

## 非生物胁迫相关NAC转录因子的结构及功能

李小兰, 胡玉鑫, 杨星, 于晓东, 李秋莉\*

辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁省植物生物技术重点实验室, 辽宁大连116081

**摘要:** NAC是植物特有的一类转录因子, 参与植物多个生长发育过程, 还参与植物对逆境胁迫的响应。本文对非生物胁迫相关NAC转录因子的结构特征、功能预测、表达特性、在转基因植物中的作用及调控路径进行综述。非生物胁迫相关NAC转录因子具有典型的NAC胁迫亚家族结构特征, 根据这些结构特征可以预测其功能; 非生物胁迫相关NAC转录因子能响应多种非生物胁迫, 其转基因过表达大多能使转基因植物提高一种或几种胁迫耐受性; 非生物胁迫相关NAC转录因子有着复杂的调控路径。这些NAC转录因子可用于提高转基因植物的逆境耐受性。

**关键词:** NAC转录因子; 非生物胁迫; 表达特性; 转基因植物; 调控路径

## Structure and Functions of NAC Transcription Factors Involved in Abiotic Stress

LI Xiao-Lan, HU Yu-Xin, YANG Xing, YU Xiao-Dong, LI Qiu-Li\*

Key Laboratory of Plant Biotechnology of Liaoning Province, College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116081, China

**Abstract:** The plant-specific NAC (NAM, ATAF1,2 and CUC2) transcription factors are involved in several developmental programs, and involved in the response to stress. This review focused on structural feature, functional prediction, expression patterns, the role in transgenic plants and regulation pathway of NAC transcription factors involved in abiotic stress. Abiotic stress related NAC transcription factors have typical structural features of stress subfamily of NAC, and their functions can be predicted by these features; *NAC* genes can be induced by at least one type of abiotic stress, overexpression of these genes enhanced one type or several types of abiotic stress tolerance of transgenic plants; the regulation pathway of these *NAC* genes is complicated. These NAC transcription factors will help enhance stress tolerance of transgenic plants.

**Key words:** NAC transcription factor; abiotic stress; expression patterns; transgenic plant; regulation pathway

非生物胁迫如干旱、高盐、冷害、冻害、高温、水涝等会影响植物水分、光合、呼吸、物质代谢等过程。植物在长期的系统发育中逐渐形成了对逆境的适应和抵抗机制, 所形成的适应和抵抗机制众多, 基因表达的转录调控在其中起着重要作用。转录因子是基因表达中一类重要的调控因子, 通过与目标基因启动子中特定的DNA序列即顺式作用元件结合, 激活或抑制靶基因的转录表达。许多转录因子如AP2/ERF (APETALA 2/ethylene-responsive element binding factor)、MYB、bZip (basic region/leucine zipper)、WRKY、NAC等参与植物逆境胁迫反应的调控(Singh等2002; Olsen等2005b)。NAC转录因子是植物特有的一类转录因子, 命名源于矮牵牛(*Petunia hybrid*) *NAM* (no apical meristem)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) *ATAF1*、*ATAF2*以及*CUC2* (cup-shaped cotyledon)

基因, 其数量众多, 广泛分布于陆生植物中(Souer等1996; Duval等2002; Ooka等2003)。到目前为止, 通过植物基因组测序, 已经鉴定出拟南芥有117个、水稻(*Oryza sativa*)有151个、葡萄(*Vitis vinifera*)有79个、白杨(*Populus trichocarpa*)有163个、大豆(*Glycine max*)和烟草(*Nicotiana tabacum*)分别有152个NAC基因(Le等2011; Hu等2010; Nuruzzaman等2010; Rushton等2008), 可以看出NAC转录因子构成了较大的转录因子家族之一。具有如此众多成员的NAC转录因子家族在植物中发挥着不可低估的作用。研究显示, NAC转录因子不仅

收稿 2013-06-01 修定 2013-08-09  
资助 国家自然科学基金(31340052)和辽宁省自然科学基金(2013020069)。

\* 通讯作者(E-mail: skyliqiuli@163.com; Tel: 0411-82157078)。

参与植物的多个生长发育过程如种子萌发、细胞分裂、细胞次生壁的合成、开花、衰老、侧根形成等,还参与植物对生物以及非生物胁迫的响应(Olsen等2005a)。根据生物信息学对全基因转录组分析,预测有20%~25%的NAC基因对至少一种或几种胁迫有响应(Fujita等2004; Kawaura等2008)。十多年来,越来越多的研究不断证明这些抗逆相关的NAC转录因子在植物耐受逆境方面起着关键作用。本文对非生物胁迫相关的NAC转录因子的结构、功能预测、表达特性、在转基因植物中的作用及调控路径进行介绍,目的在于为抗逆相关NAC转录因子的深入研究提供相关基础。

## 1 NAC转录因子的结构及功能预测

### 1.1 NAC转录因子的结构特征

目前NAC转录因子结构模型中,典型模型是N端存在一个高度保守的NAC结构域,C端是变化多样的转录调控域(Ooka等2003; Shen等2009)。NAC结构域一般由约150个氨基酸组成,分为5个亚结构域A~E,其中亚结构域C、D高度保守,带正电荷,与DNA结合;亚结构域A可能与NAC蛋白形成二聚体有关;亚结构域B、E富于变化,可能赋予NAC基因不同的功能。NAC结构域存在单向或双向的核定位信号,其中亚结构域D中的赖氨酸残基对核穿梭起关键作用。除此之外,NAC结构域还调节蛋白质结合,这一点可能决定了NAC蛋白的命运和功能,可能是植物与病原体相互作用或胁迫耐受的关键(Puranik等2012)。NAC转录因子的转录调控区域位于高度分散的C端,激活或抑制转录,有几组重复的富含丝氨酸-苏氨酸、脯氨酸-谷氨酸或酸性氨基酸残基的特异基序,这些基序对NAC同一亚家族是保守的,在不同的亚家族之间却有差异,可能赋予了NAC蛋白质特异的功能变化。由于这种复杂度低的序列过多,NAC的转录调控区具有高度的内在混乱性,使得NAC蛋白不能有一个单一稳定的三维结构,而这种灵活性使NAC蛋白能与不同的靶蛋白相互作用,同时也使NAC蛋白成为转录因子功能和结构系统分析的模式蛋白(Mitsuda等2004)。

随着NAC转录因子研究的深入,其结构模型也在不断地丰富,在典型模型的基础上又发现了一些新的特征。(1)一些NAC转录因子的亚结构域

D存在一个负调控域,如大豆GmNAC20的亚结构域D包含一个高疏水性的负调控域,起抑制转录激活的作用,推测这种抑制作用可能与该区域的“LVFY”残基及其疏水性相关,或者是此区域的DNA结合、核转运结构干扰导致的(Hao等2010)。(2)一些NAC蛋白在转录调控区存在蛋白质结合能力,如命名为NTL的NAC转录因子存在一个 $\alpha$ 螺旋横跨膜基序(TM),负责与质膜或内质网膜锚定(Puranik等2012)。NTL6就是此类NAC转录因子。当NTL6与质膜相连时处于休眠状态,冷胁迫能将其激活,然后脱离质膜,进入细胞核发挥调控作用(Seo和Park 2010)。(3)通过进化树分析,有些NAC转录因子只有NAC结构域,不具备转录调控区。苔藓(*Physcomitrella patens ssp. patens*)及卷柏(*Selaginella moellendorffii*)的大部分NAC基因都缺少C端外显子,只包含编码NAC A~E亚结构域的外显子(Shen等2009)。通过对拟南芥110个NAC蛋白的进化分析,还得到另外几种非典型的结构(Jensen等2009): (1)两个NAC结构域串联,功能未知; (2)典型NAC结构模型的N端有一段大约40个氨基酸残基的延伸(NTE),拟南芥SOG1属于此种类型,该NAC转录因子参与调控损伤响应蛋白激酶ATM及激酶ATR的通路(Yoshiyama等2009); (3) NAC结构域在C端,转录调控区域在N端,存在一个保守的DNA结合锌指(ZF)在两者的中间,AtVOZ1和AtVOZ2即属于此种类型,有研究将其鉴定为维管植物转录因子(Mitsuda等2004)。

除此之外,通过对拟南芥ANAC019和水稻SNAC1的NAC结构域晶体结构的研究显示,两者的NAC结构域晶体结构都是二聚体(Ernst等2004; Chen等2011),而且与WRKY结构相似,以此推测NAC与WRKY的DNA结合结构域(DBDs)的进化历史也相似。还有研究证明,NAC与GCM (glia cell missing)结构域(Cohen等2003)相似,所以NAC蛋白已被归于WRKY-GCM1超家族。通过低分辨率X射线结构和小角度X射线衍射技术对ANAC结构域/DNA复合体模型的研究,证实了NAC与WRKY的联系,而大部分WRKY转录因子都是生物胁迫与非生物胁迫响应的重要转录调控因子(Yamasaki等2012),可以推知NAC转录因子也具有类似功能。

## 1.2 NAC转录因子的功能预测

通过生物信息学方法对NAC转录因子进行分析有助于对其功能进行预测。通过系统进化树分析有效地将结构相近的NAC转录因子聚类, 进一步分析聚类在一起的NAC亚家族成员的C端基序, 发现在同一亚族里的NAC转录因子具有相同的基序, 不同亚族里的NAC转录因子具有不同的基序(图1), 所以结合已知功能的NAC转录因子, 可以推测在同一亚族里其他成员的功能。对拟南芥105个、水稻75个NAC蛋白的进化分析, 将这180个NAC蛋白分为两个超家族, 18个亚家族, 其中NAP、AtNAC3、ATAF、OsNAC3亚家族中的转录调控区存在5种基序, ATAF亚家族中的NAC蛋白都有基序4(图1)(Ooka等2003), 而且其成员ATAF1、ATAF2、OsNAC6已被证明具有胁迫响应功能(Wang等2009; Delessert等2005; Nakashima等2007)。毛果杨(*Populus trichocarpa*) 163个NAC基因聚类为18个亚家族, 结合表达特性的分析, 建立起了这些家族成员之间结构和功能的关系, 即功能相同的NAC基因倾向于聚类到一个亚组里(Hu等2010)。柑桔属(*Citrus*) 45个包含NAC结构域的蛋白被划分为13个不同的亚家族, 其中CsNAC1

属于胁迫NAC亚家族, N端从14位到164位氨基酸具有NAC结构域5个典型的亚功能域A~E, C端具有3个转录激活基序(de Oliveira等2011), 实时定量PCR分析显示, CsNAC1在柠檬(*Citrus limonia*)及柑桔(*Citrus reshni*)叶中受干旱强烈诱导, 在柑桔叶和根中受盐、冷、ABA诱导(Mauch-Mani和Flors 2009)。比较全面的系统进化分析是将11种生物体1232个NAC蛋白划分为8个亚家族(NAC-a~h), 每个亚家族又划分为若干亚组, 每个亚组的成员C端序列都共享保守的基序, 具有不同功能的NAC基因都分到不同的亚家族中, 如响应环境胁迫或病毒感染的NAC蛋白聚类到NAC-a亚家族中(Shen等2009)。此外, 来自拟南芥、水稻、卷柏(*Selaginella moellendorffii*)和小立碗藓(*Physcomitrella patens*)的胁迫响应NAC基因(SNAC)的进化树分析显示, 这些SNAC聚类到3个亚组(SNAC-A~SNAC-C)中, 其中SNAC-A和SNAC-B中都是拟南芥和水稻的SNAC, 卷柏及小立碗藓的SNAC聚类到SNAC-C中(Nakashima等2011), 说明在预测胁迫相关NAC转录因子的功能时也应考虑到植物的物种进化关系, 以此来更准确地达到功能预测的目的。本实验室通过对辽宁碱蓬(*Suaeda liaotungensis*)转录组数据

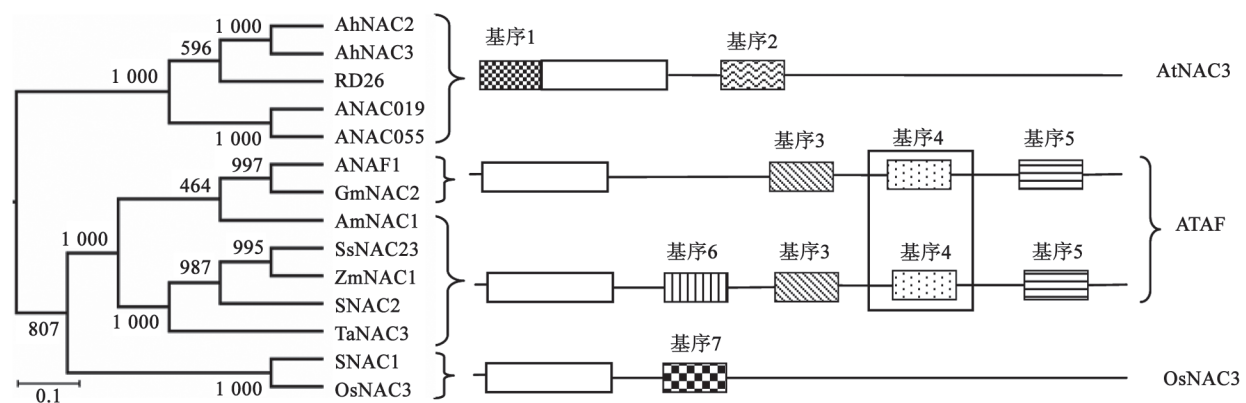


图1 非生物胁迫相关NAC蛋白部分亚家族的基序

Fig.1 Motifs diagrammatic representation of part subfamilies of NAC proteins

图左面部分是进化分析(MEGA4.0), 中间是各家族基序示意图(MEME4.9.0分析结果), 右面标注的是亚家族名称。空白方框表示NAC结构域, 其他不同图案的方框表示不同的基序。大框包围的基序4是文献报道的ATAF亚家族具备的特异基序。进化树中NAC蛋白缩写所对应的Gi登录号如下: AhNAC2, gi|209171097; AhNAC3, gi|209171095; RD26, gi|18416983; ANAC019, gi|15219112; ANAC055, gi|15232604; ATAF1, gi|15223456; GmNAC2, gi|66394512; AmNAC1, gi|154362215; SsNAC23, gi|58013003; ZmNAC1, gi|165855636; SNAC2, gi|311815437; TaNAC3, gi|296044564; SNAC1, gi|88770831; OsNAC3, gi|6730936。各基序所代表的序列如下: 基序1, MG[IV]-QEKDPL[SA]Q; 基序2, [SG]S[ST]SSSS[HQ]L[DE]DVL[ED]; 基序3, [YM]Y[DF][RD]PSDSMP[RK]LH[AT]DSS[CS]SEQ; 基序4, [CF][AD-][RS]EVQS[QE]PK[1W]SEWER[TS][FL]A; 基序5, GGGG[GQ][DL][PS][LP]LQD[IM][LF]MY[WM][GQ]KPF; 基序6, AAVSSPPEQKP[FV]-VA; 基序7, [WL][FL][MTV][GD][LM][SN][FLY]D[DE][LI]Q[GP][LMP][YG][SM]。



库的序列进行分析,发现有21个具有NAC结构域特征的序列,将这些序列与已知功能的NAC转录因子进行多重比对及构建进化树分析显示,有10个NAC转录因子属于胁迫响应亚家族,实时定量PCR结果证明它们受盐胁迫诱导表达。

此外,虽然系统进化分析提供了一种重要的生物信息学手段,可以对NAC转录因子进行分类,结合特异的基序鉴定进行功能预测,但是明确的功能还需结合表达特性分析、转基因过表达等实验来验证。

## 2 非生物胁迫相关NAC转录因子基因的表达特性

水稻、拟南芥、小麦(*Triticum turgidum*)、玉米(*Zea mays*)、番茄(*Solanum lycopersicum*)等植物中都存在非生物胁迫响应NAC转录因子,研究发现:(1)非生物胁迫相关NAC转录因子能对一种或多种非生物胁迫作出响应(表1)。玉米*ZmSNAC1*及小麦*TaNAC2*都能响应3种以上的非生物胁迫,它们能在盐、干旱、低温和外源ABA的诱导下表达(Lu等2012; Mao等2012)。拟南芥*ATAF1*在干旱、高盐、ABA、茉莉酸甲酯的诱导下表达。(2)响应非生物胁迫时,非生物胁迫相关NAC转录因子除了被诱导表达外,也存在其表达受抑制的情况。番茄*SINAC3*在盐、干旱和ABA胁迫处理下其转录表达受抑制(Han等2012)。同样的情况也存在于蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)中,*MtNAC969*在盐胁迫处理下表达被抑制(de Zelicourt等2012)。(3)非生物胁迫相关NAC转录因子的诱导表达具有时效性。对水稻*ENAC1*的研究显示,*ENAC1*的非生物胁迫诱导表达只能持续3 h,是一个早期瞬时响应调控因子(Sun等2011)。除此之外,组织表达谱分析还显示,非生物胁迫相关NAC基因的表达还存在组织特异性。番茄*SINAC1*和*SINAM*都受盐胁迫诱导,但*SINAC1*主要在根、花和未成熟的果实中表达,而*SINAM*在根中没有表达,在花及成熟的番茄果实中高水平表达(Yang等2011)。

NAC基因启动子区存在胁迫响应元件,能结合相应的胁迫响应转录因子,并启动或抑制NAC基因的转录。这些胁迫响应元件包括ABREs (ABA响应元件)、DREs (干旱响应元件)、LTREs (低温响应元件)、MYB (myeloblastosis)和MYC (myelocytomatosis)结合位点、W-Box、茉莉酸响应元

件、水杨酸响应元件等(Nakashima等2011)。*OsNAC5*及*OsNAC6*基因的启动子区含有3个ABA响应元件,受ABA强烈诱导(Takasaki等2010)。*OsNAC3*启动子区含有1个干旱响应元件,而*SNAC1*启动子区含2个干旱响应元件,所以被同种非生物胁迫诱导的NAC基因其响应能力可能不同(Nakashima等2011)。胁迫相关NAC基因的表达可能由ABA依赖型和ABA非依赖型的路径来调控,一方面取决于启动子区是否含有ABA响应元件以及ABA的体内平衡变化情况,另一方面还取决于环境因素对ABA信号以及防御非生物和生物胁迫信号之间的信号级联通路的影响(Puranik等2012; Mauch-Mani和Flors 2009)。此外,JA是涉及调控伤害和生物胁迫响应的一类植物激素,所以能响应JA的胁迫相关NAC转录因子可能既响应生物胁迫又响应非生物胁迫(Fujita等2006; Wu等2009)。ATAF1是ABA信号通路的一个负调控因子,但能诱导JA/Et相关防御信号基因的表达,实验证明ATAF1对生物胁迫及非生物胁迫均有响应(Jensen等2008; Wu等2009)。因此,可以看出,胁迫相关转录因子与植物激素相关的信号通路能共同引起NAC基因的诱导表达。

## 3 非生物胁迫相关NAC转录因子在转基因植物中的作用

非生物胁迫相关NAC转录因子的转基因过表达显示,绝大部分NAC转录因子都能提高转基因植物的逆境耐受性,而且有些能增强一种以上的胁迫耐受性,只有极少数起到降低逆境耐受性的作用(表1)。转基因过表达水稻的*OsNAC6*、*SNAC1*、*ONAC045*提高了转基因植物干旱和高盐的耐受性(Nakashima等2007; Hu等2006; Zheng等2009)。转基因过表达小麦的*TaNAC2*提高了转基因植物对盐、干旱、低温胁迫的耐受性(Mao等2012)。拟南芥*AtNAC2*的转基因过表达降低了转基因植物的耐盐性(Balazadeh等2010)。

另一方面,非生物胁迫相关NAC转录因子的转基因过表达对转基因植株的表型影响各不相同,分别是无影响、正向影响和负向影响。例如:水稻*SNAC1*和*OsNAC5*的转基因植株无表型和产量的变化(Hu等2006; Sperotto等2009; Takasaki等2010);拟南芥的*JUB1*转基因过表达使转基因植物

表1 非生物胁迫相关NAC转录因子基因表达特性及转基因植物表型统计  
Table 1 Expression characteristic and transgenic overexpression statistics of NAC transcription factor involved in abiotic stress

基因/来源植物	引起表达的非生物胁迫因子						转基因植物表型		文献				
	盐	干旱	低温	高温	水涝	ABA	其他	盐		干旱	低温	高温	植株影响
<i>OsNAC6</i> /水稻	√	√	√					↑	↑			生长迟缓、低产量	Nakashima等2007
<i>ENAC1</i> /水稻	√*	√*	√*			√*						无变化	Sun等2011
<i>OsNAC5</i> /水稻	√	√	√			√	MeJA	↑				无变化	Sperotto等2009; Takasaki等2010
<i>ONAC045</i> /水稻	√	√	√			√		↑	↑			无表型和产量变化, ABA的敏感性增强, 抑制根茎生长	Zheng等2009
<i>SNAC1</i> /水稻								↑	↑			低氧胁迫下发芽正常	Hu等2006
<i>ANAC102</i> /拟南芥					√							延迟开花	Christianson等2009
<i>AT4F1</i> /拟南芥	√	√				√	MeJA	↑				促进侧根发育、高盐下种子萌发率降低	Wu等2009
<i>N7L8</i> /拟南芥	√											植株矮小	Kim等2007, 2008; Kim和Park 2007
<i>AtNAC2</i> /拟南芥	√						ACC, NAA	↓				延长寿命	Balazadeh等2010; He等2005
<i>ANAC036</i> /拟南芥												↑	Kato等2010
<i>JUB1</i> /拟南芥	√			√			活性氧						Shahnejat-Bushehr等2012; Wu等2012
<i>ANAC019/ANAC055</i>	√	√						↑					Tran等2004
<i>ANAC072</i> /拟南芥													Seo等2009, 2010; Seo和Park 2010
<i>N7L6</i> /拟南芥				√									Mao等2012
<i>TaNAC2</i> /小麦	√	√	√					↑	↑				Xia等2010
<i>TaNAC4</i> /小麦	√		√				伤害						de Oliveira等2011
<i>CsNAC1</i> /柑桔	√	√	√										Lu等2012
<i>ZmSNAC1</i> /玉米	√	√	√					↑					Ma等2013; Yang等2011
<i>SINAC1</i> /番茄	√	√	√				渗透、机械损伤						Han等2012
<i>SINAC3</i> /番茄	√	√	√										Yang等2011
<i>SINAMI</i> /番茄	√	√											Hao等2011
<i>GmNAC20</i> /大豆	√	√	√				NAA	↑					Hao等2011
<i>GmNAC11</i> /大豆	√	√	√				NAA	↑					Hao等2011
<i>GmNAC3/GmNAC4</i> /大豆	√	√	√				渗透, JA						Pinheiro等2009
<i>CarNAC3</i> /鹰嘴豆 ( <i>Cicer arietinum</i> )	√	√	√				Et, IAA						Peng等2009

√: 响应胁迫; ↑: 提高胁迫耐受性; ↓: 降低胁迫耐受性; \*: 响应是瞬时的; MeJA: 茉莉酸甲酯; JA: 茉莉酸; ACC: 乙烯的前体物质1-氨基环丙烷-1-羧酸; NAA: 萘乙酸; Et: 乙醇; IAA: 吲哚乙酸。

的生命得以延长(Shahnejat-Bushehri等2012; Wu等2012); 水稻*OsNAC6*的转基因过表达使转基因植物生长迟缓以及产量降低(Nakashima等2007)。

由于非生物胁迫相关NAC转录因子的转基因过表达对转基因植株抗性和表型的影响不同, 所以要针对不同的影响情况来分别利用这些非生物胁迫相关NAC转录因子。对于既能提高转基因植物非生物胁迫耐受性, 又不引起转基因植物表型变化或对转基因植物的表型影响是正向的非生物胁迫相关NAC转录因子, 可以利用基因工程的手段运用于农作物中, 赋予农作物抗旱、抗盐、抗低温的能力。如*OsNAC5*提高了转基因水稻的耐盐性且对植株表型无影响(Takasaki等2010)。对于能提高转基因植物非生物胁迫耐受性, 但对其表型产生负向影响的非生物胁迫相关NAC转录因子, 可以考虑引入诱导型启动子, 使转基因植物中该转录因子能在合适的时间表达, 从而不影响转基因植物的生长和产量, 同时提高逆境耐受性, 或者根据不同地区不同环境将这种负向影响转化为优点来加以利用。如拟南芥*ANAC036*的转基因植株矮小(Kato等2010), 然而在多风地区, 植株矮小的植物更具有生长优势, 根据这样的地区特点就可以把原本带给转基因植物表型负向影响的*ANAC036*用于矮化植株的培育中, 从而实现它的应用价值。此外, 如果这些非生物胁迫相关NAC转录因子的转基因植物能在恶劣的环境中生长, 就能为改善环境甚至为人类征服沙漠提供更丰富的生物资源。

#### 4 非生物胁迫相关NAC转录因子的调控

根据NAC转录因子的结构可以预测其功能, 通过表达特性及转基因过表达实验可以进一步对功能进行验证和鉴定。然而, 对NAC转录因子结构和功能研究的真正目的在于探究其调控机理, 并根据其调控机理将其运用于农业、生物能源等产业。虽然NAC转录因子的调控机理非常复杂, 但目前已经取得了一定的进展。

非生物胁迫相关NAC转录因子的调控机理非常复杂, 在转录水平、转录后水平、翻译水平及翻译后水平都受到调控。(1)非生物胁迫相关NAC基因启动子区存在胁迫相关响应元件, 胁迫相关转录因子能结合这些元件并调控NAC基因转录。

水稻*OsNAC5*和*OsNAC6*启动子区存在的ABA响应元件(Nakashima等2007), *OsNAC3*和*SNAC1*启动子区存在干旱响应元件(Takasaki等2010), 分别能与AREB类及DREB类转录因子结合。(2) NAC基因在转录后可能与miRNA结合并进行选择性剪接, 从而实现NAC转录后水平的调控(Khraiwesh等2011)。胡杨(*Populus euphratica*)的几个干旱响应相关NAM基因转录后的前体mRNA都是miRNA164的调控目标(Li等2011)。(3) NAC基因翻译后水平的调控非常复杂, 包括泛素介导的蛋白质降解(Xie等2002)、二聚化(Jeong等2009)、与其他蛋白相互作用等(Jeong等2009; Greve等2003; Tran等2004; Calkhoven和Ab 1996)。SINAT5能促进泛素介导的NAC1蛋白水解(Xie等2002)。水稻的*OsNACs*能够形成同源或异源二聚体来实现其不同的调节功能(Jeong等2009)。*OsNAC4*的核定位需要磷酸化作用(Kaneda等2009)。(4)非生物胁迫相关NAC转录因子可以与胁迫相关基因启动子区的NAC识别序列结合, 并调控这些基因的表达。一些DREB类、AREB类及WRKY类转录因子启动子区存在NAC结合位点(Mochida等2009, 2010), 如DREB2A启动子区存在热胁迫响应NAC转录因子JUB1的核心识别序列RRYGCCGT (Wu等2012), 水稻的ENAC1能与NAC识别序列结合并激活*HIS3*报告基因表达(Sun等2011)。此外, 这些被激活的DREB及AREB类转录因子也会反过来调控NAC基因的转录, 正如上述(1)中所述。由此可见, 非生物胁迫相关NAC转录因子的调控形成了一个复杂的网络, 然而其具体的调控机理还需要更多研究来证明和充实。

#### 5 结语与展望

综上所述, 通过对非生物胁迫相关的NAC转录因子的结构和功能预测、表达特性分析、在转基因植物中的作用及调控途径的介绍, 可以得出: (1)非生物胁迫相关的NAC转录因子为抗逆机制研究提供了丰富的资源; (2)非生物胁迫相关NAC转录因子具有NAC转录因子胁迫亚家族的典型结构特征, 这些结构特征可以预测NAC转录因子的功能, 为研究NAC转录因子的功能提供了一定的理论依据; (3)非生物胁迫相关NAC转录因子通常能响应多种非生物胁迫, 其中绝大部分此类NAC转

录因子都能受多种胁迫诱导表达, 只有少部分会在胁迫下被抑制表达; (4)非生物胁迫相关NAC转录因子的转基因过表达大多能使转基因植物对非生物胁迫耐受性增强, 但对植株的表型影响各不相同; (5)非生物胁迫相关NAC转录因子的调控途径可以为具体的调控机理研究提供线索和思路; (6)非生物胁迫相关NAC转录因子的转基因植物研究具有丰富的应用价值, 值得投入更多的关注和进行更深入的研究来实现此类NAC转录因子的实际应用, 为提高作物抗逆性和改善环境做出贡献。

### 参考文献

- Balazadeh S, Siddiqui H, Allu AD, Matallana-Ramirez LP, Caldana C, Mehria M, Zanol MI, Kohler B, Mueller-Roebber B (2010). A gene regulatory network controlled by the NAC transcription factor ANAC092/AtNAC2/ORE1 during salt-promoted senescence. *Plant J*, 62: 250~264
- Calkhoven CF, Ab G (1996). Multiple steps in the regulation of transcription-factor level and activity. *Biochem J*, 317 (Pt 2): 329~342
- Chen Q, Wang Q, Xiong L, Lou Z (2011). A structural view of the conserved domain of rice stress-responsive NAC1. *Protein Cell*, 2: 55~63
- Christianson JA, Wilson IW, Llewellyn DJ, Dennis ES (2009). The low-oxygen-induced NAC domain transcription factor *ANAC102* affects viability of *Arabidopsis* seeds following low-oxygen treatment. *Plant Physiol*, 149: 1724~1738
- Cohen SX, Moulin M, Hashemolhosseini S, Kilian K, Wegner M, Muller CW (2003). Structure of the GCM domain-DNA complex: a DNA-binding domain with a novel fold and mode of target site recognition. *EMBO J*, 22: 1835~1845
- de Oliveira TM, Cidade LC, Gesteira AS, Coelho Filho MA, Soares Filho WS, Costa MGC (2011). Analysis of the *NAC* transcription factor gene family in citrus reveals a novel member involved in multiple abiotic stress responses. *Tree Genet Genomes*, 7: 1123~1134
- de Zelicourt A, Diet A, Marion J, Laffont C, Ariel F, Moison M, Zahaf O, Crespi M, Gruber V, Frugier F (2012). Dual involvement of a *Medicago truncatula* NAC transcription factor in root abiotic stress response and symbiotic nodule senescence. *Plant J*, 70: 220~230
- Delessert C, Kazan K, Wilson IW, Van Der Straeten D, Manners J, Dennis ES, Dolferus R (2005). The transcription factor ATAF2 represses the expression of pathogenesis-related genes in *Arabidopsis*. *Plant J*, 43: 745~757
- Duval M, Hsieh TF, Kim SY, Thomas TL (2002). Molecular characterization of *AtNAM*: a member of the *Arabidopsis* NAC domain superfamily. *Plant Mol Biol*, 50: 237~248
- Ernst HA, Olsen AN, Larsen S, Lo Leggio LL (2004). Structure of the conserved domain of ANAC, a member of the NAC family of transcription factors. *EMBO Rep*, 5: 297~303
- Fujita M, Fujita Y, Maruyama K, Seki M, Hiratsu K, Ohme-Takagi M, Tran LS, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2004). A dehydration-induced NAC protein, RD26, is involved in a novel ABA-dependent stress-signaling pathway. *Plant J*, 39: 863~876
- Fujita M, Fujita Y, Noutoshi Y, Takahashi F, Narusaka Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2006). Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Curr Opin Plant Biol*, 9: 436~442
- Greve K, La Cour T, Jensen MK, Poulsen FM, Skriver K (2003). Interactions between plant RING-H2 and plant-specific NAC (*NAM/ATAF1/2/CUC2*) proteins: RING-H2 molecular specificity and cellular localization. *Biochem J*, 371: 97~108
- Han Q, Zhang J, Li H, Luo Z, Ziaf K, Ouyang B, Wang T, Ye Z (2012). Identification and expression pattern of one stress-responsive *NAC* gene from *Solanum lycopersicum*. *Mol Biol Rep*, 39: 1713~1720
- Hao YJ, Song QX, Chen HW, Zou HF, Wei W, Kang XS, Ma B, Zhang WK, Zhang JS, Chen SY (2010). Plant NAC-type transcription factor proteins contain a NARD domain for repression of transcriptional activation. *Planta*, 232: 1033~1043
- Hao YJ, Wei W, Song QX, Chen HW, Zhang YQ, Wang F, Zou HF, Lei G, Tian AG, Zhang WK et al (2011). Soybean NAC transcription factors promote abiotic stress tolerance and lateral root formation in transgenic plants. *Plant J*, 68: 302~313
- He XJ, Mu RL, Cao WH, Zhang ZG, Zhang JS, Chen SY (2005). *AtNAC2*, a transcription factor downstream of ethylene and auxin signaling pathways, is involved in salt stress response and lateral root development. *Plant J*, 44: 903~916
- Hu H, Dai M, Yao J, Xiao B, Li X, Zhang Q, Xiong L (2006). Over-expressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 12987~12992
- Hu R, Qi G, Kong Y, Kong D, Gao Q, Zhou G (2010). Comprehensive analysis of NAC domain transcription factor gene family in *Populus trichocarpa*. *BMC Plant Biol*, 10: 145
- Jensen MK, Hagedorn PH, de Torres-Zabala M, Grant MR, Rung JH, Collinge DB, Lyngkjaer MF (2008). Transcriptional regulation by an NAC (*NAM-ATAF1,2-CUC2*) transcription factor attenuates ABA signalling for efficient basal defence towards *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in *Arabidopsis*. *Plant J*, 56: 867~880
- Jensen MK, Kjaersgaard T, Nielsen MM, Galberg P, Petersen K, O'Shea C, Skriver K (2009). The *Arabidopsis thaliana* NAC transcription factor family: structure-function relationships and determinants of ANAC019 stress signalling. *Biochem J*, 426: 183~196
- Jeong JS, Park YT, Jung H, Park S-H, Kim J-K (2009). Rice NAC proteins act as homodimers and heterodimers. *Plant Biotechnol Rep*, 3: 127~134
- Kaneda T, Taga Y, Takai R, Iwano M, Matsui H, Takayama S, Isogai A, Che FS (2009). The transcription factor OsNAC4 is a key positive regulator of plant hypersensitive cell death. *EMBO J*, 28: 926~936



- Kato H, Motomura T, Komeda Y, Saito T, Kato A (2010). Overexpression of the NAC transcription factor family gene *ANAC036* results in a dwarf phenotype in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Physiol*, 167: 571~577
- Kawaura K, Mochida K, Ogiwara Y (2008). Genome-wide analysis for identification of salt-responsive genes in common wheat. *Funct Integr Genomics*, 8: 277~286
- Khraiweh B, Zhu JK, Zhu J (2011). Role of miRNAs and siRNAs in biotic and abiotic stress responses of plants. *Biochim Biophys Acta*, 1819: 137~148
- Kim SG, Kim SY, Park CM (2007). A membrane-associated NAC transcription factor regulates salt-responsive flowering via *FLOWERING LOCUS T* in *Arabidopsis*. *Planta*, 226: 647~654
- Kim SG, Lee AK, Yoon HK, Park CM (2008). A membrane-bound NAC transcription factor NTL8 regulates gibberellic acid-mediated salt signaling in *Arabidopsis* seed germination. *Plant J*, 55: 77~88
- Kim SG, Park CM (2007). Membrane-mediated salt stress signaling in flowering time control. *Plant Signal Behav*, 2: 517~518
- Le DT, Nishiyama R, Watanabe Y, Mochida K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran L-SP (2011). Genome-wide survey and expression analysis of the plant-specific NAC transcription factor family in soybean during development and dehydration stress. *DNA Res*, 18: 263~276
- Li B, Qin Y, Duan H, Yin W, Xia X (2011). Genome-wide characterization of new and drought stress responsive microRNAs in *Populus euphratica*. *J Exp Bot*, 62: 3765~3779
- Lu M, Ying S, Zhang DF, Shi YS, Song YC, Wang TY, Li Y (2012). A maize stress-responsive NAC transcription factor, *ZmSNAC1*, confers enhanced tolerance to dehydration in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep*, 31: 1701~1711
- Ma NN, Zuo YQ, Liang XQ, Yin B, Wang GD, Meng QW (2013). The multiple stress-responsive transcription factor *SINAC1* improves the chilling tolerance of tomato. *Physiol Plant*, doi: 10.1111/ppl.12049
- Mao X, Zhang H, Qian X, Li A, Zhao G, Jing R (2012). *TaNAC2*, a NAC-type wheat transcription factor conferring enhanced multiple abiotic stress tolerances in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 63: 2933~2946
- Mauch-Mani B, Flors V (2009). The ATAF1 transcription factor: at the convergence point of ABA-dependent plant defense against biotic and abiotic stresses. *Cell Res*, 19: 1322~1323
- Mitsuda N, Hisabori T, Takeyasu K, Sato MH (2004). VOZ; isolation and characterization of novel vascular plant transcription factors with a one-zinc finger from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 45: 845~854
- Mochida K, Yoshida T, Sakurai T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran L-SP (2010). LegumeTFDB: an integrative database of *Glycine max*, *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula* transcription factors. *Bioinformatics*, 26: 290~291
- Mochida K, Yoshida T, Sakurai T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran LS (2009). *In silico* analysis of transcription factor repertoire and prediction of stress responsive transcription factors in soybean. *DNA Res*, 16: 353~369
- Nakashima K, Takasaki H, Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2011). NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim Biophys Acta*, 1819: 97~103
- Nakashima K, Tran LS, Van Nguyen D, Fujita M, Maruyama K, Todaka D, Ito Y, Hayashi N, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2007). Functional analysis of a NAC-type transcription factor OsNAC6 involved in abiotic and biotic stress-responsive gene expression in rice. *Plant J*, 51: 617~630
- Nuruzzaman M, Manimekalai R, Sharoni AM, Satoh K, Kondoh H, Ooka H, Kikuchi S (2010). Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice. *Gene*, 465: 30~44
- Olsen AN, Ernst HA, Leggio LL, Skriver K (2005a). NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse. *Trends Plant Sci*, 10: 79~87
- Olsen AN, Ernst HA, Leggio LL, Skriver K (2005b). DNA-binding specificity and molecular functions of NAC transcription factors. *Plant Sci*, 169: 785~797
- Ooka H, Satoh K, Doi K, Nagata T, Otomo Y, Murakami K, Matsubara K, Osato N, Kawai J, Carninci P et al (2003). Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res*, 10: 239~247
- Peng H, Cheng HY, Chen C, Yu XW, Yang JN, Gao WR, Shi QH, Zhang H, Li JG, Ma H (2009). A NAC transcription factor gene of Chickpea (*Cicer arietinum*), *CarNAC3*, is involved in drought stress response and various developmental processes. *J Plant Physiol*, 166: 1934~1945
- Pinheiro GL, Marques CS, Costa MD, Reis PA, Alves MS, Carvalho CM, Fietto LG, Fontes EPB (2009). Complete inventory of soybean NAC transcription factors: sequence conservation and expression analysis uncover their distinct roles in stress response. *Gene*, 444: 10~23
- Puranik S, Sahu PP, Srivastava PS, Prasad M (2012). NAC proteins: regulation and role in stress tolerance. *Trends Plant Sci*, 17: 369~381
- Rushton PJ, Bokowiec MT, Han S, Zhang H, Brannock JF, Chen X, Laudeman TW, Timko MP (2008). Tobacco transcription factors: novel insights into transcriptional regulation in the Solanaceae. *Plant Physiol*, 147: 280~295
- Seo PJ, Kim MJ, Park JY, Kim SY, Jeon J, Lee YH, Kim J, Park CM (2009). Cold activation of a plasma membrane-tethered NAC transcription factor induces a pathogen resistance response in *Arabidopsis*. *Plant J*, 61: 661~671
- Seo PJ, Kim MJ, Song JS, Kim YS, Kim HJ, Park CM (2010). Proteolytic processing of an *Arabidopsis* membrane-bound NAC transcription factor is triggered by cold-induced changes in membrane fluidity. *Biochem J*, 427: 359~367
- Seo PJ, Park CM (2010). A membrane-bound NAC transcription factor as an integrator of biotic and abiotic stress signals. *Plant Signal Behav*, 5: 481~483
- Shahnejat-Bushehri S, Mueller-Roeber B, Balazadeh S (2012). *Arabidopsis* NAC transcription factor JUNGBRUNNEN1 affects thermomemory-associated genes and enhances heat stress tolerance in primed and unprimed conditions. *Plant Signal Behav*, 7: 1518~1521



- Shen H, Yin Y, Chen F, Xu Y, Dixon RA (2009). A bioinformatic analysis of *NAC* genes for plant cell wall development in relation to lignocellulosic bioenergy production. *Bioenerg Res*, 2: 217~232
- Singh KB, Foley RC, Onate-Sanchez L (2002). Transcription factors in plant defense and stress responses. *Curr Opin Plant Biol*, 5: 430~436
- Souer E, van Houwelingen A, Kloos D, Mol J, Koes R (1996). The *no apical meristem* gene of petunia is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. *Cell*, 85: 159~170
- Sperotto RA, Ricachenevsky FK, Duarte GL, Boff T, Lopes KL, Sperr ER, Grusak MA, Fett JP (2009). Identification of up-regulated genes in flag leaves during rice grain filling and characterization of *OsNAC5*, a new ABA-dependent transcription factor. *Planta*, 230: 985~1002
- Sun H, Huang X, Xu X, Lan H, Huang J, Zhang HS (2011). ENAC1, a NAC transcription factor, is an early and transient response regulator induced by abiotic stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Biotechnol*, 52: 101~110
- Takasaki H, Maruyama K, Kidokoro S, Ito Y, Fujita Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, Nakashima K (2010). The abiotic stress-responsive NAC-type transcription factor OsNAC5 regulates stress-inducible genes and stress tolerance in rice. *Mol Genet Genomics*, 284: 173~183
- Tran LSP, Nakashima K, Sakuma Y, Simpson SD, Fujita Y, Maruyama K, Fujita M, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2004). Isolation and functional analysis of *Arabidopsis* stress-inducible NAC transcription factors that bind to a drought-responsive *cis*-element in the *early responsive to dehydration stress 1* promoter. *Plant Cell*, 16: 2481~2498
- Wang X, Basnayake BM, Zhang H, Li G, Li W, Virk N, Mengiste T, Song F (2009). The *Arabidopsis* ATAF1, a NAC transcription factor, is a negative regulator of defense responses against necrotrophic fungal and bacterial pathogens. *Mol Plant Microbe Interact*, 22: 1227~1238
- Wu A, Allu AD, Garapati P, Siddiqui H, Dortay H, Zano MI, Asensi-Fabado MA, Munne-Bosch S, Antonio C, Tohge T et al (2012). *JUNGBRUNNEN1*, a reactive oxygen species-responsive NAC transcription factor, regulates longevity in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24: 482~506
- Wu Y, Deng Z, Lai J, Zhang Y, Yang C, Yin B, Zhao Q, Zhang L, Li Y, Xie Q (2009). Dual function of *Arabidopsis* ATAF1 in abiotic and biotic stress responses. *Cell Res*, 19: 1279~1290
- Xia N, Zhang G, Liu XY, Deng L, Cai GL, Zhang Y, Wang XJ, Zhao J, Huang LL, Kang ZS (2010). Characterization of a novel wheat NAC transcription factor gene involved in defense response against stripe rust pathogen infection and abiotic stresses. *Mol Biol Rep*, 37: 3703~3712
- Xie Q, Guo HS, Dallman G, Fang S, Weissman AM, Chua NH (2002). SINAT5 promotes ubiquitin-related degradation of NAC1 to attenuate auxin signals. *Nature*, 419: 167~170
- Yamasaki K, Kigawa T, Seki M, Shinozaki K, Yokoyama S (2012). DNA-binding domains of plant-specific transcription factors: structure, function, and evolution. *Trends Plant Sci*, 18: 267~276
- Yang R, Deng C, Ouyang B, Ye Z (2011). Molecular analysis of two salt-responsive NAC-family genes and their expression analysis in tomato. *Mol Biol Rep*, 38: 857~863
- Yoshiyama K, Conklin PA, Huefner ND, Britt AB (2009). Suppressor of gamma response 1 (*SOG1*) encodes a putative transcription factor governing multiple responses to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106: 12843~12848
- Zheng X, Chen B, Lu G, Han B (2009). Overexpression of a NAC transcription factor enhances rice drought and salt tolerance. *Biochem Biophys Res Commun*, 379: 985~989