

文章编号: 1674-7054(2015)02-0113-06

巴西橡胶树锌指蛋白基因的克隆及功能鉴定

肖 华 林云蒸 姚 笛 欧阳沫 黄 惜

(海南大学 农学院 / 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室 海南 海口 570228)

摘 要: 锌指蛋白是一类能与 DNA/RNA 结合并调控基因表达的蛋白。前期笔者通过酵母双杂技术筛选到 1 个可能与 JAZ 蛋白互作的巴西橡胶树锌指蛋白(命名为 Hbzinc-finger),该基因的 cDNA 全长序列有 2 262 bp 编码 753 个氨基酸。该蛋白碳末端有 1 个 PBI 结构域,在 336~381 处氨基酸序列编码 1 个 ZnF_ZZ 锌离子结合结构域。红色荧光蛋白亚细胞定位结果表明,Hbzinc-finger 定位于细胞核,酵母自转录激活显示该蛋白有自转录活性。该基因的表达受创伤影响,表明橡胶锌指蛋白的表达可能受茉莉酸信号调控。

关键词: HbZinc-finger; 克隆; 亚细胞定位; 自转录激活; 表达

中图分类号: Q 816

文献标志码: A

锌指蛋白是指一类具有锌指结构域的蛋白,这种特殊的结构最早是上世纪 80 年代中期 Miller 等在非洲爪蟾卵母细胞的转录因子 TFⅢA 中发现的^[1-2],锌指结构是一小段含很多半胱氨酸残基氨基酸序列,这些区域通过结合 Zn^{2+} 自身折叠成较稳定的相对独立的“手指”状四面体结构^[3],并可以通过该结构域识别 DNA、蛋白质和 RNA^[4]。锌指蛋白是迄今为止在动物中发现的分布很广的一类蛋白,锌指蛋白基因约占人类基因组序列的 1%^[3]。锌指蛋白也普遍存在于植物体中,目前在拟南芥、水稻、大豆、棉花等植物中都有针对这类蛋白进行克隆与功能鉴定的研究^[5-8],研究结果发现,这类蛋白可通过与 DNA、蛋白质、RNA 结合并发生相互作用来调控下游基因的表达^[9-15]。上述研究结果表明,锌指蛋白在植物生长发育和抗逆性等方面起到了重要的作用。在植物的抗逆反应中,茉莉酸类物质可以作为细胞内或细胞间的信号分子,通过与相关转录因子的相互作用,来调控下游基因表达防御蛋白及次生代谢产物,以发挥其自身防御机制^[16]。JAZs 蛋白是茉莉酸信号途径最关键的一个负调控因子,当外界无胁迫时 JAZs 蛋白与 MYC2 转录因子结合从而抑制转录因子的活性,使其下游基因的无法转录表达;当植物受到外界环境的胁迫时植物体内可迅速生成大量茉莉酸的衍生物茉莉酸-异亮氨酸衍生物,能够促使 SCFCOII 与 JAZ 蛋白紧密结合,从而使 JAZ 蛋白被泛素化标记,进而在 26S 蛋白酶体作用下被降解,被抑制的下游基因就可以转录表达^[17-19]。在前期实验中,笔者构建 HbJAZ1 的 Bait 载体,然后进行橡胶 cDNA 酵母双杂文库的 HbJAZ1 互作蛋白的筛选,得到 1 个阳性克隆,经测序 blast 比对得知这个阳性克隆与 1 个泛素化相关的锌指蛋白同源性最高,达 77%^[20]。笔者在此基础上,首先克隆 Hbzinc-finger 基因的全长 cDNA 序列,然后对该基因的亚细胞定位、自转录激活鉴定和表达分析等方面进行功能鉴定,旨在为该基因的深入研究及生理生化功能鉴定打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料 实验植物材料为巴西橡胶树无性系 RY7-33-97 和烟草。大肠杆菌为 DH5a 菌种,购于全式金公司;转录活性分析用的酵母菌为 Y2H Gold 菌种,取自海南大学生物科学技术研究所菌种保存库。转录活性分析载体 pGBKT7 取自本实验室载体库。各种酶、提质粒、胶回收试剂盒、Real-Time PCR 试剂

收稿日期: 2015-03-15

基金项目: 海南省科技项目(ZDX2013023)及国家自然科学基金(31370608,31260170)资助

作者简介: 肖华(1987-),女,海南大学农学院 2012 级橡胶学硕士研究生。

通信作者: 黄惜(1969-),男,研究员, E-mail: xihuang@hainu.edu.cn

盒及平末端 T 载体 pSIMPLE-49EcoR V /BAP 载体均购于 TAKARA 公司; 其他药剂均购于 Sigma 公司; 所有 PCR 引物合成及 DNA 测序均由 Invitrogen 公司完成。

1.2 总 RNA 提取 胶乳中总 RNA 的提取方法参照文献[21]。取 10 mL 新鲜胶乳, 加入等体积的缓冲液 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ LiCl $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA 10% SDS) 后用 2 倍体积 $V_{\text{水保和酚}}: V_{\text{氯仿}}: V_{\text{异戊醇}} = 25: 24: 1$ 提取, 振荡低温高速离心取上清, 并加入等体积的 $V_{\text{酚}}: V_{\text{氯仿}} = 24: 1$ 混匀, 低温高速离心取上清, 加入 1/3 体积的 $5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 于 -20°C 沉淀过夜, 低温高速离心去上清后用 75% 乙醇清洗沉淀 2 次, 弃上清后干燥; 无菌 DEPC 水溶解。树皮、树叶总 RNA 使用百泰克公司植物总 RNA 提取试剂盒提取。

1.3 橡胶锌指蛋白全长 cDNA 克隆

1.3.1 橡胶锌指蛋白全长 cDNA 电子克隆 橡胶锌指蛋白来源于本实验室早前以 HbJAZ1 为 Bait 进行橡胶基因酵母双杂文库杂交得到的 1 个阳性克隆, 经测序 NCBI Blast 比对后, 发现此蛋白与 ubiquitin-associated (UBA) zinc-finger 同源性最高, 达到 77%。通过 BioEdit 软件电子克隆预测该基因的全长 cDNA 序列, 根据该序列设计引物扩增全长编码区, 引物序列如下: ZF 特异性正向引物: 5'-ATGGAGTCTACTCTG-TGATCAA-3'; ZF 特异性反向引物: 5'-TTAACGAGTTGCATCCACATAA-3'。

1.3.2 橡胶锌指蛋白的全长基因的获得 以巴西橡胶树无性系 RY7-33-97 的胶乳为试材, 提取总 RNA, 以 Oligo(dT) 为引物反转录获得 cDNA, 并以此为模板, 利用 Pfu 高保真酶进行 PCR 扩增, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳后回收目的基因片段, 并将其与平末端的 pSIMPLE-49EcoR V /BAP 载体连接转化 DH5a 感受态, 将阳性克隆送测序公司测序。

1.4 橡胶锌指蛋白的亚细胞定位分析

1.4.1 橡胶锌指蛋白的 pGDR 重组载体的构建 根据 pGDR 载体多克隆位点自带的酶切位点^[17]及锌指蛋白基因本身序列情况, 分别在 5'端引物和 3'端引物中均添加 Sal I 酶切位点, 引物如下: ZF 正向引物: 5'-GAGTCGACATGGAGTCTACTCTGTTGATCA-3'; ZF 反向引物: 5'-GAGTCGACCTTAACGAGTTGCATC-CACATA-3'。以 cDNA 为模板用高保真酶进行 PCR 扩增, 产物胶回收后用 Sal I 限制性内切酶切割, 然后连接到用相同限制性内切酶切割过的 pGDR 空载体, 转化 DH5a 感受态, 将阳性克隆提质粒后用相同内切酶切割检测。

1.4.2 农杆菌感受态的转化及侵染烟草实验 利用热激法将 pGDR-Hbzinc-finger 转化到农杆菌 Gv3101 感受态中。然后用转基因农杆菌侵染烟草下表皮方法^[22]。暗培养 2 d 后用激光共聚焦显微镜观察。

1.5 橡胶锌指蛋白的自转录活性分析

1.5.1 橡胶锌指蛋白的 pGBKT7 重组载体的构建 根据 pGBKT7 载体多克隆位点自带的酶切位点及锌指蛋白基因本身序列情况, 分别在 5'端引物和 3'端引物中添加 Nde I 和 EcoR I 2 个酶切位点, 引物如下: ZF 正向引物: 5'-ATTCCATATGGAGTCTACTCTGTTGATCA-3'; ZF 反向引物: 5'-CGGAATTCTTAACGAGT-TGCATCCACATA-3'。以 cDNA 为模板用高保真酶进行 PCR 扩增, 产物胶回收后用 Nde I 和 EcoR I 2 个限制性内切酶切割, 然后连接到用相同限制性内切酶切割过的 pGBKT7 空载体, 转化 DH5a 感受态, 将阳性克隆提取质粒后用相同内切酶切割检测。

1.5.2 自转录活性分析 酵母感受态的制备及转化方法参照 Clontech 公司试剂盒转化方案, 利用 PEG 为诱导剂将 pGBKT7-Hbzinc-finger 重组质粒转入酵母 Y2H Glod 菌株, 同时转入 pGBKT-53 与 pGADT7-T 为正对照, pGBKT7 空载为负对照。将转基因酵母进行液体培养, 分别点到 SD/-Trp 和 SD/-Trp-His-Ade + ABA + X-a-Gal 营养缺陷型固体培养基上, 观察菌落生长情况。

1.6 橡胶锌指蛋白的表达分析 将 HbZinc-finger 的氨基酸序列放到 <http://prosite.expasy.org/> 在线上比对, 找到它的保守结构域。避开保守结构域, 从基因序列的 5'端上选 300 bp 特异性片段, 在 <http://primer3.ut.ee/> 上在线设计适合 Real Time PCR 使用的引物。以 Actin 基因为内参进行 Real Time PCR, PCR 使用 TakaRa 公司的试剂盒在 ABI 7500 Real Time PCR 仪进行, 每个橡胶组织样品分别进行 3 次生物重复, 每个生物重复分别进行 3 次技术重复, 实验数据用 excel 初步整理后, 用 JMP 9 软件进行方差分析和多重比较。Real Time PCR 引物如下: HbActin 正向引物: 5'-TGTCAAGCACTGGGACGATATGG-3'; HbActin 反向引物: 5'-

GAGTCATCTTCTCTCTGTTGGC-3'. zf 正向引物: 5'-ATGGACAGCTTGATCTCGACATGA-3'; zf 反向引物: 5'-ACCCCTCAAGAATTTTCAGGCTTTTGT-3'.

2 结果与分析

2.1 橡胶锌指蛋白基因全长克隆 橡胶胶乳总 RNA 经 RT-PCR 反应合成 cDNA 后, 以此为模板进行 PCR 扩增, 获得的目的条带大于 2 000 bp(图 1)。经测序分析, 全长 2 262 bp 编码 753 个氨基酸(图 2)。

将锌指蛋白氨基酸序列输入 <http://expasy.org/tools/protparam.html> 在线预测分析蛋白质的分子式为 C3703H5909N1031O1178S42 相对分子质量 85 067.3 等电点 pI 为 4.95 体外半衰期为 30 h。将锌指蛋白氨基酸序列输入 <http://smart.embl-heidelberg.de/> 在线分析它的结构域 在 4~89 氨基酸残基序列间存 1 个 PBI 结构域 在 336~381 氨基酸残基序列间存 1 个 ZnF_ZZ 锌离子结合结构域(图 3)。

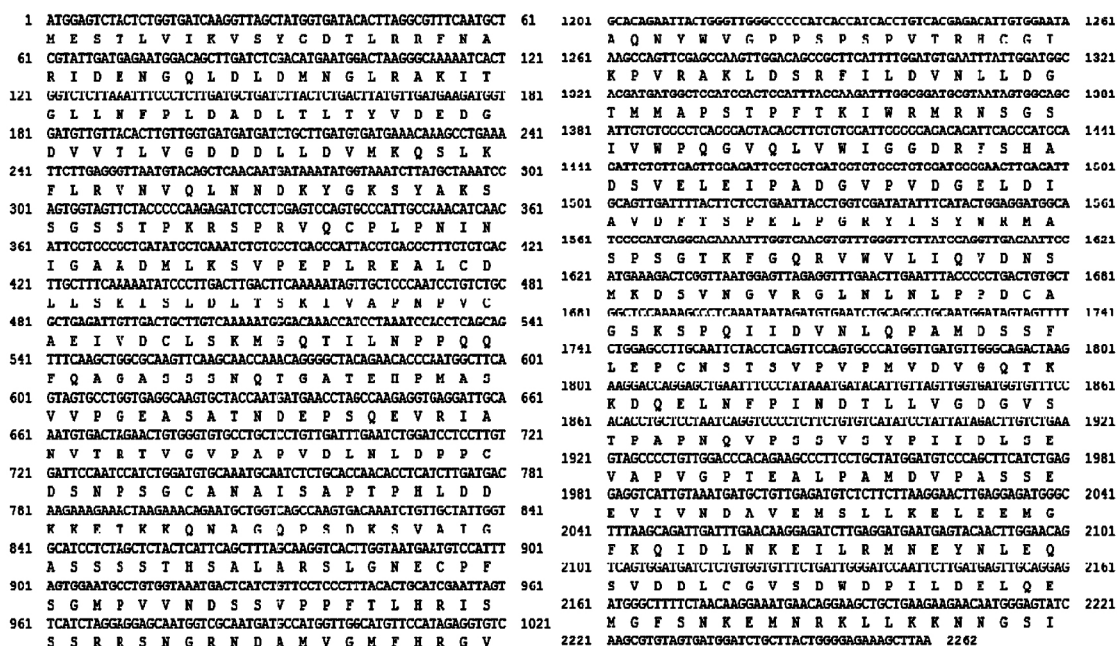


图 2 橡胶锌指蛋白 cDNA 全长序列及氨基酸序列

Fig. 2 The full-length cDNA and the amino acid sequence of Hbzinc-finger

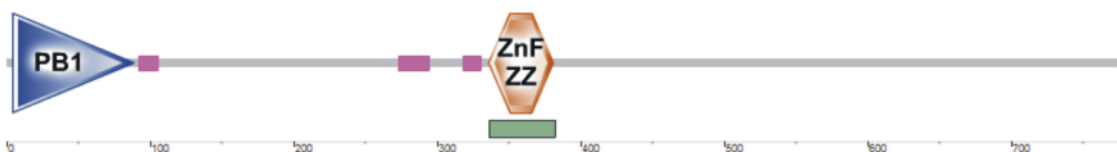


图3 橡胶锌指蛋白结构域预测分析

Fig. 3 The domain prediction of HbZinc-finger

2.2 橡胶锌指蛋白的亚细胞定位分析 用转基因农杆菌侵染后的烟草植株暗培养 2 d 后,撕下被侵染的部位制成临时装片用共聚焦激光共聚焦显微镜上,检测 RFP 信号(图 4),可见 pGDR 空植物表达载体红色荧光信号在整个烟草下表皮细胞都能检测到,而 pGDR-Hbzinc-finger 重组植物表达载体的红色荧光仅能在细胞核上检测到,说明 HbZinc-finger 的植物亚细胞定位于细胞核。

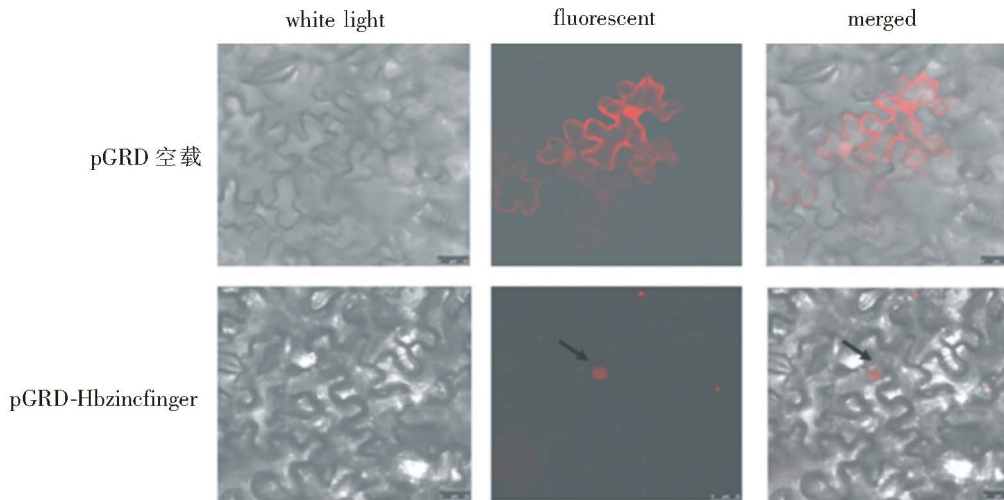


图4 橡胶锌指蛋白的亚细胞定位图

Fig. 4 Subcellular fluorescent localization of HbZinc-finger

2.3 橡胶锌指蛋白的自转录活性分析 将 PGBKT7-HbZinc-finger 酵母阳性克隆的菌液分别点到 SD/-Trp 和 SD/-Trp-His-Ade/ABA/X-a-Gal 营养缺陷型固体培养基上,同时点上含 pGBKT7-53 与 pGADT7-T 的双转基因 Y2H Gold 酵母菌做正对照,以及含 pGBKT7 空载的转基因 Y2H Gold 酵母菌做负对照,然后倒置于 30 °C 培养箱内培养 24 h,观察到实验组能在 SD/-Trp 培养基上正常生长,说明酵母转化实验成功。实验组能在 SD/-Trp-His-Ade/ABA/X-a-Gal 板上正常生长且和正对照一样显蓝色,而负对照则不能,说明锌指蛋白具有自转录活性(图 5)。

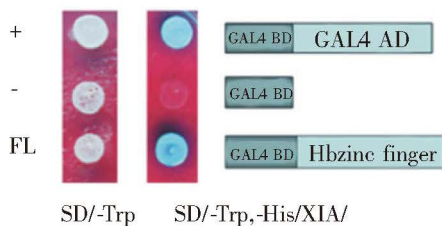


图5 橡胶锌指蛋白的自转录活性分析图

+: 正对照, pGBKT7-53, pGADT7-T 转化 Y2H Gold 酵母菌;-: 负对照, pGBKT7 转化 Y2H Gold 酵母菌; LF: pGBKT7-HbZinc finger 重组质粒转化 Y2H Gold 酵母菌。

Fig. 5 Self transcriptional activation test of HbZinc-finger

+: The positive control, Y2H Gold yeast was transform by pGBKT7-53 pGBKT7-53, pGADT7-T pGADT7-T plasmids.

-: The negative control, Y2H Gold yeast was transform by pGBKT7 plasmids

LF: Y2H Gold yeast was transform by pGBKT7 - HbZinc finger recombinant plasmid.

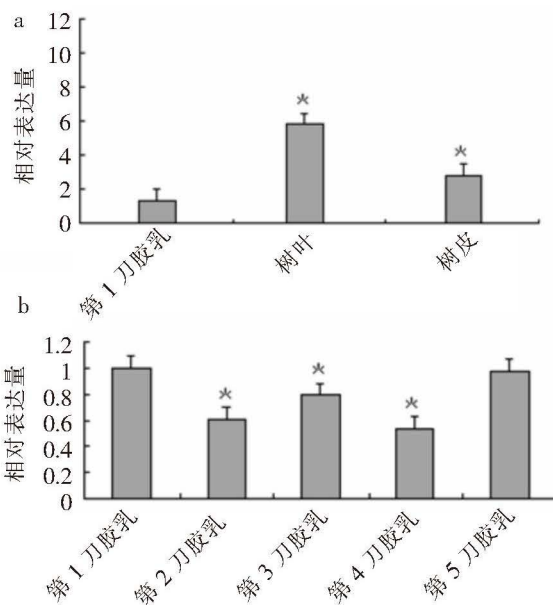


图6 Real-time PCR 分析锌指蛋白的基因差异

a. 组织差异性表达;b.割胶创伤对锌指蛋白胶乳中表达的影响

Fig. 6 The Real-time PCR analyze of gene expression of HbZinc-finger a. the differential expression of HbZinc-finger in rubber latex, leaves and bark; b. the expression of HbZinc-finger in rubber latex after wounding by tapping

2.4 橡胶 Hbzinc-finger 的表达分析 以橡胶树叶、树皮及连续 5 次割胶提取胶乳的总 RNA 反转录成的 cDNA 为模板进行 Real TimePCR,实验设计符合单因素完全随机实验原则,数据用 excel 初步整理后用

JMP9 做方差分析和多重比较。结果表明, 橡胶 *Hbzinc-finger* 在树叶、树皮、胶乳中均有稳定表达, 胶乳中的含量显著低于树皮和树叶(图 6a)。而在胶乳中, 第 1 刀胶乳的表达量显著高于第 2、3、4 刀, 而与第 5 刀之间无明显差异(图 6b)。说明在受到连续的割胶创伤后, 橡胶 *Hbzinc-finger* 的量呈现先降低后又恢复的趋势, 由此可推测橡胶 *Hbzinc-finger* 参与了橡胶树的创伤防御应答反应。

3 讨论

在真核生物中存在大量蛋白质分子含有特殊的锌指结构, 这些蛋白统称为锌指蛋白。这些特殊的指状结构在对 DNA、蛋白质和 RNA 的识别和结合中起重要作用。有些锌指蛋白在真核生物的基因表达调控中处于上游, 它的锌指状结构可以特异地识别 DNA, 并与某些效应结构域结合, 起到转录因子的作用, 从而调控靶基因的转录表达^[23]。在动物中, 锌指蛋白可以通过泛素蛋白酶体途径来影响动物细胞的凋亡及过敏反应^[24-26]。在植物中, 锌指蛋白参与植物的逆境胁迫应答反应, 还可增强植物的抗逆性^[27]。

本研究获得的橡胶锌指蛋白 *HbZinc-finger* 基因, 来源于本实验室前期 HbJAZ1 为 Bait 进行橡胶基因酵母双杂文库杂交, 所获得的 1 个阳性克隆, 经测序 blast 比对得知该阳性克隆与 1 个泛素化相关的锌指蛋白同源性最高, 达 77%。然后再以此为根据, 设计引物从橡胶 cDNA 中通过 PCR 扩增得到。亚细胞定位和自转录活性实验表明, 橡胶锌指蛋白 *Hbzinc-finger* 定位于细胞核中, 且在酵母中有转录活性。而表达分析显示, *HbZinc-finger* 广泛存在于橡胶树的树皮、树叶、胶乳各个组织, 且在受到连续的创伤胁迫后橡胶 *HbZinc-finger* 呈现先降低后又恢复的趋势。JAZ1 是茉莉酸信号途径的 1 个最关键的负调控因子, 而茉莉酸及其衍生物又是植物机械损伤反应中的重要信号。由此可猜测 *HbZinc-finger* 参与植物的创伤应答反应是先通过锌指结构特异结合 HbJAZ1 蛋白, 然后通过泛素化蛋白酶体来进行蛋白间的信号转导。笔者拟通过 BiFC、Pull-down 等手段来验证 *HbZinc-finger* 与 HbJAZ1 互作, 并通过转化各类拟南芥突变体来验证基因功能互补, 通过筛选其结合的 DNA/RNA 序列, 筛选鉴定其目标基因, 从而确定 *HbZinc-finger* 参与哪些茉莉酸信号途径及生理功能。

参考文献:

- [1] MILLER J, MCLACHLAN A D, KLUG A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor IIIA from *Xenopus* oocytes [J]. EMBO J, 1985, 4: 1609-1614.
- [2] LEE M S, GIPPERT G P, SOMAN K V, et al. Three-dimensional solution structure of a single zinc finger DNA-binding domain [J]. Science, 1989, 245: 1609-1614.
- [3] HOOVERS J M, MANNENS M, JOHN R, et al. High-resolution localization of 69 potential human zinc finger protein genes: a number are clustered [J]. Genomics, 1992, 12(2): 254-263.
- [4] 李晓波, 张俊武. 真核生物中锌指蛋白的结构与功能[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2009, 25(3): 206-211.
- [5] LI G, TAI F, ZHENG Y, et al. Two cotton Cys2/His2-type zinc-finger proteins, GhDi19-1 and GhDi19-2, are involved in plant response to salt/drought stress and abscisic acid signaling [J]. Plant Mol Biol, 2010, 74(4/5): 437-452.
- [6] LIU X, AN J, HAN H, et al. ZAT11, a zinc finger transcription factor, is a negative regulator of nickel ion tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell Rep, 2014, 33(12): 2015-2021.
- [7] YU G, JIANG L, MA X, et al. A soybean C2H2-type zinc finger gene GmZF1 enhanced cold tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. PLoS ONE, 2014, 9(10): e109399.
- [8] ZHANG H, LIU Y, WEN F, et al. A novel rice C2H2-type zinc finger protein, ZFP36, is a key player involved in abscisic acid-induced antioxidant defence and oxidative stress tolerance in rice [J]. J Exp Bot, 2014, 65(20): 5795-5809.
- [9] 王瑛华, 王小菁. 胁迫相关蛋白(SAP)与植物的抗逆性[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2011, 1: 9-12.
- [10] SAAD R B, ZOUARI N, RAMDHAN W B, et al. Improved drought and salt stress tolerance in transgenic tobacco overexpressing a novel A20/AN1 zinc-finger "AISAP" gene isolated from the halophyte grass *Aeluropus litoralis* [J]. Plant Mol Biol, 2010, 72: 171-190.
- [11] MIYOUNG K, MOHAMED F, HAGGAG A, et al. *Arabidopsis* SAP5 functions as a positive regulator of stress responses and exhibits E3 ubiquitin ligase activity [J]. Plant Mol Biol, 2011, 75(4/5): 451-466.
- [12] GIRI J J, VIJ S, DANSANA P K, et al. Rice A20/AN1 zincfinger containing stress-associated proteins (SAP1/11) and a re-

- ceptor-like cytoplasmic kinase (OsRLCK253) interact via A20 zinc-finger and confer abiotic stress tolerance in transgenic Arabidopsis plants [J]. New Phytologist ,2011 ,191(3) : 721 – 732.
- [13] 李晓君 蔡文伟 张树珍,等. 甘蔗锌指蛋白基因 ShSAP1 的克隆与表达模式[J]. 生物工程学报,2011 27(6) :868 – 875.
- [14] KRISHNA S S ,MAJUMDAR I ,GRISHIN N V. SURVEY ANDSUMMARY: Structural classification of zinc fingers [J]. Nucleic Acids Res ,2003 ,31:532 – 550.
- [15] TAKATSUJI H. Zinc-finger proteins: the classical zinc finger reemerges in contemporary plant science [J]. Plant Molecular Biology ,1999 ,39: 1 073 – 1078.
- [16] VIJ S ,TYAGI A K. A20/AN1 zinc-finger domain-containing proteins in plants and animals represent common elements in stress response[J]. Funct Integr Genomics 2008 ,8: 301 – 307.
- [17] 刘金仙,阙友雄,郑益凤,等. 甘蔗锌指蛋白基因的克隆和表达分析[J]. 农业生物技术学报 2009 17(4) :707 – 712.
- [18] AVANCI N C ,LUCHE D D ,GOLDMAN G H ,et al. Jasmonates are phytohormones with multiple functions ,including plant defense and reproduction[J]. Genet Mol Res 2010 ,9(1) :484 – 505.
- [19] BU Q ,JIANG H ,LI C B ,et al. Role of the Arabidopsis thaliana NAC transcription factors ANAC019 and ANAC055 in regulating jasmonic acid-signaled defense responses[J]. Cell research 2008 ,18(7) :756 – 767.
- [20] 刘伟 橡胶 HbJAZ1 基因互作蛋白的筛选研究[D],海口:海南大学 2011.
- [21] 张治礼 杨云,刘宽灿,等. 一种快速、高效的橡胶树胶乳总 RNA 提取方法[J]. 植物学通报 2007 24(4) :516 – 520.
- [22] MICHAEL M. GOODIN ,RALF G. DIETZGEN ,DENISE SCHICHNES ,et al. Jackson1. pGD vectors: versatile tools for the expression of green and red-fluorescent protein fusions in agroinfiltrated plant leaves[J]. The Plant Journal 2002 ,31(3) :375 – 383.
- [23] 黎茵,张以顺. 农杆菌注射渗透法转化烟草实验研究[J]. 生物技术与管理 2010 (11) :50 – 52.
- [24] 赵楠,赵飞,李玉花. 锌指蛋白结构及功能研究进展[J]. 生物技术通讯 2009 (1) :131 – 134.
- [25] BEYAERT R K. A20 inhibits NF- κ B activation by dual ubiquitin-editing functions[J]. Trends Biochem Sci ,2005 ,30: 1 – 4.
- [26] HISHIYA A ,IEMURA S ,NATSUME T ,et al. A novel ubiquitin-binding protein ZNF216 functioning in muscle atrophy [J]. EMBO J 2006 ,25: 554 – 564.
- [27] 田路明,黄丛林,张秀海,等. 逆境相关植物锌指蛋白的研究进展. 生物技术通报 2005(06) :12 – 16.

Cloning and Characterization of a Zinc-finger Gene of *Hevea brasiliensis*

XIAO Hua ,LIN Yunzheng ,YAO Di ,OUYANG Mo ,HUANG Xi

(Hainan Key Laboratory for Sustainable Utilization of Tropical Bioresources/College of Agronomy ,Hainan University ,Haikou 570228 ,China)

Abstract: Zinc-finger is a protein that binds DNA/RNA and regulates gene expression. In previous work , we identified a Zinc-finger protein (termed as HbZinc-finger) that interacted with HbJAZ1 in Y2H against rubber latex cDNA yeast library. The full-length cDNA of HbZinc-finger gene is 2 262 bp in length and encodes 753 aa. C-terminal of HbZinc-finger contains a PB1 domain. A ZnF_ZZ domain exists between 336 aa and 381 aa. Subcellular fluorescent localization result showed that the HbZinc-finger was located in nucleus. Additionally , HbZinc-finger showed strong self transcriptional activation in yeast. Furthermore , the expression of HbZinc-finger was affected by continuously wounding in rubber latex , suggesting that HbZinc-finger is possibly regulated by the JA signaling pathway.

Key words: HbZinc-finger protein; clone; subcellular localization; self transcriptional activation; expression