

# 植物转录因子的结构与调控作用

刘强<sup>①②</sup> 张贵友<sup>①</sup> 陈受宜<sup>③</sup>

①清华大学生物科学与技术系植物分子生物学实验室, 北京 100084; ②清华大学生物科学与技术系生物膜与膜生物工程国家重点实验室, 北京 100084; ③中国科学院遗传研究所, 北京 100101. Email: liuq@mail.tsinghua.edu.cn

**摘要** 植物各种诱导型基因的表达主要受特定转录因子在转录水平上的调控. 典型的转录因子含有 DNA 结合区、转录调控区、寡聚化位点及核定位信号区等功能区域. 这些功能域决定转录因子的功能、特性、核定位及调控作用等, 转录因子通过这些功能域与启动子顺式作用元件结合或与其他蛋白的相互作用来激活或抑制基因的表达. 植物转录因子的结构与功能成为近年来植物分子生物学等研究领域的重要内容.

**关键词** 转录因子 DNA 结合区 顺式作用元件

转录因子也称为反式作用因子, 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, 通过它们之间以及与其他相关蛋白之间的相互作用, 激活或抑制转录. 近年来, 相继从高等植物中分离出一系列调控干旱、高盐、低温、激素、病原反应及发育等相关基因表达的转录因子.

从蛋白质结构分析, 转录因子一般由 DNA 结合区、转录调控区(包括激活区或抑制区)、寡聚化位点以及核定位信号这 4 个功能区域组成. 转录因子通过这些功能区域与启动子顺式作用元件作用或其他转录因子的功能区域相互作用来调控基因的转录表达. 典型的转录因子一般只有一个 DNA 结合区, 但有的转录因子如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)的 GT2, 拟南芥的 AP2 等含两个 DNA 结合区. 少数转录因子不含 DNA 结合区或转录调控区, 它们通过与含有上述功能域的转录因子相互作用对基因转录进行调控.

## 1 转录因子的结构与功能

### 1.1 DNA 结合区

DNA 结合区(DNA-binding domain)是指转录因子识别 DNA 顺式作用元件并与之结合的一段氨基酸序列, 相同类型转录因子 DNA 结合区的氨基酸序列较为保守. 植物转录因子中比较典型的 DNA 结合区有 bZIP 结构域<sup>[1]</sup>、锌指结构域<sup>[2]</sup>、MADS 结构域<sup>[3]</sup>、MYC 结构域<sup>[4]</sup>、MYB 结构域<sup>[5]</sup>、Homeo 结构域<sup>[6]</sup>以及 AP2/EREBP 结构域<sup>[7]</sup>等(表 1). 其中一些结构域又可根据其特征区中保守氨基酸残基的数量和位置划分成几个亚类, 如根据半胱氨酸(C)和组氨酸(H)残基的数目和位置, 可将含锌指结构域的转录因子分为 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>H, C<sub>2</sub>C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>HC<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>HC<sub>5</sub> 5 亚类. 近年来, 在植物转录因子中又发现一些新的与 DNA 结合有关的结构域, 如拟南芥 ARF1 转录因子的 ARF 结构域、玉米(*Zea mays*)VP1 及菜豆(*Phaseolus vulgaris*)PvAlf 转录因子的 B3 结构域等<sup>[8]</sup>. 转录因子 DNA 结合区的特定氨基酸序列决定它们与顺式作用元件识别及结合的特异性.

### 1.2 转录调控区

**1.2.1 转录激活区** 同类转录因子的主要区别在于它们的转录调控区(transcription regulation domain)各不相同, 转录调控区包括转录激活区(transcription activation domain)和转录抑制

表1 一些常见的植物转录因子 DNA 结合区的结构特征

转录因子	DNA 结合区	结构特征
O2(玉米) PosF21(拟南芥) HBP-1(小麦, 水稻)	碱性区-亮氨酸拉链 (basic region-leucine zipper, bZIP)	由 60~80 个氨基酸残基组成, 包括 1 个有 25 个氨基酸残基的富含碱性氨基酸的区域和 1 个亮氨酸拉链区
WZF1(小麦) EPF(矮牵牛) PEI1(拟南芥)	锌指结构 (zinc finger)	由 30 个氨基酸残基组成, 含两个保守的半胱氨酸和/或两个组氨酸残基, 它们在四级结构上与锌离子结合
AG, AP1, CAL, AGLs, AP3, PI(拟南芥) TM3(番茄) ZEMa(玉米)	MADS	约 56 个氨基酸残基组成, 含有 1 个长 $\alpha$ -螺旋和两个 $\beta$ -链
Lc, B-Peru, R-S(玉米) RAP-1(拟南芥)	碱性-螺旋-环-螺旋 (bHLH, MYC)	含有两个相连的基本亚区, 其中碱性氨基酸区与 DNA 结合有关, 螺旋-环-螺旋区参与二聚体形成
Kn1(玉米), OSH1(水稻) KNAT1(拟南芥) HvKnox3(大麦)	homeo 结构域 (HD)	约 60 个氨基酸残基组成的折叠成球形的结构域, 含有 3 或 4 个 $\alpha$ -螺旋
DREB1, DREB2(拟南芥) G115, ZMMHCF1(玉米) EREBP1-3(烟草) Pti4~6(番茄)	AP2/EREBP	约 60 个氨基酸残基组成, 含有 3 个平行的 $\beta$ -折叠和 1 个双亲性 $\alpha$ -螺旋
C1, P, PL, Zm1, Zm38(玉米) MybSt1(马铃薯) Atmyb1(拟南芥)	MYB 结构域	含有 1~3 个由 51~53 个氨基酸组成的呈螺旋-转折-螺旋构象的不完全重复序列, 每个重复都含 3 个保守的 Trp 残基
SB16(大豆) PF1(水稻)	AT-钩基序 (AT-hook motif)	含有 1 个 R(G/P)RGRP 共有核心序列, 通过 RGR 区与富含 A/T 的 DNA 区域小沟结合
GT-2(水稻, 拟南芥)	三螺旋 (Trihelix)	富含碱性、酸性以及脯氨酸/谷氨酸, 呈螺旋-环-螺旋-环-螺旋构象
HMGa(玉米) ATHMG(拟南芥)	HMG 盒	由 3 个 $\alpha$ -螺旋组成的“L”形区, 两臂张开约呈 80°
VP1(玉米) PvAlf(菜豆)	B3	VP1 和 ABI3A C-末端含 120 个氨基酸残基的保守序列
ARF1(拟南芥)	ARF 结构域	由 350 个氨基酸残基组成的类似 B3 的序列

区(transcription repression domain)两种, 它们决定转录因子功能的差异. 从动物和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的转录因子中鉴定了大量不同类型的转录激活区, 如 SP1 富含谷氨酰胺的结构域、CTF/NF-1 富含脯氨酸的结构域以及 GAL4, VP16, GCN4 的酸性激活区, 其中 GAL4 和 VP16 的酸性激活区在植物中同样起作用. 它们一般包含 DNA 结合区以外的 30~100 个氨基酸残基, 而且有时一个转录因子可含 1 个以上的转录激活区.

近年来, 高等植物转录因子的转录激活区被广泛深入研究, 如分别调控不同植物贮藏蛋白基因表达的同源性很高的 VP1 和 PvALF 转录因子, 它们的 N-末端酸性保守氨基酸序列都

具有转录激活能力. 同源性分析还表明, 它们之间的保守性较强, 而且与酵母转录因子 GCN4 及病毒转录因子 VP16 的酸性转录激活区也有较高的同源性<sup>[9]</sup>. 典型的植物转录激活区一般具有这些特征, 如富含酸性氨基酸、富含脯氨酸或者谷氨酰胺等, GBF(G-box binding factor)转录因子都含有保守的 GCB 盒(GBF-conserved box)结构域<sup>[10]</sup>. 对玉米 C1(Colourless-1)转录因子激活区进行定点突变研究表明, 某种氨基酸含量高并不一定代表它的作用重要, 富含酸性氨基酸的 C1 转录激活区中仅第 262 位的天冬氨酸和第 253 位的亮氨酸在转录激活中起关键作用<sup>[11]</sup>.

**1.2.2 转录抑制区** 菜豆 PvALF 转录因子能激活子叶贮藏蛋白基因 *DLEC2* 的表达, 而菜豆 bZIP 类的 ROM2 转录因子能与 *DLEC2* 的增强子结合, 抑制 PvALF 对转录的激活. 一旦去除 ROM2 的 N-端 bZIP 结构域, ROM2 就失去对 PvALF 激活活性的抑制能力. 将去除 N-端 bZIP 结构域的 ROM2 与 PvALF 激活区连接, 嵌合蛋白能够激活 *DLEC2* 的表达, 这表明在去除的 ROM2 N-端区段中存在有转录抑制区<sup>[12]</sup>. 对抑制钝稈野大麦(*Hordeum spontaneum*)  $\alpha$ -淀粉酶基因表达的 VP1 转录因子的研究表明, VP1 中也含有对转录起抑制作用的功能域<sup>[13]</sup>.

虽然有许多实验结果显示转录因子中有转录抑制区的存在, 但对其结构和作用机理了解不深. 转录因子抑制区的作用方式可能有: (i) 与启动子的相关位点结合后, 能够阻止其他转录因子与该启动子结合; (ii) 通过对其他转录因子的抑制作用而阻止转录; (iii) 通过某种方式改变 DNA 的高级结构(high-order structure)使转录不能进行.

### 1.3 核定位信号区

核定位信号区(nuclear localization signal, NLS)是转录因子中富含精氨酸和赖氨酸残基的核定位区域, 转录因子进入细胞核的过程受该区段控制<sup>[14]</sup>. 目前已在水稻的 GT-2<sup>[15]</sup>、番茄(*Lycopersicon esculentum*)的 HSFA1-2<sup>[16]</sup>、玉米的 O2<sup>[17]</sup>以及豌豆(*Pisum sativum*)的 PS-IAA4 和 PS-IAA6<sup>[18]</sup>等多种转录因子中鉴定了 NLS 的序列. 此外, 不同转录因子中 NLS 的数目有所不同, 一个转录因子可含 1 至数个 NLS 功能区, 它们不规则的分布在转录因子中, 有的 NLS 如 O2 转录因子的 NLS 还存在于其他功能区域内.

bZIP 型转录因子 O2 有 A 和 B 两个核定位信号区, 分别位于氨基酸残基 101 ~ 135 和 223 ~ 254 之间, 其中 B 信号区与 DNA 结合区(228 ~ 247)位于同一区域. 通过定点突变法丧失 DNA 结合能力的 O2 蛋白仍能进入细胞核, 只是不再激活靶基因的转录. 这说明其核定位信号区并不等同于 DNA 结合区, 而是各自独立的发挥作用. 两个 NLS 在功能上也有所不同, 位于 DNA 结合区内的 B 信号区能更有效的将转录因子转入细胞核<sup>[19]</sup>.

### 1.4 寡聚化位点

寡聚化位点(oligomerization site)是不同转录因子借以发生相互作用的功能域. 它们的氨基酸序列很保守, 大多与 DNA 结合区相连并形成一定的空间构象, 如 bZIP 类转录因子的寡聚化区包括 1 个拉链结构, 而 b/HLH 型转录因子含有螺旋-环-螺旋结构, MADS 转录因子的寡聚化区则形成两个 $\alpha$ -螺旋和两个 $\beta$ -折叠.

通过酵母双杂交系统(Two-hybrid system)鉴定发现, 玉米 B-Peru 转录因子能作用于 C1 转录因子的 DNA 结合区, 这种相互作用又能增强 C1 与 DNA 的结合能力<sup>[20]</sup>. 遗传学研究和瞬

间表达分析(transient expression assay)也表明,只有与 B-Peru 结合时, C1 转录因子才能发挥其转录激活作用, B-Peru 中的螺旋-环-螺旋结构域对与 C1 结合并发挥转录激活作用至关重要<sup>[21]</sup>. 目前对螺旋-环-螺旋结构域如何在 B-Peru 与 C1 间起作用尚未清楚, 但上述研究表明, 转录因子的寡聚化区确实影响转录因子的活性.

## 2 转录因子的活性

编码转录因子的基因的表达受细胞发育、外界环境等因素调节, 转录因子的活性也受许多因素的影响. 如图 1 所示, 转译后修饰、在细胞中的位置、以及与其他蛋白之间的相互作用等都能影响转录因子的活性.

### 2.1 转译后修饰

转译后修饰对调节转录因子的活性起非常重要的作用. 转译后的蛋白磷酸化修饰作用不仅调节转录因子进入细胞核的过程, 也可以改变转录因子的活性或与 DNA 结合的能力. 如拟南芥细胞核提取物能增强拟南芥 GBF1 转录因子的 DNA 结合能力, 纯化的酪蛋白激酶 II (CK II) 催化的磷酸化反应也具有同样的效果<sup>[22]</sup>. 调控玉米种子醇溶蛋白基因表达的 O2(OPAQUE-2) 转录因子活性同样受到转译后磷酸化作用的调节. 研究发现, O2 中有 8 个氨基酸位点可被 CK II 磷酸化, 其中 6 个位点位于转录激活区内. SDS-PAGE 电泳也显示 O2 存在多种磷酸化同型物(phosphorylated isoform). 其中仅非磷酸化同型物(nonphosphorylated isoform)和 1~2 个氨基酸残基磷酸化的低磷酸化同型物(hypophosphorylated isoform)与 DNA 结合, 它的高磷酸化同型物(hyperphosphorylated isoform)不具有结合 DNA 的能力, 必须经磷酸酶处理脱磷酸后才能结合 DNA. 不同磷酸化形式的比例还存在昼夜变化, 白天低磷酸化同型物的 O2 含量高, 贮藏蛋白基因表达活跃, 夜间高磷酸化同型物含量升高, 对基因转录的激活能力降低, 贮藏蛋白合成减少<sup>[23]</sup>. 生物体可以通过这种 O2 磷酸化同型物的昼夜变化保证蛋白质定时、定量的合成.

### 2.2 细胞核定位

由于转录因子在细胞核内发挥作用, 因此对其进入细胞核过程的调控非常重要. 转录因子的入核过程受到外界刺激、细胞周期、发育阶段等因素的调控. 虽然核孔可以让 40~60 ku 的蛋白扩散通过, 但研究表明, 蛋白质通过核孔的过程多为主动过程.

转录因子进入细胞核的过程是通过 1 至数个核定位信号区进行的. NLS 首先通过与受体蛋白 NBP(NLS-binding protein)的相互作用与一种位于核孔处的亲核蛋白结合, 然后借助于亲核蛋白的转移功能通过核孔复合体. 没有 NLS 区的转录因子则靠与具有 NLS 区的转录因子相互作用进入细胞核. 转录因子的入核过程还受到转译后磷酸化修饰及分子间相互作用的影

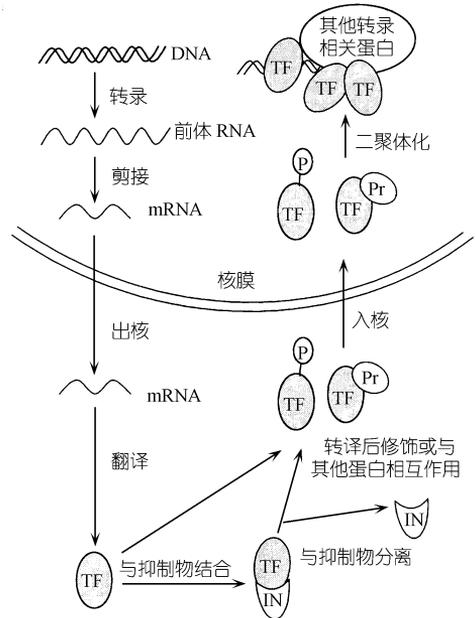


图 1 转录因子活性的调节

TF 示转录因子, IN 示抑制物, P 示磷酸基团, Pr 示 NBP 蛋白或其他辅助蛋白. 根据文献[10]改编

响, NLS 及其旁侧序列的磷酸化和脱磷酸化是调节转录因子进入细胞核的重要方式.

### 2.3 二聚体化作用

转录因子的活性还受到与其他蛋白间相互作用的影响. 不同转录因子通过寡聚化区发生相互作用, 对它们与 DNA 结合的能力、结合方式以及在细胞中的位置进行调节. 含 bZIP 结构域的转录因子如 O2, PvALF, VP1, EMBP1 等是植物中研究较多的发生二聚体化的蛋白质. O2 转录因子的活性可以通过与其他蛋白形成异源二聚体得到调节, 如一种 P-盒结合因子(P-box-binding-factor-1, PBF-1)能够通过 O2 的结合而提高 O2 的活性<sup>[24]</sup>.

在水稻中还分离出 3 种能与小麦(*Triticum aestivum*) EMBP1 蛋白发生相互作用的 bZIP 蛋白(osZIPs), 其中 osZIP-1 与 EMBP1 组成的异源二聚体能加强 EMBP1 与 EM 启动子的结合, 而由 osZIP-2a 和 osZIP-2b 分别与 EMBP1 组成的异源二聚体则阻断 EMBP1 与它相应位点的结合<sup>[25]</sup>. 近期还发现组蛋白 H1 也能增强 EMBP-1 与其启动子结合位点的结合<sup>[26]</sup>. 以上研究表明, 植物转录因子的活性可以通过与其他转录因子或蛋白间的相互作用进行调节.

### 3 转录因子的调控作用

在生长发育过程中, 植物对各种环境、组织和发育信号作出反应, 这就要求对各种功能基因的表达进行精确调控. 种子贮藏蛋白基因仅在种子发育特定阶段表达, 说明该基因表达受到组织和发育阶段特异性调控. 由于种子贮藏蛋白的合成与作物产量密切相关, 转录调控作用在农业生产中的重要性不容忽视. 与此同时, 植物还要对各种环境因素作出反应, 如图 2 所示, 植物感受外界干旱、高盐、激素、病害及体内细胞发育等信号, 通过一系列传递激

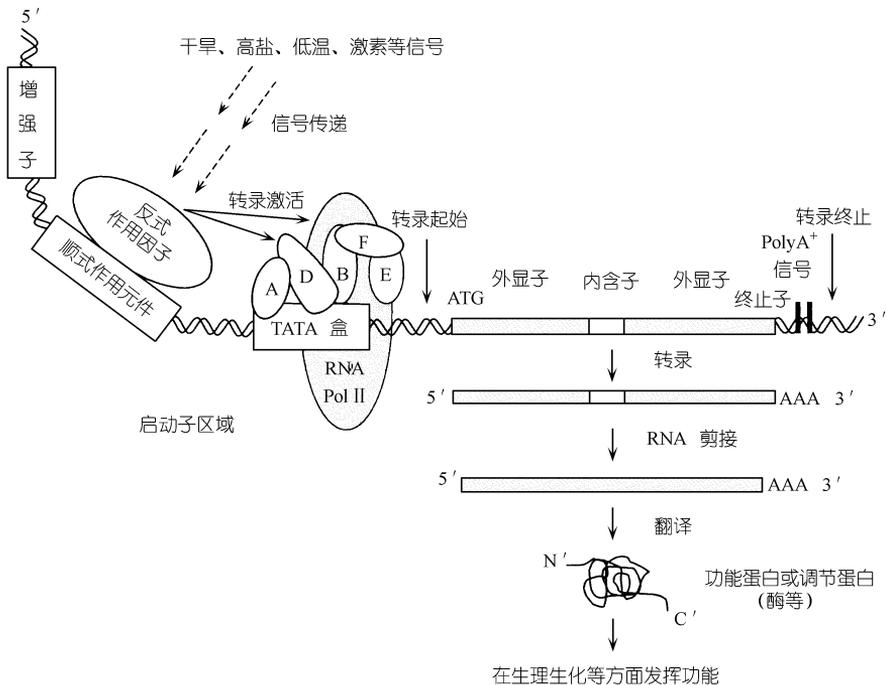


图 2 环境胁迫诱导基因的转录表达示意图

A 示 TF II A, B 示 TF II B, D 示 TF II D, E 示 TF II E, F 示 TF II F

转录因子即反式作用因子,反式作用因子与顺式作用元件结合后,激活 RNA 聚合酶 II 转录复合物,从而启动基因的转录表达,最后通过基因产物的作用对外界信号在生理生化等方面作出适合的调节反应.由此可见,转录因子在基因的表达调控中起关键作用.

植物体内存在大量转录因子,对拟南芥第 4 条染色体中 1.9 Mb 基因组序列分析发现,其中 15% 的基因编码或可能编码转录因子<sup>[27]</sup>.近年来,相继分离出大量的不同类型的转录因子,仅拟南芥中就分离出 30 多种 bZIP 型转录因子和 40 多种 AP2/EREBP 类转录因子.有的转录因子可以调控多个基因的表达,从而调节不同生理生化过程的进行<sup>[28]</sup>.这里介绍 bZIP 类和 AP2/EREBP 类转录因子的作用特点,它们是调节植物生长发育以及环境胁迫应答反应的两类重要转录因子.

### 3.1 bZIP 类转录因子

bZIP 转录因子是普遍存在于动植物及微生物中的一类转录因子,植物中包括玉米 O2,拟南芥 PosF21,小麦和水稻的 HBP-1 等多种转录因子. bZIP 类转录因子的共同特点是: (i) 含有与特异 DNA 序列相结合的碱性结构域; (ii) 参与寡聚化作用的亮氨酸拉链区与碱性区紧密相连; (iii) 转录因子的 N-末端含有酸性激活区; (iv) 以二聚体的形式结合 DNA, 肽链 N-末端的碱性区与 DNA 直接结合. bZIP 类转录因子识别核心序列为 ACGT 的顺式作用元件如 CACGTG(G 盒), GACGTC(C 盒), TACGTA(A 盒)等,一些受光或脱落酸(ABA)诱导的基因的启动子区都含有这些元件.其中 G 盒元件普遍存在于受 ABA,生长素,茉莉酸,水杨酸诱导的基因中,它还是光诱导基因中最常见的顺式作用元件之一,拟南芥 HY5, GBF2 等 bZIP 类转录因子都能与 G 盒元件特异结合,激活光诱导基因的转录<sup>[29]</sup>.

O2 转录因子是植物胚乳特异的转录因子,也是种子贮藏蛋白合成过程中的重要调节因子.它的分子量为 47 ku,包含 bZIP 类转录因子的全部 3 个特征结构域,转录激活区位于 N-末端第 41~91 氨基酸残基之间<sup>[30]</sup>. O2 不仅调控玉米重要的贮藏蛋白如 $\alpha$ -醇溶蛋白组织和发育阶段特异性表达,同时还调节玉米 *b-32*, *cyPPDK1* 基因的表达, *b-32* 编码一种核糖体失活蛋白(ribosome-inactivating protein)的同源物,而 *cyPPDK1* 编码胞质丙酮酸正磷酸二激酶(cytoplasmic pyruvate orthophosphate dikinase)<sup>[31,32]</sup>.

最近在蜀黍(*Sorghum vulgare*)<sup>[33]</sup>、小麦<sup>[34]</sup>、薏苡(*Coix lacryma-jobi*)<sup>[35]</sup>等植物中发现有结构功能与玉米 O2 相似的转录因子.而且有实验表明,水稻中也存在有类似 O2 的转录因子<sup>[36]</sup>,因此推测 O2 类转录因子可能广泛存在于谷类作物中调控贮藏蛋白基因的表达. O2 虽然可同时调控多个基因的表达,但在不同基因启动子区中它的结合位点并不相同,如在 22 ku 玉米醇溶蛋白基因启动子中它与 TCCACGTAGA 位点结合,水稻 *GluB* 基因启动子中 O2 的结合位点是 GCN4 元件(TGAGTCA),而在玉米 *b-32* 基因启动子区则发现有多 O2 的结合位点.研究表明, O2 既能以同源二聚体形式作用于其顺式作用元件,又能与玉米中的其他蛋白(如 PBF-1, OHP1 等)结合,以异源二聚体的方式同靶位点结合<sup>[24,37]</sup>. O2 能被玉米胚乳的核酸提取物或拟南芥 CK II 的重组体磷酸化,在 O2 的主要激活区还发现有多 O2 的结合位点,因此认为磷酸化作用可能在 O2 活性的调控中起重要作用<sup>[38]</sup>.

### 3.2 AP2/EREBP 转录因子

植物转录因子结构与功能的关系,最近在拟南芥和烟草(*Nicotina tabacum*)的 AP2/EREBP

转录因子中研究得比较深入。AP2/EREBP 家族的转录因子中包括与调控植物细胞周期、生长发育以及环境胁迫应答反应等有关的一系列转录因子, 家族成员的转录激活区差异很大, 但它们都含有由 60 个左右氨基酸残基组成的非常保守的 DNA 结合区(即 AP2/EREBP 结构域), 而且 N-末端都有起核定位作用的碱性氨基酸序列<sup>[39]</sup>。根据含 DNA 结合区的数目, AP2/EREBP 转录因子分为 AP2(APETALA2)和乙烯应答元件结合蛋白 EREBP(ethylene-responsive element binding protein)两个大类型。AP2 型转录因子含有两个 AP2/EREBP 结构域, 该类型的转录因子调控细胞的生长发育; 而 EREBP 型转录因子仅含 1 个 AP2/EREBP 结构域, 调节植物对激素(乙烯)、病原、低温、干旱及高盐等的分子应答反应。

AP2/EREBP 结构域中的 N-端区是碱性亲水区, 蛋白质三维分析表明, 该区域含有 3 个  $\beta$ -折叠, 对识别各类顺式作用元件起关键作用。其中位于第 2 个  $\beta$ -折叠中的第 14, 19 位的两个氨基酸残基的差异, 决定这类转录因子与不同顺式作用元件的特异结合<sup>[40]</sup>。AP2/EREBP 结构域的 C-端区还包含 1 个由 18 个氨基酸残基组成的核心序列, 该序列形成双亲性的  $\alpha$ -螺旋, 该  $\alpha$ -螺旋可能参与同其他转录因子及 DNA 间的相互作用。

EREBP 型转录因子中, 已发现有烟草 EREBP1~4, 番茄 Pti4~6, 拟南芥 RAV1~2, AtEBP, AtERF1, DREB1A~C 和 DREB2A~B 等许多成员, 分别与细胞发育、激素、抗病、低温及干旱、高盐等信号传递有关。拟南芥的 AtERF1 转录因子与含核心序列 GCCGCC 的 GCC-盒特异结合, 因此它的 DNA 结合区又称为 GCC-盒结合域(GCC-box binding domain, GBD)<sup>[7]</sup>。用核磁共振对其三维空间结构的研究表明, AtERF1 的 GBD 通过形成 3 个反向的  $\beta$ -片层与其靶序列 GCC-盒的大沟相结合<sup>[40]</sup>。

拟南芥 DREB1A 和 DREB2A 转录因子分别调控与低温和干旱高盐胁迫耐性相关的 *rd17*, *kin1*, *cor6.6*, *cor15a*, *erd10* 以及 *rd29a* 等多种基因表达, 同时 *DREB1A* 和 *DREB2A* 基因的表达也受低温或干旱高盐的诱导<sup>[41]</sup>。表达受 DREB1A 和 DREB2A 调控的基因的共同特点是它们的启动子区都含有干旱应答元件(dehydration-responsive element, DRE), 使 DREB1A 在转基因拟南芥中超表达(over expression), 不仅上述基因在正常环境下表达, 在干旱或低温处理条件下, 它们的表达也较野生型显著增强。此结果表明植物中同一转录因子可以通过相应的顺式作用元件同时调控多个基因表达。

氨基酸序列分析表明, 两种 DREB 转录因子都含有 C-末端的酸性转录激活区、N-末端碱性核定位信号区。它们的 AP2/EREBP 结构域由 58 个氨基酸残基组成, 含有可形成 3 个  $\beta$ -折叠和 1 个  $\alpha$ -螺旋的保守序列, 两者都能与 DRE 元件结合。DRE 元件的核心序列为 PuCCGAC。有关 DREB 转录因子与 DRE 元件相互作用的分子机制正在进一步研究之中<sup>[42]</sup>。

### 3.3 VP1(Viviparous.1)转录因子的激活及抑制作用

这里还要介绍的是, 由于核酸浓度、相互作用蛋白等因素的影响, 同一转录因子对转录既可起激活作用, 又可起抑制作用。比较典型的是玉米 VP1 转录因子。VP1 转录因子不仅激活小麦 *EM* 基因和玉米 *CI* 基因的转录<sup>[43-45]</sup>, 而且能在大麦  $\alpha$ -淀粉酶基因的表达起抑制作用<sup>[13]</sup>。即使同为激活作用, VP1 对 *EM* 基因和 *CI* 基因的激活机制也有所不同。

在图 3(a)中, C1 是调控花色素苷合成过程中多个酶基因表达的转录因子, *CI* 基因的表达可被 VP1, ABA 或光照 3 种因素独立激活。VP1 含有 1 个由 83 个氨基酸残基组成的起 DNA

结合作用的 B3 结构域和 1 个酸性转录激活区(A 区), 通过 B3 结构域与 *CI* 启动子中 Sph 因子的相互作用激活 *CI* 基因的表达<sup>[46]</sup>. 与激活 *CI* 基因转录不同, VP1 虽然可以通过类 Sph 因子或 RY 因子激活 *EM* 基因转录, 但主要是通过作用于另一种蛋白 EMBP1 激活 *EM* 基因的转录. EMBP1 是 bZIP 类转录因子, 它能够与 *EM* 基因启动子中两个类似于 G 盒的区段(Em1a 和 Em1b)相结合<sup>[47]</sup>. VP1 的 B2 结构域虽然仅具较弱且非特异的 DNA 结合能力, 但能大大增强 EMBP1 与 G 盒区段中 Em1a 和 Em1b 结合. 最近又在水稻中发现一种能促进 EMBP1 与 VP1 及 Em1a 结合的蛋白 GF14, 推测该蛋白也参与了激活 *EM* 基因表达的过程<sup>[48]</sup>(图 3(b)).

在对一些基因的表达起激活作用的同时, VP1 还在种子萌发过程中抑制 $\alpha$ -淀粉酶基因的表达(图 3(c)), 且去除 VP1 激活区并不能消除这种抑制, 说明 VP1 对转录的抑制和激活作用机理不同, 各自独立进行<sup>[13,49]</sup>. 至今尚未在 VP1 鉴定出发挥抑制作用的功能域, VP1 也有可能通过直接作用的方式抑制 $\alpha$ -淀粉酶基因的表达.

综上所述, 植物转录因子通过其功能域与 DNA 及其他蛋白间的相互作用, 激活或抑制诱导型基因的表达. 转录因子的 DNA 结合区决定了它与顺式作用元件结合的特异性, 而转录调控区决定了它对基因表达起激活或是抑制作用. 此外, 其自身活性还受到核定位及寡聚化等作用的影响. 近年来, 基因分子生物学研究领域的重点已逐渐从功能基因转到启动子顺式作用元件和转录因子及其调控机理上. 对转录因子的结构与功能的分析鉴定, 是阐明在各种条件下基因表达调控机理的重要内容之一, 揭示转录因子之间以及它们与 DNA 之间相互作用的具体机制, 就可以人为的控制特定基因的表达, 使植物基因转化能获得好的结果.

致谢 本工作为国家重点基础研究发展规划(批准号: G1999011703)和国家自然科学基金(批准号: 39970166)资助项目.

参 考 文 献

- 1 Nantel A, Quatrano R S. Characterization of three rice basic/leucine zipper factors, including two inhibitors of EmBP-1 DNA binding activity. *J Biol Chem*, 1996, 271: 31296~31305
- 2 Takatsuji H. Zinc-finger transcription factors in plant. *Cell Mol Life Sci*, 1998, 54: 582~596
- 3 Rounsley S D, Ditta G S, Yanofsky M F. Diverse roles for MADS box genes in *Arabidopsis* development. *Plant Cell*, 1995, 7: 1259~1269
- 4 Abe H, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao T, et al. Role of *Arabidopsis* MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell*, 1997, 9: 1859~1868
- 5 Martin C, Paz-Ares J. MYB transcription factors in plants. *Trends Genet*, 1997, 13: 67~73

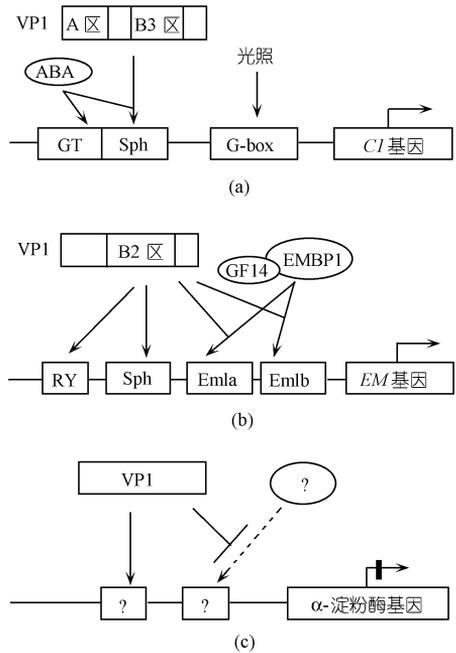


图3 VP1对*CI*, *EM*及 $\alpha$ -淀粉酶基因表达的调控  
根据文献[10]改编而成

- 6 Klinge B, Uberlacker B, Korfhage C, et al. *ZmHox*: a novel class of maize homeobox genes. *Plant Mol Biol*, 1996, 30: 439~453
- 7 Riechmann J L, Meyerowitz E M. The AP2/EREBP family of plant transcription factors. *Biol Chem*, 1998, 379: 633~646
- 8 Liu L, White M J, MacRae T H. Transcription factors and their genes in higher plants. *Eur J Biochem*, 1999, 262: 247~257
- 9 Bobb A J, Eiben H G, Bustos M M. PvALF, an embryo-specific acidic transcriptional activator enhances gene expression from phaseolin and phytohemagglutinin promoters. *Plant J*, 1996, 8: 331~343
- 10 Schwachheimer C, Bevan M. The regulation of transcription factor activity in plants. *Trend in Plant Science*, 1998, 3(10): 278~283
- 11 Sainz M B, Goff S A, Chandler V L. Extensive mutagenesis of a transcriptional activation domain identifies single hydrophobic and acidic amino acids important for activation *in vivo*. *Mol Cell Biol*, 1997, 17: 115~122
- 12 Chern M S, Bobb A J, Bustos M M. The regulator of MAT2(ROM2) protein binds to early maturation promoters and repressors PvALF activated transcription. *Plant Cell*, 1996, 8: 305~321
- 13 Kriz A L, Wallace M S, Paiva R. Globulin gene expression in embryos of maize *viviparous* mutants. *Plant Physiol*, 1990, 92: 5538~5542
- 14 Boulikas T. Putative nuclear localization signals (NLS) in protein transcription factors. *J Cell Biochem*, 1994: 55: 32~58
- 15 Dehesh K, Smith L G, Tepperman J M, et al. Twin autonomous bipartite nuclear localization signals direct nuclear import of GT-2. *Plant J*, 1995, 8: 25~36
- 16 Lyck R, Harmening U, Hohfeld I, et al. Intracellular distribution and identification of the nuclear localization signals of two plant heat-stress transcription factors. *Planta*, 1997, 202: 117~125
- 17 Varagona M J, Schmidt R J, Raikhel N V. Nuclear localization signal(s) required for nuclear targeting of the maize regulatory protein Opaque-2. *Plant Cell*, 1992, 4: 1213~1227
- 18 Abel S, Theologis A. A polymorphic bipartite motif signals nuclear targeting of early auxin-inducible proteins related to PS-IAA4 from pea (*Pisum sativum*). *Plant J*, 1995, 8: 87~96
- 19 Varagona M J, Raikhel N V. The basic domain in the bZIP regulatory protein Opaque2 serves two independent function: DNA binding and nuclear localization. *Plant J*, 1994, 5: 207~214
- 20 Goff S A, Cone K C, Chandler V L. Functional analysis of the transcriptional activator encoded by the maize *B* gene: evidence for a direct functional interaction between two classes of regulatory proteins. *Genes Dev*, 1992, 6: 864~875
- 21 Goff S A, Cone K C, Fromm M E. Identification of functional domains in the maize transcriptional activator C1: comparison of wild-type and dominant inhibitor proteins. *Genes Dev*, 1991, 5: 298~309
- 22 Klimczak L J, Collinge M A, Farini D, et al. Reconstitution of *Arabidopsis* casein kinase II from recombinant subunits and phosphorylation of transcription factor GBF1. *Plant Cell*, 1995, 7: 105~115
- 23 Ciceri P, Gianazza E, Lazzari B, et al. Phosphorylation of Opaque2 changes diurnally and impacts its DNA binding activity. *Plant Cell*, 1997, 9: 97~108
- 24 Vincentz-Carbajosa J, Moose S P, Parsons R L, et al. A maize zinc-finger protein binds the prolamins box in zein gene promoters and interacts with the basic leucine zipper transcriptional activator Opaque2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 7685~7690
- 25 Nantel A, Quatrano R S. Characterization of three rice basic/leucine zipper factors, including two inhibitors of EmBP-1 DNA-binding activity. *J Biol Chem*, 1996, 271: 31296~31305
- 26 Schultz TF, Spiker S, Quatrano RS. Histone H1 enhances the DNA binding activity of the transcription factor EmBP-1. *J Biol Chem*, 1996, 271: 25742~25745
- 27 Bevan M, Bancroft I, Bent E, et al. Analysis of 1.9 Mb of contiguous sequence from chromosome 4 of *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 1998, 391: 485~488
- 28 Kasuga M, Liu Q, Miura S, et al. Improving plant drought, salt and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nature Biotechnology*, 1999, 17: 287~291

- 29 Chattopadhyay S, Ang L H, Puente P, et al. Arabidopsis bZIP protein HY5 directly interacts with light-responsive promoters in mediating light control of gene expression. *Plant Cell*, 1998, 10: 673~683
- 30 Schmitz D, Lohmer S, Salamini F, et al. The activation domain of the maize transcription factor Opaque-2 resides in a single acidic region. *Nucleic Acid Research*, 1997, 25: 756~763
- 31 Bass H W, Webster C, Obrian G R, et al. A maize ribosome-inactivating protein is controlled by the transcriptional activator *Opaque-2*. *Plant Cell*, 1992, 4: 225~234
- 32 Maddaloni M, Donini G, Balconi C, et al. The transcriptional activator *Opaque-2* controls the expression of a cytosolic form of pyruvate orthophosphate dikinase-1 in maize endosperms. *Mol Gen Genet*, 1996, 250: 647~654
- 33 Pirovano L, Lanzini S, Hartings H, et al. Structural and functional analysis of an *Opaque-2*-related gene from sorghum. *Plant Mol Biol*, 1994, 24: 515~523
- 34 Albani D, Hammond-Kosack M C U, Smith C, et al. The wheat transcriptional activator SPA: a seed-specific bZIP protein that recognizes the GCN4-like motif in the bifactorial endosperm box of prolamin genes. *Plant Cell*, 1997, 9: 171~184
- 35 de Souza Filho G A, da Silva M J, Vettore A L, et al. Identification of a DNA-binding factor that recognizes an  $\alpha$ -coixin promoter and interacts with a *Coix* Opaque-2 like protein. *Plant Mol Biol*, 1999, 39: 95~104
- 36 Wu C Y, Suzuki A, Washida H, et al. The GCN4 motif in a rice glutelin gene is essential for endosperm-specific gene expression and is activated by Opaque-2 in transgenic rice plants. *Plant J*, 1998, 14: 673~683
- 37 Pysh L D, Aukerman M J, Schmidt R J. OHP1: a maize basic bomain/leucine zipper protein that interacts with Opaque2. *Plant Cell*, 1993, 5: 227~236
- 38 Mizoguchi T, Yamaguchi-Shinozaki K, Hayashida N, et al. Cloning and characterization of two cDNAs encoding casein kinase II catalytic subunits in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 1993, 21: 279~289
- 39 Okamuro J K, Caster B, Villarroel R, et al. The AP2 domain of *APETALA2* defines a large new family of DNA binding proteins in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 7076~7081
- 40 Allen M D, Yamasaki K, Oheme-Takagi M, et al. A novel mode of DNA recognition by a  $\beta$ -sheet revealed by the solution structure of the GCC-box binding domain in complex with DNA. *EMBO J*, 1998, 17(18): 5484~5496
- 41 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*. *Plant Cell*, 1998, 10: 1391~1406
- 42 刘 强, 赵南明, Yamaguchi-Shinozaki K, 等. DREB 转录因子在提高植物抗逆性中的作用. *科学通报*, 2000, 45(1): 11~16
- 43 McCarty D R. Genetic control and integration of maturation and germination pathways in seed development. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1995, 46: 71~93
- 44 Hattori T, Vasil V, Rosenkrans L, et al. The *Viviparous-1* gene and abscisic acid activate the *C1* regulatory gene for anthocyanin biosynthesis during seed maturation in maize. *Genes Dev*, 1992, 6: 609~618
- 45 Kao C Y, Cocciolone S M, Vasil I K, et al. Localization and interaction of the cis-acting elements for abscisic acid, VIVIPAROUS1, and light activation of the *C1* gene of maize. *Plant Cell*, 1996, 8: 1171~1179
- 46 Suzuki M, Kao C Y, McCarty D R. The conserved B3 domain of VIVIPAROUS1 has a cooperative DNA binding activity. *Plant Cell*, 1997, 9: 799~807
- 47 Vasil I K, Marcotte Jr W R, Rosenkrans L, et al. Overlap of Viviparous-1(VP1) and abscisic acid response elements in the *Em* promoter: G-box elements are sufficient but not necessary for VP1 transactivation. *Plant Cell*, 1995, 7: 1511~1518
- 48 Schultz T F, Medina J, Hill A, et al. 14-3-3 protein are part of an abscisic acid-VIVIPAROUS1 (VP1) response complex in the *Em* promoter and interact with VP1 and EmBP1. *Plant Cell*, 1998, 10: 837~847
- 49 Hoecker U, Vasil I K, McCarty D R. Integrated control of seed maturation and germination programs by activator and repressor functions of Viviparous-1 of maize. *Genes Dev*, 1995, 9: 2459~2469

(2000-01-30 收稿)