

植物启动子的化学因素诱导元件

张毅, 尹辉, 李丹, 朱巍巍, 李秋莉*

辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁大连 116029

The *Cis*-elements of Plant Chemic Inducible Promoters

ZHANG Yi, YIN Hui, LI Dan, ZHU Wei-Wei, LI Qiu-Li*

College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029, China

摘要: 启动子是位于结构基因5'端上游区域调控基因转录的一段DNA序列。已在植物启动子中鉴定出许多与诱导表达相关的顺式作用元件, 这些元件对各种物理、化学刺激做出反应, 调控基因表达。文章从化学因素诱导表达启动子入手, 介绍植物表达启动子中激素、伤害、NaCl诱导顺式作用元件研究的进展。

关键词: 植物启动子; 化学诱导; 顺式作用元件

植物的生长发育和生命周期是不同的基因在时间和空间上有序表达的结果, 真核基因表达调控受多种内外因子的影响。根据基因调控在同一事件中发生的先后次序, 可将其分为转录水平调控、转录后水平调控、翻译及翻译后水平调控、蛋白质加工水平的调控等。对于大多数基因, 转录水平是主要调控点, 受多种顺式作用元件和反式作用因子的相互协调作用。启动子是位于结构基因5'端上游区域调控基因转录的一段DNA序列, 能活化RNA聚合酶, 使之与模板DNA准确地结合, 确保转录精确而有效地起始, 是转录调控的中心。作为一种重要的顺式调控因子, 启动子一直是转录水平调控研究的热点。

根据基因表达情况, 可将启动子分为两类: 组成型启动子和特异性启动子。组成型启动子能在所有细胞、任何时候进行转录; 特异性启动子又可分为组织特异性启动子和诱导型启动子, 诱导型启动子平时不启动转录或转录活性很低, 但在某些特定的物理或化学信号的刺激下, 转录活性能够显著地提高。

迄今已克隆鉴定了部分植物激素、伤害、离子等化学因素诱导表达的启动子, 这些启动子中存在一些顺式作用元件。不同化学信号能够激活相关转录因子的表达, 这些转录因子与启动子中的顺式作用元件特异结合, 通过它们之间的相互作用, 调控这些基因表达, 以使植物能够对这些

化学信号产生响应, 对不良环境产生抵御能力, 而对有利环境呈现趋向性, 从而达到良好生长。植物化学因素诱导表达启动子主要有植物激素诱导表达启动子、伤害诱导表达启动子和NaCl诱导表达启动子。

1 植物激素诱导表达启动子

植物激素调节植物细胞的伸长、分裂和分化, 并且控制植物体的生长、发育、休眠、萌发、生根、开花、结果以及果实成熟等过程。植物激素本身不能直接作用于DNA, 须先与其受体结合, 促使受体蛋白激活再启动特定基因的表达, 从而引起生理反应。植物激素诱导启动子的研究, 可有助于人们了解植物激素在植物生长发育过程中的作用机制, 其中研究较多的是, 脱落酸诱导表达启动子、乙烯诱导表达启动子和茉莉酸甲酯诱导表达启动子。

1.1 脱落酸诱导表达启动子 脱落酸(ABA)在植物发育的很多方面发挥调控作用, 包括种子储存蛋白和脂肪的合成, 促进种子干燥和休眠, 抑制植物从胚胎到萌发及从营养生长到生殖生长的转变; 此外ABA还介导植物对脱水、盐胁迫等逆

收稿 2007-03-12 修定 2007-05-21

资助 国家自然科学基金(30370806)和辽宁省科技基金(20031060)。

* 通讯作者(E-mail: liqiuli@dl.cn; Tel: 0411-82158681)。

表1 ABA 诱导顺式作用元件

基因	植物	顺式作用元件	核心序列	参考文献
<i>Em</i>	小麦	Emla	ACACGTGGC	Vasil 等 1995
		Emlb	ACACGTGCC	
<i>rab76B</i>	水稻	motif I	AGTACGTGGC	Ono 等 1996
		motif III	GCCGCGTGGC	
<i>HVA1</i>	大麦	ABRE	CCTACGTGGC	Shen 等 1996
		CE3	ACGCGTGCCTC	Shen 等 2004
<i>HVA22</i>	大麦	ABRE	GCCACGTACA	Shen 等 1996
		CE1	TGCCACCG	Shen 等 2004
<i>Glb1</i>	玉米	Emla	ACGTGGC	Liu 等 1998
		Emlb	ACGTAGCCG	
<i>rd29A</i>	拟南芥	ABRE	ACGTGGC	Uno 等 2000
		ABRE	ACGTGTC	
<i>Cat1</i>	玉米	ABRE	CCGCGTGG	Guan 等 2000
<i>FKBP 73</i>	小麦	ABRE1	GACGTGGC	Kurek 等 2000
		ABRE2	GACGTGTC	
		ABRE3	TACGTGGG	
<i>rd29A</i>	拟南芥	ABREs	ACGTG[G/T]C	Narusaka 等 2003
		DRE	TACCGACAT	
<i>Dc3</i>	胡萝卜	TCGTGT-motif	TCGTGT	Chung 等 2005
		E-motif	ACACGTGCA	

境诱导的生理反应, 这些反应包括气孔的关闭以及一系列基因的表达。目前已经鉴定出很多 ABA 诱导表达启动子的顺式作用元件, 如: ABREs (ABA-responsive elements)、G-boxes、TCGTGT 模序(motif)等(表 1)。

1.1.1 ABREs ABRE 的核心序列是 ACGT, 又称为 ACGT-box。单独的 1 个 ABRE 并不足以赋予启动子 ABA 诱导性, 需多拷贝的 ABRE 或有其他的偶联模序的存在。大麦(*Hordeum vulgare*) *HVA1* 基因启动子中存在着脱落酸应答复合体(ABRC3), 该复合体含有 1 个 ACGT-box (A2, CCTACGTGGC) 和 1 个近端的偶联元件 CE3 (ACGCGTGCCTC), 1 个拷贝的脱落酸应答复合体就可以指导核心启动子的脱落酸诱导活性, 如果人为的将 2 个元件的距离增加, 则启动子的 ABA 诱导活性降低。在大麦 *HVA22* 基因启动子 ABRC1 中存在 1 个 ACGT-box (A3, GCCACGTACA) 和 1 个远端的偶联元件 CE1 (TGCCACCG)。2 个脱落酸应答复合体(ABRCs)中的 A2 和 A3 互换, 相应的启动子 ABA 诱导活性没有变化; 但是分别更换偶联元件, 则启动子的 ABA 诱导活性降低。尽管启动子的诱导活性需要 ACGT-box 和 CE 元件相互

作用, 但是研究发现 2 个 ACGT-box 也可以赋予启动子的 ABA 诱导活性, 同时 2 个拷贝的 CE 元件却不能赋予启动子的 ABA 诱导活性。因此, 推断启动子的 ABA 诱导活性需要 2 个 ACGT-box 或者 1 个 ACGT-box 和 1 个 CE 元件, 但 ACGT-box 和 1 个 CE 元件的旁侧序列对启动子的活性也有一定的影响(Shen 等 1996, 2004)。

1.1.2 G-boxes 大量的 ABA 诱导基因含有 G-box 结构, 其共有序列为 [C/G/T]ACGTGG[C/G]。玉米(*Zea mays*) *Glb1* 基因启动子含有 1 个 G-box 的复合体, 此复合体含有 1 个 Emla 模序(ACGTGGCGA) 和 1 个 Emlb 模序(ACGTAGCCG), 这 2 个模序均含有 ACGT 核心序列, 该复合体赋予启动子脱落酸诱导活性。含有 4 个拷贝的 Emla 或 Emlb 序列可使基本启动子具有脱落酸诱导表达的能力。在原生质中, G-box 的复合体能象脱落酸效应元件一样发挥作用, 但单个的 G-box 与基本启动子偶联后不能产生 ABA 效应特征(Liu 等 1998)。

1.1.3 TCGTGT 模序(motif) 胡萝卜(*Daucus carota*) 编码 Lea 蛋白的 *Dc3* 基因启动子是 ABA 诱导表达启动子, 经 5' 端缺失分析发现, 近端启动子区域 (PPR, -117~+27 bp) 含有 5 个 E 模序(ACACGT-

GCA);远端启动子区域(-449~-290 bp)与ABA诱导表达有关,因此称为远端ABA响应区域(DAR),DAR含有多个TCGTGT模序,DAR单独存在并不赋予启动子ABA诱导活性,只有DAR的TCGTGT模序与PPR的E模序共同作用才能调控ABA响应基因*Dc3*的表达。TCGTGT模序与PPR-GUS连接,2个模序驱动的GUS基因的表达活性比单个模序表达活性高,而且TCGTGT模序与PPR之间的距离也决定ABA诱导活性(Chung等2005)。

1.2 乙烯诱导表达启动子 乙烯是一种植物内源激素,它能影响植物生长发育的许多方面。生物体

内控制乙烯生物合成的基因在特定的发育时期,如果成熟期、花瓣衰老期、或受到病菌感染时可以被诱导表达。植物乙烯诱导表达基因研究最多的是防御基因,当有病原菌入侵时,乙烯能激活这类基因的表达。这些基因编码几丁质酶(chitinase), β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-glucanase)和其他一些致病相关蛋白(pathogenesis-related protein)。乙烯诱导表达的防御基因的启动子有共同的顺式作用元件:GCC-box。在成熟和衰老时表达的基因,其启动子没有可识别的GCC-box,存在其他乙烯响应元件(ethylene-responsive element, ERE)(表2)。

表2 乙烯诱导顺式作用元件

顺式作用元件	基因	植物	核心序列	参考文献
GCC-box	<i>Gln2</i>	烟草	TAAGAGCCGCC	Ohme-Takagi 和 Shinshi 1995
	<i>PRB-1b</i>	烟草		Bütner 和 Singh 1997
	<i>PDF1.2</i>	拟南芥		Gu 等 2002
ATTTCAAA	<i>SmCP</i>	茄子	ATTTCAAA	Rawat 等 2005
	<i>TLCL1.1</i>	番茄		Tapia 等 2005
AATTCAAG	<i>SmCP</i>	茄子	AATTCAAA	Rawat 等 2005
W-box	<i>CALTI</i>	辣椒	TTGACC	Jung 等 2005
ERE-box	<i>CALTI</i>	辣椒	TTTGAATT	Jung 等 2005

1.2.1 GCC-box GCC-box 是由GCC串联重复而成,含有11 bp保守序列:TAAGAGCCGCC。如果缺失GCC-box和突变GCC-box将导致启动子乙烯应答活性丧失。烟草(*Nicotiana tabacum*) β -1,3-葡聚糖酶*Gln2*基因启动子中有2个拷贝的GCC-box,将这2个GCC-box与(-46)CaMV35S启动子连接转入烟草中,报告基因的表达呈现乙烯诱导活性(Ohme-Takagi和Shinshi 1995)。乙烯响应因子(ethylene-responsive factors, ERFs)与GCC-box相互作用调控乙烯响应基因的表达,在烟草中分离得到了4个ERFs:ERF1、ERF2、ERF3、ERF4。这些蛋白可以和GCC-box结合,其中ERF1、ERF2和ERF4对启动子起到激活作用,ERF3对启动子起抑制作用(Ohta等2000)。

1.2.2 ATTTCAAA序列 茄子(*Solanum melongena*)中编码半胱氨酸蛋白酶的*SmCP*基因受乙烯诱导表达,1.34 kb启动子区域含有乙烯响应元件ERE,不同缺失片段与GUS报告基因连接转化烟草,经

分析发现,-415~+54 bp片段有1个ERE(-355~-348 bp),序列为:AATTCAAG,转化烟草经乙烯利处理与未处理样品相比GUS活性增加3倍;-827~+54 bp片段还有一个ERE(-683~-676 bp),序列为:ATTTCAAA,转化烟草经乙烯利处理与未处理样品相比GUS活性增加5倍。茄子果实在成熟期乙烯含量高,凝胶迁移率分析表明,ERE不与幼龄期果实的核提取物结合,但可以与成熟期果实的核提取物结合,有人推测在不同生理条件下,不同的转录因子可能与同一个ERE相互作用来调控基因的表达(Rawat等2005)。

1.3 茉莉酸甲酯诱导表达启动子 以茉莉酸(JA)和茉莉酸甲酯(MeJA)为代表的茉莉酸类物质(JAs)是一种新型植物生长调节物质,近年来被定为植物激素,广泛存在于高等植物体中,在调节植物生长发育、光合特性、抗逆反应等起作用。它作为内源信号分子参与植物在机械伤害、病虫害、脱水、盐胁迫、低温等条件下的抗逆反应。诱

导一系列与抗逆有关的基因表达, 已经鉴定与茉莉酸甲酯诱导有关的顺式作用元件有: G-box、

GAGTA 元件、13 bp 模序(motif)等(表 3)。

1.3.1 G-box *Vsp1* 基因是拟南芥(*Arabidopsis*

表 3 茉莉酸甲酯诱导顺式作用元件

顺式作用元件	基因	植物	核心序列	参考文献
13-bp	<i>Ttol</i>	烟草	TGGTAGGTGACAT	Takeda 等 1999
G-box	<i>LAP</i>	拟南芥	AACGTG	Boter 等 2004
GAGTA element	<i>LAP</i>	拟南芥	GAGTA	Boter 等 2004

thaliana)的一种贮存蛋白, 该基因的表达受到茉莉酸甲酯(MeJA)诱导。研究该基因启动子的结果显示, 全长启动子可以驱动 *GUS* 基因在转基因烟草叶肉原生质体中表达, 进一步的缺失试验证明茉莉酸甲酯的应答区域是启动子的41 bp (605~645 bp)序列, 该序列位于 TATA-box 上游 150 bp 处, 含有 2 个与 G-box 相似元件: AACGTG 和 CACGGC, 还有 1 个与 CCAAT-box 相似模序: CCAAT。CACGG 和 CCAAT 序列缺失并不影响茉莉酸甲酯诱导表达, 而 AACGTG 序列突变, 茉莉酸甲酯调控作用完全丧失, 这个序列决定 *vsp1* 在转录水平受茉莉酸甲酯调控(Guerineau 等 2003)。

1.3.2 GAGTA 元件 拟南芥的亮氨酸氨肽酶 *LAP* 是参与植物防御反应中一个重要的蛋白, 该蛋白的表达也受茉莉酸甲酯的诱导。有研究表明 *LAP* 基因启动子的-317~-78 bp 区域存在茉莉酸甲酯应答元件, 采用酵母单杂交技术, 分离得到 2 个与 -317~-78 bp 区域结合的转录因子: JAMYC2 和 JAMYC10, 这 2 个转录因子均有 HTL 的碱性亮氨酸拉链结构, 可以特异的与该区域的 T/G-box (AACGTG)结合, JAMYC 过表达能增加 *LAP* 基因启动子茉莉酸甲酯诱导活性, 若 T/G-box 突变, 则启动子的茉莉酸甲酯诱导活性降低。在 T/G-box 邻近区域存在 GAGTA 元件, 该元件突变, 启动子茉莉酸甲酯诱导活性丧失, 说明 GAGTA 元件对启动子茉莉酸甲酯响应是必需的。T/G-box 与 GAGTA 元件形成一个新的茉莉酸甲酯响应复合体, 调控 *LAP* 基因茉莉酸甲酯诱导表达(Boter 等 2004)。

2 伤害诱导表达启动子

当植物受到外力的创伤或害虫造成的机械损

伤后, 就会产生一些小分子物质和多糖, 它们作为信号物质诱导一系列防御基因的表达。这些防御基因不仅可以促进伤口的愈合, 而且还可以抑制病原菌的侵袭, 它们主要编码几丁质酶、 β -1,3-葡萄糖酶等水解酶类、结构蛋白、木质素、蛋白酶抑制剂及营养储藏蛋白等, 例如杨树(*Populus trichocarpa*×*Populus deltoides*)编码几丁质酶的基因 *Win3.12*, 菜豆(*Phaseolus vulgaris*)、欧芹(*Petroselinum crispum*)和拟南芥中编码苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)的基因 *PvPal-2*、*PcPal-1*、*AtPal*, 以及辣根(*Armoracia rusticana*)编码过氧化物酶(peroxidase, PRX)的基因 *PrxC2*, 烟草的反转录转座子 *Ttol* 及烟草转录因子 *NtMyb2* 基因等。在这些基因的启动子中, 鉴定出了几个顺式作用元件: P-box、A-box、L-box、TAACAAT 序列等(表 4)。

2.1 P-box、A-box、L-box 欧芹 *PAL* 基因启动子中有 3 个顺式作用元件: P-box (CTCCAACAAA-CCCC)、A-box (CCGTCC)、L-box (TCTCACC-TACC)。分别将 4 个拷贝的 P-box、A-box、L-box 以及它们的各种组合, 置于欧芹 PR2 启动子的 -168 bp 的片段前, 构建成 GUS 表达载体, 转入欧芹中, 对转基因欧芹叶片和根进行伤害处理的结果表明, 单独的 L-box 有很强的组成型表达活性, 不具伤害诱导性; 当 L-box 突变后, 它的活性降低到与阴性对照相当的水平。单独的 P-box 或 A-box, 或二者结合, 均没有组成型的表达活性, 也没有伤害诱导性。L-box 在 P-box 和 A-box 存在时, 活性更高, 但也不具有伤害诱导性。因此, P-box、A-box 和 L-box 均不足以赋予启动子伤害诱导性。这几个顺式作用元件对伤害做出反应时, 需要其他元件的协助。也有实验

表4 伤害诱导顺式作用元件

顺式作用元件	基因	植物	核心序列	参考文献
P-box	<i>Pal-1</i>	欧芹	CTCCAACAAACCCC	Logemann 等 1995
A-box	<i>Pal-1</i>	欧芹	CCGTCC	Logemann 等 1995
L-box	<i>Pal-1</i>	欧芹	TCTCACCTACC	Logemann 等 1995
TAACAAT	<i>FAD7</i>	拟南芥	TAACAAT	Nishiuchi 等 1999
13-bp	<i>Ttol</i>	烟草	TGGTAGGTGAGAT	Takeda 等 1999 Sugimoto 等 2000
G-box	<i>prxC2</i>	辣根	CACGTG	Kaothien 等 2000, 2002
POP	<i>prxC2</i>	辣根	CACCACTTGAGTACAAA	Kaothien 等 2000, 2002
AG-motif	<i>NtMyb2</i>	烟草	AGATCCAA	Sugimoto 等 2003
ICEr1	<i>CBF2</i>	拟南芥	GGACACATGTGAGA	Zarka 等 2003
ICEr2	<i>CBF2</i>	拟南芥	ACTCCG	Zarka 等 2003

表明, 这个协助元件可以是 G-box (CACGTG)。P-box、A-box、L-box 也存在于菜豆、拟南芥、豌豆(*Pisum sativum*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)等 PAL 酶基因的启动子中, 以及欧芹、马铃薯的 4- 香豆酸: CoA 连接酶(hydroxycinnamate CoA ligase, 4CL)基因的启动子中, 这 3 个元件也合称为 PAL-box (Logemann 等 1995)。

2.2 TAACAAT 序列 *FAD7* 是质体 ω -3 脂肪酸去饱和酶, Nishiuchi 等(1999)研究 *FAD7* 基因启动子的结果显示, -521~-363 bp 区段在根部伤害和茉莉酸甲酯诱导时决定报告基因的表达, 而 -259~-197 bp 区段决定报告基因在茎、叶中的伤害诱导时的表达。凝胶阻滞试验表明 -242~-223 bp 区段可以和茎、叶的核抽提物结合, 该区段缺失后, 启动子在茎、叶中的伤害诱导活性丧失, 分析表明该区段有 TAACAAT 序列, 该序列和 TAACAAA 元件十分相似, 而后者可以和 MYB 转录因子家族的 HvGAMYB 蛋白结合, 参与赤霉素诱导过程 (Gubler 等 1999), 因此该元件可能与一种未知的 MYB 结合, 参与 *FAD7* 基因启动子的伤害诱导。

2.3 13 bp 模序(motif) 烟草 *Ttol* 是植物中少数几个仍有活性的长末端重复(LTR)反转录转座子之一, 在胁迫条件(如组织培养、创伤、病毒侵染、茉莉酸甲酯等)下进行反转录, 开始转座。Takeda 等(1999)分析 *Ttol* 的启动子进行 5' 端缺失时发现, 在 -96~-37 bp 之间含有 1 个最小的调控元件, 即 13 bp 模序(TGGTAGGTGAGAT)。在 *Ttol* 启动子中, 有 2 个拷贝的 13 bp 模序。将 9 个串联重复

的 13 bp 模序置于 -37 bp 启动子前, 构建成 13 bp-LTR (-37)-GUS 表达载体, 转入烟草后, 转基因烟草叶片经伤害、茉莉酸甲酯诱导时, GUS 活性增强, 这些结果表明, 13 bp 模序可赋予 *Ttol* 启动子伤害、茉莉酸甲酯诱导活性。还有人从烟草中分离到 1 个 NtMYB2 转录因子, 它可以与 13 bp 模序的核心序列(CCTACC)结合, 并激活目的基因 *Ttol* 的转录(Sugimoto 等 2000)。

2.4 POP 和 G-box 辣根的过氧化物酶基因 *prxC2* 受伤害诱导。Kaothien 等(2000)研究这一启动子时, 发现翻译起始位点上游 -296~-283 bp 区域可决定启动子的伤害诱导特性, 该区域存在一个 G-box, 和一个与 PAL-box 类似的作用元件, 称为 POP (PAL-box related cis-element of *PrxC2*), 序列为: CACCACTTGAGTACAAA。分别将 G-box、POP, 以及二者结合, 置于基本启动子前, 与 *GUS* 基因构建成表达载体后, 用电激法转入烟草悬浮培养细胞中(电激转化相当于伤害处理)的结果表明, 单独的 G-box 或 POP 并不赋予启动子伤害诱导活性; 而将 G-box 和 POP 一起置于基本启动子前, 其驱动的 *GUS* 基因的伤害诱导表达活性与完整的 *prxC2* 启动子相当。凝胶阻滞实验表明, POP 可与伤害处理过的烟草叶片中的核蛋白提取物特异结合, 并出现滞后带。这些结果说明, POP 对伤害诱导是必需的, 但需要 G-box 的协助。用基于结合位点选择的 PCR 法已鉴定出 Ntlim1 转录因子的结合位点为: CCAC(A/C)AN (A/C)N (C/T)(A/C), 在伤害处理下, 该转录因子能与 POP 特异结合, 激活辣根的 *PrxC2* 启动子的转录

(Kawaoka 等 2000 ; Kaothien 等 2002)。

2.5 AG 模序(motif) *NtMYB2* 基因受伤害诱导表达, Sugimoto 等(2003)通过 5' 端缺失、凝胶阻滞等实验, 从 *NtMYB2* 启动子中鉴定出 1 个伤害诱导模序: AG 模序(AGATCCAA)。将 8 个串联重复的 AG 模序与最小 35S 启动子(-40)连在一起, 构建成 GUS 表达载体并转入烟草, GUS 基因表达表现出伤害诱导性。以 AG 模序做探针, 从烟草中分离到 1 个转录因子 AGPI。AGPI 能激活启动子中含 AG 模序的 GUS 基因在烟草悬浮培养细胞中表达, 同时也能激活内源 *NtMYB2* 基因的表达(因其也含有 AG 模序), *NtMYB2* 蛋白作用于含有 13 bp 模序的反转录转座子 *Ttol*, 并发生转座。

3 NaCl 诱导表达启动子

盐胁迫是自然界中主要的非生物胁迫之一, 土壤中高浓度 NaCl 对植物造成的伤害具有三重效应: 降低水势、打破离子平衡最终引起植物毒害, 严重影响着植物的生长和发育, 甚至死亡。植物耐盐性是一个涉及到从细胞渗透、离子胁迫及其继发胁迫(如氧化胁迫), 到整株协调等诸多生化生理反应的复杂过程。整个过程都是建立在基因功能的基础上, 这些基因表达的产物有的对细胞有保护作用, 有的在信号传递过程中起调节作用。目前已分离到与盐诱导有关的顺式作用元件有: G-rich、GT-1 元件、CRT/DRE 等(表 5)。**3.1 G-rich** 目前分离出受 NaCl 调控的能结合在启

表 5 NaCl 诱导顺式作用元件

顺式作用元件	基因	植物	核心序列	参考文献
G-rich	<i>MsPRP2</i>	苜蓿	GNGGTG GTGGNG	Bastola 等 1998
CRT/DRE	<i>rd29A</i>	拟南芥	TACCGACAT	Kasuga 等 1999 Narusaka 等 2003
ABREs	<i>rd29B</i> <i>rd29A</i>	拟南芥	ACGTGG(T)C	Uno 等 2000 Narusaka 等 2003
GT-1 cis-element	<i>SCaM-4</i>	大豆	GAAAAA	Park 等 2004

动子元件上的转录因子并不多, 而且大多数转录因子都具有基因特异性。Alfin1 cDNA 编码锌指结构蛋白, Alfin1 很可能在植物体内作为转录因子发挥作用。Alfin1 在根中表达, 在苜蓿(*Medicago sativa*)基因组内以单一或低拷贝存在, 并在苜蓿、水稻(*Oryza sativa*)和拟南芥中具有保守序列。从苜蓿植物根中分离出受 NaCl 诱导的 *MsPRP2* 基因启动子, 该启动子存在 G-rich 序列: GNGGTG 或 GTG-GNG, Alfin1 与 G-rich 顺式作用元件结合, 调控盐诱导基因表达, 相应提高植物的耐盐性(Bastola 等 1998)。

3.2 GT-1 元件 GT-1 元件(GT-1 cis-element)的一致序列为: GPu[T/A]AA[T/A]。当植物受到盐胁迫时, 细胞内的 Ca^{2+} 浓度增加, Ca^{2+} 与其受体钙调素(CAM)结合调控基因的表达, 能够缓解盐胁迫对植物的伤害。大豆(*Glycine max*) CAM 亚型 *SCaM-4* 基因启动子受 NaCl 和病原菌强烈诱导, 缺失分析表明, 启动子 -858~-728 bp 区域对 NaCl

产生响应调控 *SCaM-4* 基因表达, 这个区域存在 1 个 6 bp 保守序列: GAAAAA (GT-1 cis-element), 认为是 NaCl 诱导启动子 1 个核心顺式作用元件。从拟南芥中分离出 1 个 GT-1-like 转录因子 AtGT-3b, AtGT-3b 受 NaCl 和病原菌诱导, 在酵母选择系统中, 转录因子 AtGT-3b 与 *SCaM-4* 基因启动子 GT-1 元件特异结合, 对 NaCl 和病原菌诱导 *SCaM-4* 基因的表达有作用(Park 等 2004)。

4 结语

近年来, 植物启动子的研究和应用已取得了重大进步, 各种类型的启动子不断得到分离, 关于诱导型启动子的研究, 主要集中在物理、化学因素诱导表达启动子方面, 目前已经鉴定出许多顺式作用元件, 对其功能研究也逐渐明确, 其他的顺式作用元件如: 糖、金属等诱导元件的研究相对较少。相信随着分子生物学、遗传学和生物信息学的高速发展, 启动子的研究将越来越广泛和深入, 鉴定出更多的顺式作用元件。调控基因

表达启动子的多元化, 诱导因子作用的交叉性, 以及与启动子结合的转录因子的多样性, 决定了启动子作用机制的复杂性, 弄清这些机制, 不仅具有基因表达方面的学术意义, 而且还有实用价值, 即人们对启动子进行人工改造、优化, 以提高转基因植物的抗逆性。

参考文献

- Bastola DR, Pethe VV, Winicov I (1998). Alfin1, a novel zinc-finger protein in alfalfa roots that binds to promoter elements in the salt-inducible *MsPRP2* gene. *Plant Mol Biol*, 38: 1123~1135
- Boter M, Ruíz-Rivero O, Abdeen A, Prat1 S (2004). Conserved MYC transcription factors play a key role in jasmonate signaling both in tomato and *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 18: 1577~1591
- Büttner M, Singh KB (1997). *Arabidopsis thaliana* ethylene-responsive element binding protein (AtEBP), an ethylene-inducible, GCC box DNA-binding protein interacts with an ocs element binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 5961~5966
- Chung HJ, Fu HY, Thomas TL (2005). Abscisic acid-inducible nuclear proteins bind to bipartite promoter elements required for ABA response and embryo-regulated expression of the carrot *Dc3* gene. *Planta*, 220: 424~433
- Guan LM, Zhao J, Scandalios JG (2000). *Cis*-elements and trans-factors that regulate expression of the maize Cat1 antioxidant gene in response to ABA and osmotic stress: H₂O₂ is the likely intermediary signaling molecule for the response. *Plant J*, 22 (2): 87~95
- Gubler F, Raventos D, Keys M, Watts R, Mundy J, Jacobsen JV (1999). Target genes and regulatory domains of the GAMYB transcriptional activator in cereal aleurone. *Plant J*, 17: 1~9
- Guerineau F, Benjdia M, Zhou DX (2003). A jasmonate-responsive element within the *Arabidopsis thaliana* vsp1 promoter. *J Exp Bot*, 54 (385): 1153~1162
- Gu YQ, Wildermuth MC, Chakravarthy S, Loh YT, Yang C, He X, Han Y, Martin GB (2002). Tomato transcription factors Pti4, Pti5, and Pti6 activate defense responses when expressed in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 14: 817~831
- Jung HW, Kim KD, Hwang BK (2005). Identification of pathogen-responsive regions in the promoter of a pepper lipid transfer protein gene (CALTPI) and the enhanced resistance of the CALTPI transgenic *Arabidopsis* against pathogen and environmental stresses. *Planta*, 221: 361~373
- Kaothien P, Kawaoka A, Ebinuma H, Yoshida K, Shinmyo A (2002). Ntlm1, a PAL-box binding factor, controls promoter activity of the horseradish wound-inducible peroxidase gene. *Plant Mol Biol*, 49: 591~599
- Kaothien P, Shimokawatoko Y, Kawaoka A, Yoshida K, Shinmyo A (2000). A *cis*-element containing PAL-box functions in the expression of the wound-inducible peroxidase gene of horseradish. *Plant Cell Rep*, 19: 558~562
- Kasuga M, Liu Q, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1999). Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nat Biotechnol*, 17: 287~291
- Kawaoka A, Kaothien P, Yoshida K (2000). Functional analysis of tobacco LIM protein Ntlm1 involved in lignin biosynthesis. *Plant J*, 22 (4): 289~301
- Kurek I, Harvey AJ, Lonsdale DM, Breiman A (2000). Solation and characterization of the wheat prolyl isomerase FK506-binding protein (*FKBP*)73 promoter. *Plant Mol Biol*, 42: 489~497
- Liu S, Kriz A, Duncan D, Widholm J (1998). Abscisic acid-regulated Glb1 transient expression in cultured maize P3377 cells. *Plant Cell Rep*, 17: 650~655
- Logemann E, Parniske M, Hahlbrock K (1995). Modes of expression and common structural features of the complete phenylalanine ammonia-lyase gene family in parsley. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92: 5905~5909
- Narusaka Y, Nakashima K, Shinwari ZK, Sakuma Y, Furihata T, Abe H, Narusaka M, Shinozaki K, Yanguchi-Shinozaki K (2003). Interaction between two *cis*-element, ABRE and DRE, in ABA-dependent expression of *Arabidopsis rd29A* gene in response to dehydration and high-salinity stresses. *Plant J*, 34: 137~148
- Nishiuchi T, Kodama H, Yanagisawa S, Iba K (1999). Wound-induced expression of the *FAD7* gene is mediated by different regulatory domains of its promoter in leaves/stems and roots. *Plant Physiol*, 121: 1239~1246
- Ohme-Takagi M, Shinshi H (1995). Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. *Plant Cell*, 7: 173~182
- Ohta M, Ohme-Takagi M, Shinshi H (2000). Three ethylene-responsive transcription factors in tobacco with distinct transactivation functions. *Plant J*, 22 (1): 29~38
- Ono A, Izawa T, Chua NH, Shimamoto K (1996). The *rab76B* promoter of rice contains two distinct abscisic acid-responsive elements. *Plant Physiol*, 112: 483~491
- Park HC, Kim ML, Kang YH, Jeon JM, Yoo JH, Kim MC, Park CY, Jeong JC, Moon BC, Lee JH et al (2004). Pathogen- and NaCl-induced expression of the *SCaM-4* promoter is medi-

- ated in part by a GT-1 box that interacts with a GT-1-Like transcription factor. *Plant Physiol*, 135: 2150~2161
- Rawat R, Xu ZF, Yao KM, Chye ML (2005). Identification of *cis*-elements for ethylene and circadian regulation of the *Solanum melongena* gene encoding cysteine proteinase. *Plant Mol Biol*, 57: 629~643
- Shen QJ, Casaretto JA, Zhang P, Ho TD (2004). Functional definition of ABA-response complexes: the promoter units necessary and sufficient for ABA induction of gene expression in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Mol Biol*, 54: 111~124
- Shen Q, Zhang P, Ho TD (1996). Modular nature of abscisic acid (ABA) response complexes: composite promoter units that are necessary and sufficient for ABA induction of gene expression in barley. *Plant Cell*, 8: 1107~1119
- Sugimoto K, Takeda S, Hirochika H (2000). MYB-related transcription factor NtMYB2 induced by wounding and elicitors is a regulator of the tobacco retrotransposon *Tto1* and defense-related genes. *Plant Cell*, 12: 2511~2527
- Sugimoto K, Takeda S, Hirochika H (2003). Transcriptional activation mediated by binding of a plant GATA-type zinc finger protein AGP1 to the AG motif (AGATCCAA) of the wound-inducible Myb gene *NtMyb2*. *Plant J*, 36 (4): 550~564
- Takeda S, Sugimoto K, Otsuki H, Hirochika H (1999). A 13-bp *cis*-regulatory element in the LTR promoter of the tobacco retrotransposon *Tto1* is involved in responsiveness to tissue culture, wounding, methyl jasmonate and fungal elicitors. *Plant J*, 18 (4): 383~393
- Tapia G, Verdugo I, Yañez M, Ahumada I, Theoduloz C, Cordero C, Poblete F, González E, Ruiz-Lara S (2005). Involvement of ethylene in stress-induced expression of the *TLC1.1* retrotransposon from *Lycopersicon chilense* Dun. *Plant Physiol*, 138: 2075~2086
- Uno Y, Furihata T, Yoshida HAR, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2000). *Arabidopsis* basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 (21): 11632~11637
- Vasil V, Marcotte WR, Rosenkrans L, Cocciolone SM, Vasil K, Quatrano RS, McCarty DR (1995). Overlap of viviparous (VPI) and abscisic acid response elements in the *Em* promoter: G-box elements are sufficient but not necessary for VPI transactivation. *Plant Cell*, 7: 1511~1518
- Zarka DG, Vogel JT, Cook D, Thomashow MF (2003). Cold induction of *Arabidopsis CBF* genes involves multiple ICE (inducer of *CBF* expression) promoter elements and a cold-regulatory circuit that is desensitized by low temperature. *Plant Physiol*, 133: 910~918