

## 植物NAC转录因子家族在抗逆响应中的功能

王瑞芳, 胡银松, 高文蕊, 张宜欣, 宋兴舜\*

东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨150040

**摘要:** NAC转录因子是植物特有的一类转录因子, 其共同特点是在N端含有一段高度保守的约150个氨基酸组成的NAC结构域, 而C端为高度多样化的转录调控区。NAC转录因子是具有多种生物功能的新型转录因子, 在植物细胞次生壁的生长、植物顶端分生组织形成、植物侧根发育等生长发育过程以及作物的品质改良中具有重要作用。此外, 研究表明NAC转录因子在植物抗逆反应中也具有重要的调控作用。本文综述了近年来NAC转录因子家族在植物抗逆中的研究进展。

**关键词:** 植物NAC转录因子; 非生物胁迫; 生物胁迫

## Functions of NAC Transcription Factors Family in Stress Responses in Plants

WANG Rui-Fang, HU Yin-Song, GAO Wen-Rui, ZHANG Yi-Xin, SONG Xing-Shun\*

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract:** NAC transcription factors belong to a unique class of transcription factors in plants. The common characteristic of the NAC proteins is the presence of a conserved NAC domain, comprising of about 150 amino acids in N-terminals and a highly variable transcriptional regulation region in C-terminals. NAC transcription factors play important roles in multiple biological processes such as secondary cell wall, plant apical meristem formation, lateral root development and crop quality improvement. Besides, it has been shown that NAC transcription factors play an indispensable role in plant resistance to adverse reaction. In this paper, we reviewed the recent study progress on NAC transcription factors family in stress responses in plants.

**Key words:** NAC transcription factors in plants; abiotic stress; biotic stress

植物的生长发育不仅受遗传因子的控制, 同时与环境条件因素密切相关。影响植物生长发育的环境因素包括温度、光照、空气、水分、土壤养分和生物因子等, 这些逆境通过细胞失水、膜系统破坏、酶活性变化、光合作用下降等生理生化代谢从而影响种子萌发、植株生长、开花结果、产量和品质形成等过程, 并引起植株群体生长发育的不均一性。在长期的进化过程中, 植物形成了一系列生理、生化、代谢及防御机制, 以适应和抵御各种生物和非生物逆境。在众多的抗逆机制中, 基因表达的转录调控在植物适应环境和抵御逆境胁迫中起重要作用。植物基因组中存在大量编码不同类别转录因子的基因, 如拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 大约27 000个基因中有1 500个以上基因编码转录因子, 约占拟南芥基因组的5.9%, 而在植物特异蛋白中, 转录因子占到13% (Riechmann等2000)。NAC转录因子家族, 是近10年新发现的最大的一类植物特有的转录因子 (Duvall等2002), 具有植物特异性。NAC蛋白在许多生物过程中发挥重要作用, 如植物的开花、次生壁

的形成、茎顶端分生组织的生长、侧根伸长、衰老和信号转导等 (Olsen等2005a, b)。迄今为止已在拟南芥中至少发现107个NAC基因 (Riechmann和Ratcliffe 2000), 烟草 (*Nicotiana tabacum*) 中也包含152个NAC基因 (Rushton等2008), 而水稻 (*Oryza sativa*) 中含有140个 (Fang等2008)。近年来, 有关该基因家族在其他植物上的研究也得到了重视。

### 1 NAC转录因子

#### 1.1 NAC转录因子的基本结构特征

NAC家族的命名源于Souer等 (1996) 从矮牵牛 (*Petunia hybrida*) 中克隆得到第一个影响矮牵牛顶端分生组织的形成与分化的NAM (*No Apical Meristem*) 基因, 该基因编码蛋白的N端中都含约150个高度保守的氨基酸序列, 而C端序列高度多样化 (图1)。后来在拟南芥中发现ATAF1、ATAF2以及CUC2 (*cup-shaped cotyledon*) 基因也有与NAM相似

收稿 2014-08-20 修定 2014-09-23  
资助 中央高校基本科研业务费专项资金(DL11EA019)和自然科学基金(31170569)。

\* 通讯作者(E-mail: sfandi@163.com; Tel: 0451-82191755)。

1	CcNAC1	MAADLQLPPGFRFHPTDEELVTHYLCKRCASQPIISVPIIAEIDLKYNPDLPEKALYGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
2	PmNAC	MSSDLQLPPGFRFHPTDEELVKHYLCRCQSQPIISVPIIAEIDLKYNPDLPLGALYGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
3	CsNAC2	MASDLQLPPGFRFHPTDEELVTHYLCKRCASQPIISVPIIAEIDLKYNPDLPERALYGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
4	MrNAC5	MTAELPLPPGFRFHPTDEELVMHYLCRCASQPIAVPIIAEIDLKYNPDLPGMALYGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
5	CaNAC5	MASELQLPPGFRFHPTDEELVMHYLCRCQSQPIISVPIIAEIDLKYNPDLPGMALYGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
6	ChNAM	MTAELQLPPGFRFHPTDEELVMHYLCRCASQSIAPVPIIAEIDLKYNPDLPRMALYGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
7	XP_004149802.1	MTTDLQLPPGFRFHPTDEELVMHYLCRCASQPIAVPIIAEIDLKYNPDLPELALHGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
8	CsNAC6	MTTDLQLPPGFRFHPTDEELVHYLCRCASQPIAVPIIAEIDLKYNPDLPELALHGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
9	AHJ38169.1	MTTELQLPPGFRFHPTDEELVMHYLCRCASQPIAVPIIAEIDLKYNPDLPELALHGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
10	XP_004290890.1	MSESELQLPPGFRFHPTDEELVKHYLCRCQSQPIISVPIIAEIDLKYNPDLPLGALYGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
11	MnNAC2	MTTELQLPPGFRFHPTDEELVMHYLCRCASQPIAVPIIAEIDLKYNPDLPELALYGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
12	BnNAC	MTAELQLPPGFRFHPTDEELVMHYLCRCASQPIAVPIIAEIDLKYNPDLPELALYGEKEWYFFSPDRDKYPNGSRPN
*****		
1	CcNAC1	NRSAGSGYWKATGADKPIGRPKPVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGV
2	PmNAC	NRAAGSGYWKATGADKPIGSPKPVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGV
3	CsNAC2	NRSAGSGYWKATGADKPIGRPKAVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGA
4	MrNAC5	NRAAGTGYWKATGADKPIGHPKAVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGT
5	CaNAC5	NRAAGSGYWKATGADKPIGHPKAVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGT
6	ChNAM	NRAAGTGYWKATGADKPIGHPKAVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGT
7	XP_004149802.1	NRAAGSGYWKATGADKPIGHPKPVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGV
8	CsNAC6	NRAAGSGYWKATGADKPIGHPKPVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGV
9	AHJ38169.1	NRAAGSGYWKATGADKPIGHPKPVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGV
10	XP_004290890.1	NRAAGSGYWKATGADKPIGLPKPVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRTPRKNNSLRLLDDVVLCRIYNNKGT
11	MnNAC2	NRAAGSGYWKATGADKPIGHPKPVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGS
12	BnNAC	NRAAGTGYWKATGADKPIGHPKPVGIKKALVFYAGKAPRGEKTNWIMHEYRLADVDRSARKKNSLRLLDDVVLCRIYNNKGT
*****		
1	CcNAC1	IEKQQQLQNVNINRPEMNTIGFVENEDEEKEPEILNERAVSGRIPSPSPSQAPPVNDYMYDFDPSDIPRLHADSSCSEHV
2	PmNAC	TVEKQQQQQQQQQQOITSRMSSGSEFEDRKPENLACPPPPAAVAPTRPNDYVYVFDTSVPRLHTDSSCSEHVVSPEFTC
3	CsNAC2	IEKQNPPEMNTIGFVENEDEEKEPEILNDRAISGRIPSPSPSQAPPVNDYVYVFDPSDIPRLHADSSCSEHVVSSE
4	MrNAC5	IEKQQQQIINRRMNSFTEEEKPEILNNGGTTTAPLLPAPPPSAVPKAAVNDYTYFDTSVPRLHTDSSCSEHVVSPEF
5	CaNAC5	IEKQNPNSGVINRKTDFSEIEDKPEILTRGSGLPHPPPQATAGMRDYMVYFDTSIPKLTHTDSSCSEHVVSPEFASEVQ
6	ChNAM	TEKQQOQINLQKMSDEMEDKPEILTIGGATSAIISGPAATRTAAGDDYVYVFDTSVPRLHTDSSCSEHVVSPEFTCE
7	XP_004149802.1	IEKRYQAMNRRNTKGLEEVEEKPKIFISGGGGGGDVLMPSATASVGDVVFHETSIPRLHTDSSGSEQVVSPEFTTG
8	CsNAC6	IEKRYQAMNRRNTKGLEEVEEKPKIFISGGGGGGDVLMPSATASVGDVVFHETSIPRLHTDSSGSEQVVSPEFTTG
9	AHJ38169.1	IEKRQIIVNRRNTNVEEEDKPKIFTRGGGADTLIPAVAAAPASVDDYIHYDTSIPRLHTDSSCSEHVVSPEFTTG
10	XP_004290890.1	AGKVQPPMSQQAISGGSEFEDVKNLHMACALPPPAVAPTRPSEYVYVLENSDVPRLHTDSSCSEHVVSPEFTSEVQSE
11	MnNAC2	IEKQTSQSLNRKLSFPEDDKPEKLTASQVNLNGYPPPPAATGVNDFMYFDTSSESVPRLHTDSSCSEHVVSPEFTCEVQS
12	BnNAC	IEKQHGQSGAPNRKAASFEEAEDKPEILAAPAPMNSDFVYFDTSSESVPRLHTDSSCSEHVVSPEFTCEVQSEPKWKDWE
*****		
1	CcNAC1	VSSEFTSEVQSOPRMKEEYSGFPYNYMDTSLNFAFCAQFFTLNQMSPLQDMFMYIHKPF
2	PmNAC	EVQSEPKWEKALDFNYNYMDTSEVNGFGPQFQSANQMSPLQDIFMYLQKPY
3	CsNAC2	FTSEVQSEPRLKEEYCGLGFQYNYIDSSLESFAFCAQFPPLHQMSPLODMFMYKPF
4	MrNAC5	TCEVQSEPKYWEKPMDFSNYMDATFDNFGFSGFQSNQMSPLQDMFMYLQKPF
5	CaNAC5	SEPKWEKHEKLEFPYNYVDTLNNGSGFQFQSNQMSPLQDMFMYLQKPF
6	ChNAM	VQSEPKWEKIDYHFNMDATLDNGFGAQFQSNQMSPLQDMFMYLQKPF
7	XP_004149802.1	EVESEKWKEMENAFSYRYNYIDSSLLDHEFATQFQNGNQMSPLQDMFMYLQKPF
8	CsNAC6	EVESEKWKEMENAFSYRYNYIDSSLLDHEFATQFQNGNQMSPLQDMFMYLQKPF
9	AHJ38169.1	EVQSEPKWELENAFNQYNYIDNNSLDHEFATQFQSGNQMSPLQDMFMYLQKPF
10	XP_004290890.1	PKWKEWALDFPYNVEDATMGNGFGAQFQGGNQMSPLQDIFMYLQKPY
11	MnNAC2	EPKWKEWALDFPYNVEDATVDSAFASSQGGGNYQLSPLQDMFMYLQKPF
12	BnNAC	KALDFPYNVEDATVDGAFASALQQQACSNYQMSPLQDIFMYLQKPF

图1 NAC家族蛋白质序列对比

Fig.1 Protein sequence comparison of NAC family

1: CcNAC1 (AHJ38168.1); 2: PmNAC (NP\_001280200.1); 3: CsNAC2 (XP\_004161162.1); 4: MrNAC5 (AFY26893.1); 5: CaNAC5 (ACS94038.1); 6: ChNAM (AEF80001.1); 7: XP\_004149802.1; 8: CsNAC6 (XP\_004172335.1); 9: AHJ38169.1; 10: XP\_004290890.1; 11: MnNAC2 (EXB60108.1); 12: BnNAC (AIA57507.1).

的结构, 因此把具有这样结构特征的称为NAC结构域(Aida等1997), 并将包含NAC结构域蛋白称为NAC转录因子。

在全基因组分析中, Ooka等(2003)根据NAC结构域的氨基酸序列的相似性将NAC转录因子家族分成I组和II组, 其NAC结构域包含有5个保守的亚区域(A、B、C、D、E), 亚结构域C、D序列中含有核定位信号, 可能与转录因子核定位及启动子上特定顺式元件的识别有关。NAC结构域不同于经典的螺旋-转角-螺旋的结构特征, 每个单体由多个螺旋环绕一个反向平行的 $\beta$ -折叠构成, 它们通过盐桥等作用形成具有功能的NAC蛋白二聚体, 该二聚体表面一侧富含正电荷, 可能与DNA的结合有关。而其C端则为高度变异和具有转录激活

功能的调控区, 该端的共同特点是由一些简单氨基酸如丝氨酸、苏氨酸、脯氨酸、谷氨酸等重复出现的频率高(Nakashima等2012; Nuruzzaman等2010; Christiansen等2011)。最新的研究发现一些NAC蛋白的C-末端还表现出蛋白结合活性并具跨膜(TM)元件(Seo和Park 2010; Kim等2010; Puranik等2011)。

在cDNA与全基因组的对比中发现, 绝大部分NAC基因开放阅读框中包含有3个外显子和2个内含子, 前两个外显子编码保守的N-末端区域(NAC结构域), 最后一个编码高度多样化的转录激活结构域C-末端区(Yu等2014)。而另外有一小部分NAC基因的C端含有一些额外的结构域, 编码一些相应生化功能的蛋白。

## 1.2 NAC转录因子的定位

Kikuchi等(2000)推测在NAC结构域的C和D亚域中包含两个拟定的核定位(NLSs)。为了证实这一点预测,在洋葱表皮细胞上瞬时表达Car-NAC2::GFP绿色荧光融合蛋白和GFP融合蛋白,发现GFP融合蛋白均匀地分布在整個细胞中,而Car-NAC2::GFP绿色荧光融合蛋白定位于细胞核。这一结果表明,CarNAC2蛋白是一种核蛋白。Qin等(2014)将麻风树的*JcNAC1*基因的N-末端序列与35S::GFP相连(35S::JcNAC1::GFP),和35S::GFP分别转到烟草的叶片中,连有*JcNAC1*的GFP绿色荧光信号仅仅在细胞核中发现,证明N-末端的NLS信号是在细胞核中。推测NAC转录因子进入细胞核中发挥重要的作用,由亚细胞定位结果推断,具有相近生物学功能NAC蛋白更可能定位于相同的亚细胞结构,这点与其产生和发挥特定生物学功能密切相关。但是NAC蛋白不会永久性存在于细胞核(Lu等2007; Nogueira等2005),也不会通过C-端跨膜区域(Lin等2007; Kim等2007, 2006)短暂地与原生质膜发生联系,在某种刺激下,跨膜的NAC转录因子也会通过蛋白裂解作用,以一种活性形式由细胞膜转移到细胞核发挥作用。

## 2 NAC转录因子的功能

### 2.1 植物细胞次生壁的生长

NAC转录因子对细胞次生壁的生长起双向作用,既能促进次生壁生长又能抑制其生长。有研究发现多个NAC基因对细胞次生壁的形成起着正调控作用,ND2/3、MYB103/85/52/54/69/42/43/20和KNAT7等11个SND1转录因子能促进拟南芥次生壁正常形成,这些基因的过量表达,则促进纤维中次生壁的增厚;抑制表达,能显著减少纤维细胞次生壁增厚(Kubo等2005)。拟南芥中的ANAC012和XND1对细胞次生壁的形成起到抑制作用,ANAC012在植物根和茎的形成层高度表达,ANAC012的表达能显著抑制拟南芥木纤维细胞中次生壁形成,但增加了木质部导管的细胞壁厚度(Ko等2007),XND1在胚轴原生木质部特异性表达,抑制木质部导管细胞次生壁的形成,薄壁细胞缺乏次生壁增厚,植株严重矮化,这可能与木质部导管的缺失有关,但韧皮部仍然能形成韧皮部细胞(Zhao等2008)。

### 2.2 植物顶端分生组织形成

NAC转录因子家族中的AtNAM与顶端分生组织形成相关,AtNAM在包含顶端分生组织的整个胚胎区域表达,而NAM、CUC1/2只在顶端分生组织边缘有所表达。Souer等(1996)发现矮牵牛NAM突变体不能形成茎顶端分生组织,证明NAM基因在花分生组织器官原基的形成中起作用。Aida等(1997)发现在拟南芥CUC1和CUC2双基因突变体中,子叶、萼片和雄蕊融合,难以形成顶端分生组织。

### 2.3 植物侧根发育

NAC基因的表达能够促进植物侧根发育。在逆境胁迫中NAC基因受诱导,介导生长素等信号转导,以促进侧根发育,该转录因子可以激活下游生长素响应基因表达,过量表达促进侧根发育。拟南芥AtNAC2的过表达促进侧根发育,乙烯前体ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid)能够诱导AtNAC2的表达,且在乙烯过量产生系eto1-1中,mRNA水平表达量增加。AtNAC2还促进或抑制下游基因的表达。这表明AtNAC2可能在植物侧根形成过程中同时感受外界环境和内部信号(He等2005)。NAC1在TIR1 (transport inhibitor responsive protein1)下游为侧根的发育转导生长素信号。

### 2.4 延缓植物生长

植物NAC基因能够调控细胞分裂,改变植物的生命周期。膜蛋白水解和细胞分裂素信号能激活NTMI (NAC with transmembrane motif1)的表达,其在NTMI突变体中,诱导一系列CDK (cyclin-dependent kinases)抑制子基因表达,这些基因抑制组蛋白H4的合成,从而抑制了细胞分裂,导致生长延迟(Kim等2006)。Saad等(2013)用0、5和10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA分别浸泡转SNAC1基因的水稻幼苗A2、A4和阴性对照NTY12,在没有加入ABA处理中,A2、A4和NTY12的根长和株高没有任何差异,在5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA浸泡中,转基因植株根长短于对照组,株高也矮于NTY12,并且在10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA处理中,这种抑制现象更明显。

## 3 NAC转录因子在植物逆境胁迫中的作用

干旱、高盐、冷害等非生物胁迫和生物胁迫是影响植物生长发育的主要逆境因子。当植物处于逆境胁迫下,植物细胞会感知外界的胁迫信号,

通过多种复杂的信号传导途径如ABA、GA、乙烯和生长素等信号途径,把信号传递到胁迫应答的转录因子,再由各类转录因子启动胁迫应答响应基因表达,从而激活植物抗逆反应,降低逆境对植物造成的损害。研究发现,NAC转录因子直接参与或通过调控参与干旱、高盐、冷害应答基因的表达,在植物抗干旱、高盐等非生物逆境胁迫中起重要作用。

### 3.1 NAC转录因子在干旱胁迫响应中的作用

目前已发现多个NAC家族蛋白参与植物逆境的响应。有的NAC转录因子可与MYC-like元件结合,该元件的核心序列(CATGTG)在拟南芥ERD1干旱诱导反应应答过程中起作用。从拟南芥中分离的3个NAC基因(*ANAC019*、*ANAC055*和*ANAC072*)都受到干旱的诱导表达,过表达NAC能显著提高植株的耐旱能力(Tran等2004)。在干旱响应实验中,*ATAF1*的T-DNA插入系*ataf1-1*和*ataf1-2*突变体的抗旱能力恢复率大大高于野生型7倍多,同时实时定量分析发现与干旱胁迫响应相关的*COR47*、*ERD10*、*KINI*、*RD22*和*RD29A*等基因表达增强(Lu等2007)。另一类NAC转录因子基因主要在气孔的保卫细胞中被诱导表达,干旱胁迫时促进气孔关闭,但是并不影响光合速率,因而抗旱性大为提高,在生殖生长期严重干旱的情况下,过表达*SNAC1*的转基因水稻坐果率较对照提高22%~34%,在营养生长期,转基因植株也表现出很强的抗旱(Hu等2006)。

### 3.2 NAC转录因子在高盐胁迫响应中的作用

转录因子(又称为反式作用因子)是能够与真核基因启动子区域中顺式作用元件发生特异性相互作用的DNA结合蛋白,转录因子之间以及转录因子与其他相关蛋白之间的相互作用能够激活或抑制基因转录。其中一类转录因子能同时调控多个耐盐信号转导途径,被认为是改良植物耐盐性最具潜力的一类基因。目前,越来越多的研究证明过量表达转录因子基因能够提高植物耐盐性(Bouaziz等2012)。

信号转导途径是植物感受盐胁迫与诱导耐盐基因表达之间的联系,植物通过激活信号转导途径使细胞在生理生化水平做出反应以适应盐渍环境(Amtmann等1997),盐胁迫引发的信号转导过程

起始于细胞膜的信号感受系统,盐胁迫信号被细胞膜上的初级信号受体感知后,首先引起细胞质中Ca<sup>2+</sup>浓度、磷脂酶、活性氧、肌醇磷酸等第二信使变化,引发细胞磷酸化级联反应,诱导转录因子基因表达以调控盐胁迫相关基因的表达,最终达到离子和渗透平衡以维持酶活性,进而对损伤进行控制和修复,减轻盐胁迫对植物生长的抑制作用(Orellana等2010)。

以番茄(*Solanumly copersicum*)为材料的研究发现2个盐敏感NAC基因*SINAC1*和*SINAMI*,组织表达谱分析显示*SINAC1*在花和成熟的番茄果实中有高水平的表达。在番茄栽培品种‘Edkawi’中*SINAC1*和*SINAMI*可以被盐胁迫诱导,可能在番茄抗逆中发挥重要作用(Yang等2011)。另外,有学者从菊花中克隆到一个NAC转录因子基因*DgNAC1*,在转化烟草的研究中发现,*DgNAC1*的过表达显著提高了烟草的耐盐性(Liu等2011)。

### 3.3 NAC转录因子在冷害胁迫响应中的作用

研究表明,植物在受到寒冷危害时,可通过改变植物组织结构、生物膜组成、胁迫蛋白、活性氧代谢、渗透调节和类似脱落酸等激素的合成来提高细胞对各种逆境的抗性。

Hu等(2006)在水稻IRAT109中分离到1个NAC基因*SNAC2*,Northern blot启动子活性分析证实*SNAC2*受低温诱导表达,野生型与*SNAC2*过表达转基因植株同在4~8℃下低温处理5 d后,野生型全部死亡,转基因植株有50%的存活率,且转基因植株对ABA的敏感性也显著增强。转基因植株的基因芯片分析表明,*SNAC2*转录因子正向调控了许多抗逆相关基因的表达,如过氧化物酶、鸟氨酸转氨酶、钠氢交换蛋白、热激蛋白、GDSL-like脂肪酶、苯丙氨酸脱氨裂解酶基因等。

Mao等(2012)从小麦中分离到一个NAC转录因子基因*TaNAC2*,基因表达谱显示其参与冷害胁迫响应。相比野生型拟南芥,过表达*TaNAC2*的转基因植株对冷害胁迫的耐受力大大增强,转基因植株在低温下细胞膜稳定性高。因此,我们认为*TaNAC2*能提高作物对非生物胁迫耐性,在转基因育种方面具有很大的应用潜力。

### 3.4 NAC转录因子在抗病害中的作用

植物易受到细菌、真菌和病毒等病原物的侵

害,促使植物形成了一系列复杂的抗病机制。在受到病原菌的侵染时,植物通常通过水杨酸(salicylic acid, SA)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)、乙烯(ethylene, ET)等抗病信号传导途径来活化一大批防卫反应基因的协同表达,从而激活植物的抗病防卫反应。研究显示,AP2/ERF、bZIP、WRKY等不同类型的转录因子参与植物抗病反应中防卫基因的表达调控。近年来,已发现大量的NAC基因的表达受到茉莉酸(JA)、水杨酸(SA)以及乙烯(ET)等激素的诱导,功能分析证实部分NAC转录因子家族基因在病害生理中发挥着重要作用。

拟南芥*ATAF1*的表达受到损伤(Collinge和Boller 2001)和霉菌的诱导,*ataf1-1*突变体对病菌的抗性明显减弱,说明ATAF1在病害防御上可能有积极作用(Jensen等2007)。*ATAF2*的表达受到损伤、茉莉酸甲酯(MeJA)以及SA的诱导,*ATAF2*过表达植株的一些病程相关基因表达水平下降,对土源病菌的抗性减弱,表明ATAF2在植物病害生理中起负向调控作用(Delessert等2005)。此外,*ANAC019*和*ANAC055*基因能促进2个JA诱导型基因*VSP1*(vegetative storage protein 1)和*LOX2*(lipoxygenase 2)的转录,从而提高植株抗病能力(Bu等2008)。与生物胁迫有关的NAC基因还包括水稻*OsNAC6*(Nakashima等2007)、*OsNAC019*(Lin等2007)、辣椒(*Capsicum annuum*)*CaNAC1*(Oh等2005)以及甘蔗(*Saccharum sinense*)*SsNAC-23*(Nogueira等2005)等。另外,有些NAC基因还参与介导植物与病毒的相互作用。如2个小麦NAC蛋白能与双生病毒(geminivirus)的RepA蛋白直接结合,因此被命名为GRAB1(gemi-nivirus RepA-binding protein 1)和GRAB2(Xie等1999)。拟南芥的NAC蛋白TIP可以结合芜菁萎缩病毒(turnip crinkle virus, TCV)的衣壳蛋白,这种互作介导植株对TCV产生高敏反应和系统抗性(Ren等2000)。番茄*SINAC1*基因的表达受到卷叶病毒(tomato leaf curl virus, TLCV)诱导,*SINAC1*能与病毒复制增强蛋白(REn)结合,并促进其DNA的复制(Selth等2005)。

#### 4 问题与展望

自从植物NAC转录因子发现以来,人们对其生物学功能及活性调控的研究已经取得了很大的进展,涉及到植物生长发育、防御反应和激素调

节等方面。但是,目前关于NAC转录因子研究主要集中在模式植物拟南芥和水稻。而在其他植物(特别是一些重要的农作物)中NAC转录因子的研究尚处于基因克隆、序列分析、结构鉴定和表达分析等层面上(柳展基等2007),至于其生物学功能及调控的报道极少。尽管已经揭示了一些NAC转录因子的功能,但其复杂的调控系统还有待更深入研究。

NAC转录因子本身也存在着复杂的活性调控机制,如miRNA在转录水平的调控(Tran等2007)、磷酸化和泛素化修饰及蛋白-蛋白互作等蛋白水平上的调控机制等(Mitsuda等2011)。深入研究NAC转录因子的活性调控机制及其调控的下游靶标基因有助于阐明NAC转录因子在植物抗病抗逆反应中的作用机制。有些NAC转录因子基因对其中单个基因的插入突变或RNAi沉默后不会引起任何生物学表型的变化,而只有对2个基因同时突变的双突变体才能表现出可见的表型(Cuperus等2011; Rhoades等2002)。

综上所述,尽管NAC基因的功能还有待深入研究,但它们在植物遗传工程方面已展现出了巨大的应用潜力,利用基因工程手段改变NAC基因表达水平或NAC蛋白活性有可能获得抗病抗逆转基因作物新品种或新材料,提高植株的综合品质。因此,NAC在植物分子育种中具有巨大的潜在价值和广阔的应用前景,为进一步选育和改良植物的抗逆性奠定了坚实的工作基础。同时,借助高通量基因表达分析技术——基因芯片和蛋白芯片,微阵列、蛋白互作分析以及功能的获得或缺失突变体分析等技术,将有助于快速揭开NAC转录因子在植物生长发育代谢以及逆境应答等过程中的调控机制及信号转导,全面的认识NAC基因的调控网络。

#### 参考文献

- 柳展基,邵凤霞,唐桂英(2007). 植物NAC转录因子的结构功能及其表达调控研究进展. 西北植物学报, 27 (9): 1915-1920
- Aida M, Ishida T, Fukaki H, Fujisawa H, Tasaka M (1997). Genes involved in organ separation in Arabidopsis: an analysis of the *cup-shaped cotyledon* mutant. Plant Cell, 9: 841-857
- Amtmann A, Laurie S, Leigh R, Sanders D (1997). Multiple inward channels provide flexibility in Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> discrimination at the plasma membrane of barley suspension culture cells. J Exp Bot, 48:

- 481~497
- Bouaziz D, Pirrello J, Ben Amor H, Hammami A, Charfeddine M, Dhieb A, Bouzayen M, Gargouri-Bouazid R (2012). Ectopic expression of dehydration responsive element binding proteins (StDREB2) confers higher tolerance to salt stress in potato. *Plant Physiol Biochem*, 60: 98~108
- Bu QY, Jiang HL, Li CB, Zhai QZ, Zhang J, Wu XY, Sun JQ, Xie Q, Li CY (2008). Role of the *Arabidopsis thaliana* NAC transcription factors ANAC019 and ANAC055 in regulating jasmonic acid-signaled defense responses. *Cell Res*, 18: 756~767
- Christiansen MW, Holm PB, Gregersen PL (2011). Characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) NAC transcription factors suggests conserved functions compared to both monocots and dicots. *BMC Res Notes*, 4: 302
- Collinge M, Boller T (2001). Differential induction of two potato genes, *Stprx2* and *StNAC*, in response to infection by *Phytophthora infestans* and to wounding. *Plant Mol Biol*, 46: 521~529
- Cuperus JT, Fahlgren N, Carrington JC (2011). Evolution and functional diversification of *MIRNA* genes. *Cell*, 23 (2): 431~442
- Delessert C, Kazan K, Wilson IW, Straeten DVD, 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
- Fang YJ, You J, Xie K, Xie W, Xiong LZ (2008). Systematic sequence analysis and identification of tissue-specific or stress-responsive genes of NAC transcription factor family in rice. *Mol Genet Genomics*, 280: 535~546
- 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 (6): 903~916
- Hu HH, Dai MQ, Yao JL, Xiao BZ, Li XH, Zhang QF, Xiong LZ (2006). Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103 (35): 12987~12992
- Jensen MK, Rung JH, Gregersen PL, Gjetting T, Fuglsang AT, Hansen M, Joehnk N, Lyngkjaer MF, Collinge DB (2007). The *HvNAC6* transcription factor: a positive regulator of penetration resistance in barley and *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 65: 137~150
- Kikuchi K, Ueguchi-Tanaka M, Yoshida KT, Nagato Y, Matsusoka M, Hirano HY (2000). Molecular analysis of the *NAC* gene family in rice. *Mol Gen Genet*, 262: 1047~1051
- 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 (3): 647~654
- Kim SG, Lee S, Seo PJ, Kim SK, Kim JK, Park CM (2010). Genome-scale screening and molecular characterization of membrane-bound transcription factors in *Arabidopsis* and rice. *Genomics*, 95: 56~65
- Kim SY, Kim SG, Kim YS, Seo PJ, Bae M, Yoon HK, Park CM (2006). Exploring membrane-associated NAC transcription factors in *Arabidopsis*: implications for membrane biology in genome regulation. *Nucleic Acids Res*, 35 (1): 203~213
- Ko JH, Yang SH, Park AH, Lerouxel O, Han KH (2007). ANAC012, a member of the plant-specific NAC transcription factor family, negatively regulates xylary fiber development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 50: 1035~1048
- Kubo M, Udagawa M, Nishikubo N, Horiguchi G, Yama-guchi M, Ito J, Mimura T, Fukuda H, Demura T (2005). Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation. *Genes Dev*, 19: 1855~1860
- Lin RM, Zhao WS, Meng XB, Wang M, Peng YL (2007). Rice gene *OsNAC19* encodes a novel NAC-domain transcription factor and responds to infection by *Magnaporthe grisea*. *Plant Sci*, 172: 120~130
- Liu QL, Xu KD, Zhao LJ, Pan YZ, Jiang BB, Zhang HQ, Liu GL (2011). Overexpression of a novel chrysanthemum NAC transcription factor gene enhances salt tolerance in tobacco. *Biotechnol Lett*, 33: 2073~2082
- Lu PL, Chen NZ, An R, Su Z, Qi BS, Ren F, Chen J, Wang XC (2007). A novel drought-inducible gene, *ATAF1*, encodes a NAC family protein that negatively regulates the expression of stress-responsive genes in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 63 (2): 289~305
- Mao X, Zhang HY, Qian XY, Li A, Zhao GY, Jing RL (2012). *TaNAC2*, a NAC-type wheat transcription factor conferring enhanced multiple abiotic stress tolerances in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 63: 1~14
- Mitsuda N, Matsui K, Ikeda M, Nakata M, Oshima Y, Nagatoshi Y, Ohme-Takagi M (2011). CRES-T, an effective gene silencing system utilizing chimeric repressors. *Methods Mol Biol*, 754 (3): 87~105
- Nakashima K, Takasaki H, Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2012). NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim Biophys Acta*, 1819: 97~103
- Nakashima K, Tran LP, Nguyen DV, 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
- Nogueira FTS, Schlögl PS, Camargo SR, Fernandez JH, De Rosa Jr VE, Patricia P, Paulo A (2005). SsNAC23, a member of the NAC domain protein family, is associated with cold, herbivory and water stress in sugarcane. *Plant Sci*, 169 (1): 93~106
- 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
- Oh SK, Lee S, Yu SH, Choi D (2005). Expression of a novel NAC domain-containing transcription factor (CaNAC1) is preferentially associated with incompatible interactions between chili pepper and pathogens. *Planta*, 222: 876~887
- 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
- Orellana S, Yanez M, Espinoza A, Verdugo I, González E, Ruizlara S, Casaretto JA (2010). The transcription factor SIAREB1 confers drought, salt stress tolerance and regulates biotic and abiotic stress-related genes in tomato. *Plant Cell Environ*, 33 (12): 2191~2208
- Puranik S, Bahadur RP, Srivastava PS, Prasad M (2011). Molecular cloning and characterization of a membrane associated NAC family gene, *SiNAC* from foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.]. *Mol Biotechnol*, 49: 138~150
- Qin XB, Zheng XJ, Huang XQ, Li YF, Shao CX, Xu Y, Chen F (2014). A novel transcription factor JcNAC1 response to stress in new model woody plant *Jatropha curcas*. *Planta*, 239: 511~520
- Ren T, Qu F, Morris TJ (2000). *HRT* gene function requires interaction between a NAC protein and viral capsid protein to confer resistance to turnip crinkle virus. *Plant Cell*, 12: 1917~1926
- Rhoades MW, Reinhart BJ, Lim LP, Burge CB, Bartel B, Bartel DP (2002). Prediction of plant microRNA targets. *Cell*, 110 (4): 513~520
- Riechmann JL, Heard J, Martin G, Reuber L, Jiang CZ, Keddie J, Adam L, Pineda O, Ratcliffe OJ, Samaha RR et al (2000). *Arabidopsis* transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 290: 5499
- Riechmann JL, Ratcliffe OJ (2000). A genomic perspective on plant transcription factors. *Curr Opin Plant Biol*, 3: 5423~5434
- Rushton PJ, Bokowiec MT, Han SC, Zhang HB, Brannock JE, Chen XF, Laudeman TW, Timko MP (2008). Tobacco transcription factors: novel insights into transcriptional regulation in the Solanaceae. *Plant Physiol*, 147: 280~295
- Saad ASI, Li X, Li HP, Huang T, Gao CS, Guo MW, Cheng W, Zhao GY, Liao YC (2013). A rice stress-responsive *NAC* gene enhances tolerance of transgenic wheat to drought and salt stresses. *Plant Sci*, 203-204: 33~40
- Selth LA, Dogra SC, Rasheed MS, Healy H, Randles JW, Rezaian MA (2005). A *NAC* domain protein interacts with *tomato leaf curl virus* replication accessory protein and enhances viral replication. *Plant Cell*, 17: 311~325
- 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
- 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
- Tran LS, Nakashima K, Sakuma Y, Osakabe Y, Qin F, Simpson SD, Maruyama K, Fujita Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2007). Co-expression of the stress-inducible zinc finger homeodomain ZFHD1 and NAC transcription factors enhances expression of the *ERD1* gene in *Arabidopsis*. *Plant J*, 49 (1): 46~63
- Tran LS, 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
- Xie Q, Sanz-Burgos AP, Guo H, García JA, Gutiérrez C (1999). GRAB proteins, novel members of the NAC domain family, isolated by their interaction with a geminivirus protein. *Plant Mol Biol*, 39 (4): 647~656
- Yang R, Deng C, Ouyang B, Ye ZB (2011). Molecular analysis of two salt-responsive NAC-family genes and their expression analysis in tomato. *Mol Biol Rep*, 38: 857~863
- Yu XW, Peng H, Liu YM, Zhang Y, Shu YJ, Chen QJ, Shi SB, Ma L, Ma H, Zhang H (2014). *CarNAC2*, a novel NAC transcription factor in chickpea (*Cicer arietinum* L.), is associated with drought-response and various developmental processes in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Biol*, 57: 55~66
- Zhao CS, Avci U, Grant EH, Haigler CH, Beers EP (2008). XND1, a member of the NAC domain family in *Arabidopsis thaliana*, negatively regulates lignocellulose synthesis and programmed cell death in xylem. *Plant J*, 53: 425~436