

大豆顶芽和腋芽酵母双杂交 cDNA 文库的构建及 SOC1a 互作蛋白的筛选

黄欢¹, 张佳丽¹, 杨雪¹, 陈丽玉^{1,2}, 岳琳^{1,2}, 刘宝辉^{1,2*}, 杨慧^{1,2*}

¹广州大学生命科学学院/分子遗传与进化创新研究中心, 广州 510006; ²广东省植物适应性与分子设计重点实验室, 广州 510006

摘要 为研究大豆(*Glycine max*)株型发育形成的分子机制, 以大豆“Williams 82”为材料, 分别取长短日照下不同发育时期植株的顶芽和腋芽, 提取 RNA 后等量混合, 采用 Gateway 方法构建酵母双杂交核系统 cDNA 文库, 并对文库进行了转录本多样性分析。实验结果表明, 构建的文库库容为 1.2×10^7 CFU, 插入片段重组率达 100%且平均长度大于 1 000 bp, 包含 29 170 个基因, 符合建库的标准, 可用于后续酵母双杂交的筛选。以大豆开花期和株型重要调控因子 SOC1a 为诱饵, 构建 pGBKT7-SOC1a 诱饵蛋白表达载体, 经毒性和自激活活性检测后, 利用构建的大豆顶芽和腋芽 cDNA 文库进行筛选, 共获得 32 个阳性克隆。进一步通过 DNA 测序及 BLAST 比对和功能注释分析, 得到 14 个与 SOC1a 互作的候选蛋白。其中, 克隆了 5 个候选蛋白, 并将其编码基因构建到 pGADT7 载体上, 然后分别与 pGBKT7-SOC1a 进行一对一的回转验证, 实验结果显示其中 2 个候选蛋白与 SOC1a 发生互作。进一步通过免疫共沉淀和荧光素酶互补实验证明了 SEP2 蛋白和 SOC1a 蛋白的互作关系。综上, 本研究成功构建了大豆顶芽和腋芽酵母双杂交核系统 cDNA 文库, 鉴定到的与 SOC1a 互作的蛋白将为从分子水平探究 SOC1a 调控大豆株型发育的机制提供理论基础。

关键词 大豆, 顶芽和腋芽, cDNA 文库, SOC1a, 酵母双杂交

大豆(*Glycine max*)作为世界重要的粮油饲兼用作物, 是人类和动物蛋白质的主要来源之一。随着我国经济的快速增长和生活水平的显著提高, 大豆已成为我国进口量位居首位的农产品, 因此, 迫切需要通过提升大豆的单产来解决国内大豆供需不平衡的问题。大豆的产量是由多基因控制的数量性状, 单产构成因素主要包括单位面积上的株数、每株有效荚数、每荚有效粒数和百粒重, 而这些因素与植株的株型密切相关, 如主茎的节数、节间距和分枝数等。近些年来的研究表明, 通过改变株型优化作物农艺性状, 是实现大豆产量突破的重要策略之一(Liang et al., 2022; Li et al., 2023; Qin et al., 2023)。¹

收稿日期: 2025-04-09; 接受日期: 2025-07-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No.32372078, No.32472164, No.32372158)和广东省基础与基础研究基金项目(No.2024A1515030288)

* 通讯作者。E-mail: yanghui90@gzhu.edu.cn; liubh@gzhu.edu.cn

株型由植物器官的数量和比例、排列方式、附着角度和空间方位等因素构成(Wang et al., 2018; Liu et al., 2021; Clark and Ma, 2023)。在开花植物中,株型受到分生组织的布局和活性及其后续发育的严格调控,并在此过程中也极易受到环境条件的影响(Wang et al., 2018; 曹婕等, 2025)。株型的差异显著影响作物产量,因此在驯化和改良过程中,改善作物株型对提升产量至关重要(Wang et al., 2018; Liu et al., 2020; Clark and Ma, 2023)。大豆株型的主要组成包括茎生长习性、株高、节数、节间距、分枝数、茎粗、叶柄夹角、叶片大小和形状以及每荚种子数等。这些重要的农艺性状主要通过光能利用效率、养分分配、抗逆性等方面以多种相互关联的方式影响大豆的产量(Wang et al., 2018; Clark and Ma, 2023)。

株型是植物从幼苗到成熟植株整个生命周期中持续发育和变化的结果,主要反映了分生组织的活动(Wang et al., 2018; Zhu and Wagner, 2020)。顶端分生组织 (shoot apical meristem, SAM)作为干细胞库,为植物整个地上器官的产生提供了细胞。SAM 可分为不同的区域和细胞层(Reddy 2008)。SAM 顶端的中心区域(central zone, CZ)保持着完整的细胞全能性,既能通过不断分裂来维持自身干细胞的自我更新,又能在各种因子的诱导下,特异分化形成组织中心区域(organizing center, OC)、周边组织区域(peripheral zone, PZ)、以及肋分生组织区域(rib zone, RZ)。OC 负责介导不同区域之间的信号以及干细胞的传递,在 SAM 发育和维持中起着关键作用;PZ 进一步分裂分化,形成叶原基细胞和腋生分生组织(axillary meristem, AM),PZ 是 AM 形成的核心区域;RZ 位于 SAM 的基部,包含负责形成干细胞组织的细胞(Hou et al., 2024)。植物的分枝发育源于 AM, AM 在叶腋中发育并形成腋芽,随后再进一步生长成营养性的次生枝条,但在某些条件下腋芽也可能长成花序,或者一直处于休眠状态直到其生长被激活(Wang et al., 2018)。根据细胞层, SAM 可分为表皮层(L1)、亚表皮层(L2)和器官层(L3)。L1 和 L2 层的细胞通过逆时针分裂最终产生表皮细胞和叶肉细胞;而 L3 层细胞则以随机方向进行分裂,形成叶和茎的内部组织(Meyerowitz, 1997; Weigel and Jürgens, 2002; Williams and Fletcher, 2005)。

*SOC1 (SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1)*是植物开花调控网络中的关键整合因子,属于 MADS-box 转录因子家族。在拟南芥中, *SOC1* 通过整合光周期、春化、赤霉素和年龄途径等信号,调控开花时间(Lee et al., 2000; Moon et al., 2003; Liu et al., 2008; Lee and Lee, 2010; Immink et al., 2012; 张长生等, 2021)。在大豆中, *SOC1* 有四个同源基因,分别是 *SOC1a*、*SOC1b*、*SOC1c* 和 *SOC1d*(Zhong et al., 2012)。近些年来,关于

SOC1 基因的功能研究不断深入, 其在大豆生长发育中的多重作用也逐渐被揭示。在开花调控方面, *SOC1a* 和 *SOC1b* 可与 *AP1c* 在茎顶端生长点相互作用, 激活 *LFY* 和 *AP1c* 基因的表达, 促进开花(Kou et al., 2022; Li et al., 2024); 同时, *AP1c* 也可直接抑制 *SOC1* 基因的表达, 从而防止植物过早开花(Kou et al., 2022; Li et al., 2024)。此外, 在叶片中, *SOC1a* 和 *SOC1b* 被证明可直接结合 *FT5a* 和 *FT2a* 的调控序列, 增强其转录, 从而促进大豆开花(Kou et al., 2022)。在分枝数调控方面, *SOC1a* 与 *AGL22* 和 *Dt2* 在蛋白水平上互作, 增强了 *Dt2* 对于两个分枝抑制基因 *AP1a* 和 *AP1d* 的转录激活效应, 减少分枝(Liang et al., 2022); 在茎生长习性调控方面, *SOC1-Dt2* 复合体能够直接抑制大豆茎生长习性关键调控基因 *Dt1* 的表达, 从而抑制节数的形成(Liu et al., 2010; Tian et al., 2010)。

顶芽(包含 *SAM* 和 *AM*)与腋芽(包含 *AM*)在植物的生长、发育及产量构建中具有关键的调控作用, 其生长发育状态直接塑造了植株的空间构型与物质积累模式。然而目前大豆上关于构建顶芽和/或腋芽的 cDNA 文库较少。本研究利用 Gateway 方法构建了大豆顶芽和腋芽混合 cDNA 酵母文库, 并对文库进行了质量鉴定、评估及转录本多样性的分析, 以期筛选与大豆重要株型调控因子的互作蛋白及后续深入探究互作蛋白的功能奠定基础; 此外, 通过对大豆 *SOC1a* 互作蛋白的筛选和验证, 为进一步解析 *SOC1a* 调控大豆株型发育的分子机制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 植物材料

以大豆(*Glycine max* (L.) Merr.)品种“Williams 82”为实验材料, 分别种植于长日照植物培养箱(16 小时光照/8 小时黑暗, 25°C)和短日照植物培养箱(12 小时光照/12 小时黑暗, 25°C)条件下。取长日照下出苗后 7 天, 15 天, 20 天, 25 天和 30 天, 以及短日照下出苗后 7 天, 15 天和 20 天的顶芽(图 1A, B)和腋芽(图 1A, C), 每个时期至少取 10 个单株, 将样品液氮速冻后放置于-80°C 超低温冰箱保存。

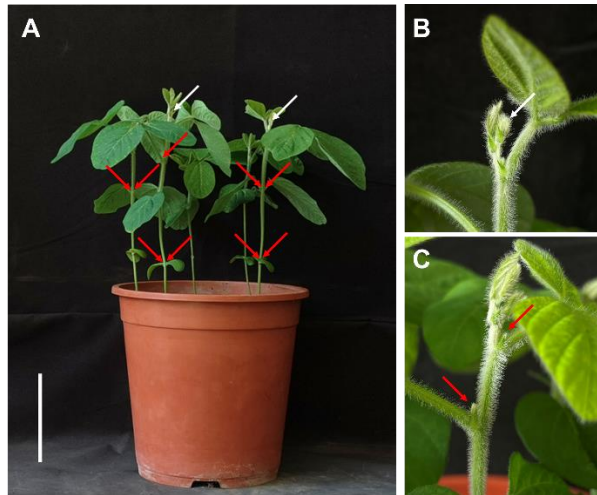


图 1 大豆植株的顶芽和腋芽

(A) 顶芽和腋芽在大豆植株上的位置(bar=10 cm); (B) 大豆植株顶芽部位特写; (C) 大豆植株腋芽部位特写。白色箭头指示顶芽位置, 红色箭头指示腋芽位置。

Figure 1 Shoot apices and axillary buds of soybean plants

(A) Positions of soybean shoot apices and axillary buds (bar=10 cm); (B) A close-up view of the shoot apex region; (C) A close-up view of the axillary bud region. White arrows indicate shoot apices; red arrows represent axillary buds.

1.1.2 菌株和载体

菌株包括: 大肠杆菌 *E.coli* 菌株 DH5 α 、农杆菌菌株 GV3101、酵母菌株 Y187 和 Y2HGold; 载体包括: pTF101、pAN580、pDONR222、pGBKT7、pGADT7, pGBKT7-lam、pGBKT7-53、pGADT7-T、pCAMBIA1300-nLUC 和 pCAMBIA1300-cLUC。以上菌株和载体均由本实验室保存。

1.1.3 试剂和药品

CloneMiner II cDNA Library Construction Kit cDNA 用于酵母文库构建, TRIzol Reagent 试剂盒用于 RNA 抽提, FastTrack MAG mRNA isolation Kit 用于 mRNA 分离, SuperScript III First-Strand Synthesis System for RT-PCR 用于 cDNA 的合成, PureLink Quick Gel Extraction and PCR Purification Combo Kit 用于凝胶提取和 PCR 产物纯化, PureLink™ HQ Mini Plasmid DNA Purification Kit 用于质粒 DNA 的抽提。UltraPure Agarose、Platinum Taq DNA Polymerase、100 mM d NTP Set 以及上述试剂盒均购自美国 Invitrogen 公司; 酵母一缺培养基 SD/-Trp(TDO)、酵母二缺培养基 SD/-Leu/-Trp(DDO)、酵母三缺培养基 SD/-His/-Leu/-Trp(TDO)、酵母四缺培养基 SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp(QDO)和 X- α -Gal 购自宝生物工程(大连)有限公司, 3-氨基-1,2,4-三唑(3-AT)购自山东科源生化有限公司。HA-Nanoab-Magnetic beads 和 SDS-PAGE sample loading buffer (5 \times)购自兰博利德商贸有限公司。HA 和 FLAG

抗体购自全式金生物技术有限公司。荧光素酶底物 D-荧光素钾盐溶液购自科跃中楷生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 总 RNA 的提取, mRNA 的分离和纯化, 及 cDNA 的合成

取上述 1.1.1 长短日照条件下不同发育时期大豆植株的顶芽和腋芽样品, 按照 Trizol 法提取总 RNA, 然后通过琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计法(NanoDrop)对总 RNA 质量进行检测。参考 FastTrack MAG mRNA isolation Kit 说明书分离纯化 mRNA, 并通过琼脂糖凝胶电泳鉴定分离结果。按照 CloneMiner II cDNA 文库构建试剂盒使用说明, 将纯化后的 mRNA 进行反转录合成 cDNA 第一链, 进一步延伸得到与 cDNA 第一链互补的第二条 cDNA 链, 既 ds-cDNA(double-strand cDNA), 将 ds-cDNA 与三框 attB1 重组接头连接, 再进行 cDNA 分级分离及收集, 得到所需的带有接头的 cDNA。

1.2.2 酵母双杂交核系统 cDNA 文库构建

参考 CloneMiner 说明书构建 cDNA 文库。首先将获得的 cDNA 进行 BP 重组反应, 与 pDONR222 载体进行连接, 将重组载体转化大肠杆菌 DH10B 感受态细胞, 获得初级文库菌液, 并进行库容量鉴定及菌落 PCR 鉴定(F: 5'-GTAAAACGACGGCCAG-3', R: 5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3')。然后将验证合格的初级文库用肉汤培养基振荡培养, 收集菌液进行质粒抽提得到初级文库质粒。稀释初级文库质粒进行 LR 重组反应, 与 pGADT7-DEST 载体进行连接, 将重组载体转化大肠杆菌 DH10B 感受态细胞, 获得次级文库菌液, 并进行库容量鉴定及菌落 PCR 鉴定(F: 5'-TAATACGACTCACTATAGGGC-3', R: 5'-AGATGGTGCACGATGCACAG-3')。再将验证合格的次级文库用肉汤培养基振荡培养, 收集菌液进行质粒抽提得到次级文库质粒。将次级文库质粒转化酵母菌株 Y187, 在 SD/-Leu 平板上检测转化效率并筛选收集转化子, 获得酵母 AD 文库菌液, 并进行库容量鉴定及菌落 PCR 鉴定(F: 5'-TAATACGACTCACTATAGGGC-3', R: 5'-AGATGGTGCACGATGCACAG-3')。

参考 CloneMiner 说明书, 对库容、插入片段长度和重组率进行鉴定。库容(每毫升文库菌液库容量) CFU/mL = 平板上的单克隆数/平板上涂布菌液的体积(μL) $\times n \times 1000$ (μL), 其中 n 是原始菌液的稀释倍数。总的文库库容 CFU = CFU/mL \times 文库菌液的总体积; 插入片段平均长度是随机挑选 24 个菌落 PCR 所得到的插入片段长度的平均值; 重组率是菌落 PCR 中阳性插入片段的克隆占总检测克隆数的比例。

1.2.3 cDNA 文库质粒 PCR 建库及二代测序分析

以 cDNA 文库质粒为模板, 使用文库载体引物(F: 5'-TAATACGACTCACTATAGGGC-3', R: 5'-AGATGGTGACGATGCACAG-3')进行 PCR 扩增, 随后将产物片段化并连接测序接头构建文库, 经 Illumina 平台进行双端测序。获得原始数据后, 首先通过质量过滤获得 clean reads, 随后利用 HISAT2 (Kim et al., 2015)将高质量序列比对至大豆参考基因组 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Gmax_Wm82_a2_v1)进行基因注释。

1.2.4 SOC1a 蛋白的亚细胞定位

为了确定 SOC1a 在细胞中发挥功能的部位, 对 SOC1a 蛋白进行亚细胞定位。首先利用同源重组法分别构建 pTF101-SOC1a-GFP (引入 *Avr II* 和 *Spe I* 酶切位点, F: 5'-GACTCTAGACTTAAGCCTAGGATGGTGAGAGGAAAGACTCAGATG-3', R: 5'-CACCATTGGCGCGCCACTAGTGATAGACCTGGGTAGTCCAATGAA-3') 和 pAN580-SOC1a-GFP (引入 *Xba I* 和 *BamHI* 酶切位点, F: 5'-AAGTCCGGAGCTAGCTCTAGAATGGTGAGAGGAAAGACTCAGATG-3', R: 5'-GCCCTTGCTCACCATGGATCCGATAGACCTGGGTAGTCCAATGAA-3')表达载体。然后将其分别瞬时转入烟草表皮细胞和拟南芥原生质体中进行培养, 再用激光共聚焦显微镜观察 GFP 荧光信号。

1.2.5 pGBKT7-SOC1a 诱饵载体的构建

根据 SOC1a 基因(*Glyma.18G224500*)编码序列设计引物, 分别引入 *EcoRI* 和 *BamHI* 酶切位点(F: 5'-CATGGAGGCCGAATTCATGGTGAGAGGAAAGACTCAGATG-3', R: 5'-GCAGGTGCGACGGATCCCTAGATAGACCTGGGTAGTCCAATG-3')。以大豆 Williams82 茎顶端生长点 cDNA 为模板扩增并回收 SOC1a 片段, 对 pGBKT7 载体进行 *EcoRI* 和 *BamHI* 双酶切并回收线性化载体, 然后采用重组法将上述目的片段和线性化载体连接, 重组产物转化 DH5 α 大肠杆菌感受态细胞, 涂布于含 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 卡那霉素(Kanamycin, Kana)的 LB 平板, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 12–16 小时。挑取单克隆 PCR 鉴定后, 将阳性克隆送测序验证, 将测序正确的单克隆菌液进行质粒抽提。

1.2.6 诱饵蛋白毒性及自激活活性检测

将表 1 中的载体组合分别转入酵母 Y2HGold 感受态。将含编号 1 载体组合的酵母菌液涂布于 TDO 平板上, 30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温倒置培养 3–5 天, 观察生长情况, 以确定诱饵蛋白对酵母细胞的

毒性。将含编号 2、3、4 载体组合的酵母菌液分别涂布于 DDO、TDO、QDO/X 平板上, 30°C 恒温倒置培养 3–5 天, 观察生长情况, 以确定诱饵蛋白的自激活活性。

表 1 毒性及自激活活性检测实验的不同载体组合

Table 1 Plasmid combinations for toxicity and self-activation assays			
No.	Prey plasmid	Bait plasmid	Utilization
1	–	pGBKT7-SOC1a	Toxicity assay
2	pGADT7-T	pGBKT7-53	Positive control
3	pGADT7-T	pGBKT7-lam	Negative control
4	pGADT7	pGBKT7-SOC1a	Self-activation assay

1.2.7 cDNA 文库筛选

本实验通过 mating 法进行酵母文库筛选, 具体方法如下。首先, 将诱饵质粒 pGBKT7-SOC1a 转化酵母感受态 Y2HGold, 取 4–5 mL 含诱饵质粒 pGBKT7-SOC1a 的新鲜酵母菌液, 与 1 mL 酵母 AD 文库菌液混合加入到 2L 的灭菌锥形瓶中, 加入 45 mL 含 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Kana 的 2 \times 酵母膏腺葡萄糖琼脂培养基 (yeast extract peptone dextrose medium with agar, YPDA) 液体培养基中, 在 30°C 摇床低速振荡培养 20–24 小时, 在 40 \times 显微镜下观察酵母杂交液中是否出现三叶草状结合子。

离心后, 收集菌体, 重悬于含 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Kana 的 0.9% NaCl 液体培养基中, 将菌液涂布 QDO 初筛平板, 30°C 恒温培养 3–5 天。挑取初筛平板上的单克隆, 分别于 10 μL 的 0.9% NaCl 液体中震散混匀, 吸取 2.5 μL 菌液分别点在 DDO、QDO/X 平板上, 晾干, 30°C 恒温倒置培养 3–5 天, 进一步观察酵母克隆生长情况。挑取 QDO/X 培养基上生长的单菌落进行菌落 PCR (F: 5'-TAATACGACTCACTATAGGGC-3', R: 5'-AGATGGTGCACGATGCACAG-3'), 然后进行扩增片段大小的鉴定、测序以及 BLAST 比对分析。去除空载和重复序列后, 确定阳性克隆的序列信息, 即为 SOC1a 的候选互作蛋白。

1.2.8 点对点回转验证

克隆候选互作蛋白的编码基因, 参考 1.2.3 中的载体构建方法, 将候选互作蛋白的编码基因插入到 pGADT7 中 (引物中分别引入 *EcoR* I 和 *Bam*HI 酶切位点; COP9-F: 5'-GGAGGCCAGTGAATTCATGCAAGGCAAAGAAATGGAAG-3', COP9-R: 5'-CGAGCTCGATGGATCCACTTTCAATCATTGGTTCGGGAC-3'; SEP2-F: 5'-GGAGGCCAGTGAATTCATGGGGAGGGGAAGAGTGGGA-3', SEP2-R: 5'-CGAGCTCGATGGATCCAAGCATCCATCCAGGAATAAATC-3'; ZFP-F: 5'-GGAGGCCAGTGAATTCATGGCGGATCCGAAAGCCT-3', ZFP-R: 5'-

CGAGCTCGATGGATCCGCAAGCCGAATCGCCACCT-3'; IAA14-F: 5'-
 GGAGGCCAGTGAATTCATGGAGGTTGGCCTCAACAAG-3', IAA14-R: 5'-
 CGAGCTCGATGGATCCGCTCCTGTTCTTGGATTTTGC-3'; 11G-F: 5'-
 GGAGGCCAGTGAATTCATGCCAAAGGAGAGAAGGGATAGAT-3', 11G-R: 5'-
 CGAGCTCGATGGATCCTGGTGGAGGTGTCCGCCGCC-3'), 构建 pGADT7 重组载体。

将表 2 中的载体组合分别转入酵母 Y2HGold 感受态涂布于 DDO 平板上, 30°C 恒温倒置培养 3–5 天, 待菌斑生长至 2–3 mm, 挑取 3 个菌斑各自于 10 μL 0.9% NaCl 溶液中震散混匀, 分别点到 DDO 和 QDO/X 平板上, 30°C 条件下倒置培养 3–5 天, 直至菌落长出。

表 2 回转验证中的不同载体组合

Table 2 Different plasmid combinations retransformed in yeast cells

No.	Prey plasmid	Bait plasmid	Utilization
1	pGADT7-T	pGBKT7-53	Positive control
2	pGADT7-T	pGBKT7-lam	Negative control
3	pGADT7	pGBKT7-SOC1a	Self-activation test
4	pGADT7-COP9	pGBKT7	Self-activation test
5	pGADT7-SEP2	pGBKT7	Self-activation test
6	pGADT7-ZFP	pGBKT7	Self-activation test
7	pGADT7-IAA14	pGBKT7	Self-activation test
8	pGADT7-11G	pGBKT7	Self-activation test
9	pGADT7-COP9	pGBKT7-SOC1a	Experimental group
10	pGADT7-SEP2	pGBKT7-SOC1a	Experimental group
11	pGADT7-ZFP	pGBKT7-SOC1a	Experimental group
12	pGADT7-IAA14	pGBKT7-SOC1a	Experimental group
13	pGADT7-11G	pGBKT7-SOC1a	Experimental group

1.2.9 免疫共沉淀实验(Co-immunoprecipitation assay, Co-IP)

利用同源重组法分别构建 pTF101-SOC1a-6xHA (引入 *AvrII* 和 *MluI* 酶切位点, F: 5'-GACTCTAGACTTAAGCCTAGGATGGTGGAGAGGAAAGACTCAGATG-3', R: 5'-ATCGTATGGGTACATACGCGTGATAGACCTGGGTAGTCCAATGAA-3') 和 pTF101-SEP2-3xFLAG (引入 *XbaI* 和 *BamHI* 酶切位点, F: 5'-GAGAACACGGGGGACTCTAGAATGGGGAGGGGAAGAGTGGA-3', R: 5'-ATCCTTGTAGTCCATGGATCCTCAAAGCATCCATCCAGGAAT-3') 表达载体。将构建成功的载体分别转化农杆菌 GV3101。以 pTF101-SOC1a-6xHA 和 pTF101-GFP-3xFLAG 为阴性对照, pTF101-SOC1a-6xHA 和 pTF101-SEP2-3xFLAG 为实验组, 将 2 种混合菌液组合分别

注射烟草, 光照培养 48 至 72 小时后取样, 于液氮中研磨充分。将预冷的 RIPA lysis buffer (20% Glycerol, 2% Triton X-100, 150 mmol·L⁻¹ NaCl, 50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl pH7.4, 1 mmol·L⁻¹ PMSF, 1× cocktail) 加入到样品中, 冰上静置裂解后离心, 获得蛋白提取液。取 2 份 30 μL 的 HA-Nanoab-Magnetic beads 用 1 mL wash buffer (2% Triton X-100, 20% Glycerol, 150 mmol·L⁻¹ NaCl, 50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl pH7.4) 洗涤 3 次, 分别加入到蛋白提取液中。各取 20 μL 的蛋白提取液作为 Input, 加入 5 μL SDS-PAGE sample loading buffer (5×), 沸水中煮 8 分钟, 收集上清备用。剩余提取液放置 4°C 摇床孵育 3 小时, 于冰上用磁力架吸附 beads, 去除上清, 加入 1 mL wash buffer 清洗, 重复 3 次。取 100 μL wash buffer 重悬 beads, 加入 25 μL SDS-PAGE sample loading buffer (5×), 沸水中煮 8 分钟, 收集上清作为 Output。最后将 Input 和 Output 样品分别用 HA 和 FLAG 抗体进行 western blot 检测。

1.2.10 荧光素酶互补实验(Luciferase complementation imaging assay, LCI)

利用同源重组法分别构建 pCAMBIA1300-SOC1a-nLUC (引入 *KpnI* 和 *SalI* 酶切位点, F: 5'-GACGAGCTCGGTACCATGGTGAGAGGAAAGACTCAGATG-3', R: 5'-CGAGATCTGGTCGACGATAGACCTGGGTAGTCCAATGAA-3') 和 pCAMBIA1300-SEP2-cLUC (引入 *KpnI* 和 *SalI* 酶切位点, F: 5'-TCCCGGGGCGGTACCATGGGGAGGGGAAGAGTGGA-3', R: 5'-GCTCTGCAGGTCGACTCAAAGCATCCATCCAGGAAT-3') 载体。将构建成功的载体分别转化农杆菌 GV3101, 并配置不同的菌液组合, 实验组: pCAMBIA1300-SOC1a-nLUC 和 pCAMBIA1300-SEP2-cLUC, 阴性对照组 1: pCAMBIA1300-SOC1a-nLUC 和 pCAMBIA1300-GUS-cLUC, 阴性对照组 2: pCAMBIA1300-GUS-nLUC 和 pCAMBIA1300-SEP2-cLUC。将烟草叶片分为三个区域, 分别注射以上三种不同的菌液组合。注射后的烟草叶片在光照培养箱中培养 48 至 72 小时, 随后于相同部位注射荧光素酶底物 D-荧光素钾盐溶液, 暗置 5 分钟, 置于活体成像系统中检测荧光信号, 并拍照记录。

2 结果与分析

2.1 大豆酵母双杂交核系统 cDNA 文库构建与分析

本研究提取了大豆 Williams 82 不同发育时期顶芽和腋芽组织的总 RNA, 琼脂糖凝胶电泳结果所示(图 2A), 核糖体 28S 和 18S 条带明亮清晰, RNA 浓度为 1 683.1 ng·μL⁻¹, OD₂₆₀/

OD₂₈₀ 为 2.14, OD₂₆₀/OD₂₃₀ 为 2.21, 表明提取的总 RNA 质量良好, 可以进行后续 mRNA 的分离(图 2B)和 cDNA 的合成(图 2C)。

将 ds-cDNA 与三框 attB1 重组接头连接, BP 重组反应后转化大肠杆菌 DH10B, 将重组载体转化大肠杆菌 DH10B 感受态细胞, 获得初级文库, 文库质量检测结果显示, cDNA 初级文库总克隆数为 1.92×10^7 CFU, 重组率 100%, 平均插入片段长度 >1 000 bp (图 2D, E)。抽提初级文库质粒进行 LR 重组反应, 将重组载体转化大肠杆菌 DH10B 感受态细胞, 获得次级文库, 文库质量检测结果显示, 次级文库总克隆数为 1.20×10^7 CFU, 重组率 100%, 平均插入片段长度 >1 000 bp (图 2F, G)。将次级文库质粒转化酵母菌株 Y187 获得酵母文库, 文库质量检测结果显示, 滴度为 1.10×10^8 cells·mL⁻¹, 酵母克隆 PCR 鉴定结果显示平均插入片段长度 >1 000 bp (图 2H, I)。以上结果表明, 所构建的酵母文库符合双杂交筛选的要求, 可用于后续实验筛选。

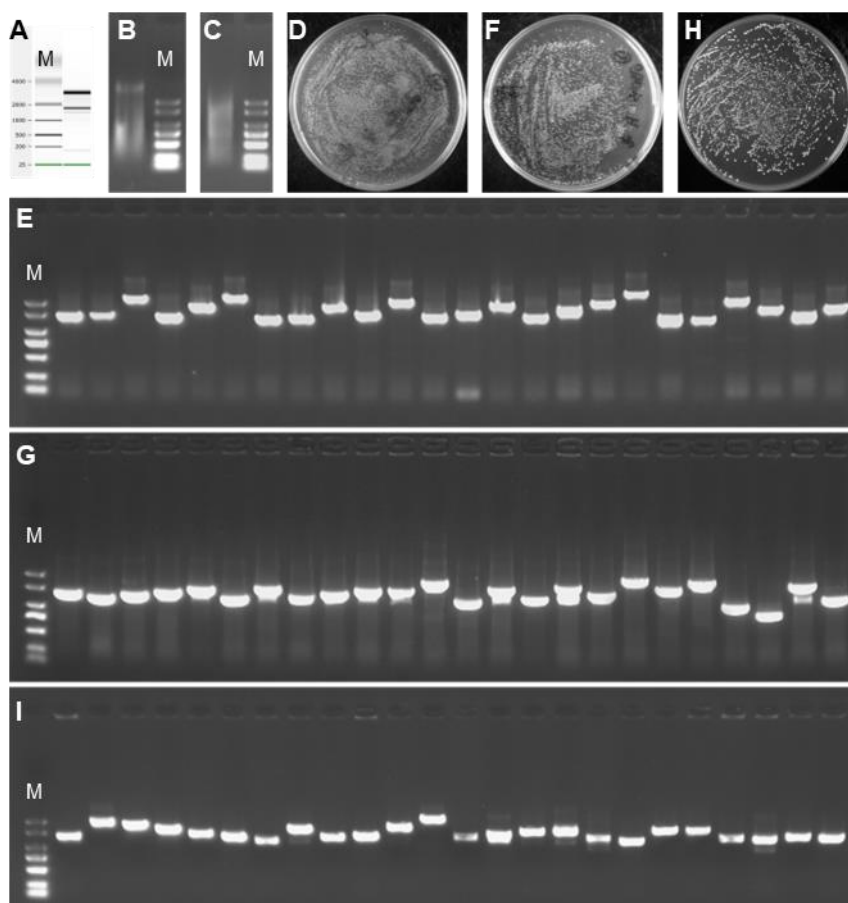


图 2 大豆核体系酵母 cDNA 文库构建

(A) 总 RNA 琼脂糖凝胶电泳检测结果(M: RL 4000 RNA Marker); (B) 分离的 mRNA 琼脂糖凝胶电泳检测结果(M: DL 2000 DNA Marker); (C) 反转录双链 cDNA 的琼脂糖凝胶电泳检测结果(M: DL 2000 DNA Marker); (D) 初级文库库容鉴定; (E) 初级文库插入片段的 PCR 检测(M: DL 2000 DNA Marker); (F) 次级文库库容鉴定

定; (G) 次级文库插入片段 PCR 检测(M: DL 2000 DNA Marker); (H) 酵母文库滴度鉴定; (I) 酵母文库插入片段 PCR 检测(M: DL 2000 DNA Marker)

Figure 2 Construction of soybean nuclear system yeast cDNA library

(A) Agarose gel electrophoresis of total RNA (M: RL 4000 RNA Marker); (B) Agarose gel electrophoresis of mRNA (M: DL 2000 DNA Marker); (C) Agarose gel electrophoresis of ds-cDNA (M: DL 2000 DNA Marker); (D) Identification of primary library capacity; (E) PCR examination of inserted fragments in primary library (M: DL 2000 DNA Marker); (F) Identification of secondary library capacity; (G) PCR examination of inserted fragments in secondary library (M: DL 2000 DNA Marker); (H) Assessment of yeast library titer; (I) PCR examination of inserted fragments in yeast library (M: DL 2000 DNA Marker)

2.2 cDNA 文库的转录本多样性分析

为进一步检测构建的 cDNA 文库的转录本多样性, 我们以文库质粒为模板, 通过 PCR 文库和二代测序的方法, 分析了文库中基因的种类及丰度。结果显示, 二代测序共获得 5.76 G 的 clean data, Q30 碱基分布在 90.77%; 比对参考基因组后, 对蛋白编码基因进行注释, 共获得 29 170 个基因(附表 1), 其中包括已知的大豆株型相关基因, 如 *Dt2* (Ping et al., 2014; Kou et al., 2021; Liang et al., 2022)、*AGL22* (Liang et al., 2022)、*FULc* (Sun et al., 2025)、*AP1* (Chen et al., 2020; Yue et al., 2021)、*RIN1* (Li et al., 2023)、*ILPA1* (Sun et al., 2023)、*SPL9* (Bao et al., 2019)和 *SWEET11/21* (Su et al., 2024) (附表 1)。以上结果说明, 本研究构建的 cDNA 文库包含的转录本丰富, 可用于后续的酵母双杂交文库筛选。

2.3 大豆 SOC1a 蛋白的亚细胞定位分析

将 pTF101-GFP 空载体(对照组)与重组表达载体 pTF101-SOC1a-GFP 菌液用烟草侵染液悬浮后, 注射烟草叶片, 三天后, 取叶片于激光共聚焦显微镜下观察绿色荧光蛋白的激光信号。结果显示(图 3A), 对照组的 GFP 蛋白可在细胞核、细胞膜和细胞质中检测到激光信号; SOC1a-GFP 与对照组蛋白结果一致, 在细胞核、细胞膜和细胞质中均检测到激光信号。

采用 PEG 介导法, 将 pAN580-GFP 空载体(对照组)与重组表达载体 pAN580-SOC1a-GFP 分别转化拟南芥叶肉原生质体, 培养 18 小时后, 吸取拟南芥原生质体于激光共聚焦显微镜下进行荧光检测。结果显示(图 3B), 对照组的 GFP 蛋白可在细胞核、细胞膜和细胞质中检测到激光信号; SOC1a-GFP 与对照组蛋白结果一致, 在细胞核、细胞膜和细胞质中均检测到激光信号。

以上两种方法检测结果与前人的研究结论部分一致(Zhong et al., 2012; Na et al., 2013), 推测大豆 SOC1a 蛋白可能在细胞核、细胞质和细胞膜上均发挥作用, 因此可以用于核系统双杂交 cDNA 文库的互作蛋白筛选。

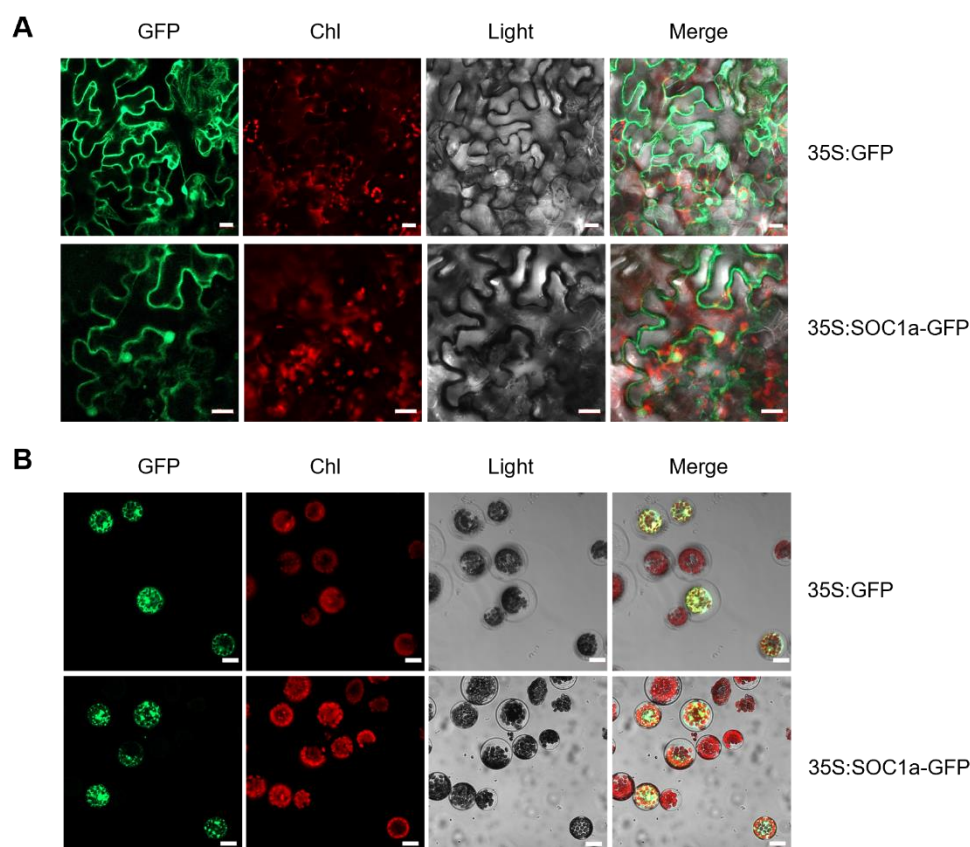


图 3 SOC1a 蛋白的亚细胞定位

GFP 和 SOC1a-GFP 融合蛋白分别在烟草表皮细胞(A)和拟南芥原生质体细胞(B)中的瞬时表达。GFP: 绿色荧光蛋白; Chl: 叶绿素荧光; Light: 白光; Merge: 合并。Bars=20 μm

Figure 3 Subcellular localization of SOC1a

Transient expression of GFP and SOC1a-GFP fusion protein in tobacco epidermal cells (A) and *Arabidopsis* protoplasts (B). GFP: Green fluorescent protein; Chl: Chlorophyll autofluorescence; Light: Bright-field image; Merge: Merged channels. Bars=20 μm

2.4 pGBKT7-SOC1a 毒性与自激活活性检测

根据 SOC1a 基因 CDS 序列设计引物, 通过重组法将目标序列连接到载体 pGBKT7 上, 构建诱饵载体 pGBKT7-SOC1a。将 pGBKT7-SOC1a 载体转入 Y2HGold 酵母菌株并涂布于 TDO 筛选平板上, 然后利用菌落 PCR 对平板上的单克隆进行 PCR 检测。结果显示 pGBKT7-SOC1a 载体成功转入酵母细胞, 且对酵母无毒性, 可在 TDO 平板上正常生长(图 4A)。

将 pGBKT7-SOC1a 和 pGADT7 载体共转化 Y2HGold 酵母菌株进行自激活活性检测。结果显示(图 4B–J, 表 3), 阳性对照和阴性对照生长情况与预计相符合, 说明实验体系对照成立。自激活检测组在 DDO 筛选平板上可正常生长, 但在 TDO 和 QDO/X 上不能生长, 说明构建的诱饵载体 pGBKT7-SOC1a 无自激活现象, 可用于后续酵母文库筛选。

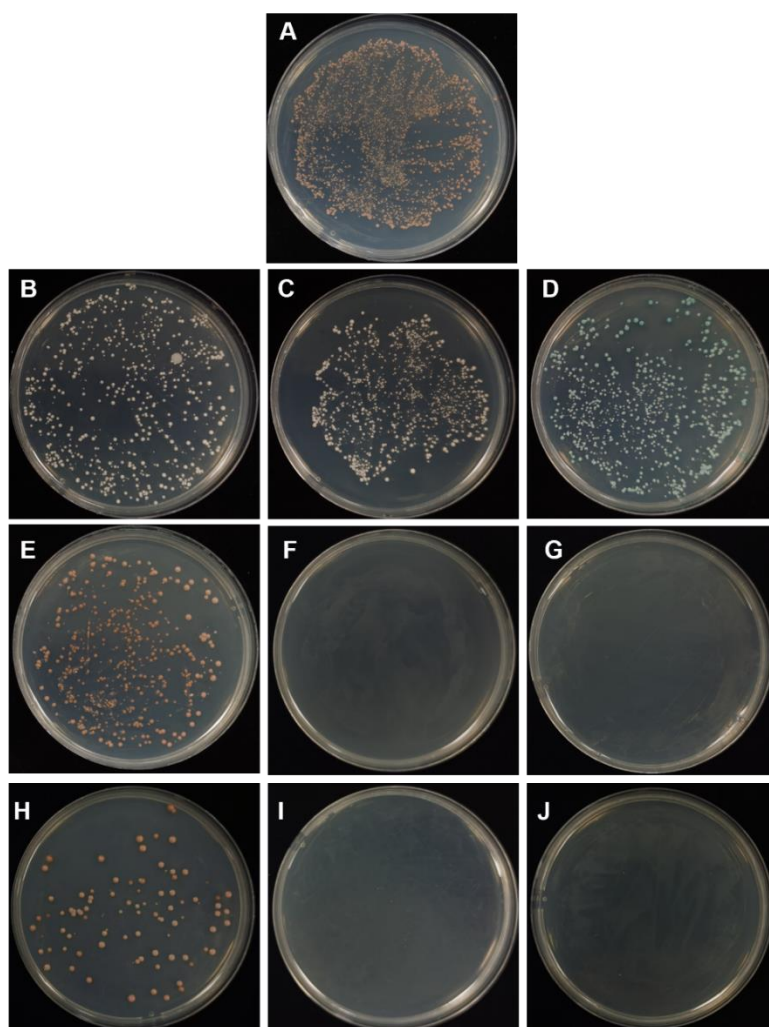


图 4 pGBKT7-SOC1a 诱饵载体的毒性及自激活活性检测

(A) 转 pGBKT7-SOC1a 载体的酵母在 SD/-Trp 平板的生长情况; (B) - (D) 阳性对照 pGBKT7-53+pGADT7-T 在 DDO、TDO、QDO/X 平板的生长情况; (E)-(G) 阴性对照 pGBKT7-lam+pGADT7-T 在 DDO、TDO、QDO/X 平板的生长情况; (H)-(J) pGBKT7-SOC1a+pGADT7 在 DDO、TDO、QDO/X 平板的生长情况。

Figure 4 Examination of the toxicity and self-activation of pGBKT7-SOC1a

(A) Growth status of yeast cells containing pGBKT7-SOC1a recombinant vector on SD/-Trp plate; (B)-(D) Growth status of yeast cells containing positive control (pGBKT7-53 + pGADT7-T) on DDO, TDO, and QDO/X plates; (E)-(G) Growth status of yeast cells containing negative control (pGBKT7-lam + pGADT7-T) on DDO, TDO, and QDO/X plates; (H)-(J) Growth status of yeast cells containing pGBKT7-SOC1a and pGADT7 on DDO, TDO, and QDO/X plates.

表 3 自激活检测与平板单克隆生长情况描述

Utilization	Prey plasmid	Bait plasmid	DDO	TDO	QDO/X
Positive control	pGADT7-T	pGBKT7-53	Normal growth	Normal growth	Normal growth with blue clones
Negative control	pGADT7-T	pGBKT7-lam	Normal growth	No growth	No growth
Self-activation assay	pGADT7	pGBKT7-SOC1a	Normal growth	No growth	No growth

2.5 酵母双杂交文库筛选与 SOC1a 互作的蛋白

以 pGBKT7-SOC1a 为诱饵, 采用 Mating 法筛选构建的大豆顶芽和腋芽的 cDNA 文库。初筛共获得 50 个阳性克隆, 经 DDO 和 QDO/X 培养基进一步点板验证(图 5), 发现其中 32 个克隆在 QDO/X 培养基上表现出稳定生长特性(图 5)。通过菌落 PCR、测序及 BLAST 比对, 最终鉴定到 14 个特异基因(去除重复克隆) (表 4), 其功能注释涉及参与碳水化合物代谢、酶反应、RNA 合成、蛋白质合成和激素代谢等多种生物学过程。

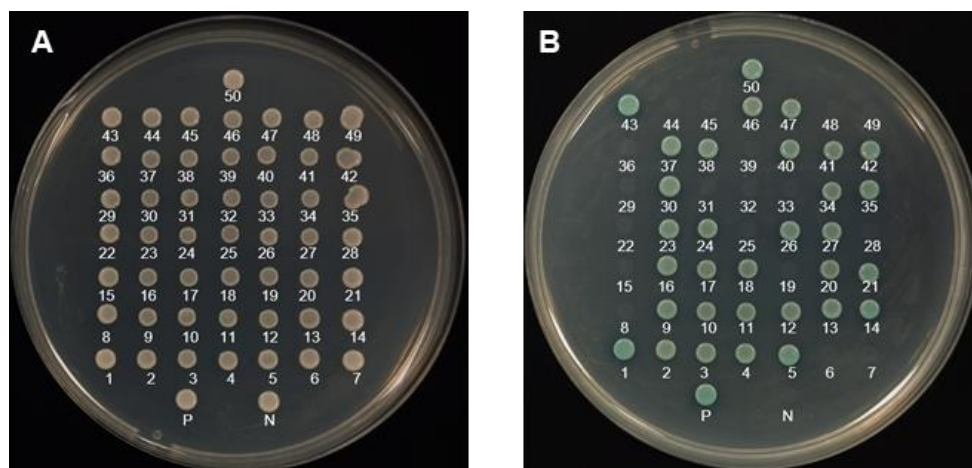


图 5 SOC1a 酵母双杂交筛库结果

(A) DDO 平板筛选的阳性克隆; (B) QDO/X 平板筛选的阳性克隆。P: 阳性对照, N: 阴性对照

Figure 5 Result of cDNA library screening of SOC1a

(A) Positive clones selected on DDO plate; (B) Positive clones identified on QDO plate. P: positive control, N: negative control

表 4 互作克隆的测序及比对

Clone No.	Function annotation	Gene ID
1, 12	RING zinc finger protein	<i>Glyma.08G158300</i>
2, 11, 13, 18, 34	COP9 signalosome complex subunit 5	<i>Glyma.06G076000</i>
4	Ribosomal RNA processing protein 7-related	<i>Glyma.07G204700</i>
14	Auxin-responsive protein IAA (IAA14)	<i>Glyma.03G158700</i>
21	SNF1 protein kinase subunit beta-2-related	<i>Glyma.13G141800</i>

22	Protein TIC 20-I, chloroplastic	<i>Glyma.08G207200</i>
24, 40, 43	PRP40 pre-mRNA processing factor 40 homolog A	<i>Glyma.17G233000</i>
27	Poly (ADP-ribose) polymerase 1	<i>Glyma.03G161300</i>
30	Shikimate kinase	<i>Glyma.01G014900</i>
37	Voltage-dependent anion-selective channel	<i>Glyma.13G064900</i>
38	Thyroid receptor interacting protein related	<i>Glyma.17G099300</i>
41	Protein of unknown function	<i>Glyma.11G222000</i>
46	Protein pelota (PELO, DOM34, pelA)	<i>Glyma.20G219800</i>
50	MADS-box protein; AGL4, SEP2	<i>Glyma.13G052700</i>

2.6 酵母阳性克隆点对点回转验证

为了验证阳性克隆的准确性,降低酵母双杂交筛选的假阳性率,我们根据阳性克隆注释信息,以及结合已有的文献报道,选取了编码 COP9 (CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENESIS 9)信号小体 CSN5 (SIGNALOSOME COMPLEX SUBUNIT 5)亚基的基因 *Glyma.06G076000*, 编码 MADS-box 家族转录因子 SEPALLATA2 (SEP2)的基因 *Glyma.13G052700*, 编码锌指蛋白的基因 *Glyma.08G158300*, 编码生长素响应蛋白 IAA14 的基因 *Glyma.03G158700*, 以及编码一个未知功能蛋白的基因 *Glyma.11G222000*, 进行进一步的点对点回转验证。将 5 个候选基因的 CDS 序列构建到 pGADT7 载体上,依次命名为: pGADT7-COP9、pGADT7-SEP2、pGADT7-ZFP、pGADT7-IAA14 和 pGADT7-11G。将表 2 中的载体组合分别转入酵母 Y2HGold 感受态,涂布于 DDO 平板上,30°C 恒温倒置培养 3–5 天,待菌斑生长至 2–3 mm,分别挑取 3 个单克隆于 10 μL 0.9% NaCl 溶液中,混匀后分别点到 DDO 和 QDO/X 平板上。30°C 条件下倒置培养 3–5 天,直至菌落长出,以确认候选蛋白与 SOC1a 的互作关系。

点板验证结果显示,对照组和实验组在 DDO 培养基上均能正常生长(图 6),说明质粒转化成功。在 QDO/X 培养基上,仅阳性对照及实验组(pGBKT7-SOC1a+pGADT7-SEP2 和 pGBKT7-SOC1a+pGADT7-ZFP)能够正常生长且呈现蓝色(图 6)。由于对照组 pGBKT7+pGADT7-COP9 存在自激活现象,我们通过不同浓度 3-AT 的筛选实验,最终确定 75 mmol·L⁻¹ 3-AT 可有效抑制其在 QDO/X 培养基上的背景活性(图 6)。随后,我们将共转化 pGBKT7-SOC1a+pGADT7-COP9 的酵母细胞涂布于含有 75 mmol·L⁻¹ 3-AT 的 QDO/X 培养基上,但结果显示其不互作(图 6)。以上这些实验结果表明,在酵母细胞内 SOC1a 能够与候选蛋白 SEP2 和 ZFP 发生特异性相互作用。

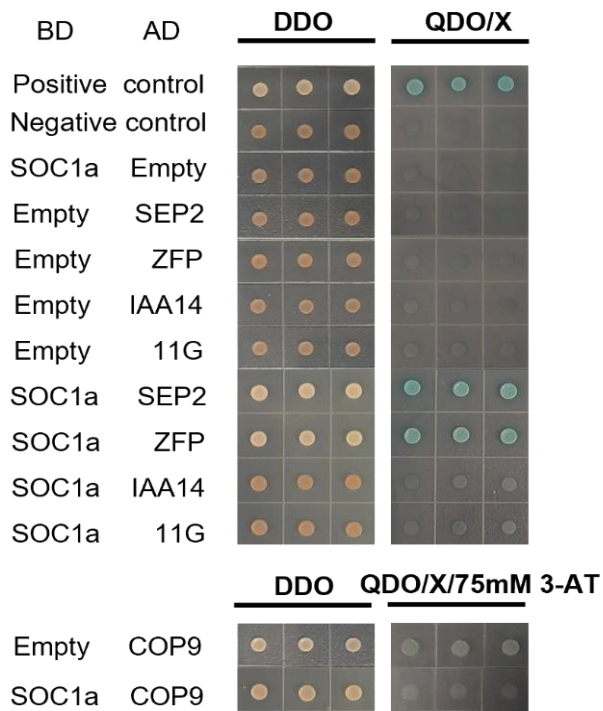


图 6 SOC1a 与 5 个候选互作蛋白的回转验证

Figure 6 Validation results of SOC1a with five candidate interacting proteins

2.7 Co-IP 和 LCI 实验验证蛋白互作

本研究选取了通过酵母双杂交实验初步证实存在互作关系的蛋白 SEP2，进一步采用 Co-IP (免疫共沉淀)和 LCI (荧光素酶互补)实验来验证其与 SOC1a 蛋白的互作情况。Co-IP 实验结果显示: 在 Input 样本中, 使用 HA 和 Flag 抗体均能检测到目的蛋白对应的条带, 说明对照组中两种蛋白 SOC1a 和 GFP, 以及实验组两种蛋白 SOC1a 和 SEP2 均存在(图 7A); 在 Output 样本中, 对照组中的 GFP 蛋白未被 FLAG 抗体检测到, 而实验组中检测到了 SEP2 蛋白的条带(图 7A), 证明了 SOC1a 和 SEP2 蛋白之间存在互作关系。LCI 实验结果显示, 将含有 SOC1a-nLUC 和 SEP2-cLUC 重组质粒的菌液共转化烟草叶片后, 可检测到荧光信号, 而阴性对照组未检测到任何信号(图 7B), 这一结果再次证实了 SOC1a 能够与 SEP2 蛋白发生互作。综上实验结果证实了 SOC1a 和 SEP2 这两个蛋白可在植物体内发生互作(图 7)。

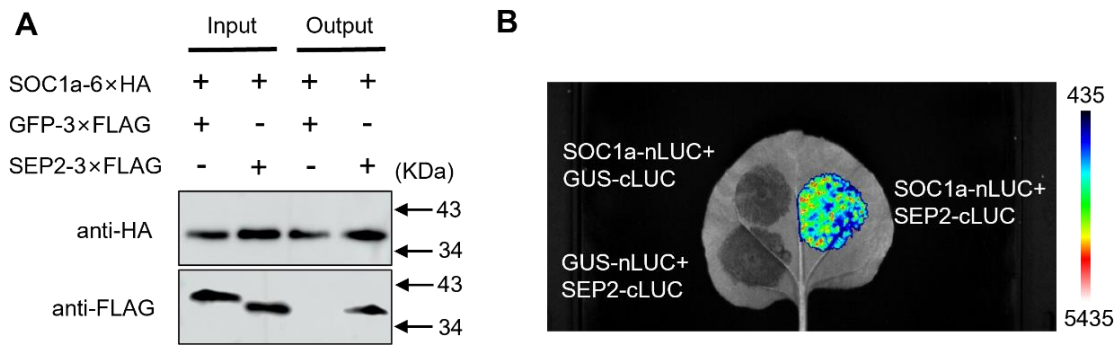


图 7 Co-IP 和 LCI 实验验证 SOC1a 和 SEP2 蛋白的互作

(A) Co-IP 实验验证 SOC1a 和 SEP2 蛋白的互作，用 HA 和 FLAG 抗体进行目的蛋白检测；(B) LCI 实验验证 SOC1a 和 SEP2 蛋白的互作。阴性对照组: SOC1a-nLUC+GUS-cLUC 和 GUS-nLUC+SEP2-cLUC

Figure 7 Co-IP and LCI assays of the interaction of SOC1a and SEP2

(A) Co-IP assay of the interaction of SOC1a and SEP2, gel blots were probed with monoclonal anti-HA and anti-FLAG antibodies; (B) LCI assay of the interaction of SOC1a and SEP2. Negative control: SOC1a-nLUC+GUS-cLUC and GUS-nLUC+SEP2-cLUC

3 讨论

酵母双杂交技术能够高效、灵敏地在活细胞内研究蛋白质之间的相互作用，解析相关基因的生物学功能，探索基因之间的调控关系。大豆是人类食物和饲料中最重要的蛋白质来源之一，是我国重要的主粮作物。相比于其他部位，大豆的顶芽(包含 SAM 和 AM)和腋芽(包含 AM)是研究开花期、株型发育生物学的重要部位。SAM 在胚胎发育过程中形成，是植物地上器官形态建成的“细胞工厂”。在营养生长期，SAM 产生叶原基和 AM (Mayer et al., 1998; Schoof et al., 2000); 在生殖生长期，SAM 转变为花序分生组织，直接产生花或结花分枝 (Prusinkiewicz et al., 2007; Benlloch et al., 2015)。AM 起源于 SAM，其进一步的生长通常包括两个过程：首先，AM 长成腋芽，最初往往处于休眠状态，在内源信号和环境因素的共同调控下，可发育成分枝或花序或花，也可继续保持休眠(Hou et al., 2024; Li et al., 2024)。AM 的发育在不同物种间存在差异，表现出丰富的多样性，例如，在玉米(*Zea mays*)中只有一个或两个 AM 能够分化并发育成玉米穗并最终产生玉米(Gallavotti et al., 2011; Yao et al., 2019); 小麦(*Triticum*) (Li et al., 2021)、水稻(*Oryza sativa*) (Doust et al., 2004)只产生末端花序，叶腋处的 AM 大多处于休眠状态；而在大豆的叶腋中有许多 AM，这些 AM 最终生长为分枝，再由分枝产生花和荚，在很大程度上决定着分枝和花序的总数量和相对数量，也就是潜在的荚数，因此 AM 的发育对大豆的株型发育和最终的产量都有着至关重要的影响。通过构建顶芽和腋芽的 cDNA 文库，能够从分子层面深入理解大豆生长发育的核心机制，为高产、抗逆、适应性强的

的品种设计提供理论依据和基因资源。本研究混合不同发育时期的顶芽和腋芽组织,通过 Gateway 方法构建了具有较好的完整性、较广泛的覆盖率以及良好的 cDNA 片段多态性的高质量核系统 cDNA 文库,各项指标符合建库要求,可以用于后续酵母双杂交筛库实验。该文库能够最大程度获得 SAM 和 AM 中的功能基因集合,从而为互作蛋白的筛选和调控网络的解析提供了充足的保障。

SOC1 属于 MADS-box MIKC 型转录因子,参与调控大豆的开花时间和株型发育。在 SAM 中, SOC1a 和 SOC1b 受到 FT2a 和 FT5a 的调控上调表达,然后激活下游 LFY 和 AP1c 基因的表达,促进大豆开花(Kou et al., 2022; Li et al., 2024); SOC1a 和 SOC1b 与 Dt2 彼此互作形成 SOC1a-SOC1b-Dt2 复合物,直接结合 Dt1 基因的启动子,抑制其表达来微调大豆的茎节伸长、株高和茎生长习性(Kou et al., 2022)。在 AM 中, SOC1a 也被证明可与 Dt2 和 AGL22 互作调控大豆的分枝数目(Liang et al., 2022)。尽管目前已经报道了 2 个与大豆 SOC1 互作的蛋白,但是仍存在很多功能未知的互作蛋白有待进一步挖掘及后续功能的深入探究。本研究通过筛选大豆顶芽和腋芽酵母双杂交 cDNA 文库,共获得 14 个与 SOC1a 互作的候选蛋白,这为研究大豆 SOC1 基因调控株型发育的分子机制开拓了新路径。

本研究选择编码 COP9 信号小体 CSN5 亚基的基因 *Glyma.06G076000*、编码 MADS-box 家族转录因子 SEP2 的基因 *Glyma.13G052700*、编码锌指蛋白的基因 *Glyma.08G158300*、编码生长素响应蛋白 IAA14 的基因 *Glyma.03G158700* 和编码一个未知功能蛋白的基因 *Glyma.11G222000* 进行后续点对点的回转验证,但实验结果证明只有 SEP2 和锌指蛋白能够与 SOC1a 互作。SEP 属 MADS-box 家族转录因子, E 类基因,与 ABC 类基因共同调控花器官的发育(Pelaz et al., 2000; Theissen and Saedler, 2001; Ditta et al., 2004; Theissen et al., 2016)。SEP 在花发育中的功能已被证明在不同物种中广泛保守(Cui et al., 2010; Zhang et al., 2017; Morel et al., 2019; Li G et al., 2021; Zhang et al., 2021; Zhang et al., 2024; Song et al., 2024; Hoong et al., 2025)。例如,在番茄中, *SIMBP21* 在合轴花序分生组织 SIM (sympodial inflorescence meristem) 向花分生组织 FM (floral meristem) 的转变中发挥重要功能,利用 RNAi 技术抑制 *SIMBP21* 表达,植株除萼片膨大和离区发育受抑制外,花数和果实产量也显著增加(Zhang et al., 2024); 苹果 SEP1/2-like 基因 *MADS8 (MADS8ox)* 是果肉发育和成熟的关键调控因子之一,过表达 *MADS8ox* 促进开花(Hoong et al., 2025); 在万寿菊中,研究人员克隆并鉴定了 5 个 SEP-like 基因,分别是 *TeSEP3-1*、*TeSEP3-2*、*TeSEP3-3*、*TeSEP1* 和

TeSEP4, 在拟南芥和烟草中异位表达 *TeSEP3-2*、*TeSEP3-3*、*TeSEP1* 和 *TeSEP4* 导致早花, 在烟草中过表达 *TeSEP4* 降低了花瓣和雄蕊的数量, 而过表达 *TeSEP1* 导致萼片变长, 花序结构变简单(Zhang et al., 2021); 黄瓜的 *CsSEP2* 功能丧失导致花器官发育异常, 进一步的研究证明了 *CsSEP2* 可通过直接结合并抑制下游基因 *CsCRC* 的转录活性调控黄瓜的果实伸长(Song et al., 2024)。由此推测, *SEP2* 与 *SOC1a* 可能对花器官和果实的生长与发育发挥类似的调控作用。锌指蛋白在植物中通过转录调控、表观修饰、激素信号整合及胁迫响应等机制广泛参与植物的生长发育和逆境适应(Lin et al., 2011; Gao et al., 2013; Chao et al., 2014; Duan et al., 2021; Yan et al., 2022; Liu et al., 2022; Wang et al., 2022; Gao et al., 2024)。例如, 在水稻中, *Ehd4* 基因编码一种新型 CCCH 型锌指蛋白, *Ehd4* 通过刺激 *Ehd1* 的表达上调 *Hd3a* 和 *RFT1* 的转录来促进开花, 而 *ehd4* 突变体在自然长日照条件下永不开花(Gao et al., 2013); 在苜蓿中, 编码 CCCH 型锌指蛋白的 *MsZFN* 是暗诱导的基因, 长日照条件下在拟南芥中异位表达 *MsZFN* 上调开花抑制因子 *FLC*, 下调开花促进因子 *FT*、*SOC1* 和 *GI*, 从而使得植株开花延迟(Chao et al., 2014); 在腊梅中, 编码 CCCH 型锌指蛋白的 *CpC3H3* 基因在 FM 形成期的花芽中显著积累; 在拟南芥中过表达 *CpC3H3* 时, *AP1*、*FT*、*LFY* 和 *SOC1* 的表达均上调, 而 *FLC* 的表达下调, 最终导致植株开花提前(Liu et al., 2022); 在水稻中, *Cys2/His2* 锌指蛋白 *ZFP207* 通过直接结合 *OsGA20ox2* 的启动子抑制其表达, 来调控植株的株高和籽粒长度(Duan et al., 2021)。由此推测, 大豆中编码锌指蛋白的 *Glyma.08G158300* 可能对大豆的开花时间、茎生长习性有调控作用, 这与 *SOC1a* 的功能相似, 因此研究该基因的编码蛋白与 *SOC1a* 之间的互作关系对后续的研究至关重要。

虽然酵母双杂交技术已经在多种作物中广泛应用, 但该技术仍存在一些缺陷, 例如: 可能出现假阳性结果, 即通过酵母双杂交检测到的蛋白质互作在真实情况下可能不发生; 也可能出现假阴性结果, 即一些表达的融合蛋白在酵母菌株中产生毒性, 抑制报告基因的表达和酵母的生长, 或者蛋白间的相互作用较弱, 报告基因表达度低甚至不表达, 使得酵母双杂呈现假阴性结果。基于上述问题, 候选蛋白的互作关系可利用免疫共沉淀、双分子荧光互补、荧光素酶互补或 Pull-Down 等技术进行进一步的验证。此外, 本研究未筛选到与大豆 *SOC1* 互作的已知蛋白, 如 *AGL22* 和 *Dt2*, 我们推测这可能与文库的筛选效率, 及蛋白的互作强弱和稳定性等有关。

综上,本研究构建了大豆顶芽和腋芽酵母双杂交核系统 cDNA 文库,筛选获得 14 个可能与 SOC1a 互作的蛋白,并回转变验证了其中 5 个候选蛋白(*Glyma.06G076000* 基因编码的 COP9 信号小体 CSN5 亚基、*Glyma.13G052700* 基因编码的 MADS-box 家族转录因子 SEP2、*Glyma.08G158300* 基因编码的锌指蛋白、*Glyma.03G158700* 基因编码的生长素响应蛋白 IAA14 和 *Glyma.11G222000* 基因编码的未知功能的蛋白),结果显示在酵母细胞内 SOC1a 能够与候选蛋白 SEP2 和锌指蛋白发生相互作用。进一步通过免疫共沉淀和荧光素酶互补实验证明了 SEP2 蛋白和 SOC1a 蛋白的互作关系。基于当前的实验结果和研究报道,推测 SOC1a 与其互作蛋白可能通过调控大豆的开花时间、花器官和荚果发育、以及茎生长习性等途径影响植株的株型和最终产量。

作者贡献声明

黄欢: 执行实验、分析数据和撰写论文; 杨雪和张佳丽: 分析数据和整理图片; 陈丽玉和岳琳: 修改论文; 刘宝辉: 构思实验、监督和审阅文稿; 杨慧: 构思实验和修改论文。

参考文献

- Bao A, Chen H, Chen L, Chen S, Hao Q, Guo W, Qiu D, Shan Z, Yang Z, Yuan S, Zhang C, Zhang X, Liu B, Kong F, Li X, Zhou X, Tran LP, Cao D (2019). CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of *GmSPL9* genes alters plant architecture in soybean. *BMC Plant Biol* 19(1), 131
- Benlloch R, Berbel A, Ali L, Gohari G, Millán T, Madueño F (2015). Genetic control of inflorescence architecture in legumes. *Front Plant Sci* 6, 543.
- Cao J, Lu QL, Zhai JP, Liu BH, Fang C, Li SC, Su T (2025). Changes in the expression of the soybean *TPS* gene family under salt stress and haplotype selection analysis. *Chin Bull Bot* 60, 172–185. (in Chinese)
- 曹婕, 卢秋连, 翟健平, 刘宝辉, 方超, 李世晨, 苏彤 (2025). 大豆 *TPS* 基因家族在盐胁迫下的表达变化及单倍型选择规律分析. *植物学报* 60(2), 172-185.
- Chao YH, Zhang TJ, Yang QC, Kang JM, Sun Y, Gruber MY, Qin ZH (2014). Expression of the alfalfa CCCH-type zinc finger protein gene *MsZFN* delays flowering time in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci* 215–216, 92–99.
- Chen L, Nan H, Kong L, Yue L, Yang H, Zhao Q, Fang C, Li H, Cheng Q, Lu S, Kong F, Liu B, Dong L (2020). Soybean *AP1* homologs control flowering time and plant height. *J Integr Plant Biol* 62(12), 1868-1879.
- Clark CB, Ma JX (2023). The genetic basis of shoot architecture in soybean. *Mol Breed* 43(7), 55.
- Cui RF, Han JK, Zhao SZ, Su KM, Wu F, Du XQ, Xu QJ, Chong K, Theissen G, Meng Z (2010). Functional conservation and diversification of class E floral homeotic genes in rice (*Oryza sativa*). *Plant J* 61(5), 767–781.
- Ditta G, Pinyopich A, Robles P, Pelaz S, Yanofsky MF (2004). The *SEP4* gene of *Arabidopsis*

- thaliana functions in floral organ and meristem identity. *Curr Biol* **14**(21), 1935–1940.
- Doust AN, Devos KM, Gadberry MD, Gale MD, Kellogg EA** (2004). Genetic control of branching in foxtail millet. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**(24), 9045–9050.
- Duan M, Ke XJ, Lan HX, Yuan X, Huang P, Xu ES, Gao XY, Wang RQ, Tang HJ, Zhang HS, Huang J** (2021). A Cys2/His2 zinc finger protein acts as a repressor of the green revolution gene SD1/OsGA20ox2 in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol* **61**(12), 2055–2066.
- Gallavotti A, Malcomber S, Gaines C, Stanfield S, Whipple C, Kellogg E, Schmidt RJ** (2011). BARREN STALK FASTIGIATE1 is an AT-hook protein required for the formation of maize ears. *Plant Cell* **23**(5), 1756–1771.
- Gao LL, Xu S, Zhang JM, Kang J, Zhong SW, Shi H** (2024). Promotion of seedling germination in *Arabidopsis* by B-box zinc-finger protein BBX32. *Curr Biol* **34**(14), 3152-3164.e6.
- Gao H, Zheng XM, Fei GL, Chen J, Jin MN, Ren YL, Wu WX, Zhou KN, Sheng PK, Zhou F, Jiang L, Wang J, Zhang X, Guo XP, Wang JL, Cheng ZJ, Wu CY, Wang HY, Wan JM** (2013). *Ehd4* encodes a novel and *Oryza*-genus-specific regulator of photoperiodic flowering in rice. *PLoS Genet* **9**(2), e1003281.
- Hoong L, Ireland HS, Tomes S, Gunaseelan K, Ruslan M, McKenzie C, Hallett I, David KM, Schaffer RJ** (2025). Overexpression of the apple *SEP1/2*-like gene MdMADS8 promotes floral determinacy and enhances fruit flesh tissue and ripening. *Planta* **261**(3), 53.
- Hou ZH, Huang H, Wang YN, Chen LY, Yue L, Liu BH, Kong FJ, Yang H** (2024). Molecular regulation of shoot architecture in soybean. *Plant Cell Environ*
- Immink RGH, Posé D, Ferrario S, Ott F, Kaufmann K, Valentim FL, de Folter S, van der Wal F, van Dijk ADJ, Schmid M, Angenent GC** (2012). Characterization of SOC1's central role in flowering by the identification of its upstream and downstream regulators. *Plant Physiol* **160**(1), 433–449.
- Kim D, Langmead B, Salzberg SL** (2015). HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nat Methods* **12**(4), 357-60.
- Kou K, Su T, Wang Y, Yang H, Du H, He M, Li T, Ma L, Liao C, Yang C, Shi W, Chen L, Li Y, Yang B, Kong L, Li S, Wang L, Zhao X, Lu S, Liu B, Kong F, Fang C** (2021). Natural variation of the *Dt2* promoter controls plant height and node number in semi-determinant soybean. *Mol Breed* **41**(6), 40.
- Kou K, Yang H, Li HY, Fang C, Chen LY, Yue L, Nan HY, Kong LP, Li XM, Wang F, Wang JH, Du HP, Yang ZY, Bi YD, Lai YC, Dong LD, Cheng Q, Su T, Wang LS, Li SC, Hou ZH, Lu SJ, Zhang YH, Che ZJ, Yu DY, Zhao XH, Liu BH, Kong FJ** (2022). A functionally divergent *SOC1* homolog improves soybean yield and latitudinal adaptation. *Curr Biol* **32**(8), 1728-1742.e6.
- Lee J, Lee I** (2010). Regulation and function of SOC1, a flowering pathway integrator. *J Exp Bot* **61**(9), 2247–2254.
- Lee H, Suh SS, Park E, Cho E, Ahn JH, Kim SG, Lee JS, Kwon YM, Lee I** (2000). The AGAMOUS-LIKE 20 MADS domain protein integrates floral inductive pathways in *Arabidopsis*. *Genes Dev* **14**(18), 2366–2376.
- Li K, Debernardi JM, Li CX, Lin HQ, Zhang CZ, Jernstedt J, Korff M von, Zhong JS, Dubcovsky J** (2021). Interactions between SQUAMOSA and SHORT VEGETATIVE PHASE MADS-box proteins regulate meristem transitions during wheat spike development. *Plant*

Cell **33**(12), 3621–3644.

- Li G, Kuijer HNJ, Yang XJ, Liu HR, Shen CQ, Shi J, Betts N, Tucker MR, Liang W, Waugh R, Burton RA, Zhang D** (2021). MADS1 maintains barley spike morphology at high ambient temperatures. *Nat Plants* **7**(8), 1093–1107.
- Li HY, Liao CM, Yang H, Kong LP, Liu SR, Wei J, Chen HL, Zhao XH, Liu BH, Kong FJ, Chen LY** (2024). AP1c and SOC1 form a regulatory feedback loop to regulate flowering time in soybean. *Plant Cell Environ*
- Li SC, Sun ZH, Sang Q, Qin C, Kong LP, Huang X, Liu HY, Su T, Li H, He ML, Fang C, Wang LS, Liu SR, Liu B, Liu BH, Fu XD, Kong FJ, Lu SJ** (2023). Soybean reduced internode 1 determines internode length and improves grain yield at dense planting. *Nat Commun* **14**(1), 7939.
- Li JJ, Yao XN, Lai H, Zhang XL, Zhong JS** (2024). The diversification of the shoot branching system: A quantitative and comparative perspective in meristem determinacy. *Current Opinion in Plant Biology* **81**, 102574.
- Liang QJ, Chen LY, Yang X, Yang H, Liu SL, Kou K, Fan L, Zhang ZF, Duan ZB, Yuan YQ, Liang S, Liu YC, Lu XT, Zhou GA, Zhang M, Kong FJ, Tian ZX** (2022). Natural variation of *Dt2* determines branching in soybean. *Nat Commun* **13**(1), 6429.
- Lin PC, Pomeranz MC, Jikumaru Y, Kang SG, Hah C, Fujioka S, Kamiya Y, Jang JC** (2011). The Arabidopsis tandem zinc finger protein AtTZF1 affects ABA- and GA-mediated growth, stress and gene expression responses. *Plant J* **65**(2), 253–268.
- Liu C, Chen HY, Er HL, Soo HM, Kumar PP, Han JH, Liou YC, Yu H** (2008). Direct interaction of *AGL24* and *SOC1* integrates flowering signals in *Arabidopsis*. *Development* **135**(8), 1481–1491.
- Liu XF, Chen JC, Zhang XL** (2021). Genetic regulation of shoot architecture in cucumber. *Hortic Res* **8**(1), 143.
- Liu BH, Watanabe S, Uchiyama T, Kong FJ, Kanazawa A, Xia ZJ, Nagamatsu A, Arai M, Yamada T, Kitamura K, Masuta C, Harada K, Abe J** (2010). The soybean stem growth habit gene *Dt1* is an ortholog of Arabidopsis *TERMINAL FLOWER1*. *Plant Physiol* **153**(1), 198–210.
- Liu HM, Xiao SQ, Sui SZ, Huang RW, Wang X, Wu HF, Liu X** (2022). A tandem CCCH type zinc finger protein gene *CpC3H3* from *Chimonanthus praecox* promotes flowering and enhances drought tolerance in Arabidopsis. *BMC Plant Biol* **22**(1), 506.
- Liu SL, Zhang M, Feng F, Tian ZX** (2020). Toward a “green revolution” for soybean. *Mol Plant* **13**(5), 688–697.
- Mayer KF, Schoof H, Haecker A, Lenhard M, Jürgens G, Laux T** (1998). Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem. *Cell* **95**(6), 805–815.
- Meyerowitz EM** (1997). Genetic control of cell division patterns in developing plants. *Cell* **88**(3), 299–308.
- Moon J, Suh SS, Lee H, Choi KR, Hong CB, Paek NC, Kim SG, Lee I** (2003). The *SOC1* MADS-box gene integrates vernalization and gibberellin signals for flowering in Arabidopsis. *Plant J* **35**(5), 613–623.
- Morel P, Chambrier P, Boltz V, Chamot S, Rozier F, Rodrigues Bento S, Trehin C, Monniaux M, Zethof J, Vandenbussche M** (2019). Divergent functional diversification patterns in the

- SEP/AGL6/AP1 MADS-Box transcription factor superclade. *Plant Cell* **31**(12), 3033–3056.
- Na XF, Jian B, Yao WW, Wu CX, Hou WS, Jiang BJ, Bi YR, Han TF** (2013). Cloning and functional analysis of the flowering gene *GmSOC1-like*, a putative *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION CO1/AGAMOUS-LIKE 20* (*SOC1/AGL20*) ortholog in soybean. *Plant Cell Rep* **32**(8), 1219–1229.
- Pelaz S, Ditta GS, Baumann E, Wisman E, Yanofsky MF** (2000). B and C floral organ identity functions require *SEPALLATA* MADS-box genes. *Nature* **405**(6783), 200–203.
- Ping J, Liu Y, Sun L, Zhao M, Li Y, She M, Sui Y, Lin F, Liu X, Tang Z, Nguyen H, Tian Z, Qiu L, Nelson RL, Clemente TE, Specht JE, Ma J** (2014). *Dt2* is a gain-of-function MADS-domain factor gene that specifies semi-determinacy in soybean. *Plant Cell* **26**(7), 2831–42.
- Prusinkiewicz P, Erasmus Y, Lane B, Harder LD, Coen E** (2007). Evolution and development of inflorescence architectures. *Science* **316**(5830), 1452–1456.
- Qin C, Li YH, Li DL, Zhang XR, Kong LP, Zhou YG, Lyu XG, Ji RH, Wei XZ, Cheng QC, Jia ZW, Li XJ, Wang Q, Wang YQ, Huang W, Yang CY, Liu LK, Wang X, Xing GN, Hu GY, Shan ZH, Wang RZ, Li HY, Li HY, Zhao T, Liu J, Lu YP, Hu XP, Kong FJ, Qiu LJ, Liu B** (2023). *PH13* improves soybean shade traits and enhances yield for high-density planting at high latitudes. *Nat Commun* **14**(1), 6813.
- Reddy GV** (2008). Live-imaging stem-cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex. *Curr Opin Plant Biol* **11**(1), 88–93.
- Schoof H, Lenhard M, Haecker A, Mayer KF, Jürgens G, Laux T** (2000). The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes. *Cell* **100**(6), 635–644.
- Song WY, Xie Y, Liu B, Huang YX, Cheng ZH, Zhao ZL, Tian D, Geng Y, Guo JY, Li C, She DX, Zhong YT, Li M, Liu L, Chen JC, Sun CZ, Zhang XJ, Zhou ZY, Lai JS, Xin M, Yan LY, Zhao JY, Zhang XL** (2024). Single nucleotide polymorphisms in *SEPALLATA 2* underlie fruit length variation in cucurbits. *The Plant Cell* **36**(10), 4607–4621.
- Sun J, Zhang X, Feng J, Ma X, Ji Y, Chen S, Li J, Li D, Wang X, Zhao L** (2025). The transcription factor *GmFULc* regulates soybean plant height by binding the promoter of a gibberellin-responsive gene. *Plant Physiol* **197**(2), kiaf021.
- Sun J, Huang S, Lu Q, Li S, Zhao S, Zheng X, Zhou Q, Zhang W, Li J, Wang L, Zhang K, Zheng W, Feng X, Liu B, Kong F, Xiang F** (2023). UV-B irradiation-activated E3 ligase *GmILPA1* modulates gibberellin catabolism to increase plant height in soybean. *Nat Commun* **14**(1), 6262.
- Su T, Liu H, Wu Y, Wang J, He F, Li H, Li S, Wang L, Li L, Cao J, Lu Q, Zhao X, Xiang H, Lin C, Lu S, Liu B, Kong F, Fang C** (2024). Soybean hypocotyl elongation is regulated by a MYB33-SWEET11/21-GA2ox8c module involving long-distance sucrose transport. *Plant Biotechnol J* **22**(10), 2859–2872.
- Theißen G, Melzer R, Rümpler F** (2016). MADS-domain transcription factors and the floral quartet model of flower development: linking plant development and evolution. *Development* **143**(18), 3259–3271.
- Theissen G, Saedler H** (2001). Plant biology. Floral quartets. *Nature* **409**(6819), 469–471.
- Tian ZX, Wang XB, Lee R, Li YH, Specht JE, Nelson RL, McClean PE, Qiu LJ, Ma JX** (2010). Artificial selection for determinate growth habit in soybean. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**(19),

8563–8568.

- Wang B, Smith SM, Li JY** (2018). Genetic regulation of shoot architecture. *Annu Rev Plant Biol* **69**, 437–468.
- Wang MQ, Zhang HZ, Dai SY, Feng S, Gong SF, Wang JG, Zhou AM** (2022). AaZFP3, a novel CCCH-Type zinc finger protein from *adonis amurensis*, promotes early flowering in *Arabidopsis* by regulating the expression of flowering-related genes. *Int J Mol Sci* **23**(15), 8166.
- Weigel D, Jürgens G** (2002). Stem cells that make stems. *Nature* **415**(6873), 751–754.
- Williams L, Fletcher JC** (2005). Stem cell regulation in the *Arabidopsis* shoot apical meristem. *Curr Opin Plant Biol* **8**(6), 582–586.
- Yan PW, Zhu Y, Wang Y, Ma FY, Lan DY, Niu F, Dong SQ, Zhang XW, Hu J, Liu SW, Guo T, Xin XY, Zhang SY, Yang JS, Cao LM, Luo XJ** (2022). A new RING finger protein, *PLANT ARCHITECTURE* and *GRAIN NUMBER 1*, affects plant architecture and grain yield in rice. *Int J Mol Sci* **23**(2), 824.
- Yao H, Skirpan A, Wardell B, Matthes MS, Best NB, McCubbin T, Durbak A, Smith T, Malcomber S, McSteen P** (2019). The barren *stalk2* Gene Is Required for Axillary Meristem Development in Maize. *Mol Plant* **12**(3), 374–389.
- Zhang JL, Dong TT, Hu ZL, Li J, Zhu MK, Chen GP** (2024). A *SEPALLATA* MADS-Box transcription factor, *SIMBP21*, functions as a negative regulator of flower number and fruit yields in tomato. *Plants (Basel)* **13**(10), 1421.
- Zhang CL, Wei LD, Yu XM, Li H, Wang WJ, Wu SZ, Duan F, Bao MZ, Chan ZL, He YH** (2021). Functional conservation and divergence of *SEPALLATA*-like genes in the development of two-type florets in marigold. *Plant Sci* **309**, 110938.
- Zhang CS, Wei T, Zhou YP, Fan T, Lü TX, Tian CE** (2021). Progress in flowering regulation mechanisms of *FLC*. *Chin Bull Bot* **56**, 651-663. (in Chinese)
张长生, 魏滔, 周玉萍, 范甜, 吕天晓, 田长恩 (2021). *FLC* 调控植物成花的分子机制研究新进展. *植物学报* **56**, 651-663.
- Zhang T, Zhao YF, Juntheikki I, Mouhu K, Broholm SK, Rijpkema AS, Kins L, Lan TY, Albert VA, Teeri TH, Elomaa P** (2017). Dissecting functions of *SEPALLATA*-like MADS box genes in patterning of the pseudanthial inflorescence of *Gerbera hybrida*. *New Phytol* **216**(3), 939–954.
- Zhong XF, Dai X, Xv JH, Wu HY, Liu B, Li HY** (2012). Cloning and expression analysis of *GmGAL1*, *SOC1* homolog gene in soybean. *Mol Biol Rep* **39**(6), 6967–6974.
- Zhu Y, Wagner D** (2020). Plant inflorescence architecture: the formation, activity, and fate of axillary meristems. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **12**(1), a034652.

Construction of Yeast Two-hybrid cDNA Library and Screening of Interacting Proteins of SOC1a in Soybean Shoot Apexes and Axillary Buds

Huan Huang¹, Jiali Zhang¹, Xue Yang¹, Liyu Chen^{1,2}, Lin Yue^{1,2}, Baohui Liu^{1,2*}, Hui Yang^{1,2*}

¹College of Life Sciences, Guangzhou University/Innovative Research Center of Molecular Genetics and Evolution, Guangzhou 510006, Guangdong, China; ²Guangdong Key Laboratory of Plant Adaptation and Molecular Design, Guangzhou 510006, Guangdong, China

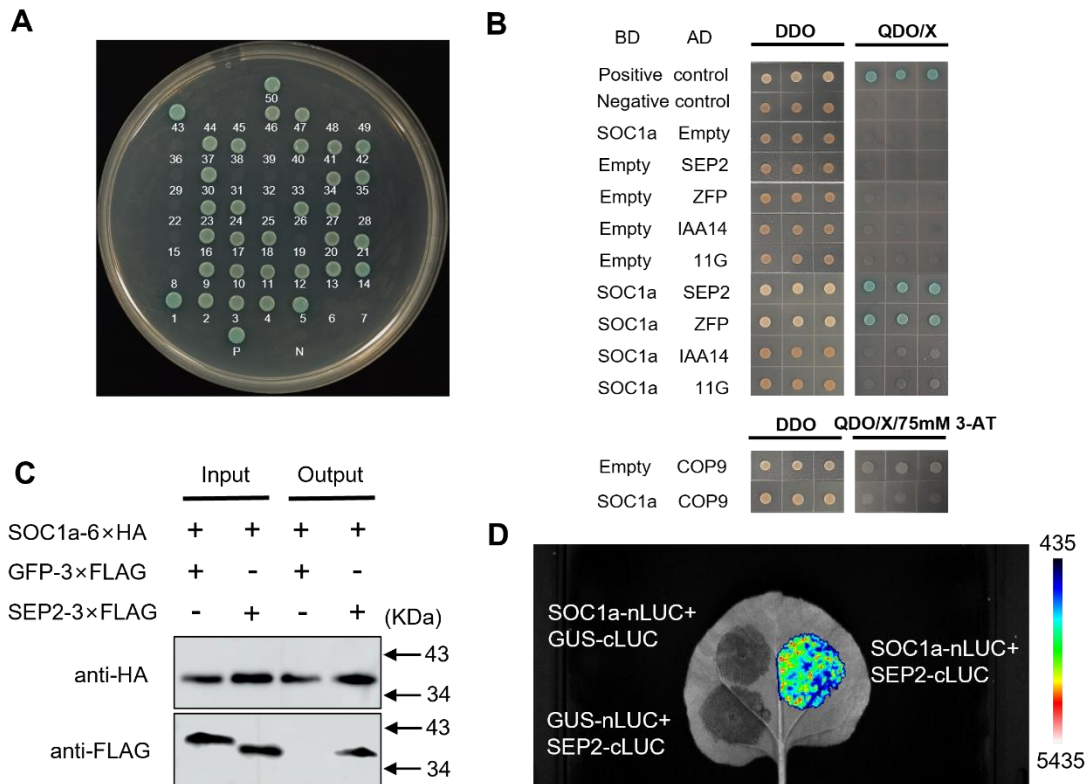
INTRODUCTION: The shoot apices and axillary buds determine crop growth and yield potential, with their developmental states directly shaping shoot architecture. However, there are currently few cDNA libraries constructed for shoot apices and/or axillary buds in soybean (*Glycine max*).

RATIONALE: By constructing cDNA libraries for shoot apices and axillary buds, we can gain an in-depth understanding of the core mechanisms underlying plant architecture in soybean at the molecular level, thereby providing theoretical foundations and genetic resources for the design of high-yielding and well-adapted soybean varieties.

RESULTS: This study constructed a yeast two-hybrid (Y2H) nuclear system cDNA library using shoot apices and axillary buds from the cultivar "Williams 82" grown under long-day and short-day conditions at different developmental stages. Equal amounts of RNA extracted from these tissues were pooled and subjected to cDNA library construction using the Gateway method, followed by transcript diversity analysis. The resultant library had a capacity of 1.2×10^7 CFU, with 100% recombination rate and an average length exceeding 1000 bp of the inserted fragments, covering 29,170 genes. This cDNA library meets the library construction standards and is suitable for subsequent Y2H screening. Using the key floral transition and shoot architecture regulator SOC1a as a bait, we first tested the toxicity and self-activation of the recombinant pGBKT7-SOC1a and then performed library screening. A total of 50 positive clones were obtained, and after DNA sequencing, BLAST alignment, and functional annotation, 14 candidate interacted proteins were identified. Among them, five candidate proteins were cloned into pGADT7 vector and subjected to pairwise retransformation assays with pGBKT7-SOC1a, confirming physical interactions between two of these proteins and SOC1a. Furthermore, the interaction between SOC1a and one of the candidate proteins, SEP2, was demonstrated through co-immunoprecipitation and luciferase complementation imaging assays.

CONCLUSION: This study establishes a high-quality Y2H cDNA library for soybean meristematic tissues and identifies novel SOC1a-interacting proteins, providing critical molecular insights into SOC1a-mediated regulation of soybean shoot architecture

development.



Screening of SOC1a-interacting proteins using a yeast cDNA library constructed from soybean shoot apices and axillary buds (A), with interactions confirmed by yeast retransformation (B), co-immunoprecipitation (C), and luciferase complementation imaging (D) assays.

Key words Soybean; Shoot apices and axillary buds; cDNA library; SOC1a; Yeast two-hybrid²

附表 1 大豆顶芽和腋芽 cDNA 文库中的转录本检测

Appendix table 1 Detection and characterization of transcripts in the cDNA library constructed from soybean shoot apices and axillary buds

通讯作者/团队简介

广州大学分子遗传与进化创新研究中心和广东省植物适应性与分子设计重点实验室聚焦大豆研究,建立了包含全球 6000 余份野生、地方和栽培大豆种质的资源库,并完成全基因组重测序。中心具备大豆转基因与基因编辑平台、分子生物学和生物化学基因功能鉴定平台及生物信息学分析平台,配套现代化植物培养设施和多地田间试验基地。相关成果持续发表于 *Nature Genetics*、*Nature Communications*、*Nature Plants*、*PNAS*、*Current Biology*、*Molecular Plant*、*Developmental Cell*、*Genome Biology* 和 *Trends in Plant Science* 等国际经典期刊。

* Authors for correspondence. E-mail: yanghui_90@gzhu.edu.cn; liubh@gzhu.edu.cn