



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 116286852 B

(45) 授权公告日 2023. 12. 08

(21) 申请号 202211600244.4

(22) 申请日 2022.12.13

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 116286852 A

(43) 申请公布日 2023.06.23

(73) 专利权人 中国科学院华南植物园
地址 510000 广东省广州市天河区兴科路
723号

(72) 发明人 曾少华 王瑛 艾培炎

(74) 专利代理机构 广州广典知识产权代理事务
所(普通合伙) 44365
专利代理师 万志香

(51) Int. Cl.

C12N 15/29 (2006.01)

C07K 14/415 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

A01H 5/00 (2018.01)

A01H 6/00 (2018.01)

(56) 对比文件

CN 114214336 A, 2022.03.22

CN 111440809 A, 2020.07.24

CN 111909249 A, 2020.11.10

CN 113444731 A, 2021.09.28

US 2006277631 A1, 2006.12.07

WO 2005092121 A2, 2005.10.06

佚名.Lycium ruthenicum MYB113 mRNA,
complete cds GenBank:
MT773444.1.Genebank.2020,CDS,ORIGIN部分.
Tingting Li等.Transcriptome and
Flavonoids Metabolomic Analysis
Identifies Regulatory Networks and Hub
Genes in Black and White Fruits of Lycium
ruthenicum Murray.Front Plant Sci..2020,
第11卷第2页左栏、第4页右栏、结论部分.

审查员 杜鹏飞

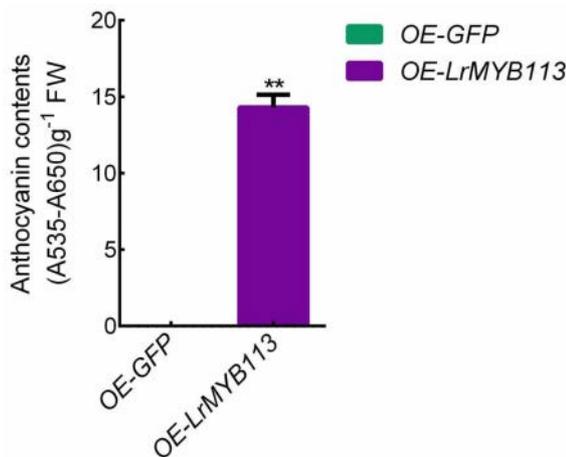
权利要求书1页 说明书7页
序列表(电子公布) 附图2页

(54) 发明名称

黑果枸杞LrMYB113基因及其蛋白的应用

(57) 摘要

本发明公开了一种黑果枸杞LrMYB113基因及其蛋白的应用,所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示。在本发明中,发现过表达黑果枸杞LrMYB113基因的转基因愈伤组织表现出花青素累积的特征,花青素的含量得到了显著提高,说明黑果枸杞LrMYB113基因可以显著提高花青素的含量,从而提高黑果枸杞的药用价值和经济价值;可以将黑果枸杞LrMYB113基因广泛应用于提高植物花青素的含量,以及培育高产花青素的植物品种、愈伤组织、悬浮细胞和毛状根,在医药和食品添加剂等领域具有广阔的应用前景。



1. 黑果枸杞*LrMYB113*基因在提高黑果枸杞花青素含量中的应用,其特征在於,所述黑果枸杞*LrMYB113*基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1。

2. 黑果枸杞*LrMYB113*基因在黑果枸杞遗传育种中的应用,其特征在於,所述黑果枸杞*LrMYB113*基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示。

3. 黑果枸杞*LrMYB113*蛋白在提高黑果枸杞花青素含量中的应用,其特征在於,所述黑果枸杞*LrMYB113*蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示。

4. 黑果枸杞*LrMYB113*蛋白在黑果枸杞遗传育种中的应用,其特征在於,所述黑果枸杞*LrMYB113*蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示。

5. 过表达黑果枸杞*LrMYB113*基因的载体在提高黑果枸杞花青素含量中的应用,其特征在於,所述黑果枸杞*LrMYB113*基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示。

6. 转化有过表达黑果枸杞*LrMYB113*基因的工程菌在提高黑果枸杞花青素含量中的应用,其特征在於,所述黑果枸杞*LrMYB113*基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示。

7. 过表达黑果枸杞*LrMYB113*基因的愈伤组织在提高黑果枸杞花青素含量中的应用,其特征在於,所述黑果枸杞*LrMYB113*基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示。

8. 过表达黑果枸杞*LrMYB113*基因的载体、转化有过表达黑果枸杞*LrMYB113*基因的工程菌、或过表达黑果枸杞*LrMYB113*基因的愈伤组织在黑果枸杞遗传育种中的应用,其特征在於,所述黑果枸杞*LrMYB113*基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示。

9. 一种提高黑果枸杞花青素含量的方法,其特征在於,包括如下步骤:使黑果枸杞中*LrMYB113*基因过量表达,所述黑果枸杞*LrMYB113*基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示。

黑果枸杞LrMYB113基因及其蛋白的应用

技术领域

[0001] 本发明属于基因工程技术领域,更具体地,本发明涉及一种黑果枸杞LrMYB113基因及其蛋白在提高植物花青素含量中的应用。

背景技术

[0002] 黑果枸杞作为一种多年生灌木,其成熟果实是藏药的重要来源。黑果枸杞中富含花青素,以矮牵牛类花青素为主。在多年生的黑果枸杞成熟果实中,矮牵牛色素类衍生物含量达到了总花青素含量的85%以上。黑果枸杞成熟果实中的花青素,具有明显的清除自由基和抗氧化活性,可以广泛用做食品天然着色剂,具有重大的经济价值。然而,黑果枸杞中花青素的合成转录调控机制仍不清晰。

[0003] MYB是一类庞大的转录因子家族,而R2R3-MYB亚家族成员被报道与植物花青素的转录调控直接相关。通过深入分析黑果枸杞的基因组信息,挖掘调控果实花青素积累的R2R3-MYB转录因子,利用生物工程的手段可以实现花青素的大量合成。这将对黑果枸杞功能基因的挖掘和利用提供范例。

发明内容

[0004] 基于此,本发明的目的之一在于提供一种黑果枸杞LrMYB113基因、蛋白及其应用。

[0005] 实现上述发明目的的技术方案包括如下。

[0006] 本发明的第一方面,提供了一种黑果枸杞LrMYB113基因在提高植物花青素含量中的应用,所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示。

[0007] 本发明的第二方面,提供了一种黑果枸杞LrMYB113蛋白在提高植物花青素含量中的应用,所述黑果枸杞LrMYB113蛋白具有如SEQ ID No.3所示的氨基酸序列。

[0008] 本发明的第三方面,提供了上述黑果枸杞LrMYB113基因、或黑果枸杞LrMYB113蛋白在黑果枸杞遗传育种中的应用。

[0009] 本发明的第四方面,提供了一种过表达黑果枸杞LrMYB113基因的载体在提高植物花青素含量中的应用,所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示;或所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框编码的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示。

[0010] 本发明的第五方面,提供了上述过表达黑果枸杞LrMYB113基因的载体在黑果枸杞遗传育种中的应用。

[0011] 本发明的第六方面,提供了一种转化有上述过表达黑果枸杞LrMYB113基因的工程菌在提高植物花青素含量中的应用,所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示;或所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框编码的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示。

[0012] 本发明的第七方面,提供了上述工程菌在黑果枸杞遗传育种中的应用。

[0013] 本发明的第八方面,提供了一种过表达黑果枸杞LrMYB113基因的愈伤组织在提高植物花青素含量中的应用,所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示;或所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框编码的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示。

[0014] 本发明的第九方面,提供了上述愈伤组织在黑果枸杞遗传育种中的应用。

[0015] 本发明的第十方面,提供了一种提高植物花青素含量的方法,包括如下步骤:使植物中黑果枸杞LrMYB113基因过量表达,所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示;或所述黑果枸杞LrMYB113基因的开放阅读框编码的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示。

[0016] 在本发明中,通过使用转化有过表达黑果枸杞LrMYB113基因的工程菌侵染黑果枸杞外植体,获得转基因愈伤组织,发现过表达黑果枸杞LrMYB113基因的愈伤组织表现出花青素累积的特征,花青素的含量得到了显著提高,说明黑果枸杞LrMYB113基因可以显著提高花青素的含量,从而提高黑果枸杞的药用价值和经济价值;可以将黑果枸杞LrMYB113基因广泛应用于提高植物花青素的含量,以及培育高产花青素的植物品种、愈伤组织、悬浮细胞和毛状根,在医药和食品添加剂等领域具有广阔的应用前景。

附图说明

[0017] 图1为本发明实施例3中转基因愈伤组织的表型特征。

[0018] 图2为本发明实施例3中转基因愈伤组织中花青素的含量结果。

[0019] 图3为本发明实施例3中转基因植株的表型特征。

[0020] 图4为本发明实施例4中转基因愈伤组织中LrMYB113、LrCHS和LrF3' 5' H的相对表达量。

具体实施方式

[0021] 为了便于理解本发明,下面将对本发明进行更全面的描述。本发明可以以许多不同的形式来实现,并不限于本文所描述的实施例。相反地,提供这些实施例的目的是使对本发明公开内容的理解更加透彻全面。

[0022] 除非另有定义,本发明所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域中的技术人员通常理解的含义相同。本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的,不用于限制本发明。本发明所使用的术语“和/或”包括一个或多个相关的所列项目的任意的和所有的组合。

[0023] 下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,例如Green和Sambrook等人,分子克隆实验指南(Molecular Cloning:A Laboratory Manual,2013)中所述的条件,或按照制造厂商所建议的条件。实施例中所用到的各种常用化学试剂,均为市售产品。

[0024] 在本发明中,所述黑果枸杞的品种可以是黑果枸杞常规品种,也可为野生黑果枸杞种质资源。以下实施例中使用的是宁夏回族自治区中卫市中宁县的黑果枸杞,为野生种。

[0025] 本发明中LrMYB113基因的cDNA阅读框的核苷酸序列如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示,其编码的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示。

[0026] SEQ ID NO.1
[0027] ATGAGTACTTCTAATGATAAGCTATCATCACGAGTGAAGAAAGGTGCATGG
[0028] ACTCAAGAAGAAGATGTTCTATTGAGAACTGCATAGAAAAGTATGGAGA
[0029] AGGAAAGTGGCATCGAGTTCCTGTGAGAGCTGGATTGAATAGATGCAGGA
[0030] AGAGTTGCAGACTAAGGTGGTTAAGTTATCTAAGGCCACATATAAAGAGAG
[0031] GGGACTTCAATTTTGATGAAGTGGATCTCATGTTGAGGCTACATAAGCTTTT
[0032] AGGCAACAGATGGTCACTTATAGCTGGTAGACTTCCTGGAAGAACAGCAA
[0033] ATGATGTCAAAAATTACTGGAACACTCATCTTCGTAAGAAATTAATTGCATC
[0034] TCATGGTAAATTAGAGCAACAACAAGAGAGGAAGCACAAAAAGGCGTG
[0035] AAGAACAACACCATAATTAGACCTCGACCTCGATCCTTCTCAAGGACAATT
[0036] ATAAGCAATACGTGTGTTAAATGTAATAACACAAACAGTACTTTACATAATA
[0037] AGGATGAATTAGAAGGCAGCCAAAAAGTAGTAACTTTTAGTGATCAGAATA
[0038] ATTCGAAGCCAATAACAACACTGATGAAGAAGAATTGACAGAAGATGGAATT
[0039] CAATGGTGGCCAATTTACTAGCTAACAACAACAGCAACATGCTTAGTGCA
[0040] ATTCCACAAGTGGGGTTTGGAGAGAGTATAGTGTACGCAGACCCTACTCCT
[0041] AGCTTGAAGGTGGAAGGTTATTTCTGGTAGATTCTCGACTCAAGAAAA
[0042] AGACATTCAAAACAGTCCAGATTTACTAACTAACAACGACAACAATGAGA
[0043] TTGATAATAATAATAATAAATTCACCAACTTCGTTGTACGAGGAAATGGCACTTCCATTGGTAAAT
AATGTTGAGAGCAACATCTACATGCAA-GAAGGAGAAAGTAGCCTAAGTGACTTTTCTTTTGATATTGAGATTTGG
AATCTACTTAATTAA
[0044] SEQ ID NO.2
[0045] TTAATTAAGTAGATTCCAAATCTCAATATCAAAAAGAAAAGTCACTTAGGCTA
[0046] CTTTCTCCTTCTTGCATGTAGATGTTGCTCTCAACATTATTTACCAATGGAA
[0047] GTGCCATTTCCCTCGTACAACGAAGTTGGTGAATTATTATTATTATTATCA
[0048] ATCTCATTGTTGTCGTTGTTAGTTAGTAAATCTGGACTGTTTTGAATGTCTTT
[0049] TTCTTGAGTCGAGAATCTACCAGAAATAACCTTTCCACCTTCCAAGCTAGG
[0050] AGTAGGGTCTGCGTACACTATACTCTCTCCAAACCCCACTTGTGGAATTGC
[0051] ACTAAGCATGTTGCTGTTGTTGTTAGCTAGTAAATTGGCCCACCATTGAATT
[0052] CCATCTTCTGTCAATTCTTCTTCATCAGTTGTTATTGGCTTCGAATTATTCTG
[0053] ATCACTAAAAGTTACTACTTTTTGGCTGCCTTCTAATTCATCCTTATTATGTA
[0054] AAGTACTGTTTGTGTTATTACATTTAACACACGTATTGCTTATAATTGTCCTT
[0055] GAGAAGGATCGAGGTCGAGGTCTAATTATGGTGTTGTTCTTCACGCCTTTT
[0056] TTGTGCTTCCTCTCTTGTGTTGCTCTAATTTACCATGAGATGCAATTAATTT
[0057] CTTACGAAGATGAGTGTTCCAGTAATTTTTGACATCATTTGCTGTTCTTCCA
[0058] GGAAGTCTACCAGCTATAAGTGACCATCTGTTGCCTAAAAGCTTATGTAGC
[0059] CTCAACATGAGATCCACTTCATCAAAATTGAAGTCCCCTCTCTTTATATGTG
[0060] GCCTTAGATAACTTAACCACCTTAGTCTGCAACTCTTCTGCATCTATTCAA
[0061] TCCAGCTCTCACAGGAACCTCGATGCCACTTTCTTCTCCATACTTTTCTATG
[0062] CAGTTTCTCAATAGAACATCTTCTTCTTGAGTCCATGCACCTTTCTTCACTC

[0063] GTGATGATAGCTTATCATTAGAAGTACTCAT
[0064] SEQ ID NO.3
[0065] MSTSNDKLSSRVKKGAWTQEEDVLLRNCIEKYGEGKWHRVPVRAGLNRCR
[0066] KSCRLRWLSYLRPHIKRGDFNFDEVDLMLRLHKLLGNRWSLIAGRLPGRTAN
[0067] DVKNYWNTHLRKKLIASHGKLEQQQERKHKKGVKNNIIIRPRRSFSRTIISN
[0068] TCVKCNNTNSTLHNKDELEGSQKVVTFSQNNNSKPITTEEELTEDGIQWWA
[0069] NLLANNSNMLSAIPQVGFGESIVYADPTPSLEGGKVISGRFSTQEKDIQNSPD
[0070] LLTNDNNEIDNNNNNSPTSLYEEMALPLVNNVESNIYMQEGESSLSDFSFDIEIWLLN*(*表示终止)

[0071] 应当理解,考虑到密码子的简并性,在不改变氨基酸序列的前提下,对上述cDNA阅读框的碱基序列进行修改,也属于本发明的保护范围。在不影响所述黑果枸杞LRMYB113蛋白结构和活性的前提下,对上述黑果枸杞LRMYB113蛋白的氨基酸序列进行各种取代、缺失或增加一个或多个氨基酸,或末端修饰,也属于本发明的保护范围。

[0072] 以下结合附图和具体实施例来详细说明本发明。

[0073] 实施例1黑果枸杞LrMYB113基因的CDS序列的获得

[0074] 包括以下步骤:

[0075] 1、以黑果枸杞成熟果实为材料,提取其RNA,反转录为cDNA;

[0076] 2、根据已有的黑果枸杞基因组序列设计引物(包括如SEQ ID NO.4所示的上游引物和SEQ ID NO.5所示的下游引物),利用DNA高保真酶(High-Fidelity DNAPolymerase)进行PCR扩增;

[0077] SEQ ID NO.4

[0078] TCCCCCGGGATGAGTACTTCTAATGATAAGC

[0079] SEQ ID NO.5

[0080] CGGGGTACCATTAAGTAGATTCCAAATCTCAATATC

[0081] PCR反应体系:cDNA模板2 μ l;上游引物10 μ M;下游引物10 μ M;PrimeStar Mix 25 μ l; ddH₂O 19 μ l;总反应体系50 μ l。

[0082] PCR反应条件:98 $^{\circ}$ C 5min;98 $^{\circ}$ C 30s,55 $^{\circ}$ C 30s,72 $^{\circ}$ C 1min30 s,33个循环;72 $^{\circ}$ C 5min;16 $^{\circ}$ C ∞ 。

[0083] 3、将50 μ l PCR产物进行1%的琼脂糖凝胶电泳分析,结果如图1所示。

[0084] 4、取目标条带进行测序,所得LrMYB113基因的CDS序列如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示,其所编码的蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示。

[0085] 实施例2过表达黑果枸杞LrMYB113基因的转基因愈伤组织的制备

[0086] 本实施例提供了一种过表达黑果枸杞LrMYB113基因的转基因愈伤组织。

[0087] 具体包括以下步骤:

[0088] 1、将实施例1的LrMYB113基因的CDS(SEQ ID NO.1)连接到pSuper-GFP表达载体(保存于中国科学院华南植物园)中,获得重组表达载体pSuper-GFP-LrMYB113;

[0089] 2、使用CaCl₂介导的化学转化法将重组表达载体pSuper-GFP-LrMYB113导入根癌农杆菌GV3101中;

[0090] 3、筛选抗利福平和卡那霉素的农杆菌,利用引物pSuper1300-F和pSuper1300-R,

进行菌液PCR。

[0091] pSuper1300-F(SEQ ID NO.6)

[0092] GGATAAATAGCCTTGCTTCCTAT

[0093] pSuper1300-R(SEQ ID NO.7)

[0094] AACTTTATTGCCAAATGTTTGAAC

[0095] PCR反应体系:模板1 μ l;pSuper1300-F 10uM;pSuper1300-R 10uM;T5Mix 5 μ l; ddH₂O 3 μ l;总反应体系10 μ l。

[0096] PCR反应条件:94 $^{\circ}$ C 5min;94 $^{\circ}$ C 30s,55 $^{\circ}$ C 30s,72 $^{\circ}$ C 1min 30s,35个循环;72 $^{\circ}$ C:5min; 16 $^{\circ}$ C: ∞ 。

[0097] 4、挑选阳性菌落摇菌,扩大培养,至菌液OD值达到约0.5。

[0098] 5、用外植体浸染法浸染黑果枸杞外植体,得到过表达LrMYB113基因的转基因植株。

[0099] (1)、器械准备

[0100] 将遗传转化过程中涉及到的手术刀、镊子、剪刀和玻璃培养皿高压蒸汽灭菌;

[0101] (2)、菌液准备

[0102] 将步骤4的菌液,离心富集,用浸染液重悬;

[0103] (3)、外植体准备

[0104] 外植体选择无菌的黑果枸杞扦插苗,继代生长45d的健壮植株叶片。

[0105] (4)、在超净台打开黑果枸杞组培植株,用剪刀剪取生长旺盛、肥厚的叶片。把无菌叶片外植体置于灭菌的玻璃培养皿中,用柳叶刀去除上下两端,在叶片上划出伤口,用镊子将处理后的外植体浸入步骤(2)的菌液中,处理20min。

[0106] (5)、平铺无菌滤纸,将上述浸染过的外植体置于滤纸上,使其表面水分被吹干为宜。

[0107] (6)、将表面干燥的外植体倒置于共培养基(MS+1.0mg/L 6-BA+1.0mg/LIBA)中,黑暗培养48h。

[0108] (7)、将黑暗培养的外植体从共培养基中取出,置于无菌水中清洗3~6次,将其置于滤纸上,使其表面水分被吹干为宜。

[0109] (8)、将表面干燥的外植体倒置于筛选培养基(MS+1.0mg/L 6-BA+1.0mg/LIBA+5mg/L HygB)中,正常光照培养,每两周更换一次筛选培养基。

[0110] (9)、待外植体开始出现明显的再生芽点时,移至含有同样筛选培养基的培养瓶中,直至再生苗1.5-2cm,将再生苗切下,扦插进生根培养基(MS普通培养基),14d即可观察到明显的根系生成。

[0111] (10)、将根系健壮,植株生长正常的再生苗移栽至植物房进行炼苗,需要小心将根系附着的培养基清洗干净,以免滋生细菌腐蚀根系。

[0112] (11)、将恢复生长的转基因材料提取基因组DNA进行PCR鉴定(使用引物对SEQ ID NO.4和SEQ ID NO.5)后,得到过表达LrMYB113基因的转基因植株。

[0113] 6、使用步骤5的转基因植株诱导(愈伤组织诱导培养基为:MS+0.5mg/L6-BA+1mg/L 2.4-D)得到愈伤组织。

[0114] 将显著高表达LrMYB113基因的转基因愈伤组织作为后续研究材料。

[0115] 实施例3过表达LrMYB113基因的转基因愈伤组织中花青素的含量测定

[0116] 将实施例2的LrMYB113基因表达显著上调的转基因愈伤组织(标记为OE-LrMYB113)在MS培养基中生长一个月,表型特征如图1所示。从图1可知,与OE-GFP(阴性对照)相比,转基因愈伤组织表现出花青素积累的表型。

[0117] 提取和检测转基因愈伤组织中花青素的含量,具体提取和检测包括以下步骤:

[0118] 1、液氮冻存转基因愈伤组织OE-LrMYB113,使用研磨仪将样品低温研磨;

[0119] 2、称取0.2g转基因愈伤组织,加入2mL提取液(含有3%浓盐酸的甲醇溶液),4℃摇床提取2~3小时;

[0120] 3、4℃条件下,12000g离心5分钟,吸取上清液,将灭菌水、上清液以及氯仿等比例混合,短暂离心;

[0121] 4、提取短暂离心后的上清液,使用分光光度计检测样品在535nm和650nm波长下的OD值,记录分析,每个实验重复3遍。

[0122] 结果如图2所示,与OE-GFP(阴性对照)相比,OE-LrMYB113中黑果枸杞花青素含量显著升高,说明过表达LrMYB113基因能够显著提高黑果枸杞转基因愈伤组织中花青素的含量。

[0123] LrMYB113的转基因植株茎秆也表现花青素积累的特征(图3)。

[0124] 以上实验结果表明,在黑果枸杞中过表达LrMYB113基因,能够显著提高黑果枸杞中花青素的含量。因此,LrMYB113基因将可以应用于培育高品质的黑果枸杞品种,提高黑果枸杞的药用价值和经济价值。

[0125] 实施例4过表达LrMYB113基因的转基因愈伤组织中结构基因表达量的测定

[0126] 将实施例3的过表达LrMYB113的转基因愈伤组织(标记为OE-LrMYB113)在MS培养基中生长一个月后,测定转基因愈伤组织中LrMYB113、LrCHS和LrF3' 5' H的相对表达量,具体步骤如下:

[0127] 分别提取野生型(OE-GFP)和LrMYB113的过表达愈伤组织(OE-LrMYB113)的RNA,并反转录成cDNA作为模板,采用RT-PCR方法,所用引物为:

[0128] LrMYB113 Q-RT-F(SEQ ID NO.8):TGTGAGAGCTGGATTGAATAGAT

[0129] LrMYB113 Q-RT-R(SEQ ID NO.9):CACGCCTTTTTTGTGCTTCC

[0130] LrCHS Q-RT-F(SEQ ID NO.10):CGTATCACTGATAGCGAGCAC

[0131] LrCHS Q-RT-R(SEQ ID NO.11):TGCCTCTTTGCCAAGTTTAG

[0132] LrF3' 5' H Q-RT-F(SEQ ID NO.12):GAAAGAGGGATGAAACGATTGC

[0133] LrF3' 5' H Q-RT-R(SEQ ID NO.13):TTGGTCCATTTCTTGTGTGCT

[0134] 结果如图4所示,结果表明:与OE-GFP(阴性对照)相比,OE-LrMYB113中LrMYB113基因的相对表达量明显过表达,且花青素合成关键结构基因LrCHS和LrF3' 5' H的相对表达量也明显上调。

[0135] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0136] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来

说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

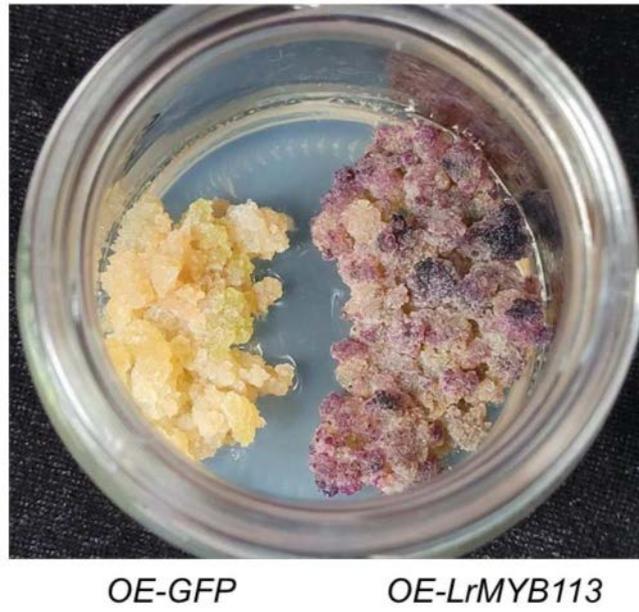


图1

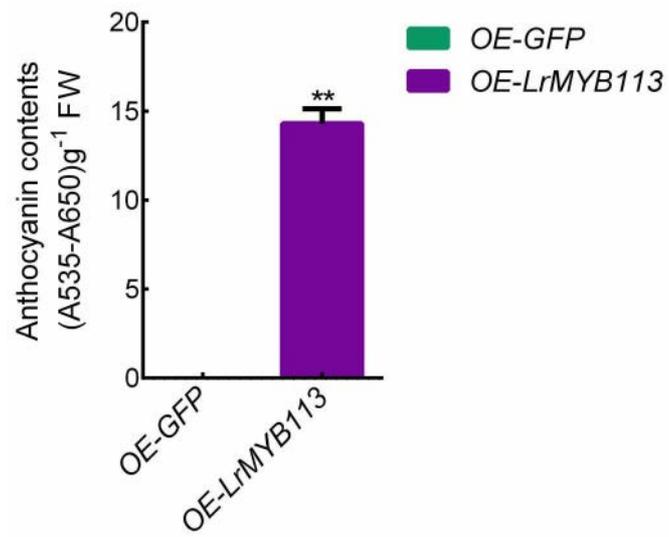


图2

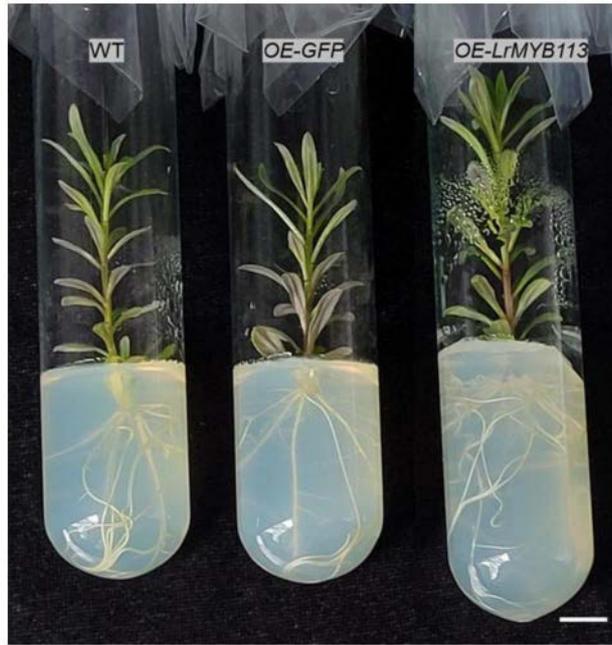


图3

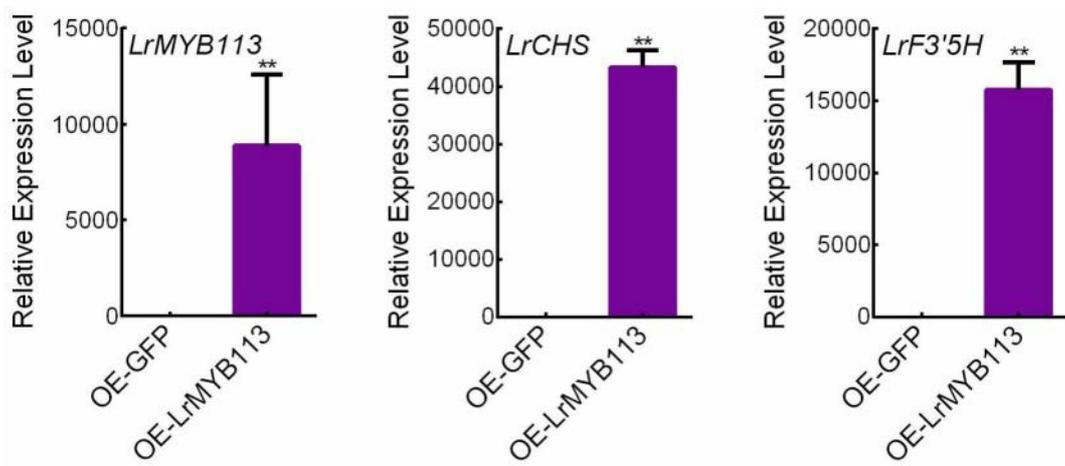


图4