半夏凝集素基因的克隆与氨基酸序列初步分析

张正英
甘肃省农业科学院，甘肃 兰州　730070

摘　要：目的　克隆半夏凝集素基因并对其氨基酸序列生物信息与已报道相关基因进行对比分析，为抗虫基因利用和转基因育种研究奠定基础。**方法**　根据已报道的植物凝集素基因序列设计特异引物，以半夏叶片 DNA 为模板进行 PCR 扩增，获得特异性片段，将其连接到测序载体上，进行序列测定，用分析软件分析序列信息。**结果**　克隆 1 069 bp 的半夏凝集素基因(*pta*)，开放阅读框全长 804 bp，编码 268 个氨基酸残基；预测相对分子质量和等电点分别为 2.91×10^4 和 7.77，功能区完整，具有 1 条信号肽和 3 个甘露糖结合区；已在 GenBank 中登记（登录号 AY725425）。**结论**　克隆的半夏凝集素基因序列信息完整，具有典型的甘露糖结合位点，可以作为抗虫基因用于抗虫育种。

关键词：半夏；半夏凝集素（PTA）；基因克隆；序列分析；特异性片段
中图分类号：R282.12　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2012)09 - 1818 - 06

Cloning of *Pinellia ternata* agglutinin gene and analysis on its amino acid sequence

ZHANG Zheng-ying
Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China

Abstract: Objective　To clone *Pinellia ternata* agglutinin (PTA) gene, compare its amino acid sequence and bioinformation with former reported genes, and lay the foundation for utilization of insect-resistant gene and transgenic breeding. **Methods**　Based on the specific primers designed by reported plant lectin gene sequence, DNA extracted from *P. ternata* leaves was taken as template to amplify PCR and a specific fragment was obtained which was linked to the sequencing vector for being sequenced and their information was analyzed using analytical software. **Results**　A full-length nucleotide sequence of *pta* with 1 069 bp was cloned (AY725425 in Genbank). The full length of open reading frame (ORF) was 804 bp encoding 268 amino acids residue. The predicted relative molecular weight and isoelectric point (PI) were 2.91×10^4 and 7.77, respectively. The functional section was intact with a signal peptide and three mannosebinding sites. **Conclusion**　The cloned *pta* gene is intact with typical mannosebinding sites and could be used as insect-resistant gene for insect-resistant breeding.

Key words: *Pinellia ternate* Breit.; *Pinellia ternata* agglutinin (PTA); gene cloning; sequence analysis; specific fragment

半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 和掌叶半夏 *P. pedatisecta* Schott 均为天南星科半夏属植物，其块茎是中国的传统中药材。半夏属的滴水珠 *P. cordata* Brown 又称水半夏，与半夏的性状、药理作用等类似，在我国也有广泛分布[1]。半夏除药用外，从其提取的凝集素对麦管蚜、棉蚜、桃蚜等有致死作用。当人工饲喂量分别达到 1.2 g/L 和 1.5 g/L 时，棉蚜和桃蚜受到明显抑制[2]。

凝集素（agglutinin）是半夏蛋白的重要组分之一，能专一结合甘露糖，属于单子叶植物甘露糖凝集素家族[3-4]。凝集素是一类可逆的结合特异单糖或寡糖的蛋白质，不同的凝集素分子具有特定的氨基酸组分，且糖结合位点也各不相同。对凝集素的研究近年来发展迅速，尤其在植物基因工程中，植物外源凝集素基因的抗虫特性越来越受到重视。关于凝集素的杀虫机制，一般认为外源凝集素进入昆虫消化道后，与肠道围食膜细胞表面的糖蛋白结合，降低膜的通透性，从而影响营养物质的正常吸收。此外，这种结合还可能在昆虫的消化道内诱发病灶，引起消化道内细菌和病毒的繁殖等，从而对昆虫本身造成危害。目前研究较多且成功应用于植物抗虫基因工程的凝集素基因有雪花莲凝集素（GNA）基

收稿日期：2012-03-19
基金项目：甘肃省科技支撑项目（1104WCGA188）；甘肃省农业生物技术应用与开发项目（GNSW-2006-05）
作者简介：张正英　E-mail: kegc8@sina.com

因、豌豆凝集素（P-Lec）基因、麦胚凝集素（WGA）基因和半夏凝集素（PTA）基因。其中，GNA 在体外或转基因抗虫试验中，已证实对某些咀嚼式和刺吸式口器昆虫均有抗性，如烟草夜蛾、豌豆象、飞虱和蚜虫。

本实验克隆半夏凝集素完整基因，进一步丰富了植物凝集素基因库，并通过基因序列信息的分析和与已报道基因序列的对比，全面地了解克隆基因的生物信息，为克隆基因的利用和转基因抗虫育种研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验用半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 无菌苗、大肠杆菌 *Escherichia coli* DH5α 为甘肃省农业科学院生物技术研究所遗传工程实验室保存。GEM-T vector 购自 Promega 有限公司，限制性内切酶、T4 DNA 连接酶、Taq DNA Polymerase 购自大连宝生物公司，Rnase 购自 Sigma 公司，DNA 回收试剂盒购自中科开瑞生物公司，其他化学试剂均为分析纯。

1.2 引物设计与合成

根据已报道植物凝集素基因（gi：37779708）核心序列设计 PCR 扩增特异引物，为便于将目的基因克隆到表达载体上，在正向引物、反向引物中分别设计了 *Xba* I 和 *Sma* I 酶切位点（引物中的下划线分别表示酶切位点）。引物由大连宝生物公司合成，PEF：5’-CAGTCTAGACCAGCAGCAACCCGGCTC-3’；PER：5’-CAGGGGCCCACCTATGGCTACGAA-GGC-3’。

1.3 半夏凝集素基因（*pta*）的扩增

以按照 CTAB 法[5]提取的半夏无菌苗叶片基因组 DNA 为模板，PEF、PER 为引物进行 PCR 扩增反应：94 ℃预变性 4 min；94 ℃、40 s，58 ℃、40 s，72 ℃、1.5 min，30 个循环；72 ℃延伸 10 min；4 ℃结束反应。PCR 扩增产物的检测、回收、连接、转化及 PCR、酶切鉴定和测序均按常规方法操作。

1.4 PCR 扩增产物的克隆与鉴定

将扩增的 PCR 产物依照说明克隆到 T-easy 载体上，转化大肠杆菌 DH5α，蓝白斑筛选挑取白斑，培养后提取少量质粒用 *Xba* I 和 *Sma* I 酶切鉴定，结合 PCR 扩增鉴定阳性重组质粒克隆。

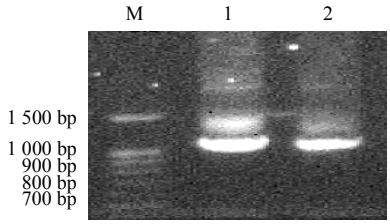
1.5 序列测定

将经鉴定的阳性克隆菌液送大连宝生物公司测序，正反向测通。测序结果的同源性比较采用 GenBank 中的 BLAST 分析程序，基因序列比较分析用 Dnaman 6.0 和 Dnasis MAX 3.0 软件。

2 结果与分析

2.1 *pta* 扩增结果

以半夏叶片基因组 DNA 为模板，用合成的特异引物 PEF、PER 为引物进行 PCR 扩增 *pta*，得到约 1 000 bp 特异片段，其大小与预期片段大小相符（图 1）。



M-Marker 1、2-PCR 产物

M-Marker 1 and 2-PCR products

图 1 半夏 DNA PCR 扩增结果

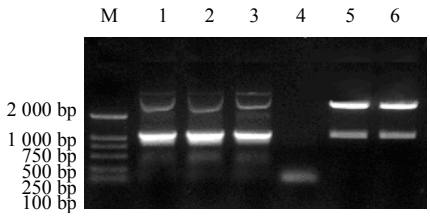
Fig. 1 PCR amplification results of *P. ternata* DNA

2.2 扩增产物的克隆及鉴定

将 PCR 扩增片段用试剂盒纯化回收后，克隆到 pGEM-T 载体，转化大肠杆菌 DH5α。少量提取重组质粒用 *Xba* I 和 *Sma* I 双酶切及 PCR 进行鉴定，结果都出现一条约 1 000 bp 特异片段，大小与 DNA 扩增片段一致。说明所扩增的特异片段已正确插入 pGEM-T 载体上（图 2）。

2.3 *pta* 核苷酸序列测定及推导的氨基酸序列分析

2.3.1 *pta* 的核苷酸序列测定与分析 *pta* 序列测定结果表明（图 3），扩增片段全长 1 069 bp，应用 Dnaman 6.0 对序列进行分析，在序列的 29～835 位氨基酸残基处发现一连续开放阅读框（ORF），第 29～31 位氨基酸残基处是该序列的转录起始密码子 ATG，833～835 位氨基酸残基为终止密码子，全编码



M-Marker 1～3-PCR 产物 4-阴性对照 5-*Xba* I 6-*Sma* I

M-Marker 1—3-PCR products 4-negative control 5-*Xba* I 6-*Sma* I

图 2 pGEM-T-*pta* 重组质粒 PCR 及酶切鉴定

Fig. 2 PCR and digestion identification of pGEM-T-*pta* recombinant plasmid

```
1     cagccagcagcaacccggctccttcctcatggcctccaagctcctcctcttcctcctcccg
1                                   M  A  S  K  L  L  L  F  L  L  P
62     ccatcctgggcctcgtcgttcctcggccagccgccgcggtgggcactaactacctactg t
12     A  I  L  G  L  V  V  P  R  P  A  A  A  V  G  T N  Y  L  L
122   ccggcgaaaccctagacacggacggccatctcaagaatggcgacttcgactttatcatgc
32     S  G  E  T  L  D  T  D  G  H  L  K  N  G  D  F  D  F I  M
182   aggacgactgcaacgccgttctgtacaacggcaactggcagtccaacacggccaacaaag
52     Q  D  D  C  N  A  V  L  Y  N  G  N  W  Q  S  N  T  A  N  K
242   gacgagactgcaagctcaccctcaccgaccgcggcgagctcgtcatcaacaacggcgagg
72     G  R  D  C  K  L  T  L  T  D  R  G  E  L  V  I  N  N  G  E
302   gatccgccgtctggaggagcggctcccagtcagcgaagggcaactacgccgccgtcctcc
92     G  S  A  V  W  R  S  G  S  Q  S  A  K  G  N  Y  A  A  V  L
362   cggaggggaaactggtcatctacggcccatccgtcttcaagatcaacccttgggtccccg
112    P  E  G  K  L  V  I  Y  G  P  S  V  F  K I  N  P  W V  P
422   gcctcaacagcctgcggctcggcaacgtccctttcacgagcaacatgctcttctccggcca
132    G  L  N  S  L  R  L  G  N V  P  F  T  S  N  M  L  F  S  G
482   ggtcctctacggcgacggcaagatcactgcgaggaaccacatgctggtcatgcagggcg
152    Q  V  L  Y  G  D  G  K  I  T  A  R  N  H  M  L  V  M  Q  G
542   actgcaacctggtcctgtacggcgggaagtacggctggcagtccaacacccacggcaacg
172    D  C  N  L  V  L  Y  G  G  K  Y  G  W  Q  S  N  T  H  G  N
602   gcgagcactgcttcctccggctgaaccacaagggcgagctcatcatcaaggatgacgact
192    G  E  H  C  F  L  R  L  N  H  K  G  E  L  I  I  K  D  D  D
662   tcaagagcatctggagcagccagtccagctcaaagcagggtgactacgtcttcatcctcc
212    F  K  S  I  W  S  S  Q  S  S  S  K  Q  G  D  Y  V  F  I  L
722   aggacaacggctacggcgtcatctacggccctgccatctgggcgaccagctcgaagcgc t
232    Q  D  N  G  Y  G  V  I  Y  G  P  A I  W  A  T  S  S  K  R
782   ccgttgctgctcaggagacgatgatcggcatggtgacggagaaggtgaaataagcgaaat
252    S  V  A  A  Q  E  T  M  I  G  M V  T  E  K  V  K  *
842    gatcgaagttggatactatatatcttctgcctccactggaagatatataaatgagcacat
902    gacatgttatcctagctagctagtttatggacagaccgtagaataatcgtgtgtagtagc
962    agtagtacgtacgtgcggattatattccctgttgcggtctgtcttcgtcgctgtgtcttgt
1022   taagaggcgttcttcatcagcctttgccttcgtagccataggtctg
```

氨基酸序列以单个字母表示；方框内为转录起始密码子 ATG；终止密码子以星号表示；下划线部分表示非编码区；灰底为两个保守结构域 A 和 B；灰底加黑字为甘露糖结合位点（QXDXNXVXY）

Amino acid sequence was represented by single letters; Transcription initial codon ATG was in the box; Stop codon was indicated with asterisks; Underlined part was the non-coding region; A and B parts with grey background were conserved domains; Black letters with grey background were mannose binding sites (QXDXNXVXY)

图 3　*pta* 的核苷酸序列及推导的氨基酸序列

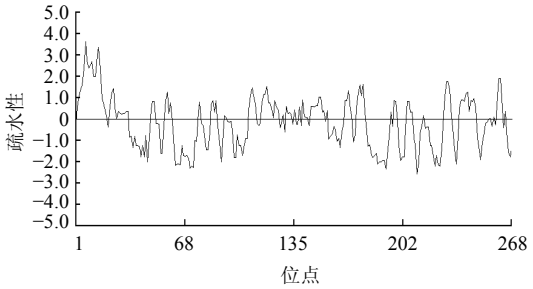
Fig. 3　Nucleotide sequence and deduced amino acid sequence of *pta*

区为 804 bp，相对分子质量为 2.91×10^4，等电点为 7.77；信号肽剪切位点位于 A24 和 V25 之间。5’端非编码区（5’UTR）28 bp，3’端非编码区（3’UTR）234 bp。有典型的真核生物基因 poly（A）的信号序列 AATAAA。

第 27～120 位、第 145～247 位氨基酸残基分别为 2 个保守结构域，第 1 个结构域含 1 个甘露糖结合位点，第 2 个结构域含 2 个甘露糖结合位点，具有甘露糖结合植物凝集素的典型特征[6]。*pta* 已在 GenBank/EMBL 中登记，登录号 AY725425。

2.3.2　*pta* 编码蛋白的疏水性/亲水性预测　对 *pta* 编码氨基酸的疏水性/亲水性进行预测表明，多肽链第 210 位的天冬氨酸（Asp，D）具有最低的分值 −2.58，第 7 位的亮氨酸（Leu，L）具有最高分值 3.63。依据氨基酸分值越低亲水性越强和分值越高疏水性越强的规律，可以看出，在第 210 位的 Asp 亲水性最强，第 7 位的 Leu 疏水性最强。前端 33 个氨基酸和中间区域第 118～155 位的 37 个氨基酸残基主要是由一些疏水性氨基酸组成的肽链，其余区域以亲水性氨基酸组成，从整体来看，*pta* 在一级结构上以亲水性为主（图 4）。

2.3.3　*pta* 编码蛋白的信号肽分析　分析 *pta* 编码蛋白 *N*-末端序列，发现序列中 *N*-端有 21 个氨基酸残基的信号肽，剪切位点位于第 24 位的丙氨酸



正值代表疏水性，负值代表亲水性

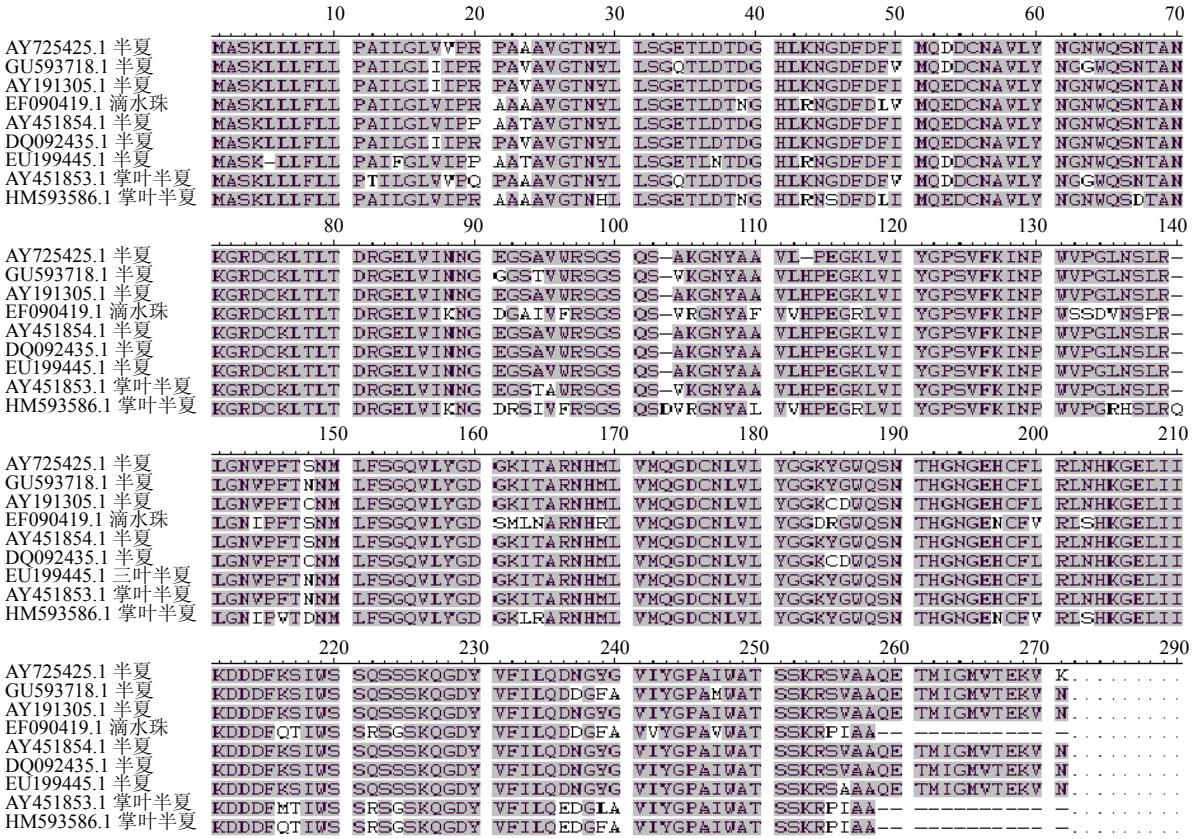
Positive values on behalf of hydrophobicity, while negative values on behalf of hydrophilicity

图 4 氨基酸疏水性/亲水性预测

Fig. 4 Prediction of amino acid hydrophobicity/hydrophilicity

（A 24）和第 25 位的缬氨酸（V 25）之间。

2.3.4 *pta* 与其他植物凝集素基因的同源性分析 在GenBank/EMBI数据库查询具有完整ORF的半夏属凝集素基因核苷酸序列和相应的氨基酸序列，得到同属 3 个种 9 条基因登录信息，其中 PTA 基因 6 条，掌叶半夏凝集素（*P. pedatisecta* agglutinin，PPA）基因 2 条，滴水珠（水半夏）凝集素（*P. cordata* agglutinin，PCA）基因 1 条。氨基酸序列对比结果（图 5）显示，已知几种半夏属凝集素基因的同源性都很高，亲缘关系越近它们之间核苷酸序列和氨基酸序列同源性越高。计算已知半夏凝集素基因氨基酸序列的相似度数据（相似度＝相同氨基酸数/氨基



阴影部分代表相同的氨基酸序列

Shadow parts indicate the same amino acid sequences

图 5 半夏属植物凝集素氨基酸序列比对

Fig. 5 Amino acid sequences of agglutinins from plants in *Pinellia* Ten

酸总数），最小值为 82%，表明已知基因氨基酸序列之间的同源性是很高的，见表 1。而且种内同源性高于种间同源性，这与形态学的分类结果基本一致。6 个 PTA 氨基酸序列间的同源性都在 90%以上，其中登录号为 AY191305 和 DQ092435 的序列完全一致。PTA 和 PPA 氨基酸序列间的同源性（83%～94%）高于 PTA 和 PCA 氨基酸序列间的同源性（82%～83%）。PPA 和 PCA 氨基酸序列同源性在 84%～90%。聚类分析结果（图 6）也同样证实了这个结论，其中有 3 条序列是以 DNA 为模板克隆的，

表 1　半夏凝集素氨基酸序列同源性

Table 1　Homology of amino acid sequences of PTA

登录号	AY725425	AY451854	AY191305	DQ092435	EU199445	GU593718	AY451853	HM593586	EF090419
AY725425	100%								
AY451854	98%	100%							
AY191305	97%	97%	100%						
DQ092435	97%	97%	100%	100%					
EU199445	96%	97%	95%	97%	100%				
GU593718	94%	94%	95%	95%	93%	100%			
AY451853	90%	91%	90%	90%	90%	94%	100%		
HM593586	84%	84%	83%	83%	83%	84%	85%	100%	
EF090419	82%	83%	82%	82%	82%	83%	84%	90%	100%

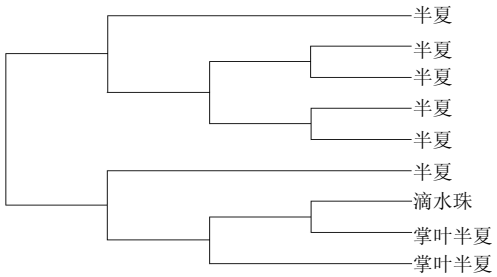


图 6　半夏属植物凝集素氨基酸的聚类分析

Fig. 6　Cluster analysis on amino acid sequences of agglutinins from plants in *Pinellia* Ten

其余 6 条是以 mRNA 为模板克隆的，说明它们之间有很高的同源性，且该基因无内含子。半夏属凝集素基因氨基酸序列的 α-*D*-甘露糖结合识别位点 QXDXNXVXY（QDNVY）中，第 2 个位点保守度最高，氨基酸完全一致；第 1 个位点保守度较高，特征氨基酸完全一致，仅第 2 个氨基酸在天门冬氨酸和谷氨酸之间摆动；第 3 个位点比较特殊，除其特征氨基酸的分布和前两个位点有所不同外，不同种之间的变化也较大，同种内也有不同。半夏有 5 个序列完全一致，但 GU593718 第 3、5、6 个氨基酸分别由天冬酰胺、络氨酸和甘氨酸替换为天冬氨酸、苯丙氨酸和丙氨酸。掌叶半夏的第 2、3 个特征氨基酸分别被谷氨酸和天冬氨酸替换，而且 2 个序列的第 5 个氨基酸也不同，分别是苯丙氨酸或亮氨酸。滴水珠第 3 个特征氨基酸被天冬氨酸替换，第 8 个非特征氨基酸被缬氨酸替换（表 2）。显然，掌叶半夏和滴水珠第 3 个位点的保守度低于半夏。

3　讨论

不同种类半夏凝集素的药用功能是有差别的，这种差别产生的原因在于其遗传基础不同。梁江丽等[7]研究发现掌叶半夏凝集素的凝集活力是半夏凝集素的 4 倍。认为导致 2 种半夏凝集素凝集活性甚至药理作用不同的主要原因是凝集素基因发生了点突变，即第 641 位碱基发生 T/A 突变，第 649 位碱

表 2　半夏属植物凝集素活性位点氨基酸序列

Table 2　Amino acid sequences for active sites of agglutinins from plants in *Pinellia* Ten

登录号	种　类	活性位点 1	活性位点 2	活性位点 3
AY725425	半夏	**QDDCNAVLY**	**QGDCNLVLY**	**QDN**GYG**V**I**Y**
AY451854	半夏	**QEDCNAVLY**	**QGDCNLVLY**	**QDN**GYG**V**I**Y**
AY191305	半夏	**QEDCNAVLY**	**QGDCNLVLY**	**QDN**GYG**V**I**Y**
DQ092435	半夏	**QEDCNAVLY**	**QGDCNLVLY**	**QDN**GYG**V**I**Y**
EU199445	半夏	**QDDCNAVLY**	**QGDCNLVLY**	**QDN**GYG**V**I**Y**
GU593718	半夏	**QDDCNAVLY**	**QGDCNLVLY**	**QDN**GYG**V**I**Y**
HM593586	掌叶半夏	**QEDCNAVLY**	**QGDCNLVLY**	**QEDGFAVIY**
AY451853	掌叶半夏	**QDDCNAVLY**	**QGDCNLVLY**	**QEDGFAVIY**
EF090419	滴水珠	**QEDCNAVLY**	**QGDCNLVLY**	**QDN**GYG**V**I**Y**

加黑字母代表特征氨基酸

Black letters indicate characteristic animo acids

基 G/A 突变，这些突变导致凝集素中第 3 个活性位点上 2 种氨基酸的改变。仅从凝集素抗虫性方面，半夏凝集素的抗虫性可能会优于掌叶半夏和滴水珠，因为从分析结果看，半夏的第 3 个甘露糖结合位点氨基酸构成与保守序列类似，应该是效价更高。GNA 基因是植物转基因研究应用最多的一类凝集素，从本研究结果以及相关研究报道看，半夏凝集素应具有和 GNA 同样的抗虫效果。Yao 等[8]研究表明，凝胶过滤法测定 PTA 相对分子质量为 4.4×10^4，由 4 个约 1.2×10^4 的相同亚基组成，专一结合甘露糖，与 GNA 相似。这似乎也被广泛应用于转基因育种、实践证明具有抗虫性能的 GNA 氨基酸保守序列构成所印证。Hilder 等[9]报道转 GNA 基因烟草对桃蚜的平均抑制率 50%；梁辉等[10]报道 8 个转 GNA 基因小麦植株抗蚜抑制率 47%；王关林等[11]报道转 GNA 基因菊花平均蚜口密度抑制率为 39.4%；周岩等[12]报道转 GNA 基因烟草对桃蚜的抑制率 45%～60%；袁正强等[13]报道经过遗传改造后的 GNA 基因烟草的平均蚜口密度抑制率 71.0%。有关 PTA 的研究也证明，*pta* 基因是一种有重要价值的抗虫基因[14-16]。张正英等[17]利用本研究克隆的 PTA 基因获得转基因烟草植株平均蚜口密度抑制率 56.2%。

利用植物凝集素培育转基因抗虫作物品种在生产上具有重要意义。抗虫基因工程育种技术能克服常规抗病虫育种周期长，无法利用远源及异源抗性基因，以及进行多种异源基因同时导入等问题，为抗虫育种提供了一种新途径。

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1982.

[2] 孙 册, 徐继华, 翟世康, 等. 半夏蛋白的若干生物学性质 [J]. 生物化学与生物学报, 1983, 15(4): 334-338.

[3] 王克夷, 郭 锰. 半夏凝集素的分离纯化和在植物中的分布 [J]. 生物化学杂志, 1993, 9(5): 544-548.

[4] 黄大昉, 潘映红, 张淑香, 等. 从掌叶半夏和半夏中发现对几种蚜虫有致死活性的蛋白 [J]. 中国农业科学, 1997, 30(2): 94.

[5] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程原理与技术 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.

[6] Lin J, Zhou X, Fei J, *et al*. Genomic cloning and characterization of a PPA gene encoding a mannose binding lectin *Pinellia pedatisecta* [J]. *Biocell*, 2006, 30(1): 15-25.

[7] 梁江丽, 陈 波, 田晓平, 等. 半夏和掌叶半夏凝集素原核表达及特性研究 [J]. 中国生物工程杂志, 2009, 29(3): 80-84.

[8] Yao J H, Sun X F, Tang K X. Molecular cloning of Lectin gene from *Pinellia Ternata* [J]. *J Fudan Univ Med Sci*, 2001, 40(4): 461-464.

[9] Hinder V A, Powell K S, Gatehouse A M R, *et al*. Expression of snowdrop lectin in transgenic tobacco plants results in added protection against aphid [J]. *Transgenic Res*, 1995, 4: 18-25.

[10] 梁 辉, 朱银峰, 朱 祯, 等. 雪花莲凝集素基因转化小麦及转基因小麦的抗蚜性研究 [J]. 遗传学报, 2004, 31(2): 189-194.

[11] 王关林, 刘彦泓, 郭绍华, 等. 雪花莲凝集素基因转化菊花及转基因植株的抗蚜性研究 [J]. 遗传学报, 2004, 31(12): 1434-1438.

[12] 周 岩, 田颖川, 吴 标, 等. 转雪花莲外源凝集素基因烟草对桃蚜的抑制作用 [J]. 生物工程学报, 1998, 14(1): 13-19.

[13] 袁正强, 赵存友, 周 岩, 等. 雪花莲凝集素基因 (gna) 的改造及其抗蚜性 [J]. 植物学报, 2001, 43(6): 592-597.

[14] 徐铁峰, 张 磊, 刘成洪, 等. 四倍体菘蓝转抗虫基因研究 II. 转半夏凝集素基因菘蓝的分子生物学检测 [J]. 中草药, 2003, 34(9): 846-849.

[15] 起登凤, 邹良平, 李 平, 等. 农杆菌介导 pta 和 sb401 基因共转化水稻的研究 [J]. 西北农业学报, 2009, 18(2): 79-82.

[16] 张红宇, 吴先军, 唐克轩, 等. 半夏凝集素基因 (pta) 导入水稻及其表达的初步研究 [J]. 遗传学报, 2003, 30(11): 1013-1019.

[17] 张正英, 令利军, 王红梅, 等. 半夏凝集素基因的克隆及转基因烟草对蚜虫的抑制作用 [J]. 植物保护, 2010, 36(6): 21-25.