

禾本科植物单锌指家族基因对逆境应答的研究进展

刘文婷, 马田田, 周春菊, 藏潇, 李浪金, 张宝军, 杜威, 张炜丽, 陈坤明

西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100

刘文婷, 马田田, 周春菊, 等. 禾本科植物单锌指家族基因对逆境应答的研究进展. 生物工程学报, 2016, 32(5): 541-553.

Liu WT, Ma TT, Zhou CJ, et al. Advances in stress response of DNA binding with one finger transcription factor family genes in graminaceous plants. Chin J Biotech, 2016, 32(5): 541-553.

摘要: 转录调控是植物生长发育、逆境反应、信号转导、抗病性等一系列基因表达的最主要调控形式, 转录因子是参与基因转录水平调控过程的重要反式因子。单锌指 (DNA binding with one finger, DOF) 转录因子是植物特有的一类转录因子, 包含一个 C₂-C₂ 锌指结构, 其 N-末端保守的 DOF 结构域是能与 DNA 和蛋白相互作用的双重功能域, 在植物生长发育过程中参与多种生物学过程。尽管已有研究报道 DOF 家族基因参与植物抗逆响应, 但其在禾谷类重要粮食作物中的作用机制还极不明确。本文通过对禾本科植物 DOF 家族基因系统进化分析及组织表达和诱导表达分析, 综述了 DOF 家族基因参与植物胁迫应答方面的相关研究进展, 为进一步深入了解禾本科植物抗逆机制提供重要参考。

关键词: 转录因子, 抗逆性, 单锌指家族基因, 禾本科植物

Advances in stress response of DNA binding with one finger transcription factor family genes in graminaceous plants

Wenting Liu, Tiantian Ma, Chunju Zhou, Xiao Zang, Langjin Li, Baojun Zhang, Wei Du, Weili Zhang, and Kunming Chen

College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China

Abstract: Transcription factor is a key trans-acting factor to mediate stress response by regulating gene expression. Plants have developed a series of mechanisms to modulate development, stress response, signaling and disease resistance at

Received: July 31, 2015; **Accepted:** October 15, 2015

Supported by: National Natural Science Fund of China (No. 31270299), Natural Science Fund of Shaanxi Province (No. K3320215182), Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. Z1090201430).

Corresponding author: Kunming Chen. Tel: +86-29-87092262; E-mail: kunmingchen@nwsuaf.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 31270299), 陕西省自然科学基金 (No. K3320215182), 高校基本科研业务费基金项目 (No. Z1090201430) 资助。

网络出版时间: 2015-11-11

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20151111.1619.002.html>

transcription level. DNA binding with one finger (DOF), containing one C₂-C₂ zinc finger domain, is a special plant transcription factor. Specifically, the conserved domain at N-terminus of DOF has multiple functions, including interacting with DNA and protein, which could be involved in plant development and stress response. Although many DOF family genes are characterized in plant stress response, it is not clear if DOF genes have functions in cereal plants. In the present paper, the role of DOF family genes on cereal plants were discussed based on a comprehensive phylogenetic relationship analysis, expression profiles in different tissues and various environmental conditions. The results obtained here will provide an important reference for further understanding the mechanism of gramineous crops in stress resistance.

Keywords: transcription factor, stress resistance, DOF family genes, graminaceous plants

转录因子又称反式作用因子 (Trans-acting factor),是指能够与目的基因启动子区域的顺式作用元件 (Cis-acting element) 特异性结合并对转录有激活或抑制作用的 DNA 结合蛋白。典型的转录因子一般含有 4 个功能结构域:即 DNA 结合区、转录调控区 (包括激活和抑制域)、寡聚化位点及核定位信号区^[1]。转录因子通过这些功能区域,在特定的时间进入细胞核内与启动子顺式作用元件或其他转录因子的功能区域相互作用,进而调控基因的转录表达。转录因子根据其结构特性可以分为不同的基因家族,这些基因家族又可依据保守域的数目、间隔以及保守域外的功能域分为不同的亚家族^[1-2]。

植物在生长发育过程中会经历各种生物及非生物胁迫,这些环境胁迫往往严重影响植物生长发育。植物响应环境胁迫的机制也极其复杂,涉及一系列在基因组、细胞和整体生理水平上的适应性改变^[3]。在植物抵御各种胁迫反应中,转录因子所介导的基因表达调控网络起着重要作用,被认为是植物响应和适应逆境的关键途径之一^[4-6]。在逆境条件下,植物中的许多基因被诱导或阻遏^[4-5,7-8]。许多转录因子家族,包括 AM/ATAF1/CUC2 (NAC)、WRKY、MYB、锌指蛋白 Cys₂ (C₂) His₂ (H₂) type zinc finger protein (ZFP)、螺旋环螺旋 basic helix-loop-helix (bHLH) 和碱性亮氨酸拉链 basic leucine zipper

(bZIP) families 等,参与对激素和逆境胁迫的响应^[4-5,7-8]。这些转录因子与特定的顺式作用元件结合,组成调控网络,特异地调控植物胁迫反应中众多抗性相关基因的表达,从而提高植物对环境胁迫的适应能力。

DOF (DNA binding with one finger) 转录因子是植物特有的一类转录因子,因其具有一个单锌指结构,因此被称为 DOF。在植物生长发育过程中参与多种生物学过程,如碳氮代谢^[9-10]、光响应^[11-12]、花和花粉发育^[13-15]、种子发育和萌发^[16-18]、次生代谢^[19-20]、保卫细胞特异基因的调控^[21]、维管发育和叶片极性^[22]。最近有研究表明,DOF 转录因子也参与植物逆境响应过程^[23-26]。DOF 家族成员众多,例如禾本科植物水稻、小麦、高粱和甘蔗中,分别具有 31、31、28 和 26 个 DOF 转录因子^[23,27-29]。四种禾本科植物中的 116 个 *Dof* 基因,依据其进化关系可分为 10 个不同的亚族^[29],表明 DOF 转录因子在禾本科植物生长发育及胁迫响应中可能具有重要作用。然而,现阶段 DOF 家族基因参与植物尤其是禾谷类粮食作物发育调控与胁迫响应的机制还极不明确,亟待深入研究。

1 禾本科植物 DOF 家族基因的系统发育分析

DOF 蛋白在植物生长发育过程中发挥着重

要的作用,目前,对 *Dof* 基因的研究越来越多。DOF 转录因子系统分类对其结构和功能多样性的认识具有十分重要的意义。禾本科植物是种子植物中最有经济价值的大科,其中水稻、小麦、玉米是世界三大粮食作物,甘蔗、高粱是重要的糖料和能源 C_4 作物,它们作为人类粮食和牲畜饲料的主要来源以及工业生产的原材料在中国被广泛种植^[30]。因此,对整个禾本科作物 DOF 家族基因进行准确鉴定与系统发育分析,具有重要的理论与现实意义。人们首次对整个 DOF 家族成员进行系统分类,主要是根据拟南芥的全基因组序列预测的 *Dof* 基因及来自玉米、大麦、小麦、烟草和水稻等的部分 *Dof* 成员进行的^[31]。通过分析,人们对禾本科 *Dof* 基因家族的类型、分布以及结构特点有了较全面的认识和理解。

二穗短柄草 *Brachypodium distachyon* 是第一个被测序的禾本科植物,已成为小麦、大麦等温带禾谷类研究的模式作物^[32]。有人从二穗短柄草 (<http://blast.brachypodium.org/>) 数据库中搜集到了 27 个 *Dof* 转录因子家族基因,分布在不同的 5 条染色体上,根据系统进化分析将 *BdDof* 基因归为 A、B、C 和 D 四个亚家族,其中 A 和 C 亚家族包括 22 个成员, B 和 D 亚家族分别包括 3 和 2 个成员^[32]。

2003 年, Lijavetzky 等首次对水稻 DOF 家族成员进行系统分类:收集到了 30 个水稻 *Dof* 基因序列,它们分布于水稻 11 条染色体中(11 号染色体除外),其中,1 号和 3 号染色体包含的数目最多,各含有 6 个 *Dof* 基因;水稻 *Dof* 基因所编码的蛋白质长度为 175–551 个氨基酸, DOF 结构域位于其 N 端的 20–171 氨基酸之间。将水稻 DOF 基因家族可分为 A、B、C、D 四个

亚家族^[27]。

江海洋等^[33]收集到 18 个玉米 *Dof* 基因,其编码的蛋白长度变化较大,从 211–618 氨基酸都有分布,说明玉米 *Dof* 基因的起源和进化模式复杂,功能多样,可能参与多种代谢途径的调控。另外,对玉米的 *Dof* 基因的结构域和系统进化树分析表明:玉米 *Dof* 进化树具有 3 个明显的分支,不同成员基因结构相似性较高,家族基因成员相对水稻和拟南芥较少。水稻和拟南芥的进化树各有 4 个明显的分支,家族基因成员较多,说明 *Dof* 基因在不同植物中进化模式有所不同,功能上也可能存在差异。

小麦基因组中至少存在 31 个 *Dof* 基因,分为 4 个亚家族^[23]。*TaDof1/TaDof10*、*TaDof8*、*TaDof9* 和 *TaDof14*、*TaDof30* 属于 I 亚家族;*TaDof2*、*TaDof3* 和 *TaDof6*、*TaDof12*、*TaDof15* 属于 II 亚家族;*TaDof5*、*TaDof16*、*TaDof17*、*TaDof18*、*TaDof19*、*TaDof20*、*TaDof29*、*TaDof26* 和 *TaDof31* 属于 III 亚家族;*TaDof4*、*TaDof7*、*TaDof21*、*TaDof22*、*TaDof24*、*TaDof25*、*TaDof27* 和 *TaDof28* 属于 IV 亚家族^[23]。目前,已经克隆了 2 个与玉米 *ZmDof₁* 同源的相关小麦 *Dof* (*WPBF* 和 *TaDof1*) 基因,分析了它们在普通小麦不同组织中的表达及其在低氮条件下,植株对 N 的耐受性^[34]。但相对而言,由于小麦测序尚未完全完成,人们对其 *Dof* 家族基因结构和功能尚缺乏较系统研究。

近年来,我们实验室在植物抗逆性及其信号调控机制研究方面进行了较为深入的研究,发现并鉴定了一批与水稻和小麦 ROS 代谢调控密切相关的基因和基因家族,包括 DOF 家族。其中水稻 *OsDof1* (LOC_Os02g15350.1) 的表达受干旱胁迫诱导上调表达(图 1),表明其可能

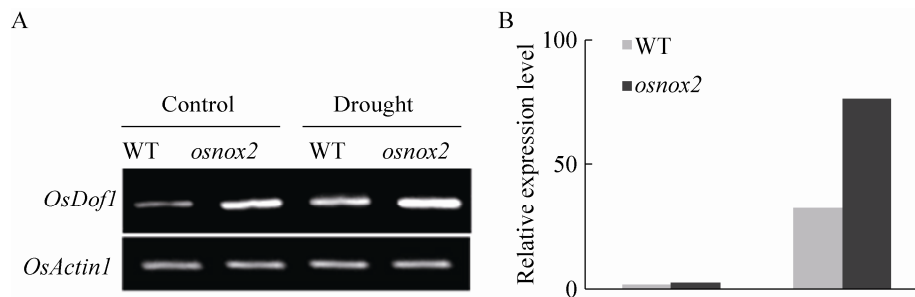


图 1 水稻 *OsDof1* 基因在干旱和 *osnox2* 突变体中的上调表达

Fig. 1 The up-regulation expression of *OsDof1* gene in wildtype rice and *osnox2* mutant under drought. (A) Expression of *OsDof1* gene by Semi-quantitative RT-PCR. (B) Expression of *OsDof1* gene by qRT-PCR.

参与植物干旱逆境响应过程。

为了进一步明确 DOF 家族基因在水稻和小麦等禾谷类作物中的功能及其逆境胁迫响应机制,我们利用公共的基因组数据库资源,收集了水稻、小麦和拟南芥 3 种植物 DOF 家族的 99 个氨基酸序列,系统发育分析和蛋白结构域分析结果表明,3 种植物的 DOF 家族成员聚为 5 个保守的亚家族即 Subs. I-V (图 2),其中 *OsDof1* 属于亚家族 I。与水稻 *OsDof1* 同源的两个小麦 *Dof* 基因 *TaDof1* 和 *TaDof2*,也属于亚家族 I (图 2)。进一步利用 Genevestigator 数据库中小麦基因芯片数据分析表明,*TaDof1* 和 *TaDof2* 基因在小麦不同发育时期均有表达(图 3A),且表现出一定的组织表达特异性,*TaDof1* 在颖片和旗叶中大量表达而 *TaDof2* 在根中大量表达(图 3B)。

另外,*TaDof1* 和 *TaDof2* 基因的表达还受 PEG 脱水、干旱和盐胁迫的影响(图 4)。在 PEG 脱水处理下,*TaDof1/2* 在小麦根和叶子中均明显下调表达,而在盐胁迫下,其在地上部分强烈上调表达;但在干旱胁迫下,两基因的表达表现出一定的品种差异(图 4)。这些结果初步

说明 *TaDof1/2* 基因是干旱、盐等胁迫的应答基因,但其如何参与植物逆境胁迫响应,是否与植物的抗逆性相关,其表达调控机制如何等问题,有待进一步深入研究。

2 禾本科植物 DOF 家族基因的组织表达分析

基因的组织表达谱通常可以暗示该基因在相应表达部位的生物学功能^[35]。EST 数据及定量 RT-PCR 结果均表明:在禾本科植物水稻、玉米和小麦中,大部分 *Dof* 基因在各个组织或器官中都有不同程度的表达,表明这些基因可能在植物生长的各个发育时期都发挥功能。其中,部分基因特异器官和优势表达特征,可能在植物生长发育的某一个或某几个发育阶段发挥特殊功能。

周淑芬等^[36]利用 RT-PCR 技术分析了 DOF 家族基因在粳稻日本晴 *Oryza sativa* L. Japonica 植株幼苗、根、茎、叶、种子等组织中的表达情况发现,在 30 个水稻 *Dof* 基因中除了 *OsDof9* 在所检测的组织中没有表达外,其他 *Dof* 基因均能在 1 个或多个组织中差异表达,其中 22 个

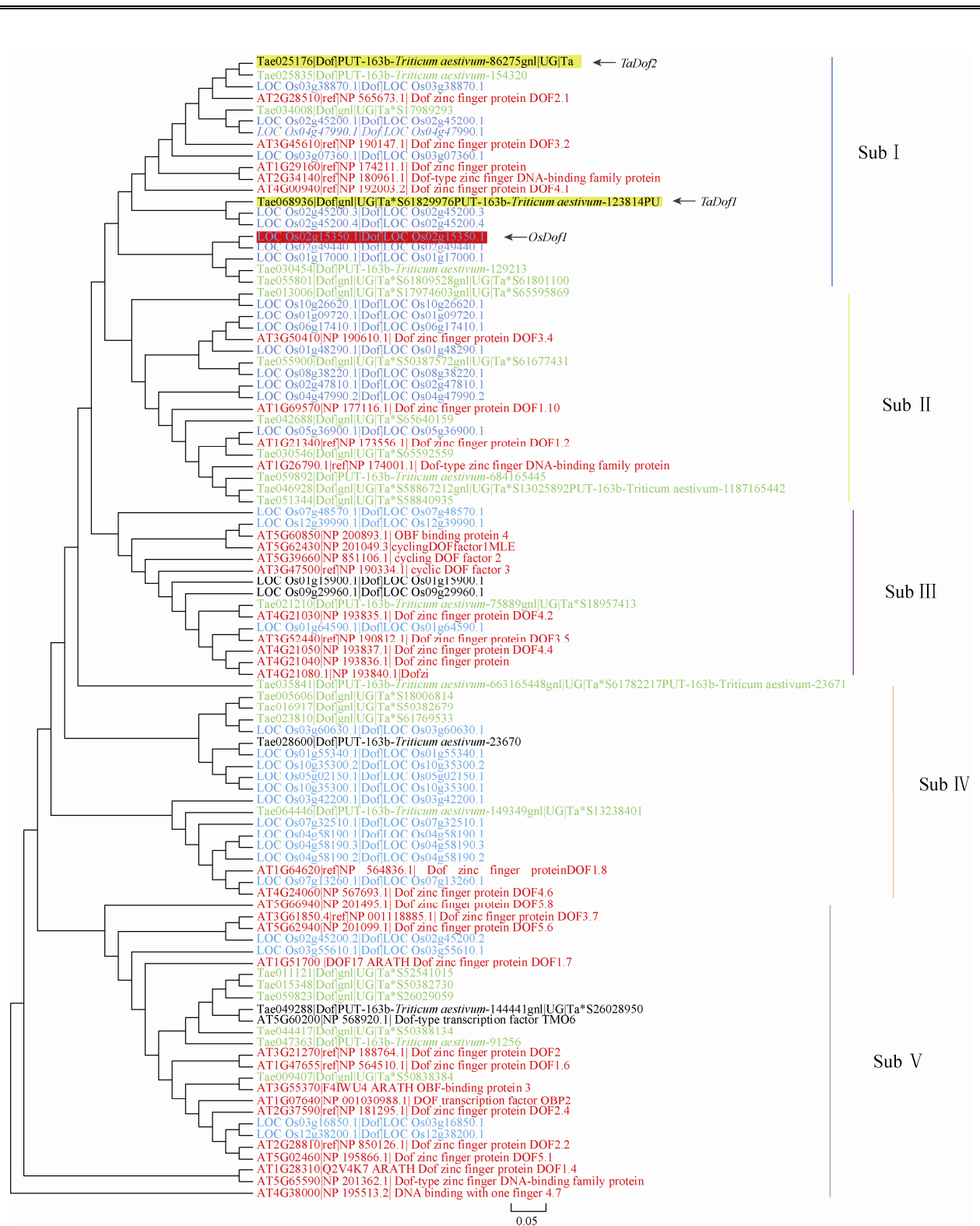


图 2 植物 DOF 家族基因系统发育分析

Fig. 2 The phylogenetic tree constructed from a complete alignment of OsDof, AtDof and TaDof 99 proteins by NJ method.

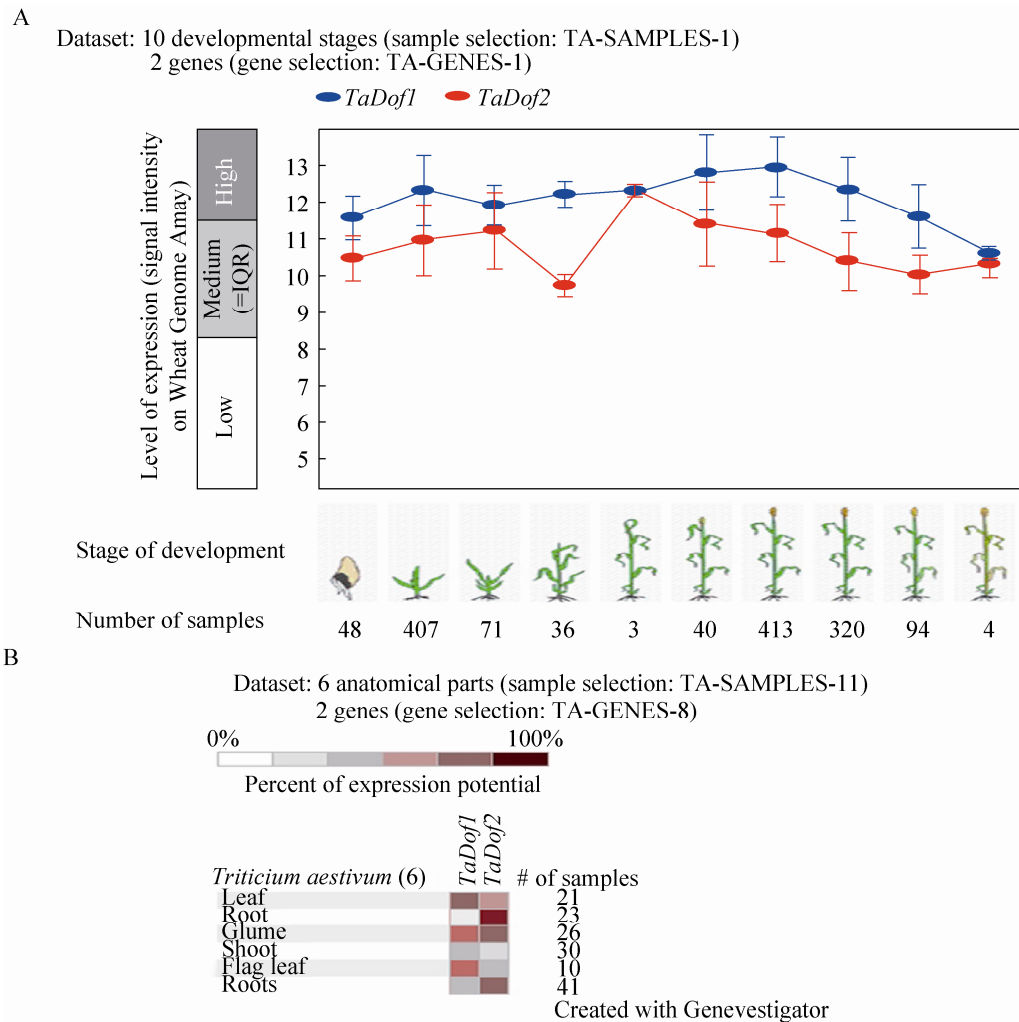
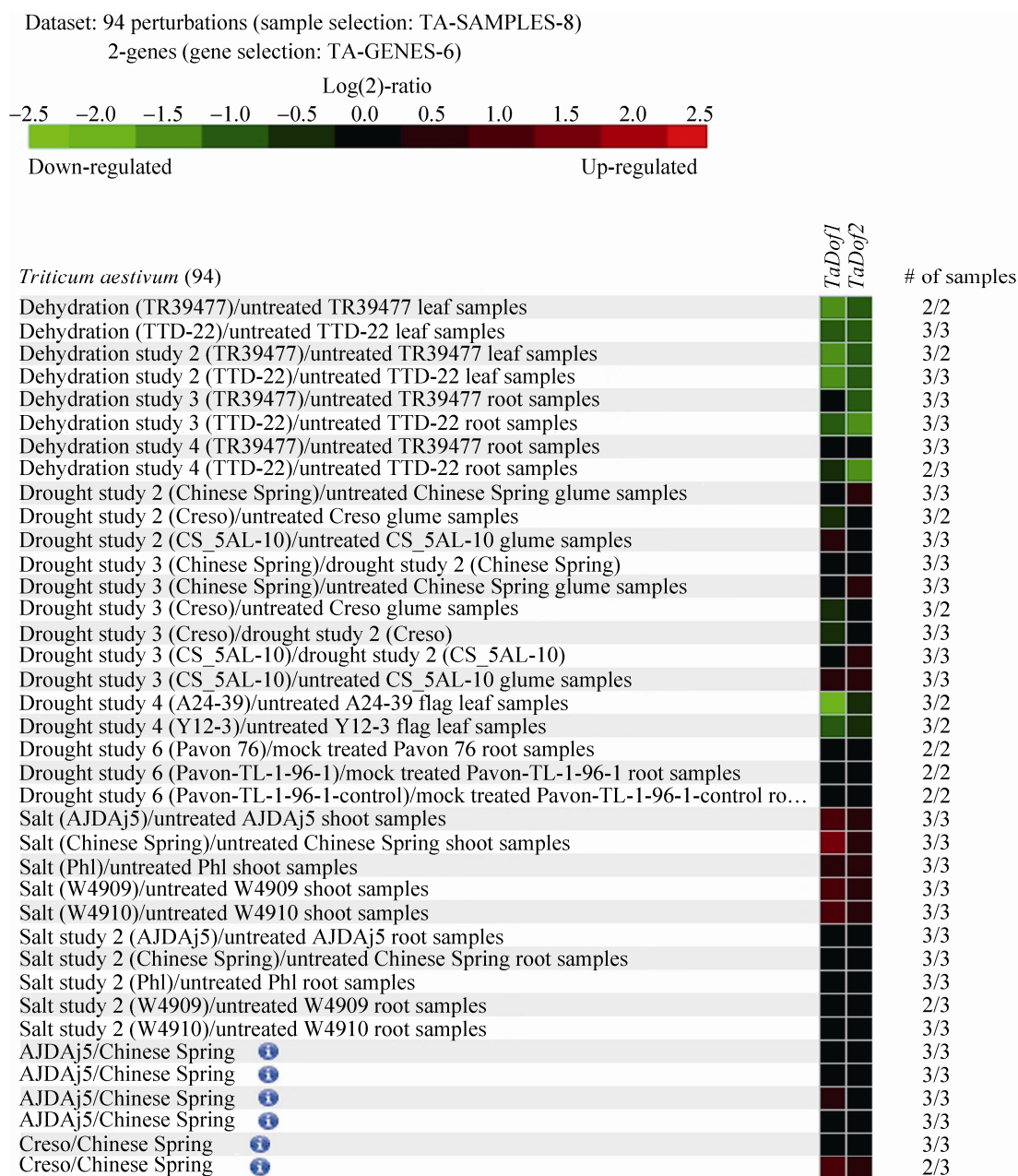


图 3 利用芯片数据库 Genevestigator 分析 *TaDof1/2* 基因在不同发育时期和组织中的差异表达

Fig. 3 Differential expression profiles of *TaDof1/2* genes in different development stage and tissues with Genevestigator. (A) Expression of *TaDof1/2* genes in different development stage. Note: Blue color represents *Tadof1*; Red color represents *TaDof2*. (B) Expression profiles of *TaDof1/2* genes in different tissues. Note: color scale represents log₂ expression values, white represents low level and red indicates high level of transcript abundances.

基因在 3 个及以上的组织中表达。依据表达水平的高低，将水稻 *Dof* 基因家族成员分为低、中、高丰度表达 3 大类：低丰度表达基因的相对表达量为 0–5，包括 *OsDof1*、*OsDof4*、*OsDof6*、*OsDof13*、*OsDof14*、*OsDof15*、*OsDof21*、*OsDof19*、*OsDof20*、*OsDof25* 和 *OsDof29* 共 11

个成员；中丰度表达基因的相对表达量为 5–50，也有 11 个成员，包括 *OsDof3*、*OsDof5*、*OsDof8*、*OsDof12*、*OsDof16*、*OsDof17*、*OsDof18*、*OsDof22*、*OsDof23*、*OsDof26* 和 *OsDof30*；高丰度表达基因 7 个成员，包括 *OsDof2*、*OsDof7*、*OsDof10*、*OsDof11*、*OsDof24*、*OsDof27* 和



Created with Genevestigator

图 4 利用芯片数据库 Genevestigator 分析小麦 TaDof1/2 基因在不同非生物逆境条件下的差异表达

Fig. 4 Differential expression profile of *TaDof1/2* genes in different abiotic stress with Genevestigator. Note: color scale represents log₂ expression values, green represents low level and red indicates high level of transcript abundances.

OsDof28。另外他们还发现,在这些表达的 *Dof* 基因中,*OsDof9* 基因具有器官特异或优势表达特征,*OsDof6* 和 *OsDof15* 在根中特异表达,*OsDof7* 在种子特异表达,*OsDof8* 在种子中优势表达,*OsDof2* 在苗中优势表达,而 *OsDof11*、*OsDof24*、*OsDof27* 和 *OsDof30* 在叶中优势强表达,显示这些基因在水稻特定器官的发育与调节中发挥重要功能。然而,目前仅有两个水稻特异或优势表达 DOF 基因的生物学功能得到较深入的研究,分别为种子特异表达基因 *OsDof7* (RPBF) 和叶中优势表达基因 *OsDof11*。*OsDof7* 可能通过赤霉素信号途径在水稻种子萌发过程中发挥重要调控作用^[37],而 *OsDof11* 在长日照条件下通过调控长日控制因子如 Hd3a 和 OsMADS14 的表达水平而促进水稻开花^[38]。

ZmDof1 是首个从玉米中分离的 DOF 蛋白,定位于细胞核,可与磷酸烯醇式丙酮酸酶 PEPC (Phosphoenolpyruvate carboxylase) 基因的启动子区域结合,提高植物的 C₄ 光合效率;而另一个 DOF 转录因子 *ZmDof2*,可阻遏 PEPC 基因的表达,降低 C₄ 光合效率^[39]。*ZmDof1* 和 *ZmDof2* 在玉米营养器官包括根、茎、叶中都有表达^[40],且 *ZmDof1* 能够促进碳同化和促进植物在低氮环境条件下的生长^[41]。最近的研究发现,*ZmDof1* 基因不仅在营养器官中表达,而且也能在花和花粉器官中表达,调控花粉特异基因的表达,在光合作用和花粉发育中有双重作用^[15]。

如上所述,小麦的 31 个 DOF 家族基因可归为 4 个亚家族。总体而言,属于 I 亚家族的 *TaDof1/TaDof10*、*TaDof8*、*TaDof9* 和 *TaDof14*,除了 *TaDof9* 在胚乳中高表达外,其他基因均在根和叶中高量表达。而属于 II 亚家族的 *TaDof2*、

TaDof3 和 *TaDof6* 均在胚乳中表达量高,类似于 *TaDof9* 在胚乳中的表达。*TaDof2*、*TaDof3* 和 *TaDof6* 与 WPBF 同源^[35],WPBF 是一类胚乳特异表达基因的正调控因子,其表达受到赤霉素 (GA) 的诱导^[42]。*TaDof5*、*TaDof6*、*TaDof18*、*TaDof19* 和 *TaDof26* 属于 III 亚家族,这一亚家族的基因主要在营养器官中高表达,但是 *TaDof26* 在胚乳中表达量高。而属于 IV 亚家族 *TaDof4*、*TaDof7*、*TaDof21*、*TaDof22*、*TaDof24*、*TaDof25* 和 *TaDof27* 均在根和茎中高量表达。此外,*TaDof1/2* 在根中表达量高,而 *TaDof15* 在穗中表达量高。然而,小麦 *Dof* 基因的具体生物学功能,尚缺乏深入研究。

3 禾本科植物 DOF 家族基因的诱导表达分析

自然界中的植物在整个生育期内不可避免受到多种不良环境变化的影响,有时甚至遭受严酷的环境胁迫。逆境胁迫主要包括生物胁迫和非生物胁迫两大类。在农业生产中生物胁迫主要包括病害、虫害、杂草等,而非生物胁迫主要包括干旱、水涝、低温、高温、盐碱等。这些逆境胁迫是影响和限制植物正常生长发育、并造成作物严重减产的主要因素之一。许多转录因子在植物响应干旱、激素、高盐、病原等胁迫反应中起重要作用。现有研究表明,DOF 蛋白作为转录激活子或抑制子可参与调节植物的光、激素及防御反应等^[43],表明其在植物逆境胁迫响应中具有重要功能。对禾本科植物 *Dof* 基因的逆境响应表达谱进行分析,可为进一步了解并明确 *Dof* 基因的功能及其对逆境胁迫响应机制提供有价值的线索,为阐明 *Dof*

基因与作物抗逆性之间的关系及其分子调控机制提供参考。

研究表明,31个小麦 *Dof* 基因中,17个基因能够响应干旱胁迫。这些干旱响应基因,除了 *TaDof14* 和 *TaDof15* 基因在干旱条件下的表达明显上调外,其余15个下调^[23],表明多数 *Dof* 基因可能负向调控植物的干旱适应性。另外,基因芯片分析数据表明,在热胁迫时,*TaDof5*、*TaDof17* 和 *TaDof19* 随着胁迫时间的推移,其表达均明显下调;而在盐胁迫处理下,只有 *TaDof1* 在茎中有明显的上调表达,其余的 *Dof* 基因的表达变化很小或者不表达,表明 *TaDof1* 基因可能与抗盐适应性密切相关^[23]。此外研究还发现,*TaDof1* 参与氮同化过程,能诱导氮同化相关基因如 GS 和 GOGAT 的表达^[44]。

周淑芬等^[36]在水稻中的研究表明,7个 *Dof* 基因,包括 *OsDof2*、*OsDof5*、*OsDof12*、*OsDof22*、*OsDof24* 和 *OsDof27*, 受 ABA 诱导上调表达,而9个基因,包括 *OsDof1*、*OsDof3*、*OsDof8*、*OsDof11*、*OsDof13*、*OsDof17*、*OsDof18*、*OsDof20* 和 *OsDof26*, 受 ABA 诱导下调表达,其中 *OsDof2*、*OsDof3*、*OsDof11*、*OsDof12*、*OsDof27* 和 *OsDof24* 基因受 ABA 影响强烈。在 NaCl 逆境下,8个基因的表达受到诱导,10个基因表达受到抑制,其中 *OsDof27*、*OsDof11*、*OsDof2*、*OsDof24*、*OsDof5* 诱导表达丰度及上调倍数较高。在 PEG 处理中,30个基因中仅有 *OsDof11*、*OsDof2* 和 *OsDof10* 三个基因的表达受到显著抑制,而多达20个基因的表达被明显上调,其中4个基因 (*OsDof2*、*OsDof27*、*OsDof11* 和 *OsDof10*) 上调倍数较高。另外,定量 RT-PCR 分析结果表明,水稻 *Dof* 基因在幼苗期正常生

长、暗处理、ABA、NaCl 和 PEG 等胁迫条件下,除了2个基因 (*OsDof9* 和 *OsDof25*) 的表达不受任何胁迫的影响和1个基因 (*OsDof10*) 只受 PEG 调节外,其他27个基因的表达水平在2种及以上胁迫条件下均发生了不同程度的上调或下调,暗示水稻 *Dof* 基因广泛参与各种胁迫的应答反应及其逆境信号传递与调控,但其具体的作用机制尚不明确,需进一步的深入研究。

4 展望

转录因子不但参与植物对生物与非生物胁迫的应答,同时还作为信号分子直接调控植物的生长发育。转录因子往往通过影响下游一系列基因的表达来调控发育过程或响应环境胁迫,因此往往是发育调控的“开关分子”,相对于其他单基因的操纵,人为控制某些关键转录因子的表达更能影响植物在胁迫下的生长和产量。随着转录因子功能研究技术与方法的日益成熟,众多具有重要生物学功能的转录因子将得到深入研究,这为通过操纵转录因子提高农作物产量和胁迫抗性提供了可能。尤其是在气候灾害频繁威胁农作物生产和产量的今天,通过转录因子对农作物进行改良,具有极其重要的现实意义。通过基因工程手段导入某些转录因子,有望通过触发一系列信号传递过程,激发相关转录因子与相应的顺式作用元件的结合,从而启动特定基因的表达以对内、外界信号作出适应性反应。

自从1993年首次从玉米中鉴定报道第一个植物 DOF 转录因子以来^[45],许多的植物 *Dof* 基因被克隆鉴定或从基因组数据库中预测出来。从单细胞藻类到高等植物,都有 *Dof* 基因被鉴

定的报道。在苔藓植物小立碗藓中预测有 19 个 *Dof* 基因,绿藻植物莱因衣藻中预测有 1 个 *Dof* 基因^[46],蕨类植物中预测有 8 个 *Dof* 基因。在高等植物中,裸子植物火炬松中被预测有 8 个 *Dof* 基因^[47];拟南芥基因组中存在 37 个(其中 *AtDof1.9* 随后被证明是一个假基因)^[24,31]、水稻中 30 个^[27]、白杨中 41 个^[48]、大麦中 28 个^[47]、大豆中 31 个^[16]、面包小麦中 18 个^[23]、玉米中 18 个^[33]和高粱中 28^[28];另外,在穆子^[49]、海岸松^[50]、甘薯^[51]、马铃薯^[52]、豌豆^[53]和烟草^[54]等植物中也鉴定到了多个 *Dof* 基因。

尽管已有研究表明 DOF 广泛参与植物生长发育调控过程,且部分 *Dof* 基因被克隆。比如,在烟草 *Nicotian tabacum* cv. Xanthi 中,有报道,BBF1(属于烟草中的 *Dof* 基因)涉及到许多防御相关基因的转录调控,BBF1 超表达能够促进了活性氧的产生和防御相关基因的表达^[55]。在白菜 *Brassica rapa* L. ssp. Pekinensis 中,已鉴定到了 76 个 *Dof* 家族成员,其中 9 个 *BraDof* 基因进行冷、热、盐和干旱非生物逆境胁迫处理,大部分基因在 4 种胁迫处理下均上调表达,显示 *BraDof* 转录因子通过复杂的作用机制在植物对非生物胁迫抗性中发挥重要作用^[25]。在西红柿中,与拟南芥 Cycling DOF Factors (CDFs) 同源的西红柿 *SICDF1* 和 *SICDF3* 主要参与光周期开花响应和非生物逆境抗性响应,与野生型植物相比,转基因 *SICDF1* 和 *SICDF3* 植株抗盐和抗旱性提高^[26]。在转基因水稻中,超表达 *OsDof12* 促进早期开花^[56]; *OsDof3* 基因参与赤霉素调控的目的基因的表达^[37]。在大麦中, *HvDof24*、*HvDof23* 和 *HvDof17* 3 个 *HvDof* 基因参与调控赤霉素和细胞分裂素之间的平衡^[57-59]。这些研究证明,植物的 DOF

家族基因参与植物非生物逆境胁迫应答过程,在植物抗逆中具有重要作用。随着基因组学和生物信息学的发展及对 DOF 蛋白的深入研究,越来越多的 DOF 蛋白将会被发现、鉴定与克隆,这对阐释 DOF 蛋白参与作物逆境胁迫响应及在抗逆性中的作用和地位具有重要意义。

如前所述,目前人们对禾本科植物 DOF 蛋白参与植物生物与非生物逆境响应的机制还极不清楚,相关研究大多仍局限在表达部位、亚细胞定位和胁迫诱导检测等方面,对其参与逆境应答的方式、作用机制及分子调控途径等仍未阐明,人们对其功能的认识依然十分有限。因此,禾本科粮食作物 DOF 家族基因的逆境应答机制的阐明,将是未来研究的重要方向之一,具有重要科学与现实意义。

REFERENCES

- [1] Liu LS, White MJ, MacRae TH. Transcription factors and their genes in higher plants: functional domains, evolution and regulation. *Eur J Biochem*, 1999, 262(2): 247-257.
- [2] Cai XF, Zhang YY, Zhang JH, et al. Advances in research on function of the *Dof* gene family in plant. *Plant Physiol J*, 2013, 49(1): 1-12 (in Chinese).
蔡晓锋, 张余洋, 张俊红, 等. 植物 *Dof* 基因家族功能研究进展. *植物生理学报*, 2013, 49(1): 1-12.
- [3] Arkinson NJ, Urwin PE. The interaction of plant biotic and abiotic stresses, from genes to the field. *J Exp Bot*, 2012, 63(10): 3523-3543.
- [4] Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annual Rev Plant Biol*, 2006, 57, 781-803.
- [5] Nakashima K, Ito Y, Yamaguchi-Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in *Arabidopsis* and grasses. *Plant*

- Physiol, 2009, 149: 88–95.
- [6] Kodaira KS, Qin F, Phan Tran LS, et al. *Arabidopsis* Cys2/His2 zinc-fingerproteins AZF1 and AZF2 negatively regulate abscisic acidrepressive and auxin-inducible genes under abiotic stress conditions. *Plant Physiol*, 2011, 157(2): 742–756.
- [7] Golldack D, Lüking I, Yang O. Plant tolerance to drought and salinity: stress regulating transcription factors and their functional significance in the cellular transcriptional network. *Plant Cell Rep*, 2011, 30(8): 1383–1391.
- [8] Lindemose S, O’Shea C, Jensen MK, et al. Structure, function and networks of transcription factors involved in abiotic stress responses. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3): 5842–5878.
- [9] de Dios Barajas-López J, Tezycka J, Travaglia CN, et al. Expression of the chloroplast thioredoxins *f* and *m* is linked to short-term changes in the sugar and thiol status in leaves of *Pisum sativum*. *J Exp Bot*, 2012, 63(13): 4887–4900.
- [10] Yanagisawa S, Akiyama A, Kisaka H, et al. Metabolic engineering with Dof1 transcription factor in plants: improved nitrogen assimilation and growth under low-nitrogen conditions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(20): 7833–7838.
- [11] Imaizumi T, Schultz TF, Harmon FG, et al. FKF1 F-box protein mediates cyclic degradation of a repressor of *CONSTANS* in *Arabidopsis*. *Science*, 2005, 309(5732): 293–297.
- [12] Sawa M, Nusinow DA, Kay SA, et al. FKF1 and GIGANTEA complex formation is required for day-length measurement in *Arabidopsis*. *Science*, 2007, 318(5848): 261–265.
- [13] Iwamoto M, Higo K, Takano M. Circadian clock- and phytochrome-regulated Dof-like gene, *Rddl*, is associated with grain size in rice. *Plant Cell Environ*, 2009, 32(5): 592–603.
- [14] Li CL, Lü J, Zhao X, et al. TaCHP, a wheat zinc finger protein gene down-regulated by abscisic acid and salinity stress plays a positive role in stress tolerance. *Plant Physiol*, 2010, 154(1): 211–221.
- [15] Chen XY, Wang DX, Liu C, et al. Maize transcription factor Zmdof1 involves in the regulation of *Zm401* gene. *Plant Growth Regul*, 2012, 6(3): 271–284.
- [16] Wang HW, Zhang B, Hao YJ, et al. The soybean Dof-type transcription factor genes, *GmDof4* and *GmDof11*, enhance lipid content in the seeds of transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant J*, 2007, 52(4): 716–729.
- [17] Mena M, Vicente-Carbajosa J, Schmidt RJ, et al. An endosperm-specific DOF protein from barley, highly conserved in wheat, binds to and activates transcription from the prolaminbox of a native B-hordein promoter in barley endosperm. *Plant J*, 1998, 16(1): 53–62.
- [18] Dong GQ, Ni ZF, Yao YY, et al. Wheat Dof transcription factor WPBF interacts with *TaQM* and activates transcription of an alpha-gliadin gene during wheat seed development. *Plant Mol Biol*, 2007, 63(1): 73–84.
- [19] Skirycz A, Jozefczuk S, Stobiecki M, et al. Transcription factor AtDOF4; 2 affects phenylpropanoid metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 2007, 175(3): 425–438.
- [20] Skirycz A, Reichelt M, Burow M, et al. DOF transcription factor AtDof1.1 (OBP2) is part of a regulatory network controlling glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2006, 47(1): 10–24.
- [21] Cominelli E, Galbiati M, Albertini A, et al. DOF-binding sites additively contribute to guard cell-specificity of *AtMYB60* promoter. *BMC Plant Biol*, 2011, 11: 162.
- [22] Kim HS, Kim SJ, Abbasi N, et al. The DOF transcription factor Dof5.1 influences leaf axial patterning by promoting *Revoluta* transcription in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2010, 64(3): 524–535.
- [23] Shaw LM, McIntyre CL, Gresshoff P M. Members of the Dof transcription factor family in *Triticum aestivum* are associated with light-mediated gene regulation. *Funct Integr Genomics*, 2009, 9(4): 485–498.
- [24] Malviya N, Gupta S, Singh VK, et al. Genome wide *in silico* characterization of *Dof* gene families of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L) Millsp.). *Mol Biol Rep*, 2015, 42(2): 535–552.

- [25] Ma J, Li MY, Wang F, et al. Genome-wide analysis of Dof family transcription factors and their responses to abiotic stresses in Chinese cabbage. *BMC Genomics*, 2015, 16: 33.
- [26] Corrales AR, Nebauer SG, Carrillo L, et al. Characterization of tomato Cycling Dof Factors reveals conserved and new functions in the control of flowering time and abiotic stress responses. *J Exp Bot*, 2014, 65(4): 995–1012.
- [27] Lijavetzky D, Carbonero P, Vicente-Carbajosa J. Genome-wide comparative phylogenetic analysis of the rice and *Arabidopsis* DOF gene families. *BMC Evolutionary Biology*, 2003, 3: 17.
- [28] Kushwaha H, Gupta S, Singh VK, et al. Genome wide identification of *Dof* transcription factor gene family in Sorghum and its comparative phylogenetic analysis with rice and *Arabidopsis*. *Mol Biol Rep*, 2011, 38(8): 5037–5053.
- [29] Gupta S, Kushwaha H, Singh VK, et al. Genome wide *in silico* characterization of Dof transcription factor gene family of sugarcane and its comparative phylogenetic analysis with *Arabidopsis*, rice and sorghum. *Sugar Tech*, 2014, 16(4): 372–384.
- [30] Aragón C, Carvalho LC, González J, et al. Sugarcane (*Saccharum* sp. Hybrid) propagated in headspace renovating systems shows autotrophic characteristics and develops improved anti-oxidative response. *Tropic Plant Biol*, 2009, 2(1): 38–50.
- [31] Yanagisawa S. The Dof family of plant transcription factors. *Trends Plant Sci*, 2002, 7(12): 555–560.
- [32] The International Brachypodium Initiative: Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. *Nature*, 2010, 463(11): 763–768.
- [33] Jiang HY, Luo C, Jiang T, et al. Genome-wide analysis of Dof transcription factor family genes in maize. *China J Bioinform*, 2010, 8(3): 198–201 (in Chinese).
江海洋, 骆晨, 江腾, 等. 玉米 Dof 转录因子家族基因的全基因组分析. *生物信息学*, 2010, 8(3): 198–201.
- [34] Dong GQ. Study on function of transcription factor WPBF and TaDof1 in wheat[D]. Beijing: China Agricultural University, 2006 (in Chinese).
董国清. 普通小麦转录因子 WPBF 和 TaDof1 功能研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2006.
- [35] Ravel C, Praud S, Murigneux A. Single-nucleotide polymorphism frequency in a set of selected lines of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome*, 2006, 49(9): 1131–1139.
- [36] Zhou SF, Yan JW, Liu HQ, et al. Transcriptional profiling analysis of OsDof gene family in various rice tissues and their expression characteristics under different stresses. *Mol Plant Breed*, 2012, 10(6): 635–643 (in Chinese).
周淑芬, 颜静宛, 刘华清, 等. 水稻 DOF 基因家族的组织表达谱及胁迫诱导表达特征分析. *分子植物育种*, 2012, 10(6): 635–643.
- [37] Washio K. Identification of Dof proteins with implication in the gibberellin-regulated expression of a peptidase gene following the germination of rice grains. *Biochim Biophys Acta (BBA): Gene Struct Exp*, 2001, 1520(1): 54–62.
- [38] Li DJ, Yang CH, Li XB, et al. Functional characterization of rice *OsDof12*. *Planta*, 2009, 229(6): 1159–1169.
- [39] Noguero M, Atif RM, Ochatt S, et al. The role of the DNA-binding One Zinc Finger (DOF) transcription factor family in plants. *Plant Sci*, 2013, 209: 32–45.
- [40] Yanagisawa S. Dof1 and Dof2 transcription factors are associated with expression of multiple genes involved in carbon metabolism in maize. *Plant J*, 2000, 21(3): 281–288.
- [41] Yanagisawa S. Dof domain proteins: plant-specific transcription factors associated with diverse phenomena unique to plants. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45(4): 386–391.
- [42] Vicente-Carbajosa J, Moose SP, Parsons RL, et al. A maize zinc-finger protein binds the prolamin box in zein gene promoters and interacts with the basic leucine zipper transcriptional activator Opaque2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 7685–7690.
- [43] Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Curr Opin Plant*

- Biol, 2003, 6(5): 410–417.
- [44] Kumar R, Taware R, Gaur VS, et al. Influence of nitrogen on the expression of TaDof1 transcription factor in wheat and its relationship with photosynthetic and ammonium assimilating efficiency. *Mol Biol Rep*, 2009, 36: 2209–2220.
- [45] Yanagisawa S, Izui K. Molecular cloning of two DNA-binding proteins of maize that are structurally different but interact with the same sequence motif. *J Biol Chem*, 1993, 268:16028–16036.
- [46] Shigyo M, Tabei N, Yoneyama T, et al. Evolutionary processes during the formation the plant-specific Dof transcription factor family. *Plant Cell Physiol*, 2007, 48(1): 179–185.
- [47] Moreno-Risueno MA, Martinez M, Vicente-Carbajosa J, et al. The family of DOF transcription factors: from green unicellular algae to vascular plants. *Mol Genet Genomics*, 2007, 277: 379–390.
- [48] Yang X, Tuskan GA, Cheng ZM. Divergence of the Dof gene families in poplar, *Arabidopsis*, and rice suggests multiple modes of gene evolution after duplication. *Plant Physiol*, 2006, 142: 820–830.
- [49] Gupta N, Gupta AK, Kumar A. Spatial distribution pattern analysis of Dof1 transcription factor in different tissues of three Eleusine coracana genotypes differing in their grain colour, yield and photosynthetic efficiency. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(3): 2089–2095.
- [50] Rueda-Lopez M, Crespillo R, Canovas FM, et al. Differential regulation of two glutamine synthetase genes by a single Dof transcription factor. *Plant J*, 2008, 56(1): 73–85.
- [51] Tanaka M, Takahata Y, Nakayama H, et al. Altered carbohydrate metabolism in the storage roots of sweet potato plants overexpressing the zinc finger transcription factor. *Planta*, 2009, 230(4): 737–746.
- [52] Plesch G, Ehrhardt T, Mueller-Roeber B. Involvement of TAAAG elements suggests a role for Dof transcription factors in guard cell-specific gene expression. *Plant J*, 2001, 28(4): 455–464.
- [53] Seki H, Nakamura N, Marutani M, et al. Molecular cloning of cDNA for a novel pea Dof protein, PsDof1, and its DNA-binding activity to the promoter of PsDof1 gene. *Plant Biotechnol*, 2002, 19(4): 251–260.
- [54] De Paolis A, Sabatini S, De Pascalis L, et al. A ro1B regulatory factor belongs to a new class of single zinc finger plant proteins. *Plant J*, 1996, 10(2): 215–223.
- [55] Mayumi T, Md. A H, Shota O, Keiko N, et al. Overexpression of a tobacco Dof transcription factor BF1 stimulates the transcription of the tobacco mosaic virus resistance gene N and defense-related responses including ROS production. *Plant Biotechnol*, 2013, 30, 37–46.
- [56] Washio K. Functional dissections between GAMYB and Dof transcription factors suggest a role for protein-protein associations in the gibberellin-mediated expression of the RAmY1A gene in the rice aleurone. *Plant Physiol*, 2003, 133(2): 850–863.
- [57] Diaz I, Vicente-Carbajosa J, Abraham Z, et al. The GAMYB protein from barley interacts with the DOF transcription factor BPBF and activates endosperm-specific genes during seed development. *Plant J: Cell Mol Biol*, 2002, 29(4): 453–464.
- [58] Diaz I, Martinez M, Isabel-LaMoneda I, et al. The DOF protein, SAD, interacts with GAMYB in plant nuclei and activates transcription of endosperm-specific genes during barley seed development. *Plant J: Cell Mol Biol*, 2005, 42(5): 652–662.
- [59] Moreno-Risueno MA, Diaz I, Carrillo L, et al. The HvDOF19 transcription factor mediates the abscisic acid-dependent repression of hydrolase genes in germinating barley aleurone. *Plant J: Cell Mol Biol*, 2007, 51(3): 352–365.

(本文责编 陈宏宇)