

## 植物转录因子 WRKY 家族的结构及功能\*

郝林\*\* 徐昕

沈阳师范大学化学与生命科学学院, 沈阳 110034

## The Structure and Function of WRKY Superfamily of Plant Transcription Factors\*

HAO Lin\*\*, XU Xin

College of Chemistry and Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang 110034

**提要** WRKY 家族结构上的共同特点是:至少含有一段 60 个左右的高度保守的氨基酸序列,称为 WRKY 区,其中有一七肽 WRKYGQK 存在于所有的成员中,故而得名。WRKY 蛋白通过与其目标基因启动子中的顺式元件(T)TGAC(C/T)结合调节该基因的表达,参与(或可能参与)植物对病原体的防卫反应、非生物胁迫反应以及植物的某些生理过程。该文介绍了植物转录因子 WRKY 家族的结构及功能的研究进展。

**关键词** WRKY; 转录因子; 病原体抗性; MAP 激酶

植物体对内外环境的变化有十分复杂的反应机制。随着植物基因组研究的深入,人们在分子水平上对某些生理过程的了解逐步加深,形成了当代生命科学研究的主流。植物基因组中有相当一部分基因参与对环境变化的信号转导或转录调控,且往往是以家族形式出现。如拟南芥中约有 1 500 种转录因子,分属于各种基因家族<sup>[1]</sup>。已发现有多种基因家族参与植物对环境胁迫的反应,一般是在转录水平上对信号转导基因的表达进行调控。如 ERF (ethylene-responsive-element-binding factors) 家族,在拟南芥中约有 124 个成员,参与对低温、干旱、病原体及其诱发因子(elicitor)的反应<sup>[2]</sup>。bZIP (basic leucine-zipper) 家族,在拟南芥中有 75 个成员,参与对病原体防卫反应及多种胁迫的反应<sup>[3]</sup>。WRKY 家族是近年来发现的又一类植物特有的转录调节因子,已从多种植物中分离,如甜土豆<sup>[4]</sup>、野燕麦<sup>[5]</sup>、皱叶欧芹 (*Petroselinum crispum*)<sup>[6]</sup>、拟南芥<sup>[7]</sup>、烟草<sup>[8]</sup>等。在拟南芥中已发现 74 个 WRKY 成员<sup>[9]</sup>,由于其中大多数参与植物对病原体的防卫反应,因此备受关注<sup>[10,11]</sup>。

### 1 WRKY 蛋白的结构

**1.1 WRKY 区** WRKY 蛋白结构上最主要的特点是各成员中都至少含有一个 WRKY 区 (WRKY domain),这也是目前识别 WRKY 成员最重要的

标准。WRKY 区是一段由大约 60 个氨基酸组成的多肽序列,在各成员中高度保守。图 1 列举了几种来源于不同植物的 WRKY 区结构。其中靠近 N 末端有一七肽 WRKYGQK 存在于所有的成员中,因而得名<sup>[10]</sup>。在其 C 末端有一个锌指结构(zinc-finger motif),其一般组成为  $CX_4\sim_5CX_{22\sim 23}HX_1H$ 。

根据 WRKY 区的数量及锌指结构的组成,WRKY 蛋白分为 3 类。I 类含有 2 个 WRKY 区,如最早识别的 WRKY 蛋白 ABF1<sup>[5]</sup>、SPF1<sup>[4]</sup>、PcWRKY<sup>[6]</sup>及 ZAP1<sup>[7]</sup>等。大多数研究过的 WRKY 蛋白属于 II 类,只含有 1 个 WRKY 区。还有少数 WRKY 成员虽然只有 1 个 WRKY 区,但其锌指结构的组成稍有变化,归为 III 类<sup>[10]</sup>。WRKY 区是 WRKY 蛋白生物学活性必需的。I 类 WRKY 蛋白虽然含有 2 个 WRKY 区,但位于 C 末端的 WRKY 区足以介导 WRKY 蛋白与其目标 DNA 的特异结合,而 N 末端 WRKY 区单独不能与 DNA 结合<sup>[4,7,12]</sup>,其生物学功能不详<sup>[13]</sup>。WRKY 成员的另一个共同点是 WRKY 区对应的编码序列中都有 1 个内含子,且其位置高度保守<sup>[10]</sup>。其存在的意

收稿 2003-03-04 修定 2003-09-01

资助 辽宁省科技厅博士启动基金(023804111)。

\* 写成于加拿大英属哥伦比亚大学生物技术实验室。

\*\* E-mail:haolinwj2001@yahoo.com.cn

...DDGYR**WRKYGQK**VVKGNPNPRSYKCTTVGCPVRKHVERASHDLRAVITTYEGK**HNH**... ABF1  
 ...NDGHR**WRKYGQK**FVKGNPNPRSYRCSIA GCPVKKHVERASHDPKMMITTYEGQ**HDH**... *Nt*WRKY1  
 ...DDGYR**WRKYGQK**VVKGNPNPRSYKCTSQGCPVRKHVERASHD I RSVITTYEGK**HNH**... SPF1  
 ...DDGYR**WRKYGQK**VVKGNPNPRSYKCIQVGCPRKHIVERASHIDLRAVITTYEGK**HNH**... *Pc*WRKY1  
 .....**WRKYGOK**.....**C**.....**C**.....**H**.....**H**.....

图1 不同来源的WRKY比较

ABF1、*Nt*WRKY1、SPF1、*Pc*WRKY1 分别来自于野燕麦<sup>[5]</sup>、烟草<sup>[8]</sup>、甜土豆<sup>[4]</sup>和皱叶欧芹<sup>[6]</sup>。单列的带下划线的氨基酸示七肽和锌指结构。

义不详,可能预示着这类转录因子存在转录后加工的调节,如在TLR(toll-like receptor)类信号分子中存在不同的内含子剪切机制,在信号转导中起重要作用<sup>[14]</sup>。

**1.2 其它结构域** 转录因子的作用是在转录水平上对目标基因进行调控,因此已研究过的WRKY因子无一例外地定位于细胞核中。这意味着WRKY蛋白在胞质中合成后经跨膜运输进入细胞核。根据对某些WRKY蛋白氨基酸序列的分析发现,在WRKY区外存在细胞核定位信号(nuclear localization signal, NLS)。某些WRKY蛋白还含有转录因子常见的氨基酸结构域,如亮氨酸拉链(leucine zipper, LZ),介导与其它转录因子形成二聚体<sup>[15, 16]</sup>,以及丝氨酸-苏氨酸丰富区,谷氨酸丰富区,脯氨酸丰富区,酸性氨基酸区等<sup>[10]</sup>。除了这些比较保守的区域外,WRKY成员中其余氨基酸组成的同源性并不高<sup>[13]</sup>。

最近从拟南芥中确认的1个WRKY蛋白(RRS1-R)除了含有上述WRKY蛋白的共性外,还含有病原体抗性基因(R基因)所具有的结构域TIR(toll and interleukin-1-receptor)、NBS(nucleotide-binding site)和LRR(leucine-rich repeat)<sup>[17]</sup>,这也是第一个发现的含有WRKY区及NLS结构域的R基因<sup>[18]</sup>。这表明了WRKY蛋白与植物病原体防卫反应之间的固有关系(详见“功能”部分)。除了RRS1-R外,最近又发现拟南芥的另外2个TIR-NBS-LRR蛋白中也含有WRKY区<sup>[19]</sup>。

## 2 WRKY蛋白与目标DNA的结合

**2.1 W盒** 在所有研究过的可能受WRKY蛋白调节的基因启动子中,都能发现(T)TGAC(C/T)这样的保守序列,称为W盒,是WRKY蛋白特异的DNA结合区,其中TGAC是核心,固定不变<sup>[10]</sup>。事实上,已研究过的WRKY蛋白目标基因中,绝大多数都是基于能与WRKY蛋白特异结合的特性而识别出来的,因此,W盒成为识别和筛选

WRKY目标基因的的必要条件。大多数目标基因启动子中都含有多个W盒,它们之间的位置相近,或同向或呈回文结构排列<sup>[13, 20, 21]</sup>。如皱叶欧芹的*PcWRKY1*启动子中有3个W盒,位置靠近,其中2个(W<sub>b</sub>和W<sub>c</sub>)呈回文排列<sup>[22]</sup>。这种排列方式明显有利于WRKY蛋白的结合,使基因表达水平提高,表达时间提早。另外,这3个W盒的作用具有协同效应,而不是简单的叠加<sup>[22]</sup>。为了更确切地研究W盒在基因表达调控方面的作用,Rushton等<sup>[23]</sup>用人工合成的启动子,其中只含W盒而排除其它可能的转录因子结合元件,研究对病原体及其诱发因子或创伤反应的结果表明,W盒足以介导防卫或胁迫反应,且反应程度与W盒的数量及位置有关。

这里的问题是,既然所研究过的WRKY蛋白无一例外地与目标基因启动子中的W盒结合,而W盒的组成又是固定不变的,那么又如何解释WRKY因子参与基因表达调控的特异性呢?WRKY家族为何又需要如此多的成员呢?可能的原因是W盒的数量、排列方式、间距以及侧翼序列(flanking sequence)等所致。不同的信号转导途径需要不同的WRKY因子参与,与不同的W盒结合而调控不同的目标基因<sup>[15]</sup>。

**2.2 WRKY蛋白与W盒的结合** 目前,关于WRKY蛋白与W盒相互识别及结合的分子机制还一无所知。不过大量的研究通过测试目标DNA凝胶电泳迁移(electrophoretic mobility shift)的结果表明,分离纯化的WRKY蛋白以及经病原体或防卫反应信号分子诱导的植物细胞核抽提物都能与W盒结合<sup>[21, 24, 25]</sup>。这些实验同时也表明,如果W盒中的核心序列TGAC中的任一核苷酸被替换,WRKY蛋白与之结合的能力就大幅下降或完全消失,表明这种结合是非常特异的。这种结合需要金属离子参与,用金属络合剂如EDTA或1,10-*O*-phenanthroline处理可阻断其结合。最有可能

的金属离子是  $Zn^{2+}$  [12, 24], 这与 WRKY 蛋白中含有锌指结构是一致的。另外, WRKY 蛋白的结合还需磷酸化, 因为用碱性磷酸酶预处理强烈抑制这种结合 [26]。

### 3 WRKY 基因的表达和蛋白的功能

**3.1 WRKY 基因的表达** WRKY 基因的表达是诱导型的。已识别和克隆了大量的 WRKY 基因, 其表达受不同环境条件(如病原体及其诱发因子 [6, 8, 13, 27]、防卫反应信号分子水杨酸及其功能类似物 [25]、植物本身的发育阶段 [16, 28, 29]、干旱 [30]、低温 [31]、创伤 [24]、机械胁迫 [32] 等)的诱导。WRKY 基因表达的动力学特点是快速、瞬时, 具有组织特异性, 在许多情况下不依赖于其它蛋白从无到有的合成。这些特点表明 WRKY 蛋白是一类及时早熟型(immediate-early type)的转录因子, 参与信号转导途径中的早期基因调控 [10, 16]。

烟草叶片机械创伤(切口)10 min 后, 与不作机械创伤的相比, 受伤的及上层未受伤的叶片中就有 WRKY 转录本(WIZZ)积累, 30 min 后达到最大值, 然后开始下降 [24]。拟南芥叶片机械创伤后 1 h 就可测出 *AtWRKY6* 转录本, 2 h 时显著增加并持续到 6 h [16]。在叶片衰老进程中, 多种 WRKY 基因表达水平逐渐提高 [16]。如七周龄的拟南芥所有叶片都含有高水平的 *AtWRKY53* 转录本, 而六周龄植株中只有发育的叶片中含有较高水平的转录本, 到八周龄, 所有叶片表达 *AtWRKY53* 的水平急剧下降 [28]。这表明植物对自身发育阶段的感受存在不同的机制, 既对单一叶片不同发育阶段有反应, 又对整个植物不同发育阶段产生反应。用病原体疫霉 (*Phytophthora sojae*) 感染皱叶欧芹叶芽 6 h 后, 对感染的叶芽 mRNA 进行原位杂交检测时, 发现 WRKY1 转录本只在感染点及其周围组织中积累; 12 h 后检测的结果与之相同, 只是总体积累水平明显下降 [13]。其它实验也得到类似的结果 [29]。说明 WRKY 基因的表达具有组织特异性。不过不同的 WRKY 成员具有不同的组织特异性, 已发现根、茎、叶、花等器官都有相关的 WRKY 基因表达。这也预示 WRKY 因子参与不同的生理过程。

某些 WRKY 基因的表达具有自我调控功能。如拟南芥中 WRKY6 蛋白对其自身表达具有明显的

抑制作用, 对其同一亚类的 WRKY42 的表达也有抑制作用 [29], 序列分析表明 WRKY6 和 WRKY42 启动子中都含有 W 盒 [29]。在皱叶欧芹的 *PcWRKY1* 启动子中也含有 W 盒, WRKY1 本身或其它 WRKY 蛋白能激活其表达 [13]。前一种自身抑制功能可能是 WRKY 的组织特异积累所需的 [29]; 而后一种自身激活功能预示着 WRKY 基因存在着某种组成型低水平的表达, 其产物是以无活性状态存在于细胞质中, 当接受外界诱导后被激活, 如磷酸化, 然后再激活 WRKY 基因的表达 [13]。

**3.2 WRKY 蛋白的功能** 到目前为止, 已查明 WRKY 蛋白参与(或可能参与)植物对病原体的防卫反应 [6, 13, 22, 27, 32~34]、叶片衰老 [2, 16, 28]、表皮毛和种皮的发育 [35]、环境胁迫(如干旱 [30]、低温 [31]、创伤 [24]) 等。在这些过程中, 某些 WRKY 成员彼此之间可以相互对话(crosstalk) [36], 另一些 WRKY 成员的功能是交叉(overlapping)的反应 [37]。这里只介绍 WRKY 蛋白在植物对病原体防卫反应中的可能作用。

研究 WRKY 的目的是要解析植物抗病原体的信号转导途径。已研究过的 WRKY 蛋白中大多数都参与植物对病原体防卫反应。在识别 WRKY 蛋白目标基因的初期, 一般的程序是先在基因组中寻找 W 盒, 如大规模搜查拟南芥基因组时发现了一批 WRKY 蛋白的目标基因 [38]。在病原体抗性基因的识别中, 用 DNA 微阵技术(microarray)对拟南芥的 7 000 多个基因进行筛选时, 发现 26 个可被防卫反应信号分子诱导的基因启动子中都含有多个 W 盒 [21]。已广泛用于研究的防卫反应基因 *NPR1*、*PR1* 启动子中也含有 W 盒 [6, 25]。WRKY 蛋白参与病原体防卫反应的更直接证据是: 病原体或其诱发因子以及防卫反应信号分子(如水杨酸)都能诱发 WRKY 蛋白的表达和结合活性, 同时, WRKY 蛋白的异源组成型表达也能提高转基因对病原体的抗性 [13, 17, 26]。

拟南芥中 *NPR1* 基因编码分子量为 66 kD 的多肽是系统获得抗性(SAR)信号转导途径中的关键成员 [39, 40], 定位于细胞核中, 调控致病机制相关基因(*PR*)的表达 [41]。通常, *NPR1* 在植物中的表达水平很低, 但用病原体感染或外施水杨酸后, 其表达量增加 2~3 倍 [39], 同时抗多种病原体的能力显著增加。DNA 序列分析表明 *NPR1* 启动子中 28

个核苷酸的序列内含有3个W盒,其中2个顺向串联,1个反向排列。这些W盒是WRKY蛋白结合必需的,如果其中的某个核苷酸被替换,WRKY蛋白就不再与之结合,其水杨酸诱导的表达即完全消除,此时,植物对病原体的反应变得非常敏感<sup>[25]</sup>。这预示WRKY蛋白是通过激活诸如NPR1以及某些病原体直接或间接的抗性基因而参与植物对病原体防卫反应的<sup>[6,25,26]</sup>。PRI基因启动子中也含有数个W盒,其驱动的GUS基因的表达及Northern印迹都表明受WRKY6的激活,且在防卫反应诱导条件下这种激活更强、更快<sup>[29]</sup>。研究表明PRI受NPR1的正调控<sup>[39]</sup>,显示WRKY6调节PRI的表达有可能是通过NPR1的作用进行的<sup>[29]</sup>,因此,采用NPR1突变体npr1研究WRKY6与PRI表达的关系非常必要。

参与防卫反应的WRKY基因大多数受病原体、信号分子或环境胁迫的诱导,但最近从烟草中分离出的一个能引发细胞超敏反应的WRKY蛋白TI2Z就不受水杨酸及机械创伤的诱导<sup>[22]</sup>,说明WRKY因子也参与不依赖水杨酸的防卫反应途径。

**3.3 WRKY蛋白在防卫反应信号转导途径中可能的作用** “基因对基因”理论的诞生<sup>[42]</sup>,揭开了植物对病原体防卫反应分子机制研究的序幕。虽然大量研究显示,WRKY蛋白作为转录因子参与植物抗病途径,但其作用机制还远不清楚。最近的研究表明,某些WRKY蛋白的功能受MAP激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)的修饰<sup>[37]</sup>。MAPK是近年来被广泛研究的信号转导分子,通过一系列的磷酸化反应将外界信号逐步放大并传递到细胞内,引发生化和生理反应<sup>[43]</sup>。在植物体内有3种类型的MAP激酶,即MAP激酶(MAPK)、MAPK激酶(MAPKK)和MAPKK激酶(MAPKKK)构成MAP激酶级联(cascade)。在拟南芥中已发现了20种MAPK、10种MAPKK和60种MAPKKK的编码基因<sup>[43]</sup>。由于不同的外界信号激活MAP激酶的程度和动力学模型不同,因而MAP级联可参与多种信号转导途径<sup>[12,44,45]</sup>。MAP激酶受病原体及其诱发因子、水杨酸等的激活<sup>[46~48]</sup>。在哺乳动物和果蝇中,MAP级联可使转录因子的抑制剂磷酸化并降解。据此,Asai等<sup>[37]</sup>推测,MAP激酶级联通过一系列的磷酸化反

应,可能使WRKY蛋白特异的抑制剂失活,从而激活WRKY因子。活化的WRKY因子作为其它调节基因(如NPR1)的激活剂,参与抗病信号转导,最终导致防卫反应蛋白(PR)的合成,介导植物对病原体的抗性(图2)。

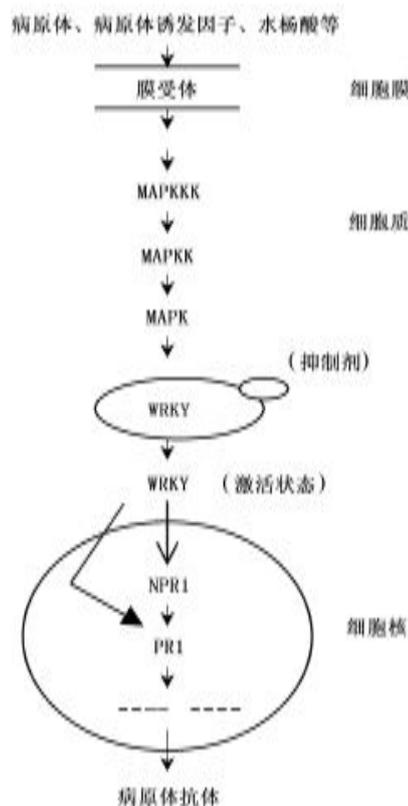


图2 WRKY蛋白在防卫反应途径中的可能作用<sup>[37]</sup>

#### 4 结语

WRKY蛋白普遍存在于高等植物中,在拟南芥的74个成员中,绝大多数的生物学功能还未弄清楚<sup>[11]</sup>。DNA微阵技术分析表明,大部分拟南芥WRKY基因表达受病原菌感染或信号分子水杨酸(SA)的正调控,显示这一基因家族的主要功能可能与植物防卫反应相关;但同时也有相当一部分WRKY基因的表达不受病原菌感染或水杨酸处理的影响,说明这部分WRKY参与其它生物学过程<sup>[11]</sup>。反向遗传学(reverse genetics)的方法将成为WRKY蛋白功能研究的有力工具,如通过T-DNA或转座子插入、反义技术或小分子RNA干扰技术<sup>[49]</sup>使某些WRKY基因表达失活或沉默,然后根据突变体的表型变化研究WRKY蛋白的功能。事实上,大多数的拟南芥WRKY基因都已

获得了 T-DNA 插入突变体, 我们目前正在从事这一研究。另外, 功能交叉或突变引起胚胎死亡的 WRKY 成员的有效研究方法是用转基因技术使其异位过量表达。利用 DNA 微阵技术可同时对大量 WRKY 基因的表达进行研究, 这方面的工作已经开始<sup>[11, 21]</sup>。还有, 通过搜查其它植物基因组中的 W 盒, 可能会发现一批新的 WRKY 蛋白目标基因, 这对阐明 WRKY 蛋白的功能是有用的。

### 参考文献

- Riechmann JL, Heard J, Martin G et al. *Arabidopsis* transcription factors: Genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 2000, 290:2105~2110
- Singh KB, Foley RC, Oñate-Sánchez L. Transcription factors in plant defense and stress responses. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5:430~436
- Jakoby M, Weisshaar B, Dröge-Laser W et al. bZIP transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci*, 2002, 7:106~111
- Ishiguro S, Nakamura K. Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and beta-amylase from sweet potato. *Mol Gen Genet*, 1994, 244:563~571
- Rushton PJ, MacDonald H, Huttly AK et al. Members of a new family of DNA-binding proteins bind to a conserved *cis*-element in the promoters of *alpha-Amy2* genes. *Plant Mol Biol*, 1995, 29:691~702
- Rushton PJ, Torres JT, Parniske M et al. Interaction of elicitor-induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley *PRI* genes. *EMBO J*, 1996, 15:5690~5700
- de Pater S, Greco V, Pham K et al. Characterization of a zinc-dependent transcriptional activator from *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Res*, 1996, 24:4624~4631
- Wang Z, Yang P, Fan B et al. An oligo selection procedure for identification of sequence-specific DNA-binding activities associated with the plant defence response. *Plant J*, 1998, 16:515~522
- Kalde M, Barth M, Somssich IE et al. Members of the *Arabidopsis* WRKY group III transcription factors are part of different plant defense signaling pathways. *Mol Plant Microbe Interact*, 2003, 16:295~305
- Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S et al. The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Sci*, 2000, 5:199~206
- Dong J, Chen C, Chen Z. Expression profiles of the *Arabidopsis* wrky gene superfamily during plant defense response. *Plant Mol Biol*, 2003, 51:21~37
- Maeo K, Hayashi S, Kojima-Suzuki H et al. Role of conserved residues of the WRKY domain in the DNA-binding of tobacco WRKY family proteins. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2001, 65(11):2428~2436
- Eulgem T, Rushton PJ, Schmelzer E et al. Early nuclear events in plant defence signalling: Rapid gene activation by WRKY transcription factors. *EMBO J*, 1999, 18:4689~4699
- Jordan T, Schornack S, Lahaye T. Alternative splicing of transcripts encoding Toll-like plant resistance proteins—what's the functional relevance to innate immunity? *Trends Plant Sci*, 2002, 7(9):392~398
- Cormack RS, Eulgem T, Rushton PJ et al. Leucine zipper-containing WRKY proteins widen the spectrum of immediate early elicitor-induced WRKY transcription factors in parsley. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1576:92~100
- Robatzek S, Somssich IE. A new member of the *Arabidopsis* WRKY transcription factor family, *AtWRKY6*, is associated with both senescence- and defense-related processes. *Plant J*, 2001, 28:123~133
- Deslandes L, Olivier J, Theulières T et al. Resistance to *Ralstonia solanacearum* in *Arabidopsis thaliana* is conferred by the recessive *RRS1-R* gene, a member of a novel family of resistance genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99:2404~2409
- Lahaye T. The *Arabidopsis* *RRS1-R* disease resistance gene—uncovering the plant's nucleus as the new battlefield of plant defense? *Trends Plant Sci*, 2002, 7(10):425~428
- Jebanathirajah JA, Peri S, Pandey A. Toll and interleukin-1 receptor (TIR) domain-containing proteins in plants: a genomic perspective. *Trends Plant Sci*, 2002, 7(9):388~391
- Chen W, Provart NJ, Glazebrook J et al. Expression profile matrix of *Arabidopsis* transcription factor genes suggests their putative functions in response to environmental stresses. *Plant Cell*, 2002, 14:559~574
- Maleck K, Levine A, Eulgem T et al. The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. *Nat Genet*, 2000, 26:403~410
- Yoda H, Ogawa M, Yamaguchi Y et al. Identification of early-responsive genes associated with the hypersensitive response to tobacco mosaic virus and characterization of a WRKY-type transcription factor in tobacco plants. *Mol Genet Genomics*, 2002, 267:154~161
- Rushton PJ, Reinstädler A, Lipka V et al. Synthetic plant promoters containing defined regulatory elements provide novel insights into pathogen- and wound-induced signaling. *Plant Cell*, 2002, 14:749~762
- Hara K, Yagi M, Kusano T et al. Rapid systemic accumulation

- of transcripts encoding a tobacco WRKY transcription factor on wounding. *Mol Gen Genet*, 2000, 263:30~37
- 25 Yu D, Chen C, Chen Z. Evidence for an important role of WRKY DNA binding proteins in the regulation of *NPR1* gene expression. *Plant Cell*, 2001, 13:1527~1539
- 26 Yang P, Wang Z, Fan B et al. A pathogen- and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding activity recognizes the elicitor response element of tobacco class I chitinase gene promoter. *Plant J*, 1999, 18:141~149
- 27 Fukuda Y. Interaction of tobacco nuclear proteins with an elicitor-responsive element in the promoter of a basic class I chitinase gene. *Plant Mol Biol*, 1997, 34:81~87
- 28 Hinderhofer K, Zentgraf U. Identification of a transcription factor specifically expressed at the onset of leaf senescence. *Planta*, 2001, 213:469~473
- 29 Robatzek S, Somssich IE. Targets of *AtWRKY6* regulation during plant senescence and pathogen defense. *Genes Dev*, 2002, 16:1139~1149
- 30 Pnueli L, Hallak-Herr E, Rozenber M et al. Molecular and biochemical mechanisms associated with dormancy and drought tolerance in the desert legume *Retama raetam*. *Plant J*, 2002, 31(3):319~330
- 31 Huang T, Duman JG. Cloning and characterization of a thermal hysteresis (antifreeze) protein with DNA-binding activity from winter bittersweet nightshade, *Solanum dulcamara*. *Plant Mol Biol*, 2002, 48(4):339~50
- 32 Chen C, Chen Z. Isolation and characterization of two pathogen- and salicylic acid-induced genes encoding WRKY DNA-binding proteins from tobacco. *Plant Mol Biol*, 2000, 42:387~396
- 33 Chen C, Chen Z. Potentiation of developmentally regulated plant defense response by *AtWRKY18*, a pathogen-induced *Arabidopsis* transcription factor. *Plant Physiol*, 2002, 129:706~716
- 34 Rushton PJ, Somssich IE. Transcriptional control of plant genes responsive to pathogens. *Curr Opin Plant Biol*, 1998, 1:311~315
- 35 Johnson CS, Kolevski B, Smyth DR. TRANSPARENT TESTA GLABRA2, a trichome and seed coat development gene of *Arabidopsis*, encodes a WRKY transcription factor. *Plant Cell*, 2002, 14:1359~1375
- 36 Quirino BF, Normanly J, Amasino RA. Diverse range of gene activity during *Arabidopsis thaliana* leaf senescence includes pathogen-independent induction of defense-related genes. *Plant Mol Biol*, 1999, 40:267~278
- 37 Asai T, Tena G, Plotnikova J et al. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature*, 2002, 415:977~983
- 38 Du L, Chen Z. Identification of genes encoding receptor-like protein kinases as possible targets of pathogen- and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding proteins in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2000, 24:837~847
- 39 Cao H, Glazebrook J, Clarke JD et al. The *Arabidopsis NPR1* gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats. *Cell*, 1997, 88:57~63
- 40 Cao H, Li X, Dong X. Generation of broad-spectrum disease resistance by overexpression of an essential regulatory gene in systemic acquired resistance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95:6531~6536
- 41 Kinkema M, Fan W, Dong X. Nuclear localization of NPR1 is required for activation of PR gene expression. *Plant Cell*, 2000, 12:2339~2350
- 42 Flor HH. Current status of the gene-for-gene concept. *Annu Rev Phytopathol*, 1971, 9:275~296
- 43 Ichimura K, Shinozaki K, Tena G et al. Mitogen-activated protein kinase cascades in plant: a new nomenclature. *Trends Plant Sci*, 2002, 7:301~308
- 44 Cardinale F, Jonak C, Ligterink W et al. Differential activation of four specific MAPK pathways by distinct elicitors. *J Biol Chem*, 2000, 275:36734~36740
- 45 Zhang S, Klessig DF. Pathogen-induced MAP kinases in tobacco. In: Hirt H (ed). *Results and Problems in Cell Differentiation: MAP Kinases in Plant Signal Transduction*. Heidelberg: Springer, 2000. 65~84
- 46 Gomez-Gomez L, Boller T. FLS2: An LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, 2000, 5:1003~1011
- 47 Petersen M, Brodersen P, Naested H et al. *Arabidopsis* MAP kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell*, 2000, 103:1111~1120
- 48 Yang KY, Liu Y, Zhang S. Activation of a mitogen-activated protein kinase pathway is involved in disease resistance in tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98:741~746
- 49 Wang MB, Waterhouse PM. Application of gene silencing in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5:146~150