

特约综述 Invited Review

AREB/ABF转录因子响应胁迫信号的网络调控

胡鹏伟¹, 何朝勇¹, 洪岚^{1,2}, 李玲^{1,*}¹华南师范大学生命科学学院, 广东省植物发育工程重点实验室, 广州510631; ²仲恺农业工程学院园艺园林学院, 广州510225

摘要: 植物AREB类转录因子通过与ABRE元件结合, 调控ABA信号途径诱导下游基因表达响应胁迫, 最近研究表明AREB参与了除AREB-SnRK外的信号途径, AREB响应网络调控在植物中存在。与AREB因子相关的激素类交谈调控也被研究。本文介绍了AREB类转录因子响应胁迫的网络调控及参与激素信号网络调控方面的研究进展。

关键词: AREB; 胁迫; 网络调控; ABA信号转导

Internet Regulation of AREB Transcription Factors Responded Stress Signal

HU Peng-Wei¹, HE Chao-Yong¹, HONG Lan^{1,2}, LI Ling^{1,*}¹Guangdong Key Lab of Biotechnology for Plant Development, College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; ²College of Horticulture and Landscape Architecture, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China

Abstract: The plant AREBs transcription factors (TFs) regulate the expression of downstream genes in ABA signal pathway via combining to ABRE element responding to stresses. Recent studies show that AREB transcription factors involve in other signaling pathways, excepting the AREB-SnRK pathway, the internet regulation of AREB is existed in plant. Cross-talking regulation which is correlated with AREB between different phytohormones have been studied. In this paper, we review recent advances in AREB, including the roles of AREBs transcription factors and mechanism of the regulating networks.

Key words: AREB; stress; regulatory networks; ABA signaling transduction

AREB/ABFs类转录因子近年来关注度很高, 继在烟草(Oeda等1991)、拟南芥(Uno等2000)、玉米(王磊等2002)、大麦(Casaretto和Ho 2003)、小麦(高世庆等2007)、枳(Huang等2010)、番茄(Hsieh等2010)和大豆(Gao等2011)中被报道后, 水稻(Jin等2010; Tang等2012)、花生(Hong等2013)、蒲公英(Fricke等2013)和杨树(Ji等2013)等植物中AREB/ABFs的同类物亦被鉴定和研究。其中在拟南芥中, AREB/ABF类转录因子亚家族共发现4个成员: AREB1/ABF2、AREB2/ABF4、ABF1和ABF3, 它们在植物营养组织中表达。ABF1主要受干冷而非渗透胁迫诱导。AREB1/ABF2、AREB2/ABF4和ABF3受ABA含量、脱水和高盐等渗透胁迫诱导, AREB/ABF-SnRK2途径中, AREB类转录因子在ABA/胁迫信号中具有重要作用, 途径中除了PYR/PYL/RCAR-ABA-PP2C复合物的参与外, 其他信号因子或与SnRK2 (sucrose non-fermenting

1-related protein kinase, SnRK)互作, 存在其他调控途径(Fujita等2013)。本文就AREB/ABFs类转录因子保守结构域在胁迫应答中的作用、AREB/ABFs类转录因子参与植物胁迫记忆、AREB/ABFs类转录因子和其他转录因子互作介导ABA-依赖性和ABA-非依赖性胁迫应答信号之间的交叉对话以及AREB/ABFs类转录因子参与除ABA以外其他激素的信号网络方面进行综述。

1 AREB/ABFs保守结构域在胁迫应答中的作用

AREB/ABFs类转录因子在结构上具有5个保守结构域(图1), N端3个(C1、C2和C3), C端1个结合DNA的bZIP区域和1个末端C4保守结构域(Hong等2013)。氨基酸序列分析显示这些保守结构域中

收稿 2013-04-08 修定 2013-05-10

资助 国家自然科学基金面上项目(30971715和31201151)和广东省自然科学基金重点项目(10251063101000010)。

* 通讯作者(E-mail: liling@sclu.edu.cn; Tel: 020-85211378)。

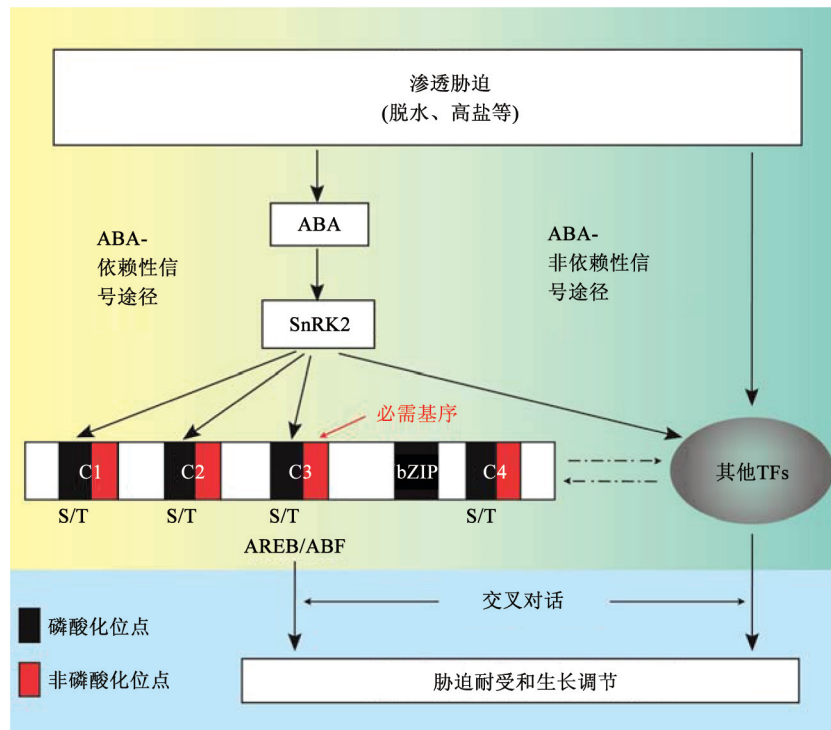


图1 AREB/ABF调控植物胁迫信号网络

Fig.1 AREB/ABF regulate the stress response in plants

参考Kim等(2011)文献修改。涂有颜色方块表示AREB/ABF保守结构域,其中黑色表示该结构域中磷酸化位点,红色表示非磷酸化位点。

存在多个Ser/Thr磷酸化位点R-X-X-S/T,以拟南芥AREB1为例: C1 (23~26位氨基酸残基)有1个, C2 (83~86位氨基酸残基、91~94位氨基酸残基)有2个, C3 (132~135位氨基酸残基)有1个, C4 (410~413位氨基酸残基)有1个(Tang等2012)。研究显示,当保守结构域中的Ser/Thr被置换成Ala (氨基酸R基为-H, 无磷酸化位点)后, AhAREB1转录活性被显著抑制, 而把Ser/Thr置换成Asp (氨基酸R基为-COOH, 可磷酸化)后, AhAREB1转录活性存在(Furihata等2006)。作者实验室于2009年从花生中克隆了AhAREB1, 酵母活性实验验证AhAREB1转录因子N端保守结构域为转录激活关键区域, C4保守区域具有抑制自身的转录激活作用(姚瑶等2012)。同时, ChIP和原生质体瞬时转化实验证明, AhAREB1能与AhNCED1启动子上的顺式作用元件ABRE结合, 且C2保守结构域是该过程必需基序(待发表资料)。此外, Tezuka等(2013)发现将拟南芥AREB1同类物ABI5的C3保守结构域中的非磷酸化位点Ala (214位氨基酸残基)突变成Gly后, ABI5转录活性受到影响, 表现为突变体拟南芥种

子萌发时具有ABA不敏感性和NaCl耐受性, 酵母单杂交显示该蛋白具有自身激活功能, 而由ABI5调控, 编码胚胎发育晚期丰富蛋白LEA蛋白的基因Em1和Em6表达活性被显著降低。

2 AREB/ABF转录因子响应胁迫

Hsien等(2010)报道了番茄AREB/ABF类转录因子SlAREB响应盐害和水分胁迫。已知杨树AREB转录因子亚家族有14个AREB/ABF基因成员, qRT-PCR检测外源ABA处理下, 有8个AREB/ABF基因表达量增加(Ji等2013)。从马铃薯植株中已经分离得到了StABF1蛋白, 并证实该蛋白属于AREB家族bZIP转录因子, 在响应渗透胁迫过程中, bZIP转录因子受到StCDPK2磷酸化的作用, 在ABA胁迫和渗透胁迫下表达量增加(García等2012)。Tang等(2012)证实OsZIP46属于胁迫响应bZIP转录因子, 与拟南芥AtABF/AREB具有高度同源性, OsZIP46超表达植株在种子萌发和幼苗阶段ABA敏感性较高, 分段分析与超表达实验证明其启动子D区域为负性调节域, 揭示了转录因子OsZIP46调节着胁迫相关基因以响应渗透、干旱等非生物胁迫

迫。水稻OsAREB8功能分析结果表明bZIP家族中AREB类转录因子在植物营养生长阶段响应干旱胁迫,具有提高自身适应性的能力(Miyazono等2012)。

AREB/ABF与DREB/CBF是广泛存在于植物中的两类转录因子,前者结合ABRE的(ACGTGG/T)顺式元件,调控植物干旱和渗透胁迫耐受性,后者结合DRE元件(TACCGACAT)和C-重复(CRT; G/ACCGAC)顺式元件,调控植物盐胁迫和冷胁迫的响应(Maruyama等2012)。Lee等(2010)以拟南芥为材料,通过GST-pull-down实验证明AREB/ABF(ABF2~4)在体外能够和DREB(1A、2A和2C)结合,并且DREB2C超表达植株在种子萌发和根长测定时的结果表明其具有更高的ABA敏感性。Kim等(2011)对拟南芥DREB2A启动子测序分析发现其转录起始位点上游95 bp位置存在ABRE顺式元件,对启动子分段并测定GUS表达活性显示,该顺式元件对于DREB2A基因表达是必不可少的;通过酵母单杂交显示AREB类转录因子能通过结合该元件启动DREB2A的表达。ABA缺陷和不敏感突变体(*areb1areb2abf3*、*srk2dsrk2esrk2i*、*abi1-1C*、*abi2-1C*、*nced3-2*和*aba2-2*)在干旱胁迫下减弱DREB2A基因表达,表明ABA信号途径和非ABA依赖性信号途径影响DREB2A基因表达。酵母双杂交、ChIP实验证明AREB1、AREB2、ABF3等皆以ABRE依赖途径响应胁迫。通过分析拟南芥*srk2*和*areb*的三重突变体植株DREB2A基因表达,表明SnRK2s控制下,对DREB2A表达的影响更明显。在ABA依赖性途径起作用时,SnRK2s可能与下游其他因子作用,非依赖ABA途径调节DREB2A基因表达,影响下游因子包含WRKY、MYB或bZIP其他家族成员。AREB类转录因子参与的ABA信号转导途径在植物响应胁迫时并非单一起作用(Kim等2011)。

盐芥中ABF转录因子TsABF与拟南芥中AREB类转录因子同源性达到88%,其中TsABF1表达模式类似于AtABF1~4的表达模式,都能调节ABRE依赖性基因的表达,在高盐和干旱胁迫下转录因子与胁迫相关基因上调,且TsABF转录因子与Ts14-3-3类家族蛋白互作,通过ABA信号途径中调节抗逆,推测转录因子与蛋白互作调节其自身与

DNA元件的结合活性,或者是形成新的转录调节复合物的先决条件,形成其他网络调控(Vysotskii和Leeuwen 2013)。

植物胁迫具有记忆现象,先前的处理会影响随后植物对胁迫的响应,当植物再次置于胁迫条件下表现出更为快速或强烈的响应,使自身更好地适应逆境条件(Bruce等2007)。Ding等(2012)对拟南芥进行重复脱水/复水处理(受训),发现RD29B和RAB18(在先前胁迫处理表达的基因,简称受训基因)与RD29A和COR15A(未受处理表达的基因,简称未受训基因)在表达上存在差异,如:第4次胁迫(S4)下, RD29A和COR15A表达水平与初次胁迫(S1)的水平相当,而RD29B和RAB18(受训)表达却是初次胁迫时的10倍以上。并且在受胁迫诱导回复的受训基因转录中发现明显标记:高水平的组蛋白3第4位赖氨酸的三甲基化(trimethylated histone H3 Lys4, H3K4me3)和聚合酶II丝氨酸5位磷酸化(Ser5P polymerase II, Ser5P Pol II)。未受训基因在胁迫诱导下H3K4me3和Ser5P Pol II上升后会在恢复期降低到正常水平(未受胁迫的水平),而受训基因在胁迫下H3K4me3和Ser5P Pol II上升后在恢复期降到比正常值高的水平。胁迫条件下,转录因子AREB和相关胁迫基因的表达水平升高,胁迫解除(恢复期)时,AREB诱导的胁迫相关基因表达保持一定水平。转录记忆与ABA依赖性转录因子AREB1、AREB2和ABF3发挥的作用相关,AREB1、AREB2和ABF3在水分胁迫条件下诱导RD29B和RAB18等胁迫基因表达,而在*areb1/areb2/abf3*缺失突变体中受训基因与非受训基因表达均显著降低,受训基因RD29B和RAB18表达在S4期较S1表现为更高的转录水平,胁迫记忆存在,趋势更明显(Ding等2012)。

3 AREB转录因子参与激素信号网络调控

Yang等(2011)发现水稻中ABL1 (ABI5-Like1)转录因子定位核内,结合ABRE元件调控ABA途径和生长素响应途径。ABL1与拟南芥ABI5同源,受到植物激素和胁迫条件(干旱、盐害、PEG等)诱导并在多组织(主根、茎、叶等)中表达,表达量以叶和茎中较高;OsABL1明显受ABA诱导影响,对PEG处理更为敏感,IAA的影响轻微,而BR和JA没有影响。*abl1*突变体中ABA敏感性被抑制,*abl1*的

主根长度变化对外源IAA呈现高敏感性。IAA响应相关基因(*IAA1*、*IAA9*和*IAA24*)的表达量上升并进一步促进对IAA的响应。一些IAA相关基因包含多个*ABRE*顺式元件,相比之下,在*abl1*突变体的IAA相关基因中基本不含*ABRE*元件,表明IAA与ABA信号转导途径间可能涉及到其他间接调控途径。杨树*PtAREB/ABF*与拟南芥*AREB*同源,ABA诱导其在胁迫期间发挥作用(Ji等2013)。从雪松分离得到与*ABI3*同源的*CnABI3*,发现*CnABI3*与*CnAIP2*蛋白发生互作,共同促进幼苗根的生长发育。*CnAIP2*超表达拟南芥植株的种子在萌发初期对ABA不敏感,经生长素处理则促进其侧根发育,部分侧根发育相关基因*WAK4*和*ARR12*等表达上调,但是对开花负调控基因*AGL31*、*MAF4*和*MAF5*等表达下调(Zeng等2012)。*CnAIP2*是*ABI3*协同调节因子,共同调控IAA信号途径在调控开花、形成侧根的过程(Cecchetti等2008; Mai等2011)。

拟南芥中*ABI4*转录因子与氧化还原、激素信号转导途径相关(Foyer等2012)。拟南芥转录因子*bZIP16*作用于其启动子含G-box元件的基因*RGL2*,抑制其表达并激活GA途径,间接抑制*PIL5*,调节种子萌发阶段的ABA信号途径,研究发现*bZIP16*转录因子在种子发育早期参与光调节和激素的调节过程,是具有G-box特异结合活性的核蛋白,连接着GA和ABA信号转导途径,*bZIP16*与GA信号途径相关基因*RGAL-LIKE2*基因作用,促进种子早期的生长发育,在种子发育早期调控GA途径上游基因*RGL2*和*PIL5*,这两个基因被抑制可激活GA的信号途径和抑制ABA信号途径,除AREB-SnRK途径外,不同信号途径在胁迫时期起调节作用,*bzip16*突变体植株中除*RGL2*外有8个基因(含G-box)上调,这些基因都含有*ABRE*元件并且参与到ABA和GA信号途径中(Hsieh等2012)。

4 展望

随着2009年ABA受体蛋白复合物PYR/PYL/RCARs的报道,AREB/ABF类转录因子介导的信号网络更加备受关注。转录因子之间发生互作,或形成复合结构在整个网络信号转导途径中发挥作用(Yoshida等2010; Zeng等2012; Vysotskii和Leeuwen 2013)。通过网络调控、基因功能研究等,将进一步阐明AREB类转录因子在ABA-SnRK等信

号途径中的关键作用。未来的研究将注意3个方面:不同物种AREB/ABF类同类型物的发现以及基本功能研究,AREB/ABF类转录因子自身保守结构域在信号的激活过程以及必需基序,以及AREB/ABF和其他类转录因子互作对信号网络的影响。

深入研究AREB参与的ABA信号网络系统,将促进植物抗逆基因工程分子基础研究。因此,研究AREB/ABF类转录因子在信号转导中的作用机理,以期利用转录因子进行植物抗逆基因工程改良提供理论依据。

参考文献

- 高世庆(2007). 大豆、小麦抗逆相关*Gm/TaAREB*转录因子基因、启动子克隆及功能鉴定[博士论文]. 北京: 中国农业科学院
- 王磊, 赵军, 范云六(2002). 玉米*Cat1*基因顺式元件ABRE2结合蛋白ABP9的基因克隆及功能分析. 科学通报, 47: 1167~1171
- 姚瑶, 刘旭, 洪岚, 李天丰, 朱明鲲, 李玲(2012). AhAREB1蛋白转录活性初步研究. 中国科技论文在线精品论文, 5 (5): 408~414
- Bruce TJA, Matthes MC, Napier JA, Pickett JA (2007). Stressful "memories" of plants: evidence for possible mechanisms. *Plant Sci*, 173: 603~608
- Casaretto J, Ho TH (2003). The transcription factors HvABI5 and HvVPI are required for the abscisic acid induction of gene expression in barley aleurone cells. *Plant Cell*, 15: 271~284
- Cecchetti V, Altamura MM, Falasca G, Costantino P, Cardarelli M (2008). Auxin regulates *Arabidopsis* anther dehiscence, pollen maturation, and filament elongation. *Plant Cell*, 20: 1760~1774
- Ding Y, Fromm M, Avramova Z (2012). Multiple exposures to drought 'train' transcriptional responses in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, doi: 10.1038
- Foyer CH, Kerchev PI, Hancock RD (2012). The ABA-INSENSITIVE-4 (ABI4) transcription factor links redox, hormone and sugar signaling pathways. *Plant Signal Behav*, 7 (2): 276~281
- Fricke J, Hillebrand A, Twyman RW, Pruffer D, Schulze GC (2013). Abscisic acid-dependent regulation of small rubber particle protein gene expression in *Taraxacum brevicorniculatum* is mediated by TbbZIP1. *Plant Cell Physiol*, 54 (4): 448~464
- Fujita Y, Yoshida T, Yamaguchi-Shinozaki K (2013). Pivotal role of the AREB/ABF-SnRK2 pathway in ABRE-mediated transcription in response to osmotic stress in plants. *Physiol Plant*, 147 (1): 15~27
- Furihata T, Maruyama K, Fujita Y, Umezawa T, Yoshida R, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2006). Abscisic acid dependent multisite phosphorylation regulates the activity of a transcription activator AREB1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 1988~1993
- Gao SQ, Chen M, Xu ZS, Zhao CP, Li LC, Xu HJ, Tang YM, Zhao X, Ma YZ (2011). The soybean GmbZIP1 transcription factor enhances multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants. *Plant Mol Biol*, 75: 537~553
- García MNM, Giammaria V, Grandellis C, Maria TT, Ulloa RM, Ca-

- piati DA (2012). Characterization of StABF1, a stress-responsive bZIP transcription factor from *Solanum tuberosum* L. that is phosphorylated by StCDPK2 *in vitro*. *Planta*, 235: 761~778
- Hong L, Hu B, Liu Xu, He CY, Yao Y, Li XL, Li L (2013). Molecular cloning and expression analysis of a new stress-related *AREB* gene from *Arachis hypogaea*. *Biol Plant*, 57 (1): 56~62
- Hsieh TH, Li CW, Su RC, Cheng CP, Sanjaya, Tsai YC, Chan MT (2010). A tomato bZIP transcription factor, SIAREB, is involved in water deficit and salt stress response. *Planta*, 231: 1459~1473
- Hsieh WP, Hsieh HL, Wu SH (2012). *Arabidopsis* bZIP16 transcription factor integrates light and hormone signaling pathways to regulate early seedling development. *Plant Cell*, 24: 3997~4011
- Huang XS, Liu JH, Chen XJ (2010). Overexpression of *PtrABF* gene, a bZIP transcription factor isolated from *Poncirus trifoliata*, enhances dehydration and drought tolerance in tobacco via scavenging ROS and modulating expression of stress-responsive genes. *BMC Plant Biol*, 10: 230
- Ji LX, Wang J, Ye MX, Li Y, Guo B, Chen Z, Li H, An XM (2013). Identification and characterization of the *Populus* AREB/ABF subfamily. *J Integr Plant Biol*, 55 (2): 177~186
- Jin XF, Xiong AS, Peng RH, Liu JG, Gao F, Chen JM, Yao QH (2010). OsAREB1, an ABRE-binding protein responding to ABA and glucose, has multiple functions in *Arabidopsis*. *BMB Rep*, 43: 34~49
- Kim JS, Mizoi J, Yoshida T, Fujita Y, Nakajima J, Teppei, Daisuke T, Nakashima K, Hirayama T, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2011). An ABRE promoter sequence is involved in osmotic stress-responsive expression of the *DREB2A* gene, which encodes a transcription factor regulating drought-inducible genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 52 (12): 2136~2146
- Lee SJ, Kang JY, Park HJ, Kim MD, Bae MS, Choi HI, Kim SY (2010). DREB2C interacts with ABF2, a bZIP protein regulating abscisic acid-responsive gene expression, and its overexpression affects abscisic acid sensitivity. *Plant Physiol*, 153: 716~727
- Mai YX, Wang L, Yang HQ (2011). A gain-of-function mutation in *IAA7/AXR2* confers late flowering under short-day light in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol*, 53: 480~492
- Maruyama K, Todaka D, Mizoi J, Yoshida T, Kidokoro S, Matsukura S, Takasaki H, Sakurai T, Yamamoto Y, Yoshiwara K et al (2012). Identification of *cis*-acting promoter elements in cold and dehydration-induced transcriptional pathways in *Arabidopsis*, rice, and soybean. *DNA Res*, 19: 37~49
- Miyazono K, Koura T, Kubota K, Yoshida T, Fujita Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Tanokura M (2012). Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of OsAREB8 from rice, a member of the AREB/ABF family of bZIP transcription factors, in complex with its cognate DNA. *Struct Biol Cryst Commun*, 68 (4): 491~494
- Oeda K, Salinas J, Chua NH (1991). A tobacco bZIP transcription activator (TAF-1) binds to a G-box-like motif conserved in plant genes. *EMBO J*, 10: 1793~1802
- Tang N, Zhang H, Li XH, Xiao JH, Xiong LZ (2012). Constitutive activation of transcription factor OsbZIP46 improves drought tolerance in rice. *Plant Physiol*, 158: 1755~1768
- Tezuka KJ, Taji T, Hayashi T, Sakata Y (2013). A novel *abi5* allele reveals the importance of the conserved Ala in the C3 domain for regulation of downstream genes and salt tolerance during germination in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav*, 8: 1~8
- Uno Y, Furihata T, Abe H, Yoshida R, 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: 11632~11637
- Vysotskii DA, Leeuwen IJV (2013). ABF transcription factors of *Thellungiella salsuginea*: Structure, expression profiles and interaction with 14-3-3 regulatory proteins. *Plant Signal Behav*, 8 (1): doi: 10.4161
- Yang X, Yang YN, Xue LJ, Zou MJ, Liu JY, Chen F, Xue HW (2011). Rice ABI5-Like1 regulates abscisic acid and auxin responses by affecting the expression of ABRE-containing genes. *Plant Physiol*, 156: 1397~1409
- Yoshida T, Fujita Y, Sayama H, Kidokoro S, Maruyama K, Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2010). AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation. *Plant J*, 61: 672~685
- Zeng Y, Zhao TH, Kermode AR (2012). A conifer ABI3-interacting protein plays important roles during key transitions of the plant life cycle. *Plant Physiol*, 161 (1): 179~195