

## 高等植物绿色组织特异表达启动子研究进展

王 淼<sup>1,2</sup>, 王旭静<sup>2</sup>, 唐巧玲<sup>2</sup>, 王志兴<sup>2</sup>, 王育青<sup>1</sup>

(1. 中国农业科学院草原研究所, 呼和浩特 010010; 2. 中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081)

**摘 要:**为实现目的基因的定点、定时表达,组织特异性启动子的开发和应用成为植物基因工程中的研究热点。绿色组织特异启动子驱动外源基因在茎叶等绿色组织中特异表达,并且启动子的组织特异性是由其上存在的正负调控元件相互作用而决定的。综述了绿色组织特异启动子的种类及调控元件,并对其在植物基因工程中的应用前景进行了展望。

**关键词:**启动子;绿色组织特异性;调控元件

**doi:**10.3969/j.issn.1008-0864.2010.02.07

**中图分类号:**Q756

**文献标识码:**A

**文章编号:**1008-0864(2010)02-0033-05

## Research Progress on Plant Green Tissue Specific Promoter

WANG Miao<sup>1,2</sup>, WANG Xu-jing<sup>2</sup>, TANG Qiao-ling<sup>2</sup>, WANG Zhi-xing<sup>2</sup>, WANG Yu-qing<sup>1</sup>

(1. Grassland Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hohhot 010010;

2. Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** In plant genetic engineering, development and application of tissue-specific promoter has been a hot spot in order to express foreign genes correctly, efficiently and specifically. Green tissue-specific promoters can regulate the expression of foreign genes in green tissues. The specificity of tissue-specific promoters is determined by the interaction of positive and negative regulatory elements. This paper expounds the kinds of specific promoters and regulatory elements. It also prospects its future application in plant engineering.

**Key words:** promoter; green tissue specificity; regulatory element

在植物基因工程研究中,为使外源基因在受体中高效表达,必须借助于高活性的启动子,有时为避免基因产物对受体及环境产生副作用,需使外源基因只在特定的组织或器官中表达。绿色组织是植物进行光合作用的场所,目前已发现一些光合作用相关基因的启动子表现出在绿色组织中特异或优势表达的特性,如捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体(chlorophyll a/b binding protein, CAB)基因启动子、核酮糖二磷酸羧化酶小亚基(ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase small subunit, rbcS)基因启动子、PPDK(pyruvate orthophosphate dikinase)启动子和 PNZIP(*Pharbitis nil leu zipper*)启动子等,并且启动子的组织特异性是由其上存在的正负调控元件相互作用而决定的。

本文对绿色组织特异启动子的种类及调控元

件进行综述,并对其在植物基因工程中的应用前景进行了展望。

### 1 绿色组织特异性启动子的种类

#### 1.1 植物捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体(chlorophyll a/b binding protein, CAB)基因启动子

植物捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体基因(*cab*)是一类典型的光诱导型基因。目前已从梨、小麦和水稻等植物中分离得到了 *cab* 基因<sup>[1~6]</sup>。研究表明,植物中的 *cab* 启动子同时具有光诱导和组织特异表达的特性<sup>[7]</sup>。*cab* 基因的表达是在转录水平上进行调控的,而且其表达与不同光受体有关<sup>[8]</sup>。

收稿日期:2009-11-11;修回日期:2009-12-21

基金项目:国家 863 计划项目(2007AA100505;2007AA10Z182);国家自然科学基金项目(30671337);转基因生物新品种培育科技重大专项(2008ZX08005-003, 2008ZZX08010-003, 2008ZX08070-001)资助。

作者简介:王 淼,硕士研究生,研究方向为植物基因工程。Tel:010-82109866; E-mail:wm0510@126.com。通讯作者:王志兴,研究员,主要从事植物抗病、虫基因工程研究。Fax/Tel:86-10-82106102; E-mail:wangcotton@126.com

研究发现, *cab* 基因的表达调控元件位于基因的 5' 非翻译区。用烟草作为检测系统, 已经证明豌豆、烟草、小麦、矮牵牛及拟南芥等植物的 *cab* 启动子表现出光依赖性和绿色组织表达特异性<sup>[7]</sup>。Simpson 等<sup>[9]</sup> 证明梨 *cab* 基因上游 400 bp 的启动子序列能驱动 *gus* 基因在转基因烟草叶片中的特异表达。单子叶植物小麦 *cab-1* 启动子转录起始点 -357 ~ -89 片段与 CaMV35S 基本元件连接, 转化烟草证明, 268 bp 的 DNA 片段是一个光反应和叶片表达特异性的增强子, 由三个不同的元件组成<sup>[7]</sup>。拟南芥 *cab1* 基因 5' 上游 1 396 bp 中至少存在三个光依赖性的顺式作用元件, 其中两个近端的分别位于转录起始位点 -253 ~ -158 及 -321 ~ -253, 前者对维持启动子特异性是必需的, 后者具有增强 *cab* 启动子活性的作用。另一个位于远端 -1 396 ~ -766, 也负责启动子特异性应答。序列分析发现, 在该启动子中存在一个与 *cab1* 表达光调控有关的 Z-DNA 形成序列 (5'-ATACGTGT-3')<sup>[10]</sup>。李为民等<sup>[11]</sup> 从金华中棉中克隆了光诱导基因 *Gacab* 的启动子 (1 009 bp), 转化烟草证明 *Gacab* 全长启动子能够驱动 *gus* 基因在转基因烟草叶片中的特异表达, 是一种光诱导型启动子。不同长度的缺失试验表明, 只有全长的启动子为绿色组织特异表达启动子, 而 504 bp 的表达活性最高, 表达水平明显高于 CaMV35S 启动子<sup>[12]</sup>。

### 1.2 核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶小亚基 (ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase small subunit, *rbcS*) 基因启动子

核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶存在于所有高等植物和自养细菌中, 是所有光合生物进行光合碳同化的关键酶, 也是光合植物叶片中含量最丰富的蛋白质, 约占可溶性总蛋白的 50%。核酮糖二磷酸羧化酶由大小两种亚基构成, 在高等植物中两种亚基的比例大约为 1:1, 其中大亚基由叶绿体基因组编码, 小亚基 (*rbcS*) 由核基因组编码。由于大亚基的表达受 *rbcS* 表达的调控, 所以对于核酮糖二磷酸羧化酶小亚基的研究更受人关注。

由核基因组编码的 *rbcS* 表达受光调控, 并具有绿色组织表达特异性。目前已经证明水稻、梨、番茄、玉米、拟南芥、马铃薯、烟草等植物的 *rbcS* 启动子是绿色组织特异表达的启动子。如 Kyojuka 等<sup>[13]</sup> 发现番茄 *rbcS* 启动子驱动 *gus* 基因在转基因水稻中表达时, GUS 活性具有组织特异性, 只在绿色组织中检测到。刘巧泉等<sup>[14]</sup> 证明番茄

Rubisco 小亚基 *rbcS3A* 基因的启动子可驱动 *gus* 在转基因的茎和叶组织中高效表达, 而在根和种子等器官中不表达或表达活性极弱, 表现出绿色组织特异表达的特性。黄海群等<sup>[15]</sup> 利用 PCR 法克隆了水稻日本晴的核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶小亚基基因 (*rbcS*) 5' 上游调控区, 命名为 *PosrbcS*。将 *PosrbcS* 与 *gus* 基因融合, 并通过农杆菌介导转入水稻中花 11 (*Oryza sativa* ssp. *japonica*) 中。对转基因水稻植株中 GUS 活性进行定性与定量分析, 结果表明, *PosrbcS* 启动子可驱动 *gus* 基因在转基因水稻植株的叶片、叶鞘、茎秆及颖壳中特异性表达, 定量分析结果显示, *PosrbcS* 片段愈短, GUS 活性愈低; 进一步的光诱导实验结果显示, 光能明显提高 *gus* 基因表达活性, 并且随诱导活性降低以及光诱导表达时间后移。卢碧霞等<sup>[16]</sup> 进行了类似的实验, 定量测定结果表明, *rbcS* 启动子可驱动 *gus* 报告基因在转基因水稻植株叶片中特异性表达, 表达水平高于 CaMV35S 组成型启动子。荷兰 Wageningen 大学国际植物研究中心的研究表明, 菊花 *rbcS* 启动子在转基因烟草叶片中的表达效率是 CaMV35S 启动子的 8 倍, 绿色荧光蛋白 (eGFP) 的表达量达叶片可溶性总蛋白的 24%<sup>[17]</sup>。

研究发现, *rbcS* 在 C3 植物和 C4 植物中的表达模式有所不同, 在 C3 植物中, *rbcS* 主要在叶肉细胞中表达, 在 C4 植物中则在维管束鞘细胞中特异表达。Nomura 等<sup>[18]</sup> 发现 C3 植物水稻的 *rbcS* 启动子驱动 *gus* 基因在转基因玉米中表达时, 报告基因 *gus* 主要在叶肉细胞中表达, 在维管束鞘细胞中的表达相对较低; 而 C4 植物玉米的 *rbcS* 启动子驱动的 *gus* 基因主要在转基因玉米的维管束鞘细胞中表达。

### 1.3 丙酮酸正磷酸双激酶 (pyruvate, orthophosphatedikinase, PPK) 启动子

丙酮酸正磷酸双激酶 (pyruvate, orthophosphatedikinase, PPK) 是 C4 植物光合反应中的一个叶绿体酶, 但在 C3 植物中也同样存在。研究发现 PPK 具有一个双元启动子系统, 这两个启动子的区别在于起始密码子和拼接方式的差异。玉米中的 *C4Pdk* 启动子驱动 PPK 转录成较长的 mRNA, 基因产物定位在叶绿体中; 细胞质 *Pdk* 启动子在 PPK 基因的第二个内含子中, 驱动 PPK 转录成较短的 mRNA, 它所编码的蛋白质定位于细胞质中, 故称为细胞质 *Pdk* 启动子。*C4Pdk* 启动子是受光诱导的强启动子, 驱动基因

在玉米叶肉细胞中特异表达;而细胞质 *Pdk* 启动子是个弱启动子,且不具有组织特异性<sup>[19]</sup>。在 C3 植物水稻中, *PPDK* 基因同样具有两个启动子,形成两种类型的转录本,其中较长的转录本主要存在于叶片中,而较小的转录本存在于小穗中<sup>[20]</sup>。Parsley 和 Hibberd<sup>[21]</sup>发现拟南芥中的 *PPDK* 基因也具有两个启动子,驱动基因形成两种类型的 mRNA,一个启动子位于第一个外显子的上游,驱动 *PPDK* 转录成较长的 mRNA,在叶片中这类 mRNA 非常丰富;另一个位于第一个内含子内,驱动 *PPDK* 转录成短的 mRNA。将这两类基因与 *gfp* 基因融合,利用 CaMV35S 启动子驱动融合基因在烟草叶片中表达,结果发现,较长 mRNA 翻译成的蛋白质定位在叶绿体中,其中第一个外显子作为信号肽起作用,较小的蛋白质则位于细胞质中。

#### 1.4 PNZIP 启动子

杨予涛等<sup>[22]</sup>从裂叶牵牛 (*Pharbitis nil*) 中分离到一个 *PNZIP* 基因,编码一种含有亮氨酸拉链结构的蛋白质,原位杂交证明该基因特异地在叶片中表达。他们利用接头 PCR 技术克隆了长度为 1 415 bp 的 *PNZIP* 启动子,发现它驱动 *gus* 基因在转基因烟草叶片中特异表达,且其表达强度是组成型启动子 CaMV35S 的 9 倍。肖守华等<sup>[23]</sup>证明 *PNZIP* 启动子能驱动小麦抗真菌  $\gamma$ -硫堇蛋白 ( $\gamma$ -Thionin) 基因在甜瓜叶片组织中表达。利用 PLACE 数据库对该启动子的顺式元件进行分析,发现启动子中存在 G-Box、Box-II 和类 AT-1box,此外还发现了在数据库中不存在的 2 个新的保守元件 GAAATA 元件和 GATACT 元件。2 个 GATACT 元件存在于 -278 和 -55 bp 处,4 个 GAAATA 元件分别存在于 -1 007, -943, -446 和 -3 184 bp 处,分段缺失及转基因的研究表明这两个元件有可能参与基因的表达调节<sup>[24]</sup>。

#### 1.5 叶绿体核糖体蛋白 L21 (rpl21) 基因启动子

叶绿体核糖体蛋白 L21 基因是 Lagrange 等<sup>[25]</sup>从菠菜中克隆的一种基因。此基因具有两种长短不同的转录本。这两种转录本的区别在于其转录起始的差异。两种转录本的起始位点分别被 P1 和 P2 启动子所驱动,瞬时表达分析表明: P2 启动子是组成型表达; P1 启动子只在叶中特异性表达。Lagrange 等此后的工作还表明, -89 到 +38 bp 区段为 P1 启动子的核心启动子,可以驱动基因高效表达。其上游具有一个正调控结构

域(-328 bp ~ -204 bp)和一个负调控的结构域(-204 bp ~ -89 bp),正调控结构域中的顺式作用元件 S2(5'-ATACA-3')通过与叶特异性核因子 S2F 结合来调控基因在叶中的特异表达<sup>[25,26]</sup>。转基因烟草实验证明 P1 的绿色组织特异性表达与光诱导无关<sup>[27]</sup>。

## 2 绿色组织特异启动子中的调控元件

如上所述,大多数绿色组织特异性启动子为光诱导启动子,同时具有光诱导活性,因而大多数绿色组织特异启动子都包含若干个光应答元件(light response element, LREs),如 G 盒、GT1 元件(或 GATA 元件)、AT 富含元件及 Z-box 等,它们普遍存在于光调控启动子中,对光调控的转录激活是必需的<sup>[28~31]</sup>。以拟南芥 *rbcS-1A* 启动子为例,包括 I、G 和 GT box 的 196 bp 序列(-320 ~ -125)在烟草叶片中足以通过光诱导表达乙醇脱氢酶基因(alcohol dehydrogenase gene, *adh*),定点突变分析发现全长 *rbcS-1A* 启动子(-1 700 ~ +21)中 G box 和 I box 突变会降低 *adh* 和 *gus* 基因的表达<sup>[32]</sup>,将这些特异性元件置于非光调控的基本启动子上游,均能表现出组织特异性和光敏色素介导的光反应<sup>[33,34]</sup>。

### 2.1 G-box

G-box 是植物中广泛存在的顺式作用元件,通常含有一个核心序列 5'-CACGTG-3',最初是从编码 *RbcS* 基因的上游区作为光调控元件而被发现的。G-box 往往是作为应答反应调控元件中的一个组成部分,通过与其他顺式作用元件共同起作用,尤其是 G-box 两侧的序列对应答反应的特异性起重要作用,如 Donald 和 Cashmore<sup>[32]</sup>研究发现,在拟南芥 *rbcS-1A* 启动子中,G-box 和两侧的 3 个 I-box 共同参与光应答反应。G-box 结合蛋白(GBF)广泛存在于植物界,绝大部分属于 bZIP 转录因子<sup>[35]</sup>。如在拟南芥中,GBF1、GBF2、GBF3 是调节 *rbcS-1A* 启动子的 G-box 结合蛋白<sup>[36]</sup>,欧芹中也存在 3 个参与基因光表达调控的 G-box 结合蛋白 CPRF-1、CPRF-2 和 CPRF-3。关于 GBF 如何调控基因的表达,Sandhu 等<sup>[37]</sup>提出了这样一个模型:GBF 合成后以单体形式存在于细胞质中,当接受光信号后,GBF 被磷酸化而激活,并从细胞质中转移到细胞核内,然后以异源或同源二聚体的形式与 G-box 结合,达到调控基因表达的目的。

## 2.2 Z-box

Z-box 的通用序列是 5'-ATACGTGT-3', 在拟南芥 *cab1* 启动子中含有三个 Z-box, 即 Z-DNA 形成序列。缺失分析暗示, 位于光调控最小启动子中的 Z-box, 在 *cab1* 基因光依赖发育表达中发挥重要的作用<sup>[10]</sup>。研究表明, 包含 Z-box 和另外一个 LRE 串联的启动子, 能够对广谱波长产生反应, 这种反应分别由 phyA、phyB 和 CRY1 光受体在它们相应的波段介导, Z-box LRE 的调控由多种光信号元件介导<sup>[32]</sup>。研究还发现包含 G、GATA 及 GT1 等 LREs 的启动子受广谱波长的光所诱导, 只有单一 LREs 的启动子仅对某一特定波段的光产生反应<sup>[38]</sup>。

## 2.3 I-box

I 盒或 GATA 元件含有 5'-GATAA-3' 序列。有些光应答基因的启动子中含有单一的 GATA 元件, 有些则含有多个拷贝。GATA 元件的缺失或突变都会导致启动子光应答能力的下降。GATA 元件的旁侧序列对转基因植物中报告基因的表达也有一定的影响。

## 2.4 A/T 富集基序

A/T 富集基序普遍存在于植物各类启动子中, 它既可以起正调控作用, 也可以起负调控作用。A/T 富集基序在豌豆 *Rbcs-3A* 启动子和谷氨酰胺合成酶 *GS2* 启动子中是一个正调控元件, 而在烟草的 *Cab-E* 基因启动子中则是一个负调控元件。Sandhu 等<sup>[37]</sup> 发现在豌豆 *PetE* (质体蓝素) 基因启动子中, A/T 富集基序是一个没有组织专一性的增强子, 它只能从量上增强基因在高等植物中表达强度。Hoffmann 等<sup>[38]</sup> 发现, 改变豌豆线粒体 *apt9* 启动子中 A/T 富集基序的 3 个碱基将导致启动子的活性降低 70%。杨予涛等<sup>[39]</sup> 发现, *PNZIP* 启动子中的类 AT-1 box 也属于 A/T 富集基序, 它与豌豆 *Rbcs-3A* 启动子的 AT-1 盒 (5'-AATATTTTTATT-3') 十分相似, 推测存在于 -379 ~ -133bp 区段的类 AT-1 盒, 与控制基因在光合组织中的表达强度有关。A/T 富集基序是一个正调控元件, 能增强基因在光合组织中的表达<sup>[24]</sup>。

## 2.5 GT1 元件

GT1 元件最初是在豌豆叶片 *Rbcs-3A* 基因启动子中发现的一个光应答元件, 又称作 BoxII, 序列为 5'-GPu (TA) TA (AT)-3', 通常是 5'-GGT-TAA-3'。它是一种负调控元件, 在黑暗状态下,

负责关闭光调控基因的转录<sup>[38]</sup>。在有些光诱导启动子中 GT1 序列的出现频率较高, 甚至以串连方式存在。研究发现, 核蛋白 GT-1 与 box II (5'-GTGTGGTTAATATG-3') 相互作用, 参与植物的光调控发育<sup>[40]</sup>。

## 3 绿色组织特异表达启动子的应用前景

外源基因在转基因植物中的定位表达, 可以降低植物负担, 减轻对其他性状的不利影响, 而且还可以提高目标产物在特定部分的表达量, 增强转基因的效果。鉴于此, 研究者们更加重视对组织特异性启动子的开发和应用。绿色组织特异性启动子诱导基因只在茎叶等绿色组织表达, 因而可以用于以茎叶为主要收获产物的作物, 使蛋白质产物富集于茎叶中, 减少宿主植物无谓的物质能量消耗, 改善光合作用特性; 也可以用于以种子、果实为主要收获产物的作物, 让抗除草剂、抗虫等外源基因只在茎叶部分而不在种子果实等器官中表达, 以提高转基因作物的生物安全性, 在植物基因工程研究中具有广泛的应用前景。

## 参 考 文 献

- [1] Joshi C P. An inspection of the domain between putative TATA box and translation site of 79 plant genes [J]. Nucl. Acids Res., 1987, 15:6643 - 6653.
- [2] Xiang T H, Wang L L, Pang J L. Cloning and characterization of a full-length *cab* gene encoding the light harvesting chlorophyll a/b-binding proteins in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Acta Agronomica Sinica, 2005, 31(9):1227 - 1232.
- [3] Coruzzi G, Broglie R, Cashmore A R, et al. Nucleotide sequences of two pea cDNA clones encoding the small subunit of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase and the major chlorophyll a/b binding thylakoid polypeptide [J]. J. Biol. Chem., 1983, 258:1399 - 1402.
- [4] Dunsmuir P, Smith S M, Bedbrook J. The major chlorophyll a/b binding protein of petunia is composed of several polypeptides encoded by a number of distinct nuclear genes [J]. J. Mol. Appl. Genet., 1983, 2:285 - 300.
- [5] Karlin-Neumann G A, Kohorn B D, Thornber P, et al. A chlorophyll a/b-protein encoded by a gene containing an intron with characteristic of a transposable element [J]. J. Mol. Appl. Genet., 1985, 3:45 - 61.
- [6] Lamppa G, Nagy F, Chua N H. Light regulated and organ-specific expression of a wheat *Cab* gene in transgenic tobacco [J]. Nature, 1985, 316:750 - 752.
- [7] Leutwiler L S, Meyerowitz E M, Tobin E M. Structure and expression of three light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. Nucl. Acids Res., 1986, 14:4051 - 4076.
- [8] Cecillia G, Luis C R, Keiko I, et al. Analysis of three tissue-

- specific elements from the wheat Cab-1 enhancer[J]. *Plant J.*, 1993,3:509-518.
- [9] Simpson J, Timko M P, Cashmore A R, *et al.*. Light-inducible and tissue-specific expression of a chimaeric gene under control of the 5'-flanking sequence of a pea chlorophyll a/b-binding protein gene[J]. *EMBO J.*, 1985, 4:2723-2729.
- [10] Ha S B, An G. Identification of upstream regulatory elements involved in the developmental expression of the *Arabidopsis thaliana cabl* gene[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85:8017-8021.
- [11] Li W M, Wang Z X, Pei X W, *et al.*. Cloning and characterization of the light-inducible Gacab promoter from *Gossypium arboreum*[J]. *Chinese J. Agric. Biotechnol.*, 2005, 2(1): 17-22.
- [12] 王旭静,李为民,唐巧玲,等. 中棉(*Gossypium arboreum*)光诱导基因 *Gacab* 启动子在转基因烟草中的功能缺失分析[J]. *作物学报*, 2009, 35(6):1006-1012.
- [13] Kyozuka J, McElroy D, Hayakawa T, *et al.*. Light-regulated and cell-specific expression of tomato *rbcs-gusA* and rice *rbcs-gusA* fusion genes in transgenic rice [J]. *Plant Physiol.*, 1993, 102(3):991-1000.
- [14] 刘巧泉,于恒秀,张文娟,等. 番茄 *bcS3A* 启动子控制的 GUS 融合基因在转基因水稻中的表达[J]. *植物生理与分子生物学报*, 2007,33(3):251-257.
- [15] 黄海群,林拥军. 水稻 *rbcs* 基因启动子的克隆及结构功能分析[J]. *农业生物技术学报*, 2007,15(3):451-458.
- [16] 卢碧霞,张改生,夏 勉,等. 水稻 *rbcs* 启动子的克隆及其在转基因水稻中的特异性表达[J]. *西北农林科技大学学报*, 2007,35(1):96-100.
- [17] Outchkourov N S, Peters J, de Jong J, *et al.*. The promoter-terminator of chrysanthemum *rbcsI* directs very high expression levels in plants[J]. *Planta*, 216(6): 1003-1012.
- [18] Nomura M, Katayama K, Nishimura A, *et al.*. The promoter of *rbcs* in a C3 plant (rice) directs organ-specific, light-dependent expression in a C4 plant (maize), but does not confer bundle sheath cell-specific expression[J]. *Plant Mol. Biol.*, 2000, 44:99-106.
- [19] Taniguchi M, Izawa K, Ku M S, *et al.*. The promoter for the maize C4 pyruvate, orthophosphate dikinase gene directs cell- and tissue-specific transcription in transgenic maize plants[J]. *Plant Cell Physiol.*, 2000, 41(1):42-48.
- [20] Imaizumi N, Ku M S, Ishihara K, *et al.*. Characterisation of the gene for pyruvate orthophosphate dikinase from rice, a C3 plant, and a comparison of structure and expression between C3 and C4 genes for this protein[J]. *Plant Mol. Biol.*, 1997, 34:701-716.
- [21] Parsley K, Hibberd J M. The *Arabidopsis PPKK* gene is transcribed from two promoters to produce differentially expressed transcripts responsible for cytosolic and plastidic proteins[J]. *Plant Mol. Biol.*, 2006, 62:339-349.
- [22] 杨予涛,杨国栋,刘石娟,等. 一个光合组织特异表达强启动子的分离及功能分析[J]. *中国科学(C辑)*, 2003, 33(4):298-306.
- [23] 肖守华,乔卫华,张岳民,等. 农杆菌介导法将小麦  $\gamma$ - 硫堇蛋白基因转入厚皮甜瓜[J]. *中国蔬菜*, 2008,12:11-14.
- [24] 杨予涛. 一个光合组织特异表达启动子的克隆、功能分析及其转录因子的鉴定[D]. 山东 泰安:山东农业大学,博士学位论文,2005.
- [25] Lagrange T, Axeloss B, Structure M. Expression of the nuclear gene coding for the chloroplast ribosomal protein L21; developmental regulation of a house-keeping gene by alternative promoters[J]. *Mol. Cell Biol.*, 1993,13:2614-2622.
- [26] Harrak H, Lagrange T. The expression of nuclear genes encoding plastid ribosomal precedes the expression of chloroplast genes during early phases of chloroplast development[J]. *Plant Physiol.*, 1995,108:685-692.
- [27] Lagrange T, Gauvin S. S2F, a leaf-specific trans-acting factor, binds to a novel cis-acting element and differentially activates the RPL2I Gene[J]. *Plant Cell*, 1997,9:1469-1479.
- [28] Millar A J, Kay S A. Integration of circadian and phototransduction pathways in the network controlling *CAB* gene transcription in *Arabidopsis*[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93:15491-15496.
- [29] Terzaghi W B, Cashmore A R. Light-regulated transcription [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1995,46: 445-474.
- [30] Tobin E M, Kehoe D M. Phytochrome regulated gene expression[J]. *Semin. Cell Biol.*, 1994,5:335-346.
- [31] Yadav V, Kundu S, Chattopadhyay D, *et al.*. Light regulated modulation of Z-box containing promoters by photoreceptors and downstream regulatory components, COP1 and HY5, in *Arabidopsis*[J]. *Plant J.*, 2002, 31:741-753.
- [32] Donald R G, Cashmore A R. Mutation of either G box or I box sequences profoundly affects expression from the *Arabidopsis rbcs-1A* promoter[J]. *EMBO J.*, 1990,9(6):1717-1726.
- [33] Lam E, Chua N H. Gt1 binding site confers light-responsive expression in transgenic tobacco[J]. *Science*, 1990, 248:471-474.
- [34] Puente P, Wei N, Deng X W. Combinatorial interplay of promoter elements constitutes the minimal determinants for light and developmental control of gene expression in *Arabidopsis* [J]. *EMBO J.*, 1996, 15:3732-3743.
- [35] Schindler U, Menkens A E, Bechmann H, *et al.*. Heterodimerization between light-regulated and ubiquitously expressed *Arabidopsis* GBF bZIP proteins[J]. *EMBO J.*, 1992,11:1261-1273.
- [36] Chattopadhyay S, Puente P, Deng X W, *et al.*. Combinatorial interaction of light-responsive elements plays a critical role in determining the response characteristics of light-regulated promoters in *Arabidopsis*[J]. *Plant J.*, 1998, 15:69-77.
- [37] Sandhu J S, Webster C I, Gray J C, *et al.*. A/T-rich sequences act as quantitative enhancers of gene expression in transgenic tobacco and potato plants[J]. *Plant Mol. Biol.*, 1998, 37(5):885-896.
- [38] Hoffmann M, Binder S. Functional importance of nucleotide identities within the pea *atp9* promoter sequence [J]. *Mol. Biol.*, 2002,320(5):943-950.
- [39] Sarokin L P, Chua N H. Binding sites for two novel phosphoproteins, 3AF5 and 3AF3, are required for *rbcs-3A* expression [J]. *Plant Cell.*, 1992, 4:473-483.
- [40] Gilmartin P M, Memelink J, Hiratsuka K, *et al.*. Characterization of a gene encoding a DNA binding protein with specificity for a light-responsive element [J]. *Plant Cell*, 1992, 4(7):839-849.