

植物 DREB 转录因子的研究进展

王红蕾

(黑龙江省农业科学院信息中心, 哈尔滨 150086)

摘要: DREB 转录因子是一类可以调控多个与干旱、高盐及低温耐性有关的功能基因表达的转录因子家族。主要介绍植物 DREB 转录因子基因的研究进展。
关键词: DREB 转录因子基因; 植物抗逆性; DRE 元件
中图分类号: Q753 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2008)03-0022-03

Progress on the Transcription Factor DREB Gene

WANG Hong-lei

(Information Center of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: DREB transcription factors is a kind of controlling the expression of several target function genes involved in plant tolerance to drought, high-salt and cold stress. In this paper we mainly described the progress on the transcription factor DREB gene in plant.
Key words: transcription factor DREB gene; plant tolerance to environmental stresses; DRE element

转录因子是植物中最重要的一类调节基因。其在植物体内构成复杂的调节网络,在时间和空间上协同控制植物基因的表达。DREB(dehydration responsive element binding protein)转录因子是一个干旱应答元件的结合蛋白,它在植物对干旱、高盐及低温胁迫的分子反应中起着重要的调控作用,此基因已成为近年来植物分子生物学研究领域的一个前沿内容^[1-5]。

DREB 转录因子由逆环境胁迫诱导产生后,可激活其他多达 12 个依赖 DRE 顺式作用元件的抗逆功能基因,引起脯氨酸及蔗糖含量提高,从而增强植株对多种逆境(旱、冻及盐)的抵抗性,有重要的应用价值。

1 DREB 转录因子的结构特点

DREB 转录因子属于 AP2/EREBP 转录因子家族,该家族转录因子是一类在植物中特有的、与植物的生长发育调控以及应答植物的非生物逆境胁迫有关的转录因子,其典型特征是 DNA 结合区均为由 57~70 个氨基酸残基组成的 AP2/EREBP 保守结构域。根据保守结构域数目的不同,分为 AP2 和 EREBP 两个亚族;AP2 亚族包含有两个 AP2-DNA 结合域,EREBP 亚族包含有一个 AP2-DNA 结合域;DREB 转录因子属于其中的 EREBP 亚族,特异

性地和 DRE(Dehydration responsive element)顺式作用元件或具有 DRE 元件核心序列 CCGAC 的元件结合,调控在启动子区域存在该元件或其核心序列的一些逆境诱导基因的表达。一个 DREB 转录因子可以调控下游的多个抗逆基因,从而使植物产生抗逆性。植物抗逆反应是一个非常复杂的过程,目前人们对其信号传导正在进行深入的探究。

2 DRE 元件

植物在感受低温、高盐和干旱胁迫时,许多基因 mRNA 明显升高。Yamaguchi-shinozaki 等^[6]利用示差筛选法从干旱处理的拟南芥中克隆了 9 个受干旱胁迫诱导的基因,定名为 rd(responsive to dehydration)基因群,其中 *rd29A* 基因最有特点,它不仅受干旱、高盐和低温的诱导,也受外源脱落酸 ABA 的诱导。对该基因的启动子区分析表明,它含有 ABA 应答元件 ABRE(ABA responsive element);但是在敲除该基因启动子区域的 ABRE 元件后,该基因在干旱条件下仍然表达,进一步通过启动子筛选实验和凝胶滞留实验确定了在 *rd29A* 的启动子区除了 ABRE 顺式作用元件外,还存在一个由 9 个碱基 ATCCGACTA 组成的干旱应答元件 DRE,其核心序列为 CCGAC^[7],是该元件在干旱基因的表达中起作用。并且在一些同样受干旱、高盐、或低温诱导的拟南芥基因如 *rd17*、*kin1*、*cor6.6* 等基因的启动子中,也发现 DRE 元件或具有 DRE 核心序列的元件。拟南芥 *cor15a* 基因只受低温诱导,在它的

收稿日期: 2007-12-21
作者简介: 王红蕾(1980-),女,哈尔滨人,在读硕士,研实,从事科技信息研究。E-mail: nkyyb123@126.com.

启动子中也有与 DRE 元件极为相似的序列——TGGCCGAC,称为 C-repeat 元件^[8]。此外,DRE 元件的核心序列 CCGAC 在低温诱导的甘蓝型油菜的 BN115 基因启动子中也存在,被鉴定命名为 LTRE 元件(low temperature responsive element),即低温应答元件^[9]。上述研究结果说明,DRE 顺式作用元件(或 DRE 核心序列元件)普遍存在于干旱、高盐和低温胁迫应答基因的启动子中,介导植物对一些非生物胁迫的应答,并且这一应答途径是非 ABA 依赖型的。

3 DREB 转录因子基因的克隆与表达

1994 年,Yamaguchi-Shinozaki 等在干旱处理和未处理的拟南芥的核抽提物中首次检测到与 DRE 作用的蛋白质因子,并命名为 DRBF1。1997 年,Stockinger 等^[10]利用酵母一元杂交方法首次从拟南芥 cDNA 文库中克隆到 DRE/CRT 结合蛋白质基因,并命名为 CBF1(CRT2binding factor1)。1998 年,Gilmour 等^[11]利用 CBF1 编码的核苷酸序列做探针,筛选低温处理的拟南芥 cDNA 文库,克隆出了 2 个与 CBF1 序列同源性分别为 88%和 91%的 CBF2 和 CBF3。酵母一元杂交表明,CBF1 和 CBF2 都能够与 COR15A、COR15B 或 COR78/RD29 基因启动子的 CRT/DRE 顺式作用元件结合,激活下游报告基因 LacZ 的表达,且 CBF1、CBF2、CBF3 受低温诱导。Liu 等^[12]利用 rd29A 基因启动子的 DRE 顺式作用元件和酵母一元杂交方法,从拟南芥中克隆了两类共 5 个与 DRE 元件特异结合,在低温、干旱或高盐胁迫下调控报告基因表达的 DREB 转录因子基因,分别命名为 DREB1A(同 CBF3)、DREB1B(同 CBF1)、DREB1C(同 CBF2)和 DREB2A、DREB2B。DREB1A 和 DREB2A 在植物原生质体以及酵母中都能特异结合 DRE/CRT 顺式作用元件并激活 GUS 报告基因的转录,表明 DREB1A 和 DREB2A 蛋白质作为转录激活子参与 rd29A 基因在逆境胁迫下的表达。表达模式显示:DREB1A/CBF3 和它的两个同源基因 DREB1B/CBF1、DREB1C/CBF2 的表达受低温胁迫诱导;而 DREB2A 和 DREB2B 的表达受干旱和高盐胁迫诱导。

从此,DREB 转录因子基因的克隆得到较大的发展,DREB 转录因子基因陆续从各种植物中被克隆,在 NCBI 网上公布的就有 70 个之多,DREB 基因家族得以不断丰富和完善。Jaglo 等^[13-14]根据序列的同源性,通过 PCR 等方法分别从油菜、黑麦、小麦和番茄中分离到拟南芥 CBF/DREB1 的同源基因。克隆出的两个油菜 BnCBFs 基因的氨基酸序列同源性为 92%,与 CBF1 的同源性为 76%。BnCBFs 受低温诱导,且 BnCBFs 调控下游靶基因 BN115 的表达。Choi 等^[15]从低温处理的大麦 cDNA 文库中筛选出与拟南芥 CBF3 同源 Hvcbf3,

Hvcbf3 的表达受低温诱导。Sakuma 等^[16]根据序列的同源性设计引物,用 PCR 方法从拟南 DNA 中扩增出 3 个新的 DREB1 类基因 DREB1D、REB1E 和 DREB1F,以及 6 个 DREB2 类相关的基因 DREB2C/D/E/F/G/H;其中,DREB1D、DREB1F、DREB2C、DREB2D 和 DREB2F 受高盐诱导,而不受低温的诱导表达,DREB2E 受 ABA 诱导。Shen 等^[17]从高盐处的盐生植物山菠菜 cDNA 文库中分离得到了一个 EREBP/AP2 类蛋白的基因 AhDREB1,AhDREB1 转入烟草,结果转基因烟草的耐盐能力得以提高。Qin 等^[18-19]利用酵母一元杂交法,从玉米的 cDNA 文库中分离到一个与 DREB1/CBF 同源基因 ZmDREB1A。通过酵母体内的反式激活实验表明,ZmDREB1A 转录因子能特异地与 DRE 元结合并激活下游报道基因的表达,ZmDREB1A 的表达受低温诱导。

自 DREB 基因从拟南芥中被克隆,水稻 DREB 转录因子的研究在近几年也取得较大进展,目前在 GenBank 中登记的水稻 DREB 转录因子基因至少有 15 个,有文章报道的有 9 个。Dubouzet 等^[20]搜索水稻基因组数据库,发现与 DREB1A 和 DREB2A 同源的序列。通过 PCR 扩增,克隆出了 OsDREB1A、OsDREB1B、OsDREB1C、OsDREB1D 和 OsDREB2A。在水稻原生质中 OsDREB1A 和 OsDREB2A 转录因子都能特异结合 DRE 并激活 GUS 报道基因的转录。OsDREB1A 在转基因拟南芥中超表达,诱导 DREB1A 靶基因的超表达,使转基因植株对干旱、高盐和冷冻胁迫环境具有较高的耐性。Chen 等^[21]利用华大基因研究中心提供的 179 个菌株,采用点杂交,克隆了一个 AP2/DREBP 基因,命名为 OsDREBL。表达模式结果显示:OsDREBL 受低温诱导。Tian 等^[22]应用 PCR 技术从水稻基因组中克隆了 3 个 DREB 转录因子基因:OsDREB121、OsDREB421、OsDREB422。酵母一元杂交实验表明,OsDREB421 和 OsDREB422 均可与 DRE 元件特异结合,激活报告基因 HIS3 和 LacZ 的表达。

DREB 转录因子基因在转基因植物中表达较为复杂:在 35S:DREB1A 和 35S:OsDREB1A 转基因拟南芥中,在正常生长条件下,植株表现出表型多样化,35S:DREB1A 植株表现严重的矮化,35S:OsDREB1A 植株表现严重的生长迟缓,这可能是由于 DREB 转录因子引起靶基因超表达,而相关的逆境蛋白质的过量使得转基因植物在正常生长条件下具有较高的逆境忍耐力,而使植株表现生长迟缓^[12]。但当拟南芥 DREB1A 基因转入水稻中,转基因水稻却没有表现生长迟缓和矮化等现象,Oh 等^[23]认为这可能是由于在水稻中 DREB1A 的激活水平和(或)DREB1A 激活的靶基因数低于拟南芥。而在 35S:DREB2A 植株中,虽然 DREB2A mRNA 在正常条件下积累,但却没

有引起 *rd29A* 基因的超表达, 表现的生长迟缓不明显, 可能与蛋白质的磷酸化有关^[12]。

4 展望

目前, 诸多的研究者着力于从不同的作物中分离克隆了这类转录因子基因, 并对其功能进行研究, 这为抗逆境胁迫的遗传改良提供了新的材料和方法。DREB 转录因子基因的分离和鉴定工作为采用基因工程技术将获得的外源基因导入植物, 获得抗逆基因超表达的转基因植物奠定了坚实的基础, 这些植物应用到干旱、低温、高盐碱的极端环境中, 可以改良土壤、改善环境、扩大植被面积, 因此该类研究具有重要的理论研究价值和广泛的应用前景。

目前从各种植物中已克隆出许多抗逆基因, 但这些基因大多数只能增加植物的某种单一抗性, 并不能从整体上综合改良植物抗逆性。然而, DREB 转录因子能特异结合 DRE/CRT 顺式作用元件, 调控启动子中含有 DRE/CRT 元件的一类逆境应答基因的表达, 增强植物对多种逆境的抵抗和适应能力, 这对从整体上增强植物的抗逆性, 提高其稳产性, 将有巨大的应用前景。

参考文献:

[1] Fowler S, Thomashow M F. A rabidopsis transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway[J] . Plant Cell, 2002, 14(8): 1675-1690.

[2] Sarah J, Gilmour, Daniel G, et al. Low temperature regulation of the Arabidopsis CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold induced COR gene expression[J] . The Plant Journal, 1998, 16: 433-442.

[3] 刘强, 赵南明, Yamaguchi-Shinozaki K, et al. DREB 转录因子在提高植物抗逆性中的作用[J] . 科学通报, 2000, 45(1): 11-15.

[4] Hsieh T H, Lee J T, Yang P T, et al. Heterology expression of the Arabidopsis C-Repeat/ dehydration response element binding factor 1 gene confers elevated tolerance to chilling and oxidative stresses in transgenic tomato[J] . Plant Physiology, 2002, 129: 1086-1094.

[5] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, et al. Two Transcription Factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis[J] . Plant Cell, 1998, 10: 1391-1406.

[6] Yamaguchi-Shinozaki K, Koizumi M, Urao S, et al. Molecular cloning and characterization of 9 cDNAs for genes that are responsive to desiccation in Arabidopsis thaliana; Sequence analysis of one cDNA clone that encodes a putative transmembrane channel protein [J] . Plant Cell Physiol, 1992, 33: 217-224.

[7] Yamaguchi-Shinozaki K, Kazuo Shinozaki A. Novel cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low temperature or high-salt stress[J] . Plant Cell, 1994, (6): 251-264.

[8] Baker S S, Wilhelm K S, Thomashow M F. The 5' region of Arabidopsis thaliana cor15a has cis-acting element that confer cold-drought-and ABA regulated gene expression[J] . Plant Mol Biol, 1994, 24: 701-713.

[9] Jiang C, Lu B, Singh J. Requirement of a CCGAC cis-acting el-

ement for cold induction of the BNI15 gene from winter Brassica napus[J] . Plant Mol Biol, 1996, 30: 679-684.

[10] Stockinger E J, Gilmour S J, Thomashow M F. Arabidopsis Thaliana CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcription Activator that binds to the C-repeat/ DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit[J] . Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 1035-1040.

[11] Gilmour S J, Zarka D G, Stockinger E J, et al. Low temperature regulation of the Arabidopsis CBF family of AP2 transcriptional activators as an Early step in cold-induced COR gene expression[J] . Plant Journal, 1998, 16: 433-443.

[12] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, et al. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis[J] . Plant Cell 1998, 10: 1391-1406.

[13] Medina J, Bagues M, Terol J, et al. The Arabidopsis CBF gene family is composed of three gene encoding AP2 domain-containing proteins whose expression is regulated by low temperature but not by abscisic acid or dehydration[J] . Plant Physiol, 1999, 119(2): 463-470.

[14] Jaglo K R, Kleff S, Amundsen K L, et al. Components of the Arabidopsis C-repeat/ Dehydration-Responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in Brassica napus and other plant species[J] . Plant Physiol, 2001, 127: 910-917.

[15] Choi D W, Rodriguez E M, Close T J. Barley Cbf3 gene identification, expression pattern, and map location[J] . Plant Physiol, 2002, 129: 1781-1787.

[16] Sakuma Y, Liu Q, Dubouzet J G, et al. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression[J] . Biochem Biophys Res Commun, 2002, 290(3): 998-1009.

[17] 沈义国, 闫冬青, 张万科, 等. 山菠菜 EREBP/AP2 类 DNA 结合蛋白基因的克隆及其耐逆性研究[J] . 植物学报, 2003, 45(1): 82-87.

[18] 秦峰, 李洁, 张贵友, 等. 玉米中与 DRE 元件结合的转录因子的克隆和结构分析[J] . 植物学报, 2003, 45(3): 331-339.

[19] Qin F, Sakuma Y, Li J, et al. Cloning and functional analysis of a novel DREB1/CBF transcription factor involved in cold-responsive gene expression in Zea mays L[J] . Plant and Cell Physiology, 2004, 45(8): 1042-1052.

[20] Dubouzet J G, Sakuma Y, Ito Y, et al. OsDREB genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression [J] . Plant Journal, 2003, 33(4): 751-763.

[21] Chen J Q, Dong Y, Wang Y J, et al. An AP2/EREBP2 type transcription-factor gene from rice is cold-inducible and encodes a nuclear-localized protein[J] . Theor Appl Genet, 2003, 107: 972-979.

[22] Tian X H, Li X P, Zhou H L, et al. OsDREB4 genes in rice encode AP2-containing proteins that bind specifically to the Dehydration-Responsive Element[J] . Acta Botanica Sinica, 2005 (4): 467-476.

[23] Oh S J, Song S I, Kim Y S, et al. Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth[J] . Plant Physiol, 2005, 138: 341-351.