

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00638

玉米大斑病抗性基因 *Ht1* 定位区域内候选序列的生物信息学分析

鄂洋, 林凤, 张春宇, 崔娜, 许玉凤

沈阳农业大学生物科学技术学院, 沈阳 110161

摘要: 为获得玉米大斑病抗性基因 *Ht1* 候选序列, 文章采用生物信息学方法对与玉米大斑病抗性基因 *Ht1* 紧密连锁的分子标记 *umc22* 和 *umc122* 定位区域内候选序列进行了分析, 其中得到的 63 条 ORF 序列中有 14 条序列可编码蛋白质结构域。将 14 条核苷酸序列预测出的氨基酸序列与已克隆的 24 条抗性基因编码氨基酸序列进行 Blast 比对及进化树构建。结果发现, 候选序列 *gpm565a* 具有植物抗性基因编码产物的高度保守结构域, 而且与抗性基因 *Xal* 相似性高、亲缘关系近, 推测可能与抗性基因 *Ht1* 有关。其他候选序列由于不具有植物抗性基因编码产物的高度保守结构域或者相似性低、亲缘关系远等原因, 不能确定与抗性基因 *Ht1* 有关。通过对候选序列 *gpm565a* 进行二级结构及三维结构分析, 发现有大量构成蛋白质特异功能结构组件的无规则卷曲存在, 推测 *gpm565a* 可能是 *Ht1* 功能域的一部分。

关键词: 玉米大斑病; 候选序列; 抗性基因

Bioinformatics analysis of candidate sequences between two flanking markers linked with resistance gene *Ht1* to *Exserohilum turcicum* in maize

E Yang, LIN Feng, ZHANG Chun-Yu, CUI Na, XU Yu-Feng

Biological Science and Technology College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China

Abstract: In order to get *Ht1* candidate sequence(s), bioinformatics method was employed to analyze sequences between two flanking markers *umc22a* and *umc122a* linked with *Ht1*. Sixty-three open reading frame (ORF) sequences were found, fourteen of which encoded protein domains. The amino acid sequences encoded by these ORF sequences were blasted with the 24 cloned resistance gene amino acid sequences, and a phylogenetic tree was constructed. Among the fourteen ORF sequences, *gpm565a* with nucleotide binding site (NBS), containing a lot of random coils, had both high identity and close relationship with *Xal* resistant to bacterial blight, and was predicted to be related with *Ht1*. The remaining thirteen ORF sequences had no enough evidence to show any relationships with *Ht1* due to lack of conserved domains, low identity or distant relationships.

Keywords: Northern corn leaf blight; candidate sequence; resistance gene

收稿日期: 2008-10-28; 修回日期: 2009-03-23

基金项目: 第 43 批中国博士后科学基金一等资助(编号: 20080430187), 辽宁省科技攻关项目(编号: 2008208001)及沈阳市科技攻关项目(编号: 1081191-3-00)资助

作者简介: 鄂洋(1983-), 男, 硕士, 专业方向: 发育生物学。Tel: 15040253918; E-mail: isaiah1983@163.com

通讯作者: 林凤(1966-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 分子育种。Tel: 024-81061878; E-mail: fenglinsn@yahoo.com.cn

玉米大斑病(Northern corn leaf blight, NCLB)是由真菌 *Exserohilum turcicum* 引起的一种玉米病害,在世界范围内广泛流行,冷凉地区和高海拔山区较为严重,给经济造成了巨大损失^[1]。培育并推广抗病品种是最经济有效控制玉米大斑病的方法。玉米大斑病抗性基因有质量抗性和数量抗性两种。质量抗性基因主要包括 *Ht1*、*Ht2*、*Ht3* 和 *HtN*。前3种抗性基因可以缩小病斑坏死面积,抗性基因 *HtN* 可将大斑病病斑推迟到花期后出现^[2,3]。数量抗性则涉及玉米不同染色体上的基因。随着分子标记的发展,先后将大斑病抗性基因定位到了玉米相应染色体上,为培育抗病品种提供了分子依据。在过去的几十年中,关于玉米大斑病抗性基因分子标记定位的研究很多^[4-7],但相关基因克隆还未见报道。由于连锁的分子标记定位抗性基因区域往往比较大,很难确定抗性基因所在位置,为进一步基因功能研究及克隆造成了阻碍。分子标记定位区域内相关序列通常被认为是候选序列。通过功能分析及与已知功能基因的同源比较,可以研究定位区域内候选序列具备的抗病特性及在抗性表达过程中所起到的作用。

生物信息学是应用计算机科学来理解生物学的一门新兴交叉学科,通过生物信息获取、加工、存储、分配、分析等来揭示实验数据所蕴含的生物学意义。随着植物基因组计划的发展,许多模式植物目前已完成基因组测序并绘制出基因组草图。2000年拟南芥全基因组序列测序完成^[8]。2004年12月国际水稻序列分析计划(IGSP)完成水稻基因组测序工作^[9]。2006年,对杨树基因组草图的初步分析在《Science》上发表^[10]。小麦、大豆和高粱等经济植物基因组测序计划仍在进行中。模式植物全基因组测序工作产生数以亿计DNA序列数据,为利用生物信息学分析方法研究植物基因组结构和功能奠定了基础。2008年,美国科学家成功绘制出玉米基因组草图,该草图基本囊括了玉米的遗传信息,在此基础上应用生物信息学方法分析玉米抗性基因定位区域内的候选序列也成为可能。

1991年, Bentolia等^[4]用RFLP分子标记 *umc150B* 将 *Ht1* 定位到2号染色体上。1998年,李立家等^[6]用玉米黄早四自交系为材料,采用RFLP分子标记 *umc22a* 和 *umc122a* 也将 *Ht1* 定位到了2号染色体上。2001年, Van Stade等^[7]用3个SCAR标记同样证明

Ht1 位于2号染色体(2.07)上。本研究利用生物信息学分析方法对分子标记 *umc22a* 和 *umc122a* 定位区域内大斑病抗性基因 *Ht1* 的候选序列进行关联分析,为研究控制抗性基因 *Ht1* 遗传的分子基础及克隆提供可靠数据和信息支持。

1 材料和方法

1.1 主要数据库和工具软件

美国国家生物技术信息中心(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, NCBI) GenBank 数据库: 获取已克隆植物抗性基因序列; 玉米公共数据库(<http://www.maizegdb.org/>): 获取 *Ht1* 抗性基因候选序列。

GENSCAN(<http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>): 在线识别候选序列 ORF; InterProScan(<http://www.ebi.ac.uk/InterProScan/>): 在线预测蛋白质结构域; Cross_match 软件: 对候选序列进行载体屏蔽处理; Phrap 软件(包含在 Phrap 软件包中,发邮件至 phg@u.washington.edu 申请): 候选序列拼接(发邮件至 phg@u.washington.edu 申请); Blast 软件(下载地址: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/download.shtml>): 候选序列表达蛋白与已克隆抗性基因表达蛋白对比; Mega 4.0 软件(<http://www.megasoftware.net/>): 进化树构建。

Bio-Informatique Lyonnais(<http://npsa-pbil.ibcp.fr/>): 在线预测候选序列二级结构; SWISS-MODEL (<http://www.expasy.ch/swissmod/SWISS-MODEL.html>): 在线预测候选序列三维结构; SWISS-Pdb Viewer(下载地址: <http://swissmodel.expasy.org/spdbv/>): 本地查看蛋白质三维结构。

1.2 序列搜集与处理

从 GenBank 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中下载 24 种已克隆植物抗性基因编码氨基酸序列,构建本地 Blast 分析的序列数据库(*.db)。

利用与 *Ht1* 抗性基因连锁标记 *umc22a* 和 *umc122a*(位于2号染色体),在玉米公共数据库(<http://www.maizegdb.org/>)中搜索 *Ht1* 定位区域内所有序列。在 Linux 系统下,利用 Cross_match 软件对定位区域内候选序列进行载体屏蔽; Phrap 软件对屏蔽后序列进行拼接; GENSCAN 在线软件对拼接后产生的 contigs 和未拼接成功的 singlelets 进行开放读码框(ORF)预测; InterProScan 在线软件对 ORF 序列对应

的氨基酸序列进行蛋白质结构域预测, 将具有蛋白质功能的氨基酸序列重新命名。

1.3 预测氨基酸序列同源性分析

将具有结构域的氨基酸序列与已克隆抗性基因编码蛋白质序列进行本地 Blast 比对和 Mega4.0 进化树构建, 分析候选序列可能具备的抗病特性及已克隆抗性基因同源关系。

1.4 蛋白质高级结构预测

利用 bio-Informatique Lyonnais 和 SWISS-MODEL 在线预测软件对 14 条候选序列中(表 1)具有抗性基因特有保守结构域, 且与抗性基因相似性高、亲缘关系近的序列进行了二级结构及三维结构预测。利用 SWISS-Pdb Viewer 软件查看蛋白质三维结构。

2 结果与分析

2.1 *Ht1* 定位区域内序列 ORF 预测及结构域功能预测

在玉米公共数据库(<http://www.maizegdb.org/>)中, 下载分子标记 umc22a 和 umc122a 定位区域内所有候选序列, 共 350 条。通过 Cross_match 软件对上述序列进行载体屏蔽处理后, 再经 Phrap 软件进行拼接, 将拼接后 contigs 及未拼接成功的 singlelets 进行开放读码框(ORF)预测, 共得到 63 条 ORF 序列。

结构域是蛋白序列的功能、结构和进化单元, 本研究只预测了蛋白质的结构区域来说明候选序列与抗性蛋白之间的相似性及进化关系。应用 InterProScan 在线软件对 63 条 ORF 序列对应的氨基酸序列进行蛋白质结构域预测, 共有 14 条氨基酸序列具有结构域(表 1)。其中, 候选序列 cl25923-4、gpm565a 和 umc1536-1 具有抗病蛋白 NBS 结构域特征保守区, 如具有 ATP 和 GTP 的结合部位等; 候选序列 umc1536-15 具有跨膜结构域(TM), 这些 TM 结构域可能与其他保守结构域相连接共同行使抗病功能。

2.2 预测氨基酸序列同源性

目前, 研究人员已从 12 种植物中克隆出 57 种抗性基因序列, 大部分抗性基因来源于模式植物拟南芥。本研究通过文献检索在 NCBI 上找到已克隆的 24 种抗性基因编码氨基酸序列, 构建本地 Blast 数据库(表 2), 用于 *Ht1* 候选序列编码氨基酸 Blast 比对和进化树构建, 结果见表 3 和图 1。Blast 比对结果发现, 候选序列 gpm830a、gpm565a 和 pco147259a-2 与水稻白叶枯病抗性基因 *Xa1* 的相似性分别为 35.29%、39.29% 和 50.00%; 候选序列 cl25923-45 与拟南芥霜霉病抗性基因 *RPS5* 相似性为 53.85%; 候选序列 si486092d04c-4 与拟南芥霜霉病抗性基因 *RPP13* 相似性为 66.67%。cl25923-51 不具有抗性基因特有保守结构域, 且与抗性基因相似性低、亲缘关系远。

表 1 定位区域内具有蛋白质结构域的候选序列

氨基酸序列名称	Interpro 号	家族蛋白名称	功能描述
cl25923-4	IPR001878	锌指结构	与核酸和锌离子结合结构域
c25923-14	IPR000477	DNA 聚合酶	DNA 聚合酶活性中心
cl25923-32	IPR004374	肽链释放因子	使肽链终止
cl25923-34	IPR001395	醛酮还原酶	氧化还原酶活性
cl25923-35	IPR013201	抑制素蛋白酶 I29	过敏反应家族成员
cl25923-45	IPR005132	脂蛋白 A	未知
cl25923-51	IPR013103	反转录酶	指示移动因子
cl25923-53	IPR001584	整合素催化中心	可与 DNA 结合
pco147259a-2	IPR013103	反转录酶	指示移动因子
si486092d04c-4	IPR002213	尿苷二磷酸-葡萄糖苷转移酶	糖苷配基-葡萄糖基转移酶的 DNA 分子
gpm565a	IPR000217	β -微管蛋白	可与 GTP 结合
	IPR002453	GTP 活化蛋白	可以激活活性的酶原
gpm830a	IPR003854	赤霉素调节蛋白	与植物发育有关
umc1536-15	IPR000620	跨膜蛋白	未知
umc1536-1	IPR001806	小 GTP 结合蛋白	与 GTP 结合

表 2 已克隆的 24 种植物抗性基因

抗性基因	来源	结构域类型	ID 号
<i>FLS2</i>	<i>A. thaliana</i>	PK-LRR	864676
<i>PBS1</i>	<i>A. thaliana</i>	PK	831155
<i>RCY1</i>	<i>A. thaliana</i>	NBS-LRR	817183
<i>RPM1</i>	<i>A. thaliana</i>	TM	819889
<i>RPP1</i>	<i>A. thaliana</i>	NBS-LRR	823573
<i>RPP4</i>	<i>A. thaliana</i>	NBS-LRR	827395
<i>RPP5</i>	<i>A. thaliana</i>	NBS-LRR	827403
<i>RPP8</i>	<i>A. thaliana</i>	NBS-LRR	834367
<i>RPP13</i>	<i>A. thaliana</i>	NBS-LRR	823806
<i>RPS2</i>	<i>A. thaliana</i>	NBS-LRR	828715
<i>RPS4</i>	<i>A. thaliana</i>	NBS-LRR	834561
<i>RPS5</i>	<i>A. thaliana</i>	NBS-LRR	837775
<i>Mi-1</i>	Tomato (<i>L. esculentum</i> Mill.)	CC-NBS-LRR	544210
<i>Pi-ta</i>	Rice (<i>O. sativa</i> L.)	CC-NBS-LRR	543493
<i>Lr10</i>	Wheat (<i>T. aestivum</i> L.)	CC-NBS-LRR	3160248
<i>Xa1</i>	Rice (<i>O. sativa</i> L.)	CC-NBS-LRR	3051408
<i>Rpg</i>	Rice (<i>O. sativa</i> L.)	CC-NBS-LRR	40641569
<i>Pto</i>	Tomato (<i>L. esculentum</i> Mill.)	PK	3475804
<i>Hm1</i>	Maize (<i>Z. mays</i> L.)	Toxin reductase	732845
<i>Rpld</i>	Maize (<i>Z. mays</i> L.)	NBS-LRR	1005541
<i>R1</i>	Pepper (<i>C. annuum</i> L.)	NBS-LRR	5217545
<i>Cf2</i>	Tomato (<i>L. esculentum</i> Mill.)	LRR	33692
<i>Cf4</i>	Tomato (<i>L. esculentum</i> Mill.)	LRR	34888
<i>Cf9</i>	Tomato (<i>L. esculentum</i> Mill.)	LRR	842241

表 3 候选氨基酸序列与已克隆抗性基因编码蛋白的 Blast 比对结果

氨基酸序列名称	与已克隆抗性基因比对			相似性(%)
	名称	来源	ID 号	
c125923-45	<i>FLS2</i>	<i>A. thaliana</i>	864676	25.30
	<i>RPS5</i>	<i>A. thaliana</i>	834561	53.85
c125923-51	<i>RPS2</i>	<i>A. thaliana</i>	828715	44.44
	<i>RPP5</i>	<i>A. thaliana</i>	837775	47.37
	<i>RPM1</i>	<i>A. thaliana</i>	819889	27.59
	<i>RPP8</i>	<i>A. thaliana</i>	833467	43.75
	<i>cf9</i>	Tomato (<i>L. esculentum</i> Mill.)	18406365	30.30
pco147259a-2	<i>RPM1</i>	<i>A. thaliana</i>	819889	36.73
	<i>Mi-1</i>	Tomato (<i>L. esculentum</i> Mill.)	511210	29.73
	<i>Xa1</i>	Rice (<i>O. sativa</i> L.)	3051408	50.00
	<i>PBS1</i>	<i>A. thaliana</i>	831155	30.30
si486092d04c-4	<i>RPP13</i>	<i>A. thaliana</i>	823806	66.67
	<i>FLS2</i>	<i>A. thaliana</i>	864676	26.32
	<i>RPS4</i>	<i>A. thaliana</i>	834561	42.86
	<i>RPP5</i>	<i>A. thaliana</i>	837775	46.15
	<i>Mi-1</i>	Tomato (<i>L. esculentum</i> Mill.)	544210	32.43
<i>gpm565a</i>	<i>Xa1</i>	Rice (<i>O. sativa</i> L.)	3051408	39.29
<i>gpm830a</i>	<i>RPP5</i>	<i>A. thaliana</i>	837775	33.33
	<i>Xa1</i>	Rice (<i>O. sativa</i> L.)	3059101	35.29

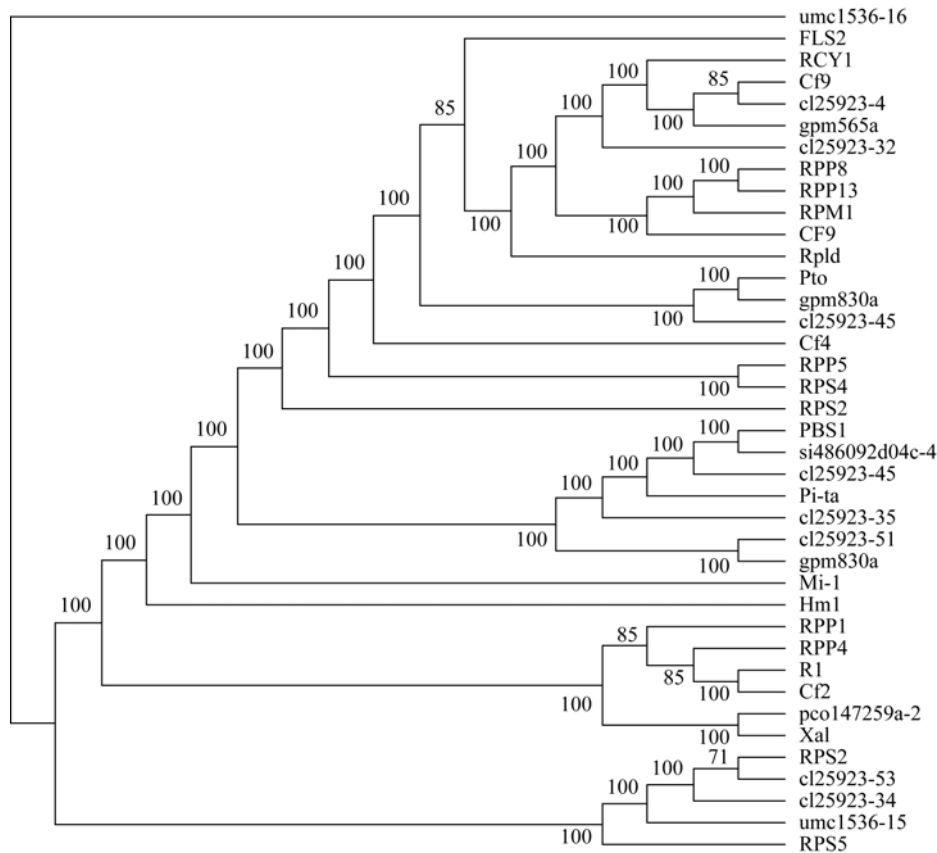


图 1 候选序列和已克隆抗性基因的编码氨基酸序列间的进化关系

c125923-4、c25923-14、c125923-32、c125923-34、c125923-35、c125923-45、c1259-51、c125923-53、pco147259a-2、si486092d04c-4、gpm565a、gpm830a、umc1536-1 和 umc1536-15 是定位区域内具有蛋白质结构域候选序列；其他序列是从 NCBI 下载的已克隆抗性基因序列名称。

进化树分析结果进一步表明，候选序列 gpm565a 与抗性基因 *Xal* 的亲缘关系比候选序列 pco147259a-2 及 gpm830a 亲缘关系远。候选序列 cl25923-4(具有 NBS 结构域)、umc1536-1(具有 NBS 结构域)及 umc1536-15(具有跨膜结构域)与已克隆抗性基因间不具有相似性，并且亲缘关系较远(除 cl25923-4 与番茄抗叶霉病基因 *Cf9* 亲缘关系较近)。

2.3 候选序列结构预测

将具有结构域的氨基酸序列与已克隆抗性基因编码蛋白质序列进行本地 Blast 比对和 Mega4.0 进化树构建后，发现具有 NBS 结构域的 gpm565a 与抗性基因相似性高，亲缘关系近，推测 14 条候选序列中只有 gpm565a 可能与玉米大斑病抗性基因 *Ht1* 有关。为此通过 Bio-Informatique Lyonnais 工具在线软件预测候选序列 gpm565a 二级结构，发现有 42 个无规则卷曲区。SWISS-MODEL 工具在线模拟候选序列 gpm565a 三维结构，应用 Swiss-PdbViewer 软件查看

预测结果(图 2)。三级结构预测结果说明 gpm565a 可以折叠成特定的空间构象，而具有特定空间结构的蛋白质才能具有相应生物学活性及功能。通过蛋白质二级结构及三级结构预测进一步证明 gpm565a 具有特定功能，而非无意表达。

3 讨论

随着植物抗病研究的深入，许多植物抗病基因相继被克隆，为分析抗病基因及其作用奠定基础。从目前已克隆抗性基因研究中发现，植物抗性基因编码产物具有高度保守的结构域，其中包括：核酸结合位点结构域(NBS)(该结构域具有 ATP 和 GTP 结合活性)、富含亮氨酸重复结构域(LRR)、跨膜结构域(TM)、蛋白激酶结构域(PK)、Toll 白介素-1 区域(TIR)和亮氨酸拉链(LZ)等^[11-15]。

本研究在对玉米大斑病抗性基因 *Ht1* 定位区域内候选序列进行生物信息分析后发现，候选序列 gpm565a、cl25923-4 和 umc1536-1 所编码的蛋白质

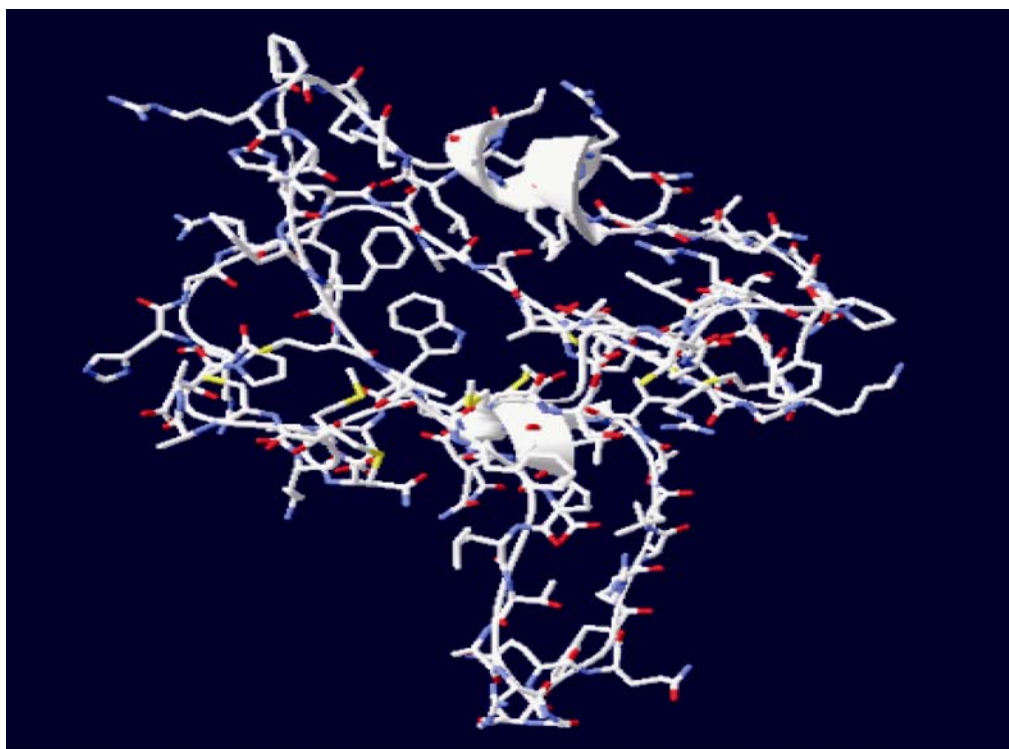


图 2 候选序列 gpm565a 三维结构预测

结构域可以与GTP等能量分子结合。这一发现与Meyers等^[16]认为在诱导抗病反应时需要结合ATP或GTP的结论一致。候选序列umc1536-15具有的跨膜结构域可能起到连接保守结构域的作用,并与其共同行使抗病功能。为证明定位区域内抗性基因的存在,本研究从NCBI数据库中下载 24 种抗性基因编码氨基酸序列并与候选序列进行Blast和进化树构建。Blast比对结果发现,候选序列gpm830a、gpm565a(具有NBS结构域)和pco147259a-2与水稻白叶枯抗性基因*Xa1*的相似性分别为35.29%、39.29%和50.00%,说明玉米大斑病抗性候选基因与水稻抗性基因*Xa1*可能存在共线性。这一结论与Ahn等^[17]以水稻和玉米为材料,证明谷类作物间存在共线性研究结果一致。进化树构建结果进一步发现,候选序列cl25923-45(与*RPS5*)、si486092d04c-4(与*RPP13*)和gpm565a(与*Xa1*)与抗性基因相似性非常高,但与抗性基因亲缘关系较远(表3和图1);候选序列gpm565a(相似性39.29%)比gpm830a(相似性35.29%)与抗性基因*Xa1*亲缘关系远。这些现象可能是由于植物经历了多倍化和一些染色体重组后,基因组中即使

在保守区域,所含基因也可能有所差异造成的^[18]。

候选序列pco147259a-2、cl25923-45、cl25923-53、si486092d04c-4和gpm830a不具有植物抗性基因编码产物的高度保守结构域;候选序列cl25923-4、umc1536-1和umc1536-15虽具有植物抗性基因编码产物的高度保守结构域,但与抗性基因间不具有相似性或亲缘关系较远,所以不能确定上述8条候选序列与大斑病抗性基因*Ht1*有关。在14条具有结构域的氨基酸序列中(表1),其他5条候选序列(cl25923-14、cl25923-32、cl25923-34、cl25923-35和cl25923-51)不具有高度保守的结构域,与抗性基因也没有相似性并且亲缘关系较远。因此,也不能确定这5条候选序列与抗性基因*Ht1*有关。

李立家等^[6]发现分子标记umc22a和umc122a与目标基因*Ht1*紧密连锁,那么这两个标记定位区域内必然存在*Ht1*基因相关信息序列。通过以上分析,定位区域内具有NBS结构域的候选序列gpm565a可能与玉米大斑病抗性基因*Ht1*有关。对gpm565a进行二级结构预测及三级结构模拟发现大量无规则卷曲。无规则卷曲通常是构成蛋白质特异功能的结构

组件, 说明gpm565a确实具有功能, 而非无意表达序列, 由此可推测gpm565a可能是*Ht1* 功能域的一部分。

参考文献(References):

- [1] Leonard KJ, Levy Y, Smith DR. Proposed nomenclature for pathogenic races of *Exserohilum turcicum* on corn. *Plant Dis*, 1989, 73(9): 776–777.
- [2] 王庆华. 玉米大斑病抗性基因的 DNA 分子标记研究进展. *玉米科学*, 2002, 10(2): 93–96.
- [3] 杨继良. 玉米大斑病抗性遗传的研究进展. *遗传*, 2002, 24(4): 501–506.
- [4] Bentolila S, Guitton C, Bouvet N. Identification of an RFLP marker tightly linked to the *Ht1* gene in maize. *Theor Appl Genet*, 1991, 82(4): 393–398.[\[DOI\]](#)
- [5] 王静晖, 宋运淳, 杭超, 刘立华. 玉米大斑病抗性基因 *Ht2* 的原位杂交物理定位. *武汉大学学报(自然科学版)*, 1998, 44 (4): 465–468.
- [6] 李立家, 宋运淳, 鄢慧民. 两个与玉米大斑病抗性基因 *Ht1* 连锁的 RFLP 标记的原位杂交定位. *植物病理学报*, 1998, 28 (2): 117–121.
- [7] van Staden D, Lambert CA, Lehmsiek A. SCAR markers for the *Ht1*, *Ht2*, *Ht3* and *HtN1* resistance genes in maize. *Maize Genet Conf Abstracts*, 2001, 43(28): 134.
- [8] The *Arabidopsis* Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 2000, 408(14): 796–815.
- [9] Matsumoto T, Wu JZ, Kanamori H, Katayose Y. The map-based sequence of the rice genome. *Nature*, 2005, 436(11): 793–800.[\[DOI\]](#)
- [10] Tuskan GA, DiFazio S, Jansson SJ, Karlsson J, Kelleher C, Kirkpatrick R, Kirst M, Kohler A, Kalluri U, Larimer F, Leebens-Mack J, Leplé J-C, Locascio P, Lou Y, Lucas S, Martin F, Montanini B, Napoli C, Nelson DR, Nelson C, Nieminen K, Nilsson O, Pereda V, Peter G, Philippe R, Pilate G, Poliakov A, Razumovskaya J, Richardson P, Rinaldi C, Ritland K, Rouzé P, Ryaboy D, Schmutz J, Schrader J, Segerman B, Shin H, Siddiqui A, Sterky F, Terry A, Tsai C-J, Uberbacher E, Unneberg P, Vahala J, Wall K, Wessler S, Yang G, Yin T, Douglas C, Marra M, Sandberg G, van de Peer Y, Rokhsar D. The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa*. *Science*, 2006, 313(15): 1596–1604. [\[DOI\]](#)
- [11] Martin GB, Bogdanove AJ, Sessa G. Understanding the function of plant disease resistance proteins. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54(5): 23–61.[\[DOI\]](#)
- [12] Belkadir Y, Nimchuk Z, Hubert DL. *Arabidopsis RIN4* negatively regulates disease resistance mediated by *RPS2* and *RPM1* downstream or independent of the *NDR1* signal modulator and is not required for the virulence functions of bacterial type III effectors AvrRpt2 or AvrRpm1. *Plant Cell*, 2004, 16(10): 2822–2835.[\[DOI\]](#)
- [13] Traut TW. The function and consensus motifs of nine types of peptide segments that form different types of nucleotide-binding sites. *Eur J Biochem*, 1994, 222(10): 9–19[\[DOI\]](#)
- [14] Dangl JL, Jones DG. Plant pathogens and integrated defense responses to infection. *Nature*, 2001, 411(14): 826–833.[\[DOI\]](#)
- [15] Xu YW, Tao X, Shen BH, Horng T, Medzhitov R, Manley JL, Tong L. Structural basis for signal transduction by the Toll/interleukin-1 receptor domains. *Nature*, 2000, 408(2): 111–115.[\[DOI\]](#)
- [16] Meyers BC, Kozik A, Griego A, Kuang HH, Michelmore RW. Genome-wide analysis of NBS-LRR encoding genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2003, 15(4): 809–834.[\[DOI\]](#)
- [17] Ahn S, Tanksley SD. Comparative linkage map of the rice and maize genomes. *Proc Nat Acad Science USA*, 1993, 90(17): 7980–7984.[\[DOI\]](#)
- [18] Bancroft I. Duplicate and diverge: the evolution of plant genome microstructure. *Trends Genet*, 2001, 17(2): 89–93.[\[DOI\]](#)