作为世界上主要的粮食、饲料和工业级能源作物,需求量日益增加，我国玉米大量依赖进口，提升玉米自主生产关系粮食安全。我国人均耕地面积和水资源有限，培育高产、优质、多抗、广适的玉米新品种是提升我国玉米生产自给率的现实需求。干旱、盐害等非生物胁迫严重影响农业生产，随着全球气候变化、人口增长、可利用淡水量降低、农业用水增加,进一步加剧了对农业生产的影响( Gupta A, Rico-Medina A, Caño-Delgado A. The physiology of plant responses to drought. *Science*,2020, 368(6488): 266-269.)。鉴定玉米抗旱、耐盐基因，解析抗旱、抗盐分子机制，挖掘可利用基因资源，是培育抗逆新品种的必须课题，具有重要理论意义和实际应用价值。

20 转录调控是植物逆境应答中的重要分子机制。转录因子作为植物转录调控中重要的调节因子，它们可以同时激活或者抑制多个下游基因的表达，从而调控植物的生长发育以及逆境胁迫的耐受性( Lehti-Shiu M. D., Panchy N., Wang P., et al. Diversity, expansion, and evolutionary novelty of plant DNA-binding transcription factor families. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2017, 1860(1): 3-20.)。热激因子(Heatshockfactor , Hsf)家族在真核生物中广泛存在，植物中的 Hsf 除了在高温胁迫应答以及耐热性形成过程中具有重要作用外，也参与调控植物生长发育以及其他逆境响应(Scharf KD, Berberich T, Ebersberger I, Nover L. 2012. The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: structure,

25

function and evolution. *Biochim Biophys Acta* 1819(2): 104-119.)。Hsf 主要作为转录因子发挥作用，根据其结构域差异将其分为 A、B 和 C 三个亚家族(Guo M, Liu JH, Ma X, Luo DX, Gong ZH, Lu MH. 2016. The Plant Heat Stress Transcription Factors (HSFs): Structure, Regulation, and Function in Response to Abiotic Stresses. *Front Plant Sci* 7: 114)。

目前报道过功能的 HSF 转录因子较少，拟南芥中报道了 AtHsfA2 可以参与到干旱、高盐等胁迫；番茄中的 StHsfA1a 和鹰嘴豆中的 CarHsfB2 在拟南芥中过表达后可以显著增加拟南芥对干旱的抗性(Nishizawa-Yokoi A, Nosaka R, Hayashi H, et al. HsfA1d and HsfA1e involved in the transcriptional regulation of HsfA2 function as key regulators for the Hsf signaling network in response to environmental stress. *Plant and cell physiology*. 2011,52(5): 933-45; Giorno F, Wolters-Arts M, Grillo S, et al. Developmental and heat stress-regulated expression of HsfA2 and small heat shock proteins in tomato anthers. *Journal of experimental botany*. 2010,61(2):453-62; Ma H, Wang C, Yang B, et al. CarHSFB2, a Class B Heat Shock Transcription Factor, Is Involved in Different Developmental Processes and Various Stress Responses in Chickpea (*Cicer Arietinum* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*. 2015, 34(1):1-14.)

玉米中含有 30 个 Hsf 转录因子，目前仅有 ZmHsfA4、ZmHsf05 被报道参与玉米抗旱或抗盐调控 ( Jiang Y, Zheng Q, Chen L, et al. overexpression of maize heat shock transcription factor gene ZmHsf04 confers increased thermo and salt-stress tolerance in transgenic Arabidopsis. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2017,40(1); Li GL, Zhang HN, Shao H, et al. ZmHsf05, a new heat shock transcription factor from *Zea mays* L. improves thermotolerance in *Arabidopsis thaliana* and rescues thermotolerance defects of the *athsfA2* mutant. *Plant science: an international journal of experimental plant biology*. 2019, 283:375-84. )。植物在逆境中为了存活往往会牺牲生长来适应环境，最终导致减产。目前还未见报道有 Hsf 转录因子既平衡生长发育又响应逆境应答。因此，有必要挖

掘一种新的参与生长发育以及逆境响应的玉米 Hsf 家族转录因子。

## 发明内容

有鉴于此，本发明针对基于干旱、盐害等非生物胁迫严重影响玉米产量的现状，挖掘既能响应逆境应答又能平衡生长的转录因子，为作物的遗传改良育种提供了一种玉米转录因子 ZmHsf28 及应用。

为了解决上述技术问题，本发明公开了一种玉米转录因子 ZmHsf28，包括 a) 或 b) 任一所述的核苷酸序列：

a)SEQ ID NO.1 所示的核苷酸序列；

10 b)SEQ ID NO.1 所示的核苷酸序列经替换，缺失或添加碱基形成的具有同等功能的核苷酸序列。

本发明还公开了一种上述的玉米转录因子 ZmHsf28 基因编码的蛋白。

可选地，其氨基酸如 SEQ ID NO.2 所示。

本发明还公开了一种上述的核苷酸序列的玉米转录因子 ZmHsf28 基因的克隆载体 pMD19-ZmHsf28、重组表达载体 pCAMBIA3301- p35S::ZmHsf28 以及相应的大肠杆菌重组菌株、GV3101 农杆菌重组菌

本发明还公开了一种含有上述的重组表达载体 pCAMBIA3301- p35S::ZmHsf28 的宿主细胞。

本发明还公开了一种玉米转录因子 ZmHsf28 基因的制备方法，该方法中用到的扩增引物序列包括 F：5'-GACAAGGCAAGGCAACTGATG-3'，其核苷酸序列如 SEQ ID NO.3 所示，以及 R：5'-CGCCTGCTCGTCATTCAGTAC-3'，其核苷酸序列如 SEQ ID NO.4 所示。

本发明还公开了一种上述的重组表达载体 pCAMBIA3301- p35S::ZmHsf28 的构建方法，该方法中用到的亚克隆引物，亚克隆引物包括 F：5'-ACGGGGGACTCTTGACCATGGATGGCGGCGGGCGGCGGAG-3'，其核苷酸序列如 SEQ ID NO.5 所示，以及 R：5'-TAGAAATTTACCCTCAGATCTTCAGTACCCCGCGTCCACG-3'，其核苷酸序列如 SEQ ID NO.6 所示。

本发明还公开了一种上述的玉米转录因子 ZmHsf28 基因在参与植物生

长、抗旱及耐盐调控中的应用。

可选地，所述植物为玉米、拟南芥或者水稻。

与现有技术相比，本发明可以获得包括以下技术效果：

5 本发明的 ZmHsf28 蛋白及其编码的基因对改良、增强植物的抗逆性、加速抗逆分子育种进程具有十分重要的意义。

当然，实施本发明的任一产品并不一定需要同时达到以上所述的所有技术效果。

### 附图说明

10 此处所说明的附图用来提供对本发明的进一步理解，构成本发明的一部分，本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明，并不构成对本发明的不当限定。在附图中：

图 1 是本发明 pMD19-ZmHsf28 的载体图谱；

图 2 是本发明 pCAMBIA3301-35s::ZmHsf28 的载体图谱；

15 图 3 是本发明 pBGV002-35s::ZmHsf28 的载体图谱；

图 4 是本发明玉米转录因子 ZmHsf28 调控植物的生长示意图，图中 WT：野生型；OE1-3：ZmHsf28 过表达后的三个株系；其中，A，B：代表野生型拟南芥和过表达株系正常生长下，叶片的表型及叶片宽度的测量；C，D：代表野生型拟南芥和过表达株系正常生长下，株高的表型及株高的测量；E，F：代表野生型水稻和过表达株系正常生长下，根的表型及根长的测量；

20

图 5 是本发明玉米转录因子 ZmHsf28 提高植物的抗旱能力；图中 WT：野生型；OE1-3：ZmHsf28 过表达后的三个株系；其中，A，B：代表 300 m M Mannitol 处理下，野生型拟南芥及过表达株系根的生长表型及根长的测量；C，D：代表自然干旱下，野生型拟南芥及过表达株系的生长及植株失水率的测量；E，F：代表自然干旱处理下，野生型水稻及过表达株系的生长表型及存活率的测量；

25

图 6 是本发明玉米转录因子 ZmHsf28 提高植物的耐盐性；图中 WT：野生型；OE1-3：ZmHsf28 过表达后的三个株系；其中，A，B：代表 100 mM NaCl 处理下，平板上生长的野生型拟南芥和过表达株系根的生长表型及根

长的测量；C：代表 250 mM NaCl 处理下，野生型拟南芥和过表达株系的生长表型；D：代表野生型水稻和过表达株系在正常条件和 150 mM NaCl 处理下植株的生长表型。

## 5 具体实施方式

以下将配合实施例来详细说明本发明的实施方式，藉此对本发明如何应用技术手段来解决技术问题并达成技术功效的实现过程能充分理解并据以实施。

以下实施例中未做具体说明的分子生物学实验方法，均参照《分子克隆实验指南》（第三版）J.萨姆布鲁克一书中所列的具体方法进行，或按试剂盒和产品说明书进行。

### 实施例 1 ZmHsf28 基因的克隆

通过 maizeGDB (<https://www.maizegdb.org/>) 以及 plantTFDB (<http://planttfdb.cbi.pku.edu.cn/>) 数据库查询玉米中 Hsf 家族基因，利用 CLC Sequence viewer 对这些基因进行同源比对并利用 iTOL (<http://planttfdb.cbi.pku.edu.cn/>) 构建系统进化树分析 Hsf 转录因子间的进化关系并进行分类后，查找到 ZmHsf28 完整开放阅读框设计特异引物（F：5'-GACAA GGCAA GGC AA CTGAT G-3'，其核苷酸序列如 SEQ ID NO.3 所示，以及 R：5'-CGC CTGCTCGTCATTCAAGTAC -3'，其核苷酸序列如 SEQ ID NO.4 所示）进行克隆。

基因克隆选用玉米自交系 Mo17（市售）两周大小植株，用水培和土培两种方式培养。水培采用 40%霍格兰溶液培养，每间隔一天更换一次营养液，土培则种植于营养土中，所用玉米种子均用 3%的过氧化氢溶液消毒、无菌水浸泡 4 h 后种植。培养温度均为 28℃，16 h 光照，8 h 黑暗交替培养。培养至第二叶完全展开后，用 20 % PEG6000 处理玉米 24 小时，利用 Trizol 法提取 RNA，并反转录为 cDNA，通过特异引物（核苷酸序列如 SEQ ID NO.3 和 4 所示）进行扩增，获得 ZmHsf28 基因片段大小为 804 bp，其 cDNA 序列如 SEQ ID NO.1 所示，该转录因子源于玉米 Mo17，其氨基酸序列 SEQ ID NO.2 所示，由 268 个氨基酸（\*代表终止密码子）残基组成，是 HsfC

类转录因子。DNA 结合结构域位于氨基酸 N 端 1 至 102 位区域内，寡聚化结构域位于氨基酸 103 至 200 位区域内，核定位信号位于 201 至 267 位区域内，并将 ZmHsf28 基因片段重组到载体 pMD19 上，通过蓝白斑筛选、阳性克隆酶切和测序分析，得到重组质粒 pMD19-ZmHsf28，其载体图谱如图 1 所示。

### 实施例 2：重组表达载体的构建

以 pMD19-ZmHsf28 为模板，利用包含载体同源臂以及酶切位点（下划线：*Nco* I 和 *Bgl* II）的亚克隆引物：F: 5'-ACGGGGGACTCTTGACCATG GATGGCGGCGGGCGGCGGAG -3'（其核苷酸序列如 SEQ ID NO.5 所示），R: 5'-TAGAAATTTACCCTCAGATCTTCAGTACCCCGCGTCCACG-3'（其核苷酸序列如 SEQ ID NO.6 所示）进行扩增，将扩增片段进行胶回收后，正向插入载体 pCAMBIA3301，得到重组载体 pCAMBIA3301-35s::ZmHsf28，其载体图谱如图 2 所示。

以 pMD19-ZmHsf28 为模板，设计亚克隆引物 F：5'-CAGTGGTCTCAC TCTATGGCGGCGGGCGGCGGAG-3'（其核苷酸序列如 SEQ ID NO.7 所示），R：5'-CAGTGGTCTCACTGCTCAGTACCCCGCGTCCACG-3'（其核苷酸序列如 SEQ ID NO.8 所示）在基因序列两端加 *Bsa*I 酶切位点（下划线为酶切位点及保护碱基）；所用载体与扩增的基因序列，用 *Bsa*I 酶切后 T4 连接酶连接构建过表达载体 pBGV002-35s::ZmHsf28，其载体图谱如图 3 所示。

### 实施例 3：ZmHsf28 稳定过表达株系的建立：

1) 采用融冻法将重组质粒 pCAMBIA3301-35s::ZmHsf28 转化农杆菌感受态 GV3101，取重组质粒 1  $\mu$ g 加入到 200  $\mu$ L 感受态细胞中后立即冰浴 30 min，之后依次进行以下步骤：液氮速冻 5 min；37℃水浴 5 min，液氮速冻 3-5 min；37℃水浴 5 min，最后冰浴 5 min，反复冻融后立即加入无菌的 800  $\mu$ L YEP 液体培养基，置于 28℃条件下，200 r/min 震荡培养 3 h 后，涂布于含有 50 mg/L Rif、50 mg/L Gen、50 mg/L Kan 的抗生素固体培养基上，置于 28℃恒温培养箱培养 2 d。

2) 待单克隆菌落长出后，利用 PCR 检测是否转化成功，凝胶电泳检测，

将转化成功的单克隆菌落转移至含相同抗生素的 100 mL YEP 液体培养基中扩大培养至菌液浓度约为 OD=0.8。

3 ) 取培养好的菌液在 5000 r/min , 5 min 条件下离心 , 留沉淀。用含 0.05% Silwet L-77 的 100 mL 5%蔗糖溶液重悬 , 待菌体充分重悬后 , 便可用作侵染液。

4 ) 取生长状态良好的野生型且处于盛花期的拟南芥 , 将花序浸没在侵染液中 , 保持 20-30 s 后立即取出 , 将植株平放于相对湿度较高的黑暗培养室中暗处理 8-12 h , 然后取出拟南芥 , 将其置于正常光照和温度的生长室中培养 , 此侵染过程均重复三次 , 每次间隔一周。

5 ) 待侵染的植株成熟结种 , 收取成熟饱满的果荚 , 将种子储存于干燥的含变色硅胶的 EP 管中干燥一周后播种培育成苗 , 由于 pCAMBIA3301- p35S::ZmHsf28 具有草铵膦的抗性据此来筛选阳性植株。通过多代筛选 , 最后筛选得到稳定纯合的过表达拟南芥植株。

6 ) 待拟南芥植株长进入 8 叶期后 , 取少量叶片 ( 约 0.2 g 左右 ) 提取植物 DNA , 利用 ZmHsf28 表达载体构建的亚克隆引物 ( F: 5'-ACGGGGG ACTCTTGACCATGGATGGCGGGCGGGCGGCGGAG -3' ( 其核苷酸序列如 SEQ ID NO.5 所示 ) , R: 5'-TAGAAATTTACCCTCAGATCTTCAGTACCC CGCGTCCACG-3' ( 其核苷酸序列如 SEQ ID NO.6 所示 ) ) 来检测目的基因是否成功插入拟南芥的基因组中 , 以哥伦比亚野生型拟南芥为对照。确定 ZmHsf28 成功插入基因组后 , 再取适量叶片 ( 0.5 g 左右 ) 提取植物总 RNA , 通过反转录成单链 cDNA , PCR 检测 ZmHsf28 是否成功表达。

对 ZmHsf28 能够成功表达的并且能稳定遗传的 T3 代纯合拟南芥株系编号 , 收取成熟果夹 , 干燥保存 , 用作后续实验。

#### 实施例 4 : ZmHsf28 水稻稳定过表达株系的建立

1 ) 愈伤诱导与继代。挑选当年新收的成熟水稻种子 , 剥离颖壳 , 倒入 50 mL 离心管中 , 先后用 75%乙醇消毒 1 min 和 30%次氯酸钠消毒 20 min , 消毒后将种子转移到诱导培养基上 ( 诱导培养基 : NB 培养基 4.10 g/L , 蔗糖 30 g/L , 水解酪蛋白 0.25 g/L , 脯氨酸 0.5 g/L , 谷氨酰胺 0.25 g/L , 2, 4-D 2 mg/L , 琼脂 3.5 g/L , PH 5.8 ) , 每皿 20-25 颗种子。愈伤长出后可

用原胚直接做转化，也可继代培养后进行转化。

2) 农杆菌培养。将含有重组质粒 pBGV002-35s::ZmHsf28 的农杆菌 E HA105 在含有相应抗生素的平板上划线，28℃ 黑暗培养 2 天至出现单菌落，( 具体操作同实施例 3 )。

5        3 ) 农杆菌侵染。用 AAM 侵染液重悬菌体至 OD<sub>600</sub> 为 0.3-0.5，即为共培养转化水稻用的农杆菌悬浮液。挑选长势好的水稻愈伤放入 100 mL 无菌三角瓶中，加入适量农杆菌悬浮液(保证有足够的菌液与材料接触即可)，室温放置侵染 20 分钟，并不时晃动。倒掉菌液，将愈伤组织放在无菌滤纸上吸去多余菌液，随即转移到固体共培养基上，26℃ 黑暗培养 3 天。

10       4 ) 筛选培养。对共培养 3 天后的愈伤组织进行用无菌水清洗 2 遍，第三遍用含有 50 mg/L 羧苄青霉素的无菌水冲洗一遍，将愈伤吹干后转移到筛选培养基上进行筛选培养( 筛选培养基是在诱导培养基里加入了 50 mg/L 的潮霉素和 50 mg/L 的羧苄青霉素 )，28-30 度暗培养一个月。

15       5 ) 分化再生。筛选一个月后，可见颜色鲜黄，直径 1-2 mm 的阳性愈伤长出，此时可将阳性愈伤挑取到分化培养基上进行分化再生 ( I L 分化培养基含有 MS 培养基 4.4 g，蔗糖 30 g，山梨醇 30 g，NAA 1 mg，KT 2 mg，脯氨酸 0.5 g，水解酪蛋白 0.25 g，谷氨酰胺 0.5 g，潮霉素 50 mg，羧苄青霉素 50 mg，琼脂 3.5 g，PH 5.8 )，置于 28-30 度温室中光照培养。10 天后愈伤将冒出绿点，再经过 10 天培养会有幼苗分化出。

20       6 ) 幼苗生根。待分化出的幼苗长到 2-3 cm 左右，有明显根系的时候就可以将幼苗转移到生根培养基上 ( MS 培养基 4.4g，蔗糖 30 g，潮霉素 50 mg，羧苄青霉素 50 mg，琼脂 3.5 g，PH 5.8 )，生根培养基倒在 15 cm 的瓶子里，生根培养条件 28-30 度，无菌光照培养。

#### 7) 转化株系的阳性鉴定

25       待水稻长出根后，将其移栽到花盆中，存活后取少量叶片 ( 约 0.2 g 左右 ) 提取植物 DNA，利用亚克隆引物 F : 5'-CAGTGGTCTCACTCTATGGC GGCGGGCGGCGGAG-3' ( 其核苷酸序列如 SEQ ID NO.7 所示 )，R : 5'-CAGTGGTCTCACTGCTCAGTACCCCGCGTCCACG-3' ( 其核苷酸序列如 SEQ ID NO.8 所示 ) 来检测目的基因是否成功插入水稻的基因组中，以野生



型为对照。确定 ZmHsf28 成功插入基因组后，再取适量叶片（0.5 g 左右）提取植物总 RNA，通过反转录成单链 cDNA，PCR 检测 ZmHsf28 是否成功表达。

#### 实施例 5 1/2 MS 组织培养拟南芥

5 当获得 ZmHsf28 稳定过表达株系后，将野生型和过表达株系种子干燥一周左右，对种子进行表面消毒，具体步骤如下：

1) 消毒准备：无菌水、无菌枪头、75%乙醇、2%的次氯酸钠溶液以及紫外灭菌的移液枪；

10 2) 取适量干净成熟的拟南芥种子在无菌条件下，首先用无菌水清洗种子 2-3 次，之后加入 1 mL 75%乙醇，表面杀菌消毒种子 15-30 s；

3) 待乙醇清洗完成后，用移液枪去除乙醇后，用无菌水清洗 2 次；

4) 在经无菌水清洗后的种子 EP 管中加满 2%的次氯酸钠溶液，振荡消毒 10-15 min。

15 5) 用无菌水清洗种子 5-7 次，洗净次氯酸钠的残留，至此种子消毒工作完成；

经消毒后的种子用无菌封口膜密封，置于 4℃培养箱中春化 1 d，春化后的种子在无菌环境下，点种在 1/2 MS 培养基上生长三天（两叶期），随后将野生型和 ZmHsf28 过表达拟南芥苗子移至含有 250 mM Mannitol、100 mM NaCl 的 1/2 MS 固体培养基上，待其生长 14 d 左右统计根长。

#### 20 实施例 6：对拟南芥进行胁迫处理

野生型及过表达株系在生长室（温度：22℃；16 h 光照，8 h 黑暗）培养 4 周后，分别进行自然干旱处理、盐胁迫处理。自然干旱处理周期为 10 天，随后进行复水，3 天后观察生长表型，并统计存活率。盐胁迫处理用 250 mM NaCl 浇灌拟南芥，10 天后观察表型。

25 在拟南芥中，当过表达株系生长到第 4 周时，过表达株系的生长状况优于野生型（图 4A）。测定野生型和过表达株系的整株莲座叶，发现叶片的数量没有明显的差异，但过表达株系的叶更宽、更长，选定第 6、7 叶进行叶片宽度测定，结果表明过表达株系第 6、7 叶比野生型更宽（图 4B）。随后测定生长六周的拟南芥株高，过表达株系的株高显著高于野生型（图 4C-D）。

这些结果表明，ZmHsf28 过表达后促进了拟南芥的生长。

使用 250 mM 甘露醇对幼苗进行渗透胁迫处理，结果发现生长 14 天的野生型和过表达拟南芥植株的根系生长都受到抑制，但过表达株系根受到的抑制作用低于野生型(图 5A-B)。对生长 4 周的拟南芥进行自然干旱处理，干旱 10 天后过表达株系和野生型叶片萎焉，生长受到影响，复水 3 天后，过表达株系恢复生长，其存活率明显高于野生型 (图 5C)。同时测定野生型与过表达株系的失水率，结果发现过表达株系的失水率低于野生型(图 5D)。

用 100 mM NaCl 处理时，生长 14 天的野生型根受到明显抑制，而 OE 株系的根更长 (图 6A-B)，表明 ZmHsf28 可以调控根的生长去响应盐胁迫。随后用 250 mM NaCl 处理生长 4 周的拟南芥，处理 10 天后，过表达株系的存活率高于野生型 (图 6C)，进一步表明 ZmHsf28 过表达后会提高拟南芥的抗盐能力。

#### 实施例 7：对水稻进行胁迫处理

野生型及过表达水稻在培养箱 (温度：28℃；16 h 光照，8 h 黑暗) 中进行水培培养，生长 2 周后，进行干旱处理、盐胁迫处理。水培营养液配方：

水稻培养液	成分	800x 母液 1L	工作浓度
M1	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	91.4 g	1.43 mM
	CaCl <sub>2</sub>	88.6 g	1.0mM
M2	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	40.3 g	0.32 mM
	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	71.4 g	0.51 mM
M3	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	324 g	1.64 mM
M4	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.5 g	9.47 μM
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.074 g	0.075μM
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.934 g	0.018mM
	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.035 g	0.15 μM
	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.031 g	0.115 μM
	FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	7.7 g	0.036 mM
	柠檬酸	citric Acid(monohy	11.9 g

drate)

干旱处理前将水培盒中的营养液增至 800 mL，干旱过程中不再添加营养液，10 天后观察表型。盐胁迫处理时，添加 NaCl 到水培营养液至终浓度 150 mM，处理 6 天后观察表型。

5 水稻正常生长 7 天后，发现过表达株系的根比野生型更长，说明 ZmHsf28 过表达水稻后促进了水稻根的生长（图 4E-F）。这些结果表明，ZmHsf28 参与生长发育的调控。

对水稻过表达株系及野生型进行干旱处理 10 天后发现野生型和过表达均有萎焉表型，但复水 5 天后过表达株系存活率更高（图 5E-F）。这些结果表明，ZmHsf28 过表达后能增强植物的抗旱能力。

10 用 150 mM NaCl 处理生长 14 天的水稻，处理 6 天后野生型枯萎，而过表达株系表现出更高的耐盐性（图 6D）。这些结果表明，ZmHsf28 过表达后能增强植物的耐盐性。

这些结果表明 ZmHsf28 蛋白及其编码的基因对改良、增强植物的抗逆性、加速抗逆分子育种进程具有十分重要的意义。

15 上述说明示出并描述了发明的若干优选实施例，但如前所述，应当理解发明并非局限于本文所披露的形式，不应看作是对其他实施例的排除，而可用于各种其他组合、修改和环境，并能够在本文所述发明构想范围内，通过上述教导或相关领域的技术或知识进行改动。而本领域人员所进行的改动和变化不脱离发明的精神和范围，则都应在发明所附权利要求的保护范围内。

# 序 列 表

## SEQUENCE LISTING

	<110>	四川农业大学	
5	<120>	一种玉米转录因子 ZmHsf28 及应用	
	<130>	2021	
	<160>	8	
	<170>	PatentIn version 3.3	
10	<210>	1	
	<211>	804	
	<212>	DNA	
	<213>	玉米 (corn)	
	<400>	1	
15	atggcgggcgg gcggcggagg cggctcgccg gcgccgttcg tgtggaagac gtacacgatg	60	
	gtggaggacc ccgggacggc aggggtgata ggctggggca gcggcaacaa cagcttcgtc	120	
	gtcgccgacc ccttcgtctt ctgcagacg ctgctccccg cgcacttcaa gcacaacaac	180	
	ttctccagct tcgtccgcca gctcaacacc tatggcttcc gcaaggttga tccggaccgg	240	
	tgggagttcg cccacgcgtc gttcctgcgc ggccagacgc acctcctgcg caacatcgtc	300	
20	cgccgcggca gcagcgccgc cgggtgccga ggcggaaga ggaaggacgc cagccccacg	360	
	gagctggcct ccggggacga catgaccatg gtggccacgg aggtggtgcg cctcaagcaa	420	
	gagcagcgcg ccatcgacga ccgcgtcgcc tccatgtggc gccgcgtgca ggagacggag	480	
	cgcaggccca agcagatgct cgcgttcctc ctcaaggtcg tcggcgaccg cgacaggctg	540	
	caccgcctcg tcggcgacgc ccccgtagca gataacgggt tcgcctccgg cggtgccgcc	600	
25	gagccgcccc ccgcggaggt cggcgagaag cgggccaggc tgctgctcga cggtgacagc	660	

atggtggcgc tcggtcccga ggccgtcgac ttcgccgggt tctacagcgg cggcgggtgcg 720  
 ttcggcgatg ttgccgtgga tgctgccgct gggccccgcg gaggcgggtt ctcgtttgcg 780  
 ttcggcgtgg acgcggggta ctga 804

5 <210> 2  
 <211> 267  
 <212> PRT  
 <213> 玉米 (corn)

10 <400> 2

Met Ala Ala Gly Gly Gly Gly Gly Ser Pro Ala Pro Phe Val Trp Lys  
 1 5 10 15  
 Thr Tyr Thr Met Val Glu Asp Pro Gly Thr Ala Gly Val Ile Gly Trp  
 20 25 30

15 Gly Ser Gly Asn Asn Ser Phe Val Val Ala Asp Pro Phe Val Phe Ser  
 35 40 45  
 Gln Thr Leu Leu Pro Ala His Phe Lys His Asn Asn Phe Ser Ser Phe  
 50 55 60  
 Val Arg Gln Leu Asn Thr Tyr Gly Phe Arg Lys Val Asp Pro Asp Arg

20 65 70 75 80  
 Trp Glu Phe Ala His Ala Ser Phe Leu Arg Gly Gln Thr His Leu Leu  
 85 90 95  
 Arg Asn Ile Val Arg Arg Gly Ser Ser Ala Ala Gly Ala Gly Gly Gly  
 100 105 110

25 Lys Arg Lys Asp Ala Ser Pro Thr Glu Leu Ala Ser Gly Asp Asp Met

	115	120	125
	Thr Met Val Ala Thr Glu Val Val Arg Leu Lys Gln Glu Gln Arg Ala		
	130	135	140
	Ile Asp Asp Arg Val Ala Ser Met Trp Arg Arg Val Gln Glu Thr Glu		
5	145	150	155
	Arg Arg Pro Lys Gln Met Leu Ala Phe Leu Leu Lys Val Val Gly Asp		160
	165	170	175
	Arg Asp Arg Leu His Arg Leu Val Gly Asp Ala Pro Val Pro Asp Asn		
	180	185	190
10	Gly Phe Ala Ser Gly Gly Ala Ala Glu Pro Pro Ala Ala Glu Val Gly		
	195	200	205
	Glu Lys Arg Ala Arg Leu Leu Leu Asp Gly Asp Ser Met Val Ala Leu		
	210	215	220
	Gly Pro Glu Ala Val Asp Phe Ala Gly Phe Tyr Ser Gly Gly Gly Ala		
15	225	230	235
	Phe Gly Asp Val Ala Val Asp Ala Ala Ala Gly Ser Arg Gly Gly Gly		240
	245	250	255
	Phe Ser Phe Ala Phe Gly Val Asp Ala Gly Tyr *		
	260	265	

20

<210> 3  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列(Artificial SEquence)

25

<400> 3

	gacaaggcaa ggcaactgat g	21
	<210> 4	
	<211> 21	
5	<212> DNA	
	<213> 人工序列(Artificial SEquence)	
	<400> 4	
	cgcctgctcg tcattcagta c	21
10	<210> 5	
	<211> 40	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列(Artificial SEquence)	
	<400> 5	
15	acgggggact cttgaccatg gatggcggcg ggcggcggag	40
	<210> 6	
	<211> 40	
	<212> DNA	
20	<213> 人工序列(Artificial SEquence)	
	<400> 6	
	tagaaattta ccctcagatc ttcagtaccc cgcgtccacg	40
	<210> 7	
25	<211> 34	

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial SEquence)

<400> 7

cagtgggtctc actctatggc ggcgggcggc ggag

34

5

<210> 8

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial SEquence)

<400> 8

cagtgggtctc actgctcagt accccgcgtc cacg

34

10