

文章编号:1000-8551(2012)04-0666-07

植物非生物逆境相关锌指蛋白基因的研究进展

向建华^{1,2} 李灵之¹ 陈信波¹

(1. 湖南农业大学作物基因工程湖南省重点实验室,湖南长沙 410128;

2. 湖南科技大学生命科学学院,湖南湘潭 411201)

摘要:植物能够适应多种逆境主要是通过改变其基因表达和代谢途径来实现的,因此研究这些基因表达和功能对提高植物耐逆性具有重要意义。锌指蛋白是一类具有手指状结构域的转录因子,这种结构域由锌离子与多个半胱氨酸和(或)组氨酸组成,锌离子在稳定其结构和发挥调控功能方面具有关键作用。植物锌指蛋白在植物耐逆性方面具有重要作用。本文综述了近几年来从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)、番茄(*Solanum lycopersicum*)等植物中克隆的与非生物逆境相关锌指蛋白基因的研究成果,重点阐述了其基因表达部位、受逆境诱导情况及转基因植株的耐逆性等。目前的研究结果表明锌指蛋白能够调控耐逆相关基因的表达,在植物逆境代谢中发挥重要作用,因此可以利用锌指蛋白基因进行作物耐逆性的遗传改良,提高作物的耐逆能力。

关键词:逆境;锌指蛋白;基因;耐逆性

PROGRESS IN THE STUDY OF ABIOTIC STRESS-RELATED ZINC FINGER PROTEIN GENES IN PLANTS

XIANG Jian-hua^{1,2} LI Ling-zhi¹ CHEN Xin-bo¹

(1. Crop Gene Engineering Key Laboratory of Hunan Province, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128;

2. School of Life Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan, Hunan 411201)

Abstract: Plants can adapt to a variety of stress conditions mainly by changing their gene expression and metabolic pathways. It will be of great significance to study the expression and functions of the genes conferring plants tolerance to abiotic stresses. Zinc finger proteins are an important class of transcription factors with finger domains that are composed of zinc ions and several cysteines and (or) histidines. Zinc ion not only maintains the stability of zinc finger structure, but also is essential for the regulatory role of zinc finger proteins, which are essential in plants for stress tolerance. In this paper the recent research progresses of abiotic stress-related zinc finger protein genes obtained from *Arabidopsis thaliana*, rice, wheat, tomato and other plants were reviewed. The tissue expressional pattern of the genes as well as the stress response and tolerance properties of the transgenic plants are focused. The results indicated that the zinc finger proteins could regulate stress-related gene expression and played an important role in plant metabolic pathways under stresses. Therefore, crop species with high tolerance to abiotic stresses can be obtained by genetic engineering of zinc finger protein genes.

Key words: stress; zinc finger protein; gene; stress tolerance

收稿日期:2011-09-22 接受日期:2012-12-17

基金项目:国家转基因生物新品种培育科技重大专项(编号:2009ZX08001-026B),国家自然科学基金项目(编号:30870206)

作者简介:向建华(1978-),男,湖南怀化人,博士研究生,讲师,研究方向为植物逆境分子生物学。Tel: 0731-84635290;E-mail: jianhua_x@163.com

通讯作者:陈信波(1962-),男,湖北荆门人,博士,教授,博士生导师,研究方向为植物逆境分子生物学。Tel: 0731-84635290;E-mail: xinbochen@live.cn

干旱、高盐、低温和高温等非生物逆境是影响植物生长发育的重要因素,每年造成世界粮食作物的大量减产。在育种工作中,不仅要求培育出高产、优质的优良品种,而且还要求能培育出适应多种逆境的高抗品种。因此,作物抗逆育种已成为目前国内外育种研究的重要组成部分。利用基因工程技术培育抗逆的作物品种是育种工作的一个重要研究方向,而与植物耐逆相关基因的挖掘与功能鉴定则是这项工作的基础和重点。锌指蛋白(zinc finger protein)是一类具有手指状结构域的转录因子,最初于1983年在非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)卵母细胞的转录因子TFⅢA中被发现^[1],广泛分布在动植物和微生物中。锌指蛋白基因约占人类基因组序列的1%^[2],锌指蛋白也普遍存在于植物中。目前已在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)、棉花(*Gossypium hirsutum*)、大豆(*Glycine max*)等植物中报道有锌指蛋白,并且进行了功能鉴定。这类蛋白通过与DNA、RNA结合或与其他蛋白质的相互作用来调控下游基因的表达。植物体中的锌指蛋白在植物生长发育和耐逆性等方面具有重要的作用。本文主要就其中与植物非生物逆境相关锌指蛋白基因的研究进展进行综述。

1 锌指蛋白

Pabo等对锌指结构定义为在蛋白质的一小段氨基酸序列中含有若干个半胱氨酸残基,这些区域通过结合 Zn^{2+} 自我折叠形成稳定的手指状结构,并通过该区域与DNA结合^[3]。大量研究表明众多的锌指蛋白组成了一个庞大的家族。Berg等根据锌指蛋白序列与功能的不同将其分为9大类: C_2H_2 、 C_8 、 C_6 、 C_3HC_4 、

C_2HC 、 C_2HC_5 、 C_4 、 C_4HC_3 和CCCH(C和H分别代表半胱氨酸和组氨酸)^[4]。目前,研究最多的是 C_2H_2 类锌指蛋白,最初发现于TFⅢA中,它包含约30个氨基酸序列的9个串联重复区段,都共同拥有一致的氨基酸序列:(F/Y)-X-C-X₂₋₅-C-X₃-(F/Y)-X₅-psi-X₂-H-X₃₋₅-H(其中C代表半胱氨酸,H代表组氨酸,X代表任何氨基酸,psi代表疏水性氨基酸)。这些序列与锌离子一起折叠形成紧密的 $\beta\beta\alpha$ 结构,在 α 螺旋和两股反向平行的 β 链中都夹有1个锌离子,锌离子与 β 链末端的2个半胱氨酸和 α 螺旋C末端的2个组氨酸形成四面体结构。这种结构的稳定性主要由锌离子及锌结合位点侧面的疏水区维持,锌离子起到链间连接的一个桥梁作用,而且也是锌指蛋白发挥调控作用的关键^[5]。对锌指蛋白的表达形式研究发现:有些锌指蛋白是以寡基因形式表达^[6,7];而有些锌指蛋白则是以单基因形式表达^[8]。这种表达形式的不同表明在功能上存有差异。

2 锌指蛋白与植物的耐逆性

拟南芥中存在大量转录因子,分属于各种基因家族^[9],其中锌指蛋白是一类重要的转录因子。根据拟南芥数据库中的信息,拟南芥中主要存在 C_2H_2 、CCCH和 C_4 3类锌指蛋白, C_2H_2 类锌指蛋白含有211个成员,CCCH类锌指蛋白含有165个成员, C_4 类锌指蛋白含有102个成员。植物锌指蛋白参与一些重要的调控过程,如:形态建成、花粉发育^[10]、胁迫反应、胚发育等等。本文主要讨论锌指蛋白基因在非生物逆境中发挥的作用,表1列出近几年来克隆的与干旱、高盐、低温、高温等非生物逆境相关的植物锌指蛋白基因,而且很多基因对多种逆境产生应答。

表1 近年来克隆的参与植物非生物逆境应答的锌指蛋白基因

Table 1 Abiotic stress responsive plant zinc finger protein genes cloned in recent years

基因 gene name	植物 plant	非生物逆境诱导 induced by abiotic stress	转基因植株的耐逆性 abiotic stress tolerance of transgenic plants	参考文献 reference
DST	水稻 <i>Oryza sativa</i>	干旱和高盐能降低表达 suppressed by drought and salt	基因缺失可提高耐旱、耐盐性 loss of DST function enhance tolerance to drought and salt stresses	[15]
ZFP245	水稻 <i>Oryza sativa</i>	低温、干旱 cold, drought	提高耐冷、干旱、氧化胁迫 enhance tolerance to cold, drought and oxidative stresses	[19]
RZF71	水稻 <i>Oryza sativa</i>	高盐、干旱 salt, drought		[23]
ZFP182	水稻 <i>Oryza sativa</i>	低温、高盐、ABA cold, salt, ABA	提高耐盐性 enhance tolerance to salt stress	[24]

续表 1

基因 gene name	植物 plant	受何种逆境诱导 induced by abiotic stress	转基因植株的耐逆性 abiotic stress tolerance of transgenic plants	参考文献 reference
<i>OsZFP</i>	水稻 <i>Oryza sativa</i>	高盐、干旱、低温 salt, drought, cold		[6]
<i>OsTOP6A1</i>	水稻 <i>Oryza sativa</i>	高盐、干旱 salt, drought	提高耐盐、干旱性 enhance tolerance to salt and drought stresses	[20]
<i>ART1</i>	水稻 <i>Oryza sativa</i>	不受铝影响 not affected by Aluminum	提高耐铝性 enhance tolerance to Aluminum	[37]
<i>OsZF19</i>	水稻 <i>Oryza sativa</i>	高盐、干旱、ABA salt, drought, ABA		[14]
<i>ZFP177</i>	水稻 <i>Oryza sativa</i>	低温、高温;高盐能降低表达 cold, heat; suppressed by salt	提高耐冷、热性;降低耐盐、干旱性 enhance tolerance to cold and heat stresses; increased sensitivity to salt and drought stresses	[33]
<i>Zat7</i>	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	高盐 salt	提高耐盐性 enhance tolerance to salt stress	[22]
<i>HIPP26, ATHB29</i>	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	低温、高盐、干旱 cold, salt, drought		[12]
<i>AtSAP5</i>	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	高盐、干旱、低温 salt, drought, cold	提高耐盐、干旱性 enhance tolerance to salt and drought stresses	[11]
<i>AtDi19</i> gene family	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	干旱、高盐、光 drought, salt, light		[13]
<i>Zat10</i>	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	氧化胁迫 oxidative	提高耐盐、热、干旱性 enhance tolerance to salt, heat, and drought stresses	[30]
<i>CSDP1, CSDP2</i>	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	低温 cold	提高耐冷性 enhance tolerance to cold stress	[34]
<i>SICZFP1</i>	番茄 <i>Solanum lycopersicum</i>	低温、干旱、高盐 cold, drought, salt	提高耐冷性 enhance tolerance to cold stress	[31]
<i>AcRCHY1</i>	菠萝 <i>Ananas comosus</i>	低温、高盐、干旱、ABA cold, salt, drought, ABA		[32]
<i>DgZFP</i>	菊花 <i>Chrysanthemum</i>	高盐、干旱、低温、ABA salt, drought, cold, ABA	提高耐盐性 enhance tolerance to salt stress	[28]
<i>AISAP</i>	马钱草 <i>Aeluropus litoralis</i>	高盐、干旱、高温、低温、ABA、SA salt, drought, heat, cold, ABA, SA	提高耐盐、干旱、热、冷性 enhance tolerance to salt, drought, heat and cold stresses	[17]
<i>GhDi19 - 1, GhDi19 - 2</i>	棉花 <i>Gossypium hirsutum</i>	高盐、干旱 salt, drought	降低耐盐性 increased sensitivity to salt stress	[27]
<i>MsZFN</i>	苜蓿 <i>Medicago sativa</i> L.	高盐 salt		[29]
<i>AdZFP1</i>	沙蒿 <i>Artemisia desteriorum</i>	干旱、高盐、冷温、高温、ABA drought, salt, cold, heat, ABA	提高耐旱性 enhance tolerance to drought stress	[16]
<i>CaRZFP1</i>	辣椒 <i>Capsicum annuum</i>	高温 heat	促进生长 enhance growth	[36]
<i>StZFP1</i>	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	高盐、干旱、ABA salt, drought, ABA	提高耐盐性 enhance tolerance to salt stress	[7]
<i>TaCHP</i>	小麦 <i>Triticum aestivum</i>	受高盐、干旱、ABA 处理下调 suppressed by salt, drought, ABA	提高耐盐性 enhance tolerance to salt stress	[25]
<i>Tsip1, Tsi1</i>	烟草 <i>Nicotiana tabacum</i>	高盐、SA、Et、GA3 salt, SA, Et, GA3	提高耐盐性 enhance tolerance to salt stress	[26]
<i>ZF1</i>	鹰嘴豆 <i>Cicer arietinum</i> Linn.	高温、干旱、氧化胁迫、6-BA、ABA、Et、GA3、IAA、MeJA、SA salt, drought, oxidative, 6-BA, ABA, Et, GA3, IAA, MeJA, SA		[35]

2.1 锌指蛋白与植物的耐旱性

干旱是重要的非生物胁迫因子之一。在水资源日

益匮乏、旱灾危害日益加重的今天,抗旱物种资源的发掘利用、干旱胁迫分子机理的研究和耐旱相关基因的

克隆对培育耐旱作物品种具有重要意义。

拟南芥中与逆境相关的锌指蛋白基因 *AtSAP5* 主要在根中表达并受高盐、干旱和低温的诱导。无论在拟南芥正常生长条件还是干旱胁迫下, *AtSAP5* 的过量表达能够促进其他干旱逆境相关基因的表达, 并增强转基因植株的耐旱性。*AtSAP5* 具有 E3 泛素连接酶活性, 是一种逆境响应的正调节物^[11]。Barth 等^[12] 发现拟南芥中的锌指蛋白基因 *HIPP26* 表达受干旱诱导, 通过酵母双杂交试验发现 *HIPP26* 蛋白可通过它的重金属结合结构域与其同源锌指转录因子 *ATHB29* 相互作用。*ATHB29* 是已知的干旱诱导基因, 并能调节 *HIPP* 基因家族的表达。拟南芥中的 *AtDi19* 基因家族编码 7 个亲水蛋白, 它们均含有 2 个非典型的 C₂H₂ 型结构域。这些基因在表达量上虽然有所差异, 但在各组织中仍普遍具有表达, 如 *AtDi19-1* 和 *AtDi19-3* 的表达在干旱条件下被迅速诱导上调^[13]。水稻锌指蛋白基因 *OsZFP* 和 *OsZF19* 的表达受到干旱胁迫的强烈诱导, 表明 *OsZFP* 和 *OsZF19* 在对干旱逆境应答中发挥重要作用^[6,14]。Huang 等^[15] 研究水稻锌指蛋白基因 *DST* 时发现在 *dst* 突变体中过氧化物酶前体物基因 *peroxidase 24 precursor* 的表达被下调, 植物体内的过氧化氢酶减少, 从而导致保卫细胞中 H₂O₂ 的积累。H₂O₂ 作为一种重要的依赖于 ABA 的信号分子能够调控气孔关闭, 所以增强水稻的耐旱性。杨秀红等^[16] 从耐旱的沙蒿 (*Artemisia desteriorum*) 中克隆出锌指蛋白基因 *AdZFP1*, 该基因编码的蛋白在 C 末端有典型的 C₃HC₄ 锌指结构域, 在 N 末端有几个重复的锚定区域。mRNA 表达分析表明 *AdZFP1* 在根、茎和叶中表达, 并受到干旱诱导。将 *AdZFP1* 转入烟草 (*Nicotiana tabacum*) 可以提高其耐旱性。马绊草 (*Aeluropus litoralis*) 锌指蛋白基因 *AISAP* 的表达在干旱条件下被诱导。转入 *AISAP* 的烟草可增强其耐旱性, 并且在干旱条件下能够完成整个生活史并产生可育的种子, 但野生型却不能存活^[17,18]。过量表达水稻锌指蛋白基因 *ZFP245* 或 *OsTOP6A1* 都能增强水稻耐受干旱胁迫的能力^[19,20]。

2.2 锌指蛋白与植物的耐盐性

随着农业生产中化肥使用量的加大, 土壤盐渍化日趋严重, 越来越多的灌溉地受到盐渍化影响。过高的盐分造成土壤渗透压增高, 使得植物失水, 同时伴随着一系列的二级胁迫, 最终导致农作物减产。因此, 通过基因工程手段将耐盐基因转入农作物中是提高作物抵抗盐渍化土壤的一个重要途径^[21]。

有些 C₂H₂ 型锌指蛋白 (如 *Zat7*、*Zat10* 和 *Zat12*)

包含 EAR (ethylene-responsive element-binding factor (ERF)-associated amphiphilic repression) 转录抑制结构域, 对调节植物抵抗生物和非生物逆境发挥关键作用。拟南芥锌指蛋白基因 *Zat7* 的过量表达可以增强拟南芥对盐的耐受性, 但是抑制植株生长; 而将 *Zat7* 的 EAR 基序突变后重新转入拟南芥发现转基因植株不能增强耐盐性, 但仍然抑制植株生长。结果表明 C₂H₂ 型锌指蛋白中的 EAR 结构域对植株抵御盐以及其他非生物逆境起到关键作用, 但并不是抑制植株生长的原因^[22]。Jain 等^[20] 发现转入水稻锌指蛋白基因 *OsTOP6A1* 的拟南芥提高了耐盐性, 而且发现转基因植株经逆境胁迫处理后许多逆境应答基因表达增强。张红生等克隆出 2 个 C₂H₂ 型水稻锌指蛋白基因 *RZF71* 和 *ZFP182*^[23,24]。*RZF71* 和 *ZFP182* 在根、茎、叶和幼穗中均有表达, *ZFP182* 的表达受到高盐、干旱、低温和 ABA 诱导, 而 *RZF71* 的表达只被高盐和干旱诱导, 不被低温和 ABA 诱导。将 *ZFP182* 转入烟草或水稻都能增强转基因植株的耐盐性。小麦锌指蛋白基因 *TaCHP* 主要在三叶期幼苗根部表达, 该基因在耐盐品种山戎 3 号中的表达比在盐敏感品种济南 177 中的表达要强, 盐、干旱以及 ABA 可下调 *TaCHP* 的表达。在盐超敏感品种 JN17 中过量表达 *TaCHP* 能增强其对盐的耐受性, 并且 *TaCHP* 在拟南芥中表达也能增强其耐盐性, 还能提高许多逆境报告基因 (*AtCBF3*、*AtDREB2A*、*AtABI2* 和 *AtABI1*) 在盐胁迫下表达。研究表明 *TaCHP* 增强植株对逆境的耐受性是通过促进 *CBF3* 和 *DREB2A* 表达实现的^[25]。Ham 等^[26] 研究烟草 *Tsip1* 和 *Tsi1* 两个锌指蛋白基因时发现 *Tsip1* 表达不仅被高盐诱导, 而且也被水杨酸、乙烯、赤霉素和病毒诱导。转入 *Tsip1* 和 *Tsi1* 两个基因的植株比单独只转其中 1 个基因的植株对盐的耐受性要强, 说明这两种逆境相关基因具有合作功能, 并且 *Tsip1* 能够激活 *Tsi1* 转录。棉花 *GhDi19-1* 和 *GhDi19-2* 两个锌指蛋白基因的表达可被盐和干旱强烈诱导。将这 2 个基因分别转入拟南芥中进行过量表达, 结果导致幼苗对高盐和 ABA 过度敏感, 种子的萌发和幼苗的生长受到盐和 ABA 的强烈抑制^[27]。马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 锌指蛋白基因 *StZFP1* 主要在成熟株的叶、茎、根、块茎和花中表达, 并受到盐、干旱和 ABA 的诱导。转基因试验表明 *StZFP1* 在烟草中的表达增强了转基因植株的耐盐性^[7]。菊花 (*Chrysanthemum*) 锌指蛋白基因 *DgZFP* 在花中的表达比在根、茎、叶中的表达要丰富, 并受到盐、干旱和低温胁迫的强烈诱导, 幼苗中还受到 ABA 的微弱诱导。将 *DgZFP* 转入烟草可提高其耐盐

性^[28]。马绊草 *AISAP* 受到高盐诱导,在高盐条件下,野生型烟草不能存活,但转入 *AISAP* 的烟草不仅具有较强的耐盐性,而且还可正常生长并产生可育的种子^[17,18]。苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 锌指蛋白基因 *MsZFN* 在叶中表达最高,在根中表达最低,在高盐条件下可被诱导上调^[29]。拟南芥锌指蛋白基因 *Zat10* 虽然能增强植株对盐和渗透胁迫的耐受性,但该基因的缺失突变体和 RNAi 植株表现出对高盐和渗透胁迫更强的耐受性^[30]。拟南芥的 *AtDi19-2* 和 *AtDi19-4*^[13]、水稻的 *OsZFP*^[6] 和 *OsZFP19*^[14]、沙蒿的 *AdZFP1*^[16] 都受到高盐胁迫的诱导,在耐盐性方面发挥重要作用。*AtSAP5* 的过量表达可增强拟南芥的耐盐性^[11],而水稻 *DST* 在缺失突变时提高植株对盐的耐受能力^[15]。

2.3 锌指蛋白与植物的耐冷性

低温胁迫严重影响植物的生长,尤其是影响小麦、水稻等农作物的产量。近年来,国内外学者从细胞和分子生物学角度研究植物的耐冷性,取得了一些重要成果,也相继克隆出一些耐低温的锌指蛋白基因。

Zhang 等^[31]发现番茄 (*Solanum lycopersicum*) 锌指蛋白基因 *SICZFP1* 的表达受到低温、干旱和高盐的强烈诱导。将 *SICZFP1* 转入拟南芥或水稻都可增强转基因植株对低温的耐受能力,表明 *SICZFP1* 在植物低温逆境中发挥重要作用。水稻锌指蛋白基因 *ZFP245* 受低温和干旱诱导,*ZFP245* 的过量表达能够增强水稻对低温胁迫的耐受能力。研究结果表明转基因植株的 5-吡咯啉羧化合成酶和脯氨酸转运蛋白基因在逆境条件下表达上升,结果导致游离脯氨酸增加,通过提高脯氨酸浓度来增强转基因植株的耐逆性^[19]。杨祥燕等^[32]从菠萝 (*Ananas comosus*) 中克隆出 C_3HC_4 型锌指蛋白基因 *AcRCHY1*,*AcRCHY1* 在子房、花瓣和小花中的表达量明显高于在根和叶中的表达量,而且在低温、高盐、干旱和 ABA 等非生物逆境条件下 *AcRCHY1* 的表达能够被诱导上调。*AcRCHY1* 蛋白可能作为一个转录调控因子在菠萝响应低温胁迫等非生物逆境过程中参与依赖 ABA 的信号转导途径。沙蒿 *AdZFP1*^[16]、马绊草 *AISAP*^[17]、水稻 *ZFP177*^[33] 和 *OsZFP*^[6] 的表达都能被低温诱导。将 *ZFP177* 或 *AISAP* 转入烟草均可增强转基因植株耐受低温胁迫的能力^[17,33]。锌指蛋白基因 *CSDP1* 或 *CSDP2* 的过量表达均能增强拟南芥 7 个低温敏感型突变体植株对低温胁迫的耐受能力^[34]。

2.4 锌指蛋白与植物的耐热性

随着全球温室效应的不断增强,高温对农作物生

产的影响日益加剧。克隆耐热基因并通过基因工程手段对农作物品种进行遗传改良将是今后育种的重大研究方向。

Huang 等^[33]发现水稻锌指蛋白基因 *ZFP177* 能够被高温诱导,将 *ZFP177* 转入烟草可以提高其耐热性,但是也增强其对盐和干旱的敏感性。陈晨等^[35]从鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* Linn.) 中克隆出 C_2H_2 型锌指蛋白基因 *ZF1*。mRNA 表达分析表明 *ZF1* 在根、茎、叶、花、幼荚和幼胚中均有表达,只是在茎和叶中表达较弱,*ZF1* 不但受到高温诱导,而且还受到 6-苄基腺嘌呤 (6-BA)、脱落酸 (ABA)、乙烯利 (Et)、赤霉素 (GA3)、吲哚-3-乙酸 (IAA)、茉莉酸甲酯 (MeJA)、水杨酸 (SA) 和氧化胁迫诱导。*ZF1* 可能作为一个重要的转录因子参与植物的生长代谢以及多种逆境应答。马绊草 *AISAP*^[17]、沙蒿 *AdZFP1*^[16] 和辣椒 (*Capsicum annuum*) *CaRZFP1*^[36] 的表达也都受到高温诱导。将 *AISAP* 转入烟草可以提高其耐热性,而将 *CaRZFP1* 转入烟草却不能提高其耐逆性,但是可以促进转基因植株生长。

2.5 锌指蛋白与植物的其他耐逆性

很多锌指蛋白基因在其他非生物逆境中也发挥重要作用,如重金属胁迫、氧化胁迫等。铝中毒是酸性土壤中作物减产的一个重要原因,可是有些物种在进化过程中增强了抵抗铝毒的能力。Yamaji 等^[37]通过酵母单杂交试验发现水稻锌指蛋白 *ART1* 具有转录激活潜力。*ART1* 可与 1 个重要的耐铝基因 *STAR1* 启动子区域结合并激活其转录。mRNA 表达分析表明 *ART1* 的表达量不受铝的影响。微阵列分析显示 *ART1* 能够调节下游 31 个基因的转录,包括 *STAR1*、*STAR2* 和一些其他的耐铝同源基因,表明 *ART1* 是通过调节下游耐铝基因的表达来增强植株对铝的耐受能力。在氧化胁迫下,拟南芥 *Zat10*^[30] 和鹰嘴豆 *ZF1*^[35] 的表达增强。*ZFP245* 的过量表达可以提高水稻耐受氧化胁迫的能力^[19]。

从现有的锌指蛋白与植物非生物逆境响应的研究报告中可以发现存在以下作用机制:(1) C_2H_2 或者 C_2HC 型锌指蛋白能够识别并结合 TTGAC (C/T)W 顺式作用元件,并通过该锌指蛋白的 WRKY 结构域调控下游目的基因的表达,如拟南芥中的 *WRKY22*^[38]。(2)大多数锌指蛋白是作为逆境响应的正调节物,受逆境诱导,能促进其他逆境相关基因的表达,且能够增强转基因植株的耐逆性,如水稻的 *ZFP245*^[19] 和 *OsTOP6A1*^[20],拟南芥的 *AtSAP5*^[11]、*Zat7*^[22]、*Zat10*^[30],番茄的 *SICZFP1*^[31],马绊草的 *AISAP*^[17] 等。

有些锌指蛋白基因表达基本不受逆境影响,可能是翻译后的修饰对该蛋白的功能起重要作用,才能够与相关耐逆基因的启动子区域结合并激活其转录,如水稻的 ART1^[37]。(3)有些锌指蛋白是作为逆境响应的负调节物,当其功能丧失时能增强植物的耐逆性,或者过量表达时能降低植物的耐逆性,如水稻的 DST^[15],棉花的 GhDi19-1 和 GhDi19-2 等^[27]。(4)有些 C₂H₂ 型锌指蛋白所包含的 EAR 转录抑制结构域对植物抵御很多非生物逆境起到关键作用。其作用机制是该类锌指蛋白能够抑制一些植物逆境防御抑制剂的活性,从而提高植物对逆境的耐受能力,如拟南芥的 Zat7^[22] 和 Zat10^[30] 等。(5)很多锌指蛋白基因的表达受到 ABA 的调控,说明这些锌指蛋白参与依赖于 ABA 的信号转导途径,如水稻的 ZFP182^[24] 和 OsZF19^[14],菠萝的 AcRCHY1^[32],菊花的 DgZFP^[28],马铃薯的 StZFP1^[7] 等。(6)有些锌指蛋白具有合作功能,同时转 2 个基因的植株比单独只转其中 1 个基因的植株对逆境的耐受性要强,如烟草的 Tsip1 和 Tsi1^[26]。(7)有些锌指蛋白能够增强转基因植株的耐逆性,但缺失突变体和 RNAi 植株却表现出对逆境更强的耐受性,如拟南芥的 Zat10^[30]。(8)有的锌指蛋白基因表现出在有些逆境下被诱导表达,而在其他不同的逆境下却被抑制表达。这些基因的过量表达增强了转基因植株对有些逆境的耐受性,同时也使转基因植株产生对其他逆境的敏感性。如水稻 ZFP177 受低温和高温诱导,高盐却抑制其表达。ZFP177 的过量表达增强了转基因植株对低温和高温的耐受性,同时也增强了对高盐和干旱的敏感性^[33]。

3 展望

锌指蛋白是植物体内重要的转录因子,具有调控植物生长发育、耐逆性、细胞程序性死亡等多种功能。近几年已经克隆出许多的植物锌指蛋白基因,其中很多基因与植物耐逆性有关。目前对植物锌指蛋白基因与非生物逆境关系的研究主要集中在表达部位、亚细胞定位、胁迫诱导以及转基因植株的耐逆性方面。今后锌指蛋白对植物耐逆性的作用将成为逆境分子生物学领域的研究热点,尤其是锌指蛋白在植物逆境代谢中分子机理的研究。例如锌指蛋白如何与下游基因的启动元件结合并激活或抑制下游基因的表达;锌指蛋白如何与其他转录因子相互作用,共同调节耐逆相关基因的表达;在错综复杂的逆境代谢途径中,锌指蛋白又将如何响应各种信号分子等。我们在对高温胁迫下

的水稻幼穗进行全基因组基因芯片表达分析时也发现锌指蛋白基因表现出对高温的不同响应特征(未发表资料),目前正在对一些候选逆境相关锌指蛋白基因利用水稻和拟南芥过量表达转基因材料和突变体进行功能鉴定。随着对锌指蛋白结构和功能研究的不断深入,人们有望建立锌指蛋白与 DNA 相互作用的模型,设计出人工锌指蛋白来研究基因表达调控和核酸与蛋白质的关系。对逆境代谢起关键作用的锌指蛋白基因也可用来改良农作物品种来提高其耐逆性,为农作物尤其是粮食作物的高产稳产提供保证,也为解决粮食安全提供新的思路。

参考文献:

- [1] Miller J, McLachlan A D, Klug A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor III A from *Xenopus oocytes* [J]. *EMBO J*, 1985, 4(6):1609-1614
- [2] Hoovers J M, Mannens M, John R, Blik J, van Heyningen V, Porteous D J, Leschot N J, Westerveld A, Little P F. High-resolution localization of 69 potential human zinc finger protein genes: a number are clustered [J]. *Genomics*, 1992, 12(2):254-263
- [3] Frankel A D, Pabo C O. Fingering too many proteins [J]. *Cell*, 1988, 53(5):675
- [4] Berg J M, Shi Y. The galvanization of biology: a growing appreciation for the roles of zinc [J]. *Science*, 1996, 271(5252):1081-1085
- [5] Wolfe S A, Nekludova L, Pabo C O. DNA recognition by Cys2His2 zinc finger proteins [J]. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 2000, 29:183-212
- [6] Islam M S, Hur J H, Wang M H. The influence of abiotic stresses on expression of zinc finger protein gene in rice [J]. *Russ J Plant Physiol*, 2009, 56(5):695-701
- [7] Tian Z D, Zhang Y, Liu J, Xie C H. Novel potato C2H2-type zinc finger protein gene, *StZFP1*, which responds to biotic and abiotic stress, plays a role in salt tolerance [J]. *Plant Biol*, 2010, 12(5):689-697
- [8] Yet S F, McA Nulty M M, Folta S C, Yen H W, Yoshizumi M, Hsieh C M, Layne M D, Chin M T, Wang H, Perrella M A, Jain M K, Lee M E. Human E Z F. A Krüppel-like zinc finger protein, is expressed in vascular endothelial cells and contains transcriptional activation and repression domains [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(2):1026-1031
- [9] Riechmann J L, Heard J, Martin G, Reuber L, Jiang C, Keddie J, Adam L, Pineda O, Ratcliffe O J, Samaha R R, Creelman R, Pilgrim M, Broun P, Zhang J Z, Ghandehari D, Sherman B K, Yu G L. *Arabidopsis* transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes [J]. *Science*, 2000, 290(5499):2105-2110
- [10] 韩莹琰, 张爱红, 范双喜, 曹家树. 十字花科植物 C2H2 型锌指蛋白新基因 *BcMF20* 同源序列克隆与进化分析 [J]. *核农学报*,

- 2011,25(5):0916-0921
- [11] Kang M, Fokar M, Abdelmageed H, Allen R D. *Arabidopsis* SAP5 functions as a positive regulator of stress responses and exhibits E3 ubiquitin ligase activity [J]. *Plant Mol Biol*, 2011, 75(4-5): 451-466
- [12] Barth O, Vogt S, Uhlemann R, Zschiesche W, Humbeck K. Stress induced and nuclear localized *HIPP26* from *Arabidopsis thaliana* interacts via its heavy metal associated domain with the drought stress related zinc finger transcription factor *ATHB29* [J]. *Plant Mol Biol*, 2009, 69(1-2): 213-226
- [13] Milla M A, Townsend J, Chang I F, Cushman J C. The *Arabidopsis* *AtDi19* gene family encodes a novel type of Cys2/His2 zinc-finger protein implicated in ABA-independent dehydration, high-salinity stress and light signaling pathways [J]. *Plant Mol Biol*, 2006, 61(1-2): 13-30
- [14] 黄越敏, 胡红红, 武从庆. 一个逆境诱导表达的水稻锌指蛋白基因的分离和鉴定 [J]. *华中农业大学学报*, 2006,25(6): 581-585
- [15] Huang X Y, Chao D Y, Gao J P, Zhu M Z, Shi M, Lin H X. A previously unknown zinc finger protein, *DST*, regulates drought and salt tolerance in rice via stomatal aperture control [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(15): 1805-1817
- [16] Yang X, Sun C, Hu Y, Lin Z. Molecular cloning and characterization of a gene encoding RING zinc finger ankyrin protein from drought-tolerant *Artemisia desertorum* [J]. *J Biosci*, 2008, 33(1): 103-112
- [17] Saad R B, Zouari N, Ramdhan W B, Azaza J, Meynard D, Guiderdoni E, Hassairi A. Improved drought and salt stress tolerance in transgenic tobacco overexpressing a novel A20/AN1 zinc-finger "AISAP" gene isolated from the halophyte grass *Aeluropus litoralis* [J]. *Plant Mol Biol*, 2010, 72(1-2): 171-190
- [18] Saad R B, Romdhan W B, Zouari N, Azaza J, Meynard D, Verdeil J L, Guiderdoni E, Hassairi A. Promoter of the AISAP gene from the halophyte grass *Aeluropus litoralis* directs developmental-regulated, stress-inducible, and organ-specific gene expression in transgenic tobacco [J]. *Transgenic Res*, 2010, DOI 10.1007/s11248-010-9474-6
- [19] Huang J, Sun S J, Xu D Q, Yang X, Bao Y M, Wang Z F, Tang H J, Zhang H. Increased tolerance of rice to cold, drought and oxidative stresses mediated by the overexpression of a gene that encodes the zinc finger protein ZFP245 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 389(3): 556-561
- [20] Jain M, Tyagi A K, Khurana J P. Constitutive expression of a meiotic recombination protein gene homolog, *OsTOP6A1*, from rice confers abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. *Plant Cell Rep*, 2008, 27(4): 767-778
- [21] 孙书琦, 张锐, 郭三堆. 拟南芥 Nodulin MtN21 家族 *At1g09380* 基因功能的初步研究 [J]. *核农学报*. 2009,23(3): 429-434
- [22] Ciftci-Yilmaz S, Morsy M R, Song L, Coutu A, Krizek B A, Lewis M W, Warren D, Cushman J, Connolly E L, Mittler R. The EAR-motif of the Cys2/His2-type zinc finger protein *Zat7* plays a key role in the defense response of *Arabidopsis* to salinity stress [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(12): 9260-9268
- [23] 郭书巧, 黄骥, 江燕, 张红生. 水稻 C2H2 型锌指蛋白基因 *RZF71* 的克隆与表达分析 [J]. *遗传*, 2007, 29(5): 607-613
- [24] Huang J, Yang X, Wang M M, Tang H J, Ding L Y, Shen Y, Zhang H S. A novel rice C2H2-type zinc finger protein lacking DLN-box/EAR-motif plays a role in salt tolerance [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1769(4):220-227
- [25] Li C, Lv J, Zhao X, Ai X, Zhu X, Wang M, Zhao S, Xia G. *TaCHP*: a wheat zinc finger protein gene down-regulated by abscisic acid and salinity stress plays a positive role in stress tolerance [J]. *Plant Physiol*, 2010, 154(1): 211-221
- [26] Ham B K, Park J M, Lee S B, Kim M J, Lee I J, Kim K J, Kwon C S, Paek K H. Tobacco Tsip1, a DnaJ-type Zn finger protein, is recruited to and potentiates Tsi1-mediated transcriptional activation [J]. *Plant Cell*, 2006, 18(8): 2005-2020
- [27] Li G, Tai F J, Zheng Y, Luo J, Gong S Y, Zhang Z T, Li X B. Two cotton Cys2/His2-type zinc-finger proteins, GhDi19-1 and GhDi19-2, are involved in plant response to salt/drought stress and abscisic acid signaling [J]. *Plant Mol Biol*, 2010, 74(4-5): 437-452
- [28] Liu Q L, Xu K D, Ma N, Zeng L, Zhao L J. Isolation and functional characterization of *DgZFP*: a gene encoding a Cys2/His2-type zinc finger protein in chrysanthemum [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(2): 1137-1142
- [29] Chao Y, Kang J, Sun Y, Yang Q, Wang P, Wu M, Li Y, Long R, Qin Z. Molecular cloning and characterization of a novel gene encoding zinc finger protein from *Medicago sativa* L. [J]. *Mol Biol Rep*, 2009, 36(8): 2315-2321
- [30] Mittler R, Kim Y, Song L, Coutu J, Coutu A, Ciftci-Yilmaz S, Lee H, Stevenson B, Zhu J K. Gain- and loss-of-function mutations in *Zat10* enhance the tolerance of plants to abiotic stress [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(28-29): 6537-6542
- [31] Zhang X, Guo X, Lei C, Cheng Z, Lin Q, Wang J, Wu F, Wang J, Wan J. Overexpression of *SICZFP1*, a novel TFIIIA-type zinc finger protein from tomato, confers enhanced cold tolerance in transgenic *Arabidopsis* and rice [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2011, 29(1): 185-196
- [32] 杨祥燕, 蔡元保, 吴青松, 孙光明. 菠萝锌指蛋白基因 *AcRCHY1* 的克隆与表达分析 [J]. *园艺学报*, 2009, 36(11): 1589-1596
- [33] Huang J, Wang M M, Jiang Y, Bao Y M, Huang X, Sun H, Xu D Q, Lan H X, Zhang H S. Expression analysis of rice A20/AN1-type zinc finger genes and characterization of *ZFP177* that contributes to temperature stress tolerance [J]. *Gene*, 2008, 420(2): 135-144
- [34] Park S J, Kwak K J, Oh T R, Kim Y O, Kang H. Cold shock domain proteins affect seed germination and growth of *Arabidopsis thaliana* under abiotic stress conditions [J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50(4): 869-878

- 43: 127 - 131
- [25] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003
- [26] 颜宏, 赵伟, 秦峰梅. 盐碱胁迫对碱地肤、地肤种子萌发以及幼苗生长的影响[J]. 东北师范大学学报, 2006, 38(4): 117 - 123
- [27] 陈年来, 马国军, 张玉鑫, 王春林. 甜瓜种子萌发和幼苗生长对 NaCl 胁迫的响应[J]. 中国沙漠, 2006, 26(5): 814 - 819
- [28] 陈景芋, 李卫军, 解继红, 于靖怡. 3 种鹅观草属植物种子萌发期耐盐性研究[J]. 种子, 2009, 28(1): 64 - 66
- [29] 韩建国. 牧草种子学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000
- [30] 孙永刚, 凌腾芳, 王家杰, 徐晟, 宣伟, 汤国辉, 沈文飏. 外源一氧化氮供体硝普钠对小麦种子萌发早期 β -淀粉酶及其亚细胞分布的影响[J]. 作物学报, 2008, 34(9): 1608 - 1614
- [31] Zhang Y K, Han X J, Chen X L, Jin H, Cui X M. Exogenous nitric oxide on antioxidative system and ATPase activities from tomato seedlings under copper stress [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 123: 217 - 223
- [32] Xu J, Wang W Y, Yin H X, Liu X J, Sun H, Mi Q. Exogenous nitric oxide improves antioxidative capacity and reduces auxin degradation in roots of *Medicago truncatula* seedlings under cadmium stress [J]. Plant Soil, 2010, 326: 321 - 330
- [33] Zhao M G, Tian Q Y, Zhang W H. Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2007, 144: 206 - 217
- [34] Liu Y J, Jiang H F, Zhao Z G, An L Z. Nitric oxide synthase like activity-dependent nitric oxide production protects against chilling-induced oxidative damage in *Chorispora bungeana* suspension cultured cells [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48: 936 - 944
- [35] Liu Y G, Wu R R, Wan Q, Xie G Q, Bi Y R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a pivotal role in nitric oxide-involved defense against oxidative stress under salt stress in red kidney bean roots [J]. Plant and Cell Physiology, 2007, 48: 511 - 522
- [36] Wang H H, Huang J J, Bi Y R. Nitrate reductase-dependent nitric oxide production is involved in aluminum tolerance in red kidney bean roots [J]. Plant Science, 2010, 179: 281 - 288
- [37] Kolbert Z, Ortega L, Erdei L. Involvement of nitrate reductase (NR) in osmotic stress-induced NO generation of *Arabidopsis thaliana* L. roots [J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 167: 77 - 80

(责任编辑 邱爱枝)



(上接第 672 页)

- [35] 陈晨, 彭辉, 高文瑞, 石庆华, 张桦, 张巨松, 李建贵, 麻浩. 鹰嘴豆锌指蛋白基因 ZF1 的克隆及表达分析 [J]. 作物学报, 2009, 35(12): 2180 - 2186
- [36] Zeba N, Isbat M, Kwon N J, Lee M O, Kim S R, Hong C B. Heat-inducible C3HC4 type RING zinc finger protein gene from *Capsicum annum* enhances growth of transgenic tobacco [J]. Planta, 2009, 229(4): 861 - 871
- [37] Yamaji N, Huang C F, Nagao S, Yano M, Sato Y, Nagamura Y, Ma J F. A zinc finger transcription factor ART1 regulates multiple genes implicated in aluminum tolerance in rice [J]. Plant Cell, 2009, 21(10): 3339 - 3349
- [38] Zhou X, Jiang Y, Yu D. WRKY22 transcription factor mediates dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis* [J]. Mol Cells, 2011, 31(4): 303 - 313

(责任编辑 王媛媛)