

植物NAC转录因子的种类、特征及功能*

李伟 韩蕾** 钱永强 孙振元

(中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室 北京 100091)

摘要 综述了NAC转录因子的发现及其家族成员、结构特点和生物学功能。NAC类蛋白是近年来发现的一类植物特有、数量众多的转录因子家族, 其成员广泛分布于陆生植物中。NAC家族成员的N端具有一个保守的约150个氨基酸组成的NAC结构域, 含有A、B、C、D、E 5个亚结构域, C端具有一个高度变异的转录激活区。分析表明, NAC蛋白结构与其功能密切相关。NAC转录因子具有诸多方面的功能, 如参与植物次生生长, 在细胞分裂和植株衰老中发挥作用, 参与激素调控和信号转导, 参与矿质元素营养和农作物品质改良等。同时, NACs还参与生物胁迫中植物的防御反应以及在非生物逆境中发挥作用。目前对NAC基因的研究主要集中于模式植物拟南芥和水稻, 对于NAC蛋白涉及的调控途径及其组成因子知之甚少, 因此NAC基因的功能还有待深入研究; 同时, 利用基因工程手段导入或改良关键的NAC转录因子, 使作物综合品质的提高已成为可能。图2 表2 参87

关键词 转录因子; NAC; 结构域; 生物学功能; 表达调控

CLC Q943.2

Characteristics and Functions of NAC Transcription Factors in Plants*

LI Wei, HAN Lei**, QIAN Yongqiang & SUN Zhenyuan

(Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry Sciences; Key Laboratory of Forest Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract The members, structure characteristics and biotic functions of NAC transcription factors were introduced and analyzed. NAC proteins, which distribute widely in many land plant species, constitute one of the largest families of plant-specific transcription factors. The NAC family members have a conservative NAC domain in N-terminal ends with about 150 amino acids including five subdomains of A, B, C, D and E and a highly various transcriptional activation domain in C-terminal ends. The structure of NAC proteins is related to specific biotic functions, and the NAC transcription factors are involved in various aspects, such as plant secondary growth, cell division and plant senesce, hormones regulation and signal transduction, mineral element nutrition and improvement of crop quality. Meanwhile, NACs participate in plant defense responses during biotic and abiotic stress process. The studies have been focused on the model plants *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*, and little is known about regulation route and composition of NACs factors. Therefore it is necessary to have an in-depth study to understand the gene functions of NACs. Nevertheless, they have been used in plant molecular breeding by genetic engineering for crop genetic improvement. Fig 2, Tab 2, Ref 87

Keywords transcription factor; NAC; structure domain; biotic function; expression regulation

CLC Q943.2

转录因子研究是后基因组研究的一个重要内容。作为一种反式作用因子, 转录因子存在于众多不同的信号转导途径中, 特异地与顺式作用元件结合, 激活下游目标基因的表达。植物中存在着大量的转录因子, 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中仅含有27 000个基因, 其中就有5.9%的基因编码转录因子^[1], 而在植物特异蛋白中, 转录因子占到13%^[2]。根据DNA结合域的不同, 植物中转录因子主要分为几大类, 如MYB (v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog)、Bzip (Basic region/leucine zipper)、DREB (dehydration responsive element binding protein)、NAC (NAM, ATAF1/2,

CUC1/2) 等。其中, NAC转录因子是近年来新发现的具有多种生物功能的植物特异转录因子。目前已在拟南芥、水稻 (*Oryza sativa*)、小麦 (*Triticum aestivum*)、大麦 (*Hordeum vulgare*)、玉米 (*Zea mays*)、土豆 (*Solanum tuberosum*)、油菜 (*Brassica campestris*)、南瓜 (*Cucurbita moschata*)、大豆 (*Glycine max*)、甘蔗 (*Saccharum officinarum*)、金鱼草 (*Antirrhinum majus*)、蚕豆 (*Vicia faba*)、甜橙 (*Citrus sinensis*)、花生 (*Arachis hypogaea*)、西红柿 (*Solanum lycopersicum*)、红辣椒 (*Capsicum annuum*)、柑橘 (*Citrus reticulata*)、海茄冬 (*Avicennia marina*)、鹰嘴豆 (*Cicer arietinum*) 等约20种植物中发现了NAC基因。本文就NAC转录因子的发现及其家族成员、结构特点、生物学功能等方面作了综合阐述, 并对该领域未来的研究方向进行了分析。

1 NAC转录因子的发现及其家族成员

NAC基因最初被发现广泛参与植物顶端分生组织的形

收稿日期: 2010-12-06 接受日期: 2010-12-30

*国家自然科学基金项目 (No. 30500396) 和国家高技术研究发展计划 (863计划) 课题 (No. 2009AA10Z109) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30500396) and the National High Technology Research and Development Program (863 program) of China (No. 2009AA10Z109)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: hl04192003@yahoo.com.cn)

成和器官边界的建立. 1996年, Souer等从矮牵牛中克隆到第一个NAC基因*NAM* (no apical meristem), 其*nam*突变体的幼胚缺失根尖分生组织、幼苗缺失根和叶^[3]. 随后, Aida等在拟南芥中发现了具有类似功能的*CUC2* (*cup2 shaped cotyledon*), *cuc2*突变体不能形成正常的顶端分生组织, 突变体子叶融合呈杯状, 萼片与雄蕊融合^[4]. *NAM*和*CUC2*都属于*NAM*亚族, 同属于该亚家族的, 还有水稻的*ONAC300*、金鱼草的*CUP*和南瓜的*CmNACP*^[5]. Vroemen等从拟南芥中分离到与*CUC1*和*CUC2*同源的*CUC3*. 通过对*CUC3*的亚等位基因和*cuc3*缺失突变体分析显示, *CUC1*和*CUC2*在子叶边缘和茎顶端分生组织的形态建成中发挥功能, 而此时*CUC3*存在功能性冗余^[6]. 这些结果都表明*CUC*诱导器官边界的建成, 同时促进茎尖分生组织的分化.

Duval等从发育中的拟南芥种子cDNA文库中分离到一个NAC基因*AtNAM*. *AtNAM*主要在胚胎顶端分生组织以及中轴线与子叶之间表达, 而含有顶端分生组织的胚胎*AtNAM*的表达受到抑制, 暗示*AtNAM*参与分生组织的形成和器官边界的建立^[7].

2003年, Ooka等首次对水稻和拟南芥NAC家族蛋白进行了全面分析, 根据水稻数据库和拟南芥基因组分别预测了75个和105个NAC蛋白, 并根据预测和已知的NAC结构域的序列相似性将其分为2个大组和18个亚组. 组I包含TERN、ONAC022、SENU5、NAP、AtNAC3、ATAF、OsNAC3、NAC2、ANAC011、TIP、OsNAC8、OsNAC7、NAC1和NAM等14个成员; 组II包含4个成员ANAC001、ONAC003、ONAC001和ANAC063. 其中, ANAC011、AtNAC3、ANAC063和ANAC001这4个亚组完全由拟南芥NAC转录因子组成, 而OsNAC3和ONAC001亚组则由单子叶植物水稻和小麦的NAC转录因子组成^[8]. 随后, 对NAC亚家族成员的研究基本上都是以Ooka的分类为依据展开的.

2 NAC转录因子结构特点

NAC转录因子具有显著的结构特点, 即蛋白的N端含有高度保守的约150个氨基酸组成的NAC结构域. NAC结构域不包含任何已知的蛋白结构域, 而是以几个螺旋元件包围着一个扭曲的 β -折叠片结构代替了典型的螺旋-转角-螺旋结构^[9]. 例如拟南芥的ABA响应元件ANAC, 其NAC结构域具有 β -桶或 β -三明治结构^[10]. 同时, NAC结构域包含5个保守的亚结构域A、B、C、D、E, 其中亚域C可能与结合DNA有关, 亚域E可能参与发育时期调控和(或)组织特异性, 并协同亚域D与DNA发生相互作用^[9, 11]. NAC蛋白C-端高度多样化, 是转录激活区, 该区域具有共同的特点, 即频繁出现简单氨基酸的重复序列, 如丝氨酸、苏氨酸、脯氨酸和谷氨酸, 或酸性残基, 这是植物转录激活区域的共同特征. 对拟南芥基因组分析发现, 至少13个拟南芥NAC蛋白具有跨膜功能, 在他们C-端包含 α -螺旋跨膜序列(TMs). 并且很多假定的NAC-MTFs基因在胁迫下上调, 表明他们可能参与胁迫响应^[12]. 尽管如此, Ooka等仍从预测的NAC蛋白的C-端发现了13个共同序列, 这些序列分别存在于12个NAC亚组^[8].

大多数的NAC蛋白都能形成同源或异源二聚体, 这可能

是它们结合DNA的基本形式^[13]. 此外, NAC蛋白还会与其它蛋白发生互作, ANAC019、ANAC055以及ANAC072能在体外或者体内特异地与CATGTG序列结合, 并激活报告基因GUS的转录. 同时, ANAC019、ANAC055以及ANAC072等都能与ZFHD1 (the stress-inducible zinc finger homeodomain) 蛋白直接结合, 这种结合是激活下游基因转录所必需的^[14].

3 NAC结构域特征及与功能的关系

我们利用DNAMAN软件, 对19个NAC转录因子(本文所引文章中出现的)进行系统发生树的构建(图1). 图1显示, 19个NAC转录因子聚为三类: 第一类包括8个与植物次生长相关的NAC转录因子(SND1、NST1/2和VND2/3/4/5/7); 第二类包括除ANAC092以外的5个与顶端分生组织形成和器官边界建立相关的NAC转录因子(CUC2、NAM、CmNACP、CUC3和ONAC300); 第三类包括除XND1和AtNAM以外的3个与植株衰老相关的NAC转录因子(AtNAP、CitNAC和OsNAC5). 由此可以推测, 同一类NAC蛋白, 其NAC结构域具有相似性, 且与其生物学功能是密切相关的, 进而进化出NAC转录因子的各个亚家族成员.

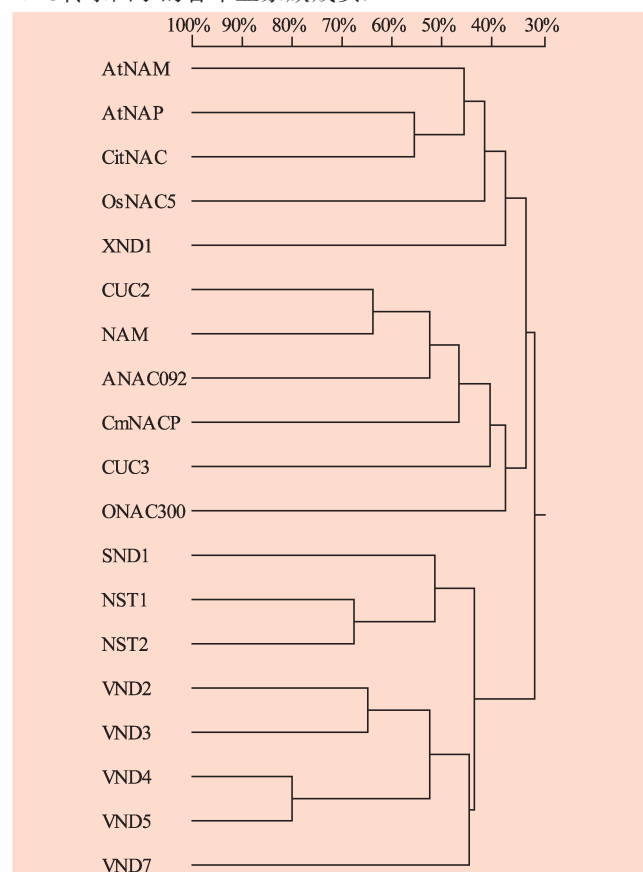


图1 19个NAC类转录因子的系统发生树
Fig. 1 Phylogenetic tree of 19 NAC transcription factors

本文对19个NAC转录因子氨基酸序列进行了比对分析(图2), 对NAC转录因子保守结构域从N端到C端进行划分, 结果显示依次有A、B、C、D、E 5个氨基酸相对保守区(分别为亚域A、B、C、D、E), 共同组成了NAC结构域, 该亚域划分结果与Ooka等的研究结果^[8]相近. 尽管同一亚域均

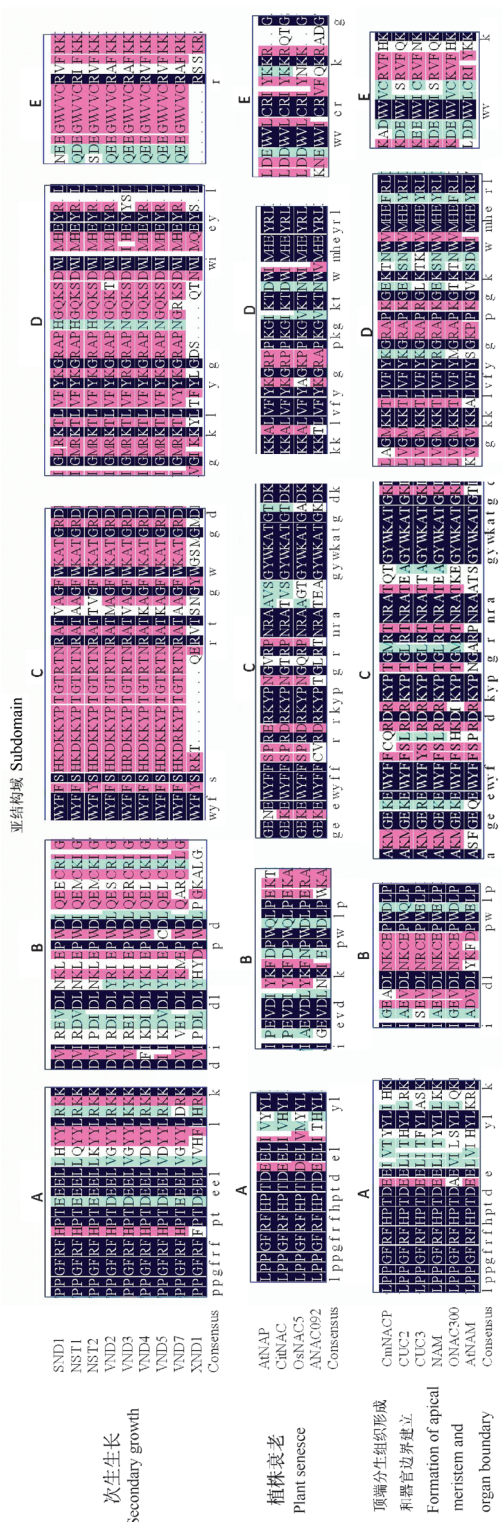


表1 3种功能的NAC类转录因子保守亚结构域的氨基酸序列

Table 1 Amino acid array of conservative subdomain of NAC transcription factors with three different functions

亚结构域	Subdomain	功能	Function	氨基酸序列	Amino acid array
A	次生生长	Secondary growth			$P_{100}P_{100}G_{100}F_{100}R_{100}F_{100}H_{100}P_{100}T_{100}D_{50}E_{100}E_{100}L_{100}V_{89}^{*}Y_{89}...Y_{89}I_{89}R_{89}K_{89}K_{100}$
	植株衰老	Plant senesce			$L_{100}P_{100}P_{100}G_{100}F_{100}R_{100}F_{100}H_{100}P_{100}T_{100}D_{50}E_{100}E_{100}L_{100}V_{50}...Y_{50}I_{100}L_{100}$
	顶端分生组织形成和器官边界建立	Formation of apical meristem and organ boundary			$L_{100}P_{100}P_{100}G_{100}F_{100}R_{100}F_{100}H_{100}P_{100}T_{100}D_{100}E_{100}E_{100}L_{100}T_{87}^{*}Y_{87}...Y_{87}I_{100}L_{100}^{*}K_{100}$
B	次生生长	Secondary growth			$D_{100}V_{100}I_{100}^{*}D_{100}I_{100}^{*}D_{100}L_{100}^{*}D_{100}L_{100}^{*}Y_{89}K_{89}^{*}E_{89}...P_{100}W_{100}D_{100}L_{100}^{*}Q_{89}E_{89}^{*}C_{89}K_{89}I_{89}G_{100}$
	植株衰老	Plant senesce			$I_{100}P_{50}E_{100}V_{100}D_{100}L_{100}^{*}Y_{75}K_{100}F_{75}D_{100}P_{100}Q_{50}W_{100}Q_{50}^{*}P_{100}E_{75}K_{75}A_{75}$
	顶端分生组织形成和器官边界建立	Formation of apical meristem and organ boundary			$I_{100}A_{50}E_{83}V_{83}^{*}D_{100}L_{100}^{*}N_{83}K_{83}C_{83}E_{83}P_{83}W_{100}E_{50}L_{100}P_{100}$
C	次生生长	Secondary growth			$W_{100}Y_{100}F_{100}F_{100}H_{100}K_{89}K_{89}Y_{89}P_{89}T_{89}G_{89}T_{89}R_{89}T_{89}N_{89}R_{89}A_{89}I_{89}^{*}A_{78}...G_{100}F_{89}W_{100}K_{89}A_{89}T_{89}$
	植株衰老	Plant senesce			$G_{100}R_{89}^{*}D_{100}G_{100}E_{100}K_{75}E_{100}V_{100}F_{100}F_{100}P_{100}R_{100}D_{75}K_{100}Y_{100}P_{100}N_{75}G_{100}^{*}R_{100}^{*}P_{100}N_{100}R_{100}A_{100}A_{50}V_{50}S_{50}G_{100}A_{100}T_{100}$
	顶端分生组织形成和器官边界建立	Formation of apical meristem and organ boundary			$G_{100}T_{100}D_{100}K_{100}E_{100}K_{83}E_{100}W_{100}Y_{100}F_{83}F_{83}...I_{50}R_{83}K_{83}Y_{100}P_{100}T_{100}G_{100}L_{100}R_{100}T_{83}^{*}A_{50}...G_{100}Y_{100}W_{100}K_{100}A_{100}T_{100}$
D	次生生长	Secondary growth			$I_{89}G_{100}R_{89}K_{89}T_{100}L_{100}V_{100}F_{100}Y_{100}K_{89}G_{100}R_{89}A_{89}P_{100}N_{100}C_{100}Q_{89}K_{89}S_{89}D_{89}W_{100}H_{89}E_{89}R_{89}^{*}I_{100}$
	植株衰老	Plant senesce			$K_{100}K_{100}A_{100}L_{100}V_{100}Y_{100}K_{100}G_{100}R_{100}P_{100}K_{100}I_{100}K_{100}T_{100}D_{100}W_{100}I_{100}H_{100}E_{100}Y_{100}R_{100}L_{100}$
	顶端分生组织形成和器官边界建立	Formation of apical meristem and organ boundary			$L_{83}V_{83}G_{100}M_{83}K_{100}K_{100}T_{100}V_{100}Y_{100}K_{50}G_{100}R_{83}K_{100}K_{83}G_{100}E_{100}K_{50}S_{50}W_{100}V_{100}M_{100}H_{100}E_{100}Y_{100}R_{100}L_{100}$
E	次生生长	Secondary growth			$Q_{67}E_{67}E_{89}G_{89}V_{89}V_{89}C_{89}R_{100}^{*}F_{89}K_{78}K_{89}$
	植株衰老	Plant senesce			$L_{75}D_{75}E_{50}^{*}W_{100}I_{100}^{*}C_{100}R_{100}I_{75}Y_{75}^{*}K_{100}R_{75}^{*}G_{100}$
	顶端分生组织形成和器官边界建立	Formation of apical meristem and organ boundary			$K_{83}D_{67}E_{67}^{*}W_{100}V_{100}C_{100}R_{83}^{*}V_{83}^{*}K_{100}$

中, 字母右下角数字代表该位点所含的氨基酸, “*”表示该位点氨基酸保守性低于 50%。保守位点进行了颜色标注, 红色区域表示序列一致, 蓝色区域保守性稍弱, 黑色区域保守性较差。Letters in amino acid array represent amino acid of this site, the figures at right bottom corner represent percentage of the amino acid in this site, “*” represents the conservative of this site below 50%. The conservative sites are colored. Red region represents the same amino acid in array, the conservative of blue region is slightly weaker and black region is worse.

具有相同特征的氨基酸序列,但是不同功能的NAC类基因保守结构域的氨基酸序列及长度均存在差异,功能相近的NAC基因,保守结构域同源性高(图2、表2)。

然而,事实也不尽如此,如其中XND1与次生生长相关,AtNAM与顶端分生组织形成相关,但两者氨基酸序列比对以及系统发生树的聚类结果,与其他具有同类功能的NAC转录因子相差较大,两者与其他具同类功能的NAC转录因子发生偏离。这点从XND1和AtNAM的功能特异性方面也可以看出来,不同于其他次生生长相关的NAC转录因子(SND1、NST1/2和VND2/3/4/5/7)促进细胞次生壁的形成,XND1对细胞次生壁的形成起到抑制作用^[15];AtNAM在包含顶端分生组织的整个胚胎区域表达,而NAM、CUC1/2只在顶端分生组织边缘有所表达^[7]。有研究表明,基因在进化过程中可以发生倍增、重组或突变,从而导致基因的水平转移,这可能是NAC转录因子聚类与其功能存在不一致的一个重要原因^[16]。

对保守结构域的氨基酸序列模式进行了统计(表1),各保守亚域的保守性由强到弱排列为:A>C>D>B>E。其中亚域A中的PPGFRRHPT序列和亚域C中的WKATG序列同时在三类NAC转录因子中出现,保守性极高,推测具有较为稳定的生物学功能。

4 NAC转录因子的生物学功能

NAC转录因子是植物中最大的转录因子家族之一,广泛分布于苔藓植物到高等双子叶植物。研究表明,NAC转录因子具有诸多方面的功能(表2),如参与植物次生生长,在细胞分裂和植株衰老中发挥作用,参与激素调控和信号转导,参与矿质元素营养和农作物品质改良,参与生物胁迫中植物的防御反应以及在非生物逆境中发挥作用。有大量的证据表明,在病原体侵染等生物损伤及高盐、干旱、低温、ABA和机械损伤等非生物胁迫应答过程中,NAC转录因子也起着激活或抑制目标基因表达的功能。

4.1 植物次生生长

植物的次生生长是一项重要的生命活动,特别是次生木质部的形成对人类生产和生活具有重大意义。次生生

长包括维管组织形成、次生细胞壁形成、木质化、细胞程序化死亡以及心材形成等过程。近年,研究发现多个NAC基因对细胞次生壁的形成起着正调控作用。例如拟南芥SND1 (Secondary wall-associated NAC domain 1),NST1/2/3 (NAC secondary wall thicken promoting factor 1/2/3)和VND6/7 (Vascular-related NAC domain 6/7)。拟南芥次生壁正常形成需要SND2/3、MYB103/85/52/54/69/42/43/20和KNAT7等11个SND1转录因子。抑制SND2/3、MYB103/85/52/54和KNAT7的表达,能显著减少纤维细胞次生壁增厚;而SND2/3和MYB103的过量表达,则促进纤维中次生壁的增厚。SND1在茎的维管束间纤维和木质部纤维中特异表达,过表达SND1促进非厚壁细胞中次生壁的沉积,而抑制SND1的表达,纤维中缺失次生壁。研究还发现SND1和NST1冗余地调控纤维中次生壁的合成^[17, 19-20],只有同时敲除SND1和NST1或RNAi干扰SND1和NST1的表达,才能抑制拟南芥茎纤维细胞次生壁的增厚。Mitsuda等在拟南芥nst-1 nst-3双敲除植株中叶发现,除维管导管以外,维管束间纤维与木质部次生壁的加厚被完全抑制^[23]。杨树NAC蛋白PtrWNDs能弥补拟南芥snd1 nst1双突变体的纤维缺乏木质素。其中,PtrWND2B和PtrWND6B的过量表达促进拟南芥纤维中纤维素,木聚糖和木质素的沉积^[29]。此外,杨树PopNAC105/154/156/157也显著促进次生壁的合成,它们都是SND2/3的同源物^[30]。

NST类基因与拟南芥花药次生壁的发育也密切相关。NST1 NST2表达受抑的拟南芥,以及nst1 nst2双T-DNA标签株系都表现出花药内皮层缺乏次生壁,花药异常开裂,表明NST1和NST2以冗余方式调控花药次生壁的增厚^[24]。苜蓿NAC家族蛋白的唯一成员MtNST1 (Medicago truncatula NAC secondary wall thickening promoting factors 1, MtNST1)是拟南芥NST1/2/3的同源蛋白。MtNST1的Tnt1逆转座子插入突变体出现花粉囊无法裂开^[31]。

Yamaguchi等发现VND7在调控拟南芥根原生木质部导管的分化中起着关键作用。VND7蛋白C-端的缺失,导致拟南芥后生木质部导管以及根原生木质部导管的发育受到抑

表2 NAC基因种类及在植物生长发育和响应生物胁迫方面的功能

Table 2 Plant NAC genes and its functions in growth and development and biotic stress response

生物功能 Biotic function	植物种类和相关NAC基因 Plant species and relative NAC genes
顶端分生组织的形成及器官边界的建立 Formation of apical meristem and organ boundary	拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) AtNAM ^[7] 、CUC2 ^[4] 和CUC3 ^[6] , 水稻 (<i>Oryza sativa</i>) ONAC300 ^[5] , 矮牵牛 (<i>Petunia hybrida</i>) NAM ^[3] , 金鱼草 (<i>Antirrhinum majus</i>) CUP ^[17] , 南瓜 (<i>Cucurbita moschata</i>) CmNACP ^[17]
次生生长 Secondary growth	拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) SND1 ^[17-20] 、NST1 ^[17, 19, 21-23] 、NST2 ^[24] 、NST3 ^[25] 、VND7 ^[18, 26] 、VND2/3/4/5 ^[27] 、ANAC012 ^[17, 28] 和XND1 ^[15] , 杨树 (<i>Populus tremuloides</i>) PtrWND2B ^[29] 、PtrWND6B ^[15] 和PopNAC105/154/156/157 ^[30] , 苜蓿 (<i>Medicago sativa</i>) MtNST1 ^[31]
细胞分裂 Cell division	拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) NTM1 ^[32]
激素调控和信号转导 Hormone regulation and signal transduction	拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) NTL8 ^[12] 、NARS1/2(即NAC2/NAM) ^[33] 、AtNAC2 ^[34] 和NAC1 ^[6, 35]
植株衰老 Plant senesce	拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) ANAC092 ^[36] 、ORE1 ^[37] 和AtNAP ^[38] , 甜橙 (<i>Citrus sinensis</i>) CitNAC ^[39] , 水稻 (<i>Oryza sativa</i>) OsNAC5 ^[40]
矿质元素营养和营养物质的转运 Mineral element nutrition and nutrient substance transport	小麦 (<i>Triticum aestivum</i>) NAM-B1 ^[41] , 水稻 (<i>Oryza sativa</i>)、大麦 (<i>Hordeum vulgare</i>) IDE-2 ^[42]
参与生物胁迫中植物的防御响应 Defense response of biological stress	拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) ATAF2 ^[43] 、TIP ^[44] 、NTL6 ^[45] 和ATAF1 ^[35] , 大麦 (<i>Hordeum vulgare</i>) HvNAC6 ^[11] , 土豆 (<i>Solanum tuberosum</i>) StNAC ^[46] , 水稻 (<i>Oryza sativa</i>) OsNAC19 ^[47] 和RIMI ^[48-49] , 西红柿 (<i>Solanum lycopersicum</i>) SINAC1 ^[50] , 辣椒 (<i>Capsicum annuum</i>) CaNAC1 ^[51]

制^[26]。并且VND7能形成同源二聚体或者和VND2/3/4/5形成异源二聚体。这表明VND7可能协同VND2/3/4/5和其他调节蛋白,调控根和茎中所有类型导管的分化。与此同时,VND7还能激活下游转录因子基因及一些参与次生壁形成、细胞壁化学修饰和细胞凋亡等非转录因子基因的表达^[18]。

此外,也有一些NAC基因抑制细胞次生壁的形成,如拟南芥*ANAC012*和*XND1*(xylem NAC domain 1),其中*XND1*在拟南芥木质部中高度表达。敲除*XND1*的拟南芥,植株矮化,导管的长度缩短;而*XND1*过表达株系,下胚轴原生木质部区域的薄壁细胞缺乏次生壁增厚,植株矮化,这可能与木质部导管的缺失有关,但韧皮部仍然能形成韧皮部细胞。由此表明,*XND1*通过调控次生壁的合成和细胞凋亡专一调控着木质部导管元件的生长^[15]。*ANAC012*在开花茎和根的形成层区特异表达。过表达*ANAC012*显著抑制拟南芥木质部次生壁形成,但轻微地增加了木质部导管的细胞壁厚度^[17]。

4.2 细胞分裂和植株衰老

NAC基因能够通过调控细胞的分裂影响植物的生命周期。膜蛋白水解和细胞分裂素信号能激活拟南芥*NTM1*(NAC with transmembrane motif 1)的表达,在其突变体中,一系列CDK(cyclin-dependent kinases)抑制子基因被诱导表达,这些基因抑制组蛋白H4的合成,从而抑制了细胞分裂,导致生长延迟^[32]。

拟南芥中近1/5(20/107)的NAC基因与叶片衰老相关^[2]。拟南芥*ANAC092*(*AtNAC2*或*ORE1*)过量表达系中,170个基因表达上调,其中46%与衰老相关^[36]。*NAP*(*NAC-like, activated by APETALA 3/PISTILLATA*)起初被定义为*APETALA3/PISTILLATA*的同源基因,后者是花瓣和雄蕊的形成的关键基因^[52]。*AtNAP*的两个T-DNA插入系,叶片的衰老被显著延迟,*AtNAP*的过量表达则导致拟南芥叶片早衰,但敲除*AtNAP*的植株表型正常。在水稻和蚕豆中,*AtNAP*的同源物在叶片衰老过程中也发生表达上调。由此可见,*AtNAP*的表达与拟南芥莲座叶的衰老密切相关^[38]。

NAC转录因子*ORE1*(oxygen responsive elements 1)积极调控了拟南芥叶片细胞程序化死亡。在*EIN2*(ethylene insensitive 2)诱导叶片衰老的过程中,*miR164*的表达逐渐降低,而*ORE1*在*miR164*的负调控下发生上调。但是,当*ORE1*缺失时,*EIN2*仍有助于衰老诱导细胞的死亡。由此可见,*ORE1*、*miR164*和*EIN2*等3条前馈途径调控了拟南芥叶片细胞程序化死亡^[53]。*CitNAC*和参与植物的器官衰老的*AtNAC*和*PeNAP*的功能密切相关,Liu等从成熟期和衰老期的甜橙果实中检测到*CitNAC*的表达^[39]。水稻*OsNAC5*参与调控叶片的衰老。在自然老化和逆境胁迫(黑暗、ABA处理、高盐、寒冷和缺铁)诱导的衰老过程中,*OsNAC5*表达上调,但在黑暗条件下并有6-BA存在时,*OsNAC5*的表达却不受影响^[40]。

4.3 激素调控和信号转导

赤霉素GA(Gibberellin acid)通过协调生长素和其他外源信号物质在种子萌发过程中发挥重要作用。膜结合的NAC转录因子*NTL8*(NTM 1-like 8)经不依赖ABA的GA途径介导了拟南芥种子萌发过程中盐的调节。*NTL8*的表达受高盐和多效唑诱导,但受GA抑制。高盐显著抑制GA3氧化酶-1基

因的表达,说明GA的生物合成抑制了种子的萌发。相应地,拟南芥T-DNA插入突变体,*ntl-8-1*种子的萌发对高盐和多效唑具有抵抗力。以上结果表明,在拟南芥种子萌发中,盐信号传导在GA途径中通过诱导*NTL8*的表达调控了种子萌发^[12]。Kunieda等发现*NARS1*和*NARS2*(NAC regulated seed morphology, *NAC2*和*NAM*)在调节珠被的发育方面存在功能重叠,进而影响拟南芥种子的形态发生,*nars1 nars2*双突变体产生畸形种子,而*NARS1*或*NARS2*的单突变体的种子正常。同时,*nars1 nars2*双突变体的珠被退化显著延迟,而野生型植株在鱼雷型胚胎时期便发生珠被的退化。用*nars1 nars2*双突变体的花粉给野生型雌蕊授粉,结出正常种子,反交则产生畸形种子^[33]。

生长素调节植物侧根的形成,但该过程的信号途径目前仍不清楚。拟南芥*AtNAC2*的过表达促进侧根发育。乙烯前体ACC(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid)能够诱导*AtNAC2*的表达,且其mRNA水平在乙烯过量产生系*eto1-1*中有所增加。*AtNAC2*还促进或抑制下游基因的表达。这表明*AtNAC2*可能在植物侧根形成过程中同时感受外界环境和内部信号刺激^[34]。*NAC1*在*TIR1*(Transport inhibitor responsive protein 1)下游为侧根的发育转导生长素信号。果蝇的指环蛋白*SINA*的拟南芥同源物*SINAT5*,具有泛素蛋白连接酶活性,能够泛素化*NAC1*。过表达*SINAT5*的拟南芥形成较少的侧根^[54-55]。

4.4 矿质元素营养和作物品质改良

对NAC蛋白参与植物矿质元素营养的报道鲜见,有研究表明,NAC转录因子可能参与调节植物体铁元素的平衡。Ogo等从水稻和大麦中分离到一个铁缺乏响应元件IDE-2(Iron deficiency responsive cisacting element 2)。*IDEF-2*属于NAC转录因子家族未定义的一个分支,能与*IDE-2*特异结合。研究发现,*IDEF-2*的功能受抑将导致水稻中的铁含量异常。*IDEF-2* RNAi水稻中有很多基因的表达受到抑制,其启动子上都有*IDEF-2*的核心结合位点,并且侧翼序列与*IDE2*高度同源。铁缺乏能导致Fe(II)-烟酰胺运输基因*OsYSL2*等基因表达上调,而*IDEF-2* RNAi植株受铁缺乏的影响较小,推测*IDEF-2*参与铁代谢相关基因的调节^[42]。

Uauy等在小麦中克隆了一个典型的NAC转录因子*NAM-B1*。野生型中*NAM-B1*不但能够加速植株衰老,而且促进叶片中的营养物质向发育中的籽粒转运,突变体的*NAM-B1*基因仅由于插入一个碱基就丧失了该项功能,导致籽粒蛋白含量下降超过30%,锌和铁的含量分别下降了36%和38%,营养成分大为降低。小麦基因组拥有近16 000 Mb碱基,仅1个碱基插入*NAM-B1*基因,就能导致植株表型发生如此剧烈的改变确实令人震惊,进而也引发了研究者对小麦等农作物品质改良的思考^[41]。

4.5 生物胁迫中植物的防御反应

NAC家族中的一些成员在植物病原胁迫应答中也发挥着重要作用。如拟南芥*ATAF1*广泛参与了生物和非生物胁迫响应,在感染灰霉菌、假单胞菌后,或用水杨酸、茉莉酸、1-氨基环丙烷-1-羧酸处理后,*ATAF1*的表达受到抑制。*ATAF1*过表达植株(*ATAF1-OE*)对丁香假单胞杆菌番茄致病变种DC3000(*Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000)敏感性

增强, *ATAF1*嵌合抑制子 (*ATAF1-SRDX*) 诱导了防御相关基因 *PR-1*、*PR-5*和*PDF1.2*的表达, 对DC3000的抵抗力增强, 而这些基因在*ATAF1-OE*植株中受到抑制^[35]. *NTL6* (NTM1-like6) 能诱导病原相关蛋白PR1/2/5的产生, *NTL6*的过量表达增强拟南芥植株的抗病性, 而*NTL6* RNAi植株在低温下则表现出对病菌的敏感性^[45]. 大麦*HvNAC6*是拟南芥*ATAF1*的同源基因, *HvNAC6*的过表达增强了耐渗透细胞对白粉病菌的抵抗力^[11]. 表明*HvNAC6*和*ATAF1*分别在单子叶植物和双子叶植物中调节渗透势. 拟南芥*ATAF2*是一个病原相关蛋白抑制子, 对茉莉酸甲酯和水杨酸植物激素敏感, 但ABA对其没有影响, 过量表达*ATAF2*的植株, 许多病原相关蛋白的合成受到抑制, 并表现出对尖孢镰刀霉 (*Fusarium oxysporum*) 高度敏感, 而在2个*ATAF2*敲除系中有4个病原相关蛋白的含量都增加^[43]. 研究还发现, *ATAF*类基因不仅在结构上相似, 而且在胁迫响应上也具有保守性. 与拟南芥中的*ATAF1*和*ATAF2*类似, 土豆*StNAC*也受到损伤的诱导^[46]. Lin等发现水稻*OsNAC19*参与水稻对稻瘟病菌的响应, 同时茉莉酸甲酯和ABA能诱导其合成, 表明*OsNAC19*可能在茉莉酸甲酯信号途径中发挥作用^[47].

有些NAC基因还介导植物与病毒间的相互作用. 拟南芥TIP蛋白 (TCV interacting protein) 能特异地与芜菁萎缩病毒TCV (Turnip crinkle virus) 的衣壳蛋白 (Capsid protein, CP) 相互作用, 诱导植物产生TCV抗性^[44]. 双粒病毒组复制增强子 (Replication enhancer, REn) 能促进病毒DNA的积累, 感染西红柿皱叶病毒 (Tomato leaf curl virus, TLCV) 的细胞中*SINAC1*的特异表达需要REn^[50]. *SINAC1*和REn共定位于细胞核, 过量表达*SINAC1*能诱导病毒DNA增加, 表明*SINAC1*在REn促进TLCV的DNA复制的过程中起着重要的作用. 感染RDV (Rice dwarf virus) 的水稻植株发生矮化, 而RDV倍增型*RIM1* (Rice dwarf virus multiplication 1) 能够编码一个新的NAC蛋白, 它与拟南芥*ANAC028*、*ANAC 045*和*ANAC086*密切相关. 水稻突变体*rim1-1*对RDV不敏感, *rim1-1*在感染RDV后, RDV衣壳蛋白含量显著下降, 植株未有明显的疾病症状. 正常状况下, *rim1*突变体中*LOX* (脂加氧酶), *AOS2* (丙二烯氧化合酶基因) 和*OPR7* (OPDA 还原酶) 的表达水平上调, 受伤后*rim1*中内源茉莉酸显著积累, 表明RIM是茉莉酸信号途径的重要调节子^[48-49]. Oh等在研究红辣椒与细菌或病毒相互作用时, 分离得到一个基因*CaNAC1*. *CaNAC1*受到外源水杨酸和乙烯利, 茉莉酸甲酯等的诱导, 表明*CaNAC1*可能参与植物防御响应^[51].

4.6 NAC转录因子在非生物逆境中的作用

干旱、高盐、低温等非生物环境因子, 影响植物的生长发育, 甚至会造成植物死亡, 严重影响农业生产和生态环境. 研究表明, 一系列来自不同家族的转录因子能够提高植物对胁迫的耐受力, 如DREB^[37, 56-57]、MYB^[58]、bZIP^[59]和锌指蛋白. 近年来, 诸多研究也表明NAC类转录因子参与了非生物胁迫应答并发挥着重要的作用.

NAC转录因子ATAF亚家族拥有众多非生物逆境应答蛋白, 如*ATAF1*^[60]、*CsNAC*^[61]、*RD26*^[62]、*AhNAC1*^[63]等. 拟南芥*ATAF1*在干旱和ABA处理下表达增强, 但受到水淹的抑制.

在干旱响应测试中, *ATAF1*的T-DNA插入系*ataf1-1*和*ataf1-2*的恢复率较野生型高7倍多, 而且胁迫响应性基因*COR47*、*ERD10*、*KINI*、*RD22*和*RD29A*的表达增强^[60]. 甜橙*CsNAC*受到损伤、缺氧、低温和乙烯的诱导, 但高温 (40 °C) 则抑制*CsNAC*的表达. 干旱、盐和ABA能诱导拟南芥*RD26*的表达, 且过表达*RD26*植株对ABA极度敏感, 而*RD26*受抑植株对ABA不敏感, 基因芯片对此作出解释: *RD26*的过量表达, 使得ABA诱导型基因和胁迫诱导型基因表达上调, 而在*RD26*受到抑制的植株中这些基因同样受到抑制. 表明*RD26*在防御响应和ABA介导的信号途径中起着关键作用^[62]. 与此同时*RD26*还对茉莉酸甲酯、H₂O₂和玫瑰红产生响应^[64-65]. 油菜*BnNAC14*受到机械损伤, 甲虫啃噬和低温的诱导, 过表达*BnNAC14*的转基因拟南芥表现出叶片增大, 茎干变粗和侧根繁茂等特征^[66]. 水稻*OsNAC6*与ATAF亚家族蛋白具有高度相似性. *OsNAC6*受到寒冷、盐、干旱、ABA、机械损伤、茉莉酸和突发性疾病的诱导. 研究发现, *OsNAC6*除了在植物适应非生物胁迫中起作用外, 还能够整合生物胁迫的信号^[51, 67]. *OsNAC6*的过量表达诱导了很多生物和非生物胁迫诱导基因的表达, 其中包括一个过氧化氢酶基因和一个DUF26-like蛋白, 转基因植株对脱水、高盐和突发性疾病的耐受性有所提高, 但伴随生长延迟和结实率降低^[68]. 甘蔗*SsNAC23*与*ATAF1*和*OsNAC6*极其相似. *SsNAC23*在4 °C低温下表达, 却不受12 °C的影响, 水分胁迫和动物啃食同样能诱导*SsNAC23*的合成^[69].

NAM亚家族也包含很多响应非生物胁迫的NAC基因, 如*OsNAC1*、*OsNAC2*^[70]、*AtNAC2*^[34]. 其中拟南芥*AtNAC2*受高盐和ABA的诱导, 且这种诱导在不同类型植株中表现出不同表达模式, 在产乙烯过量突变体*eto1-1*中被加强; 在过表达*NTHK1*的拟南芥中呈级数下降; 在乙烯不敏感突变体*etr1-1*、*ein2-1*和生长素敏感突变体*tir1-1*中受到抑制, 而在ABA-敏感突变体*abi2-1*、*abi3-1*和*abi4-1*中, 这种作用没有显著变化. 这些结果表明, *AtNAC2*的盐胁迫响应参与了乙烯和生长素信号途径而非ABA信号途径.

MYC-like序列CATGTG在拟南芥*ERD1* (Early responsive to dehydration stress) 的干旱诱导表达中起着重要的作用. Tran等发现拟南芥*ANAC019/055/072*能与*ERD1*的启动子区域 (包含CATGTG序列) 结合. 过表达*ANAC019*、*ANAC055*或*ANAC072*促使几个压力诱导型基因表达上调, 进而提高植株的耐旱能力^[14]. *anac019 anac055*双突变体抑制*VSP1* (Legetative storage protein) 和*LOX2* (Lipoxygenase) 的表达, 而过表达*ANAC019*或*ANAC055*则表现出相反的效应. 与此同时, 两个NAC蛋白共同作用于下游的*AtMYC2*, 调控着茉莉酸信号防御反应^[71].

Christianson等在0.1%低氧处理30 min的拟南芥中分离得到*ANAC102*. 通常认为*ANAC102*不稳定, 其半衰期少于60 min. *ANAC102*表达的减少显著降低了种子的萌发率, 而*ANAC102*表达的增加对其没有影响. *ANAC102*过表达导致植株叶片轻微变黄, 并改变了211个基因的表达, 其中大部分 (96.5%) 含有一致的DNA结合位点, 表明这些基因可能是*ANAC102*的结合目标^[72]. 同时*ANAC102*的过表达株系中, 2/3

被诱导或抑制的基因中曾被认为是低氧敏感的,包括*ADHI* (*Arabidopsis* alcohol dehydrogenase gene)和*SUS1* (sucrose synthase gene) [73-74]。在低氧状况下,另有23个NAC基因的表达式发生改变,而且部分与*ANAC102*具有较高的序列相似性,如*ANAC002* (*ATAF1*)和*ANAC032* [51]。

干旱胁迫下,水稻*SNAC1*在气孔保卫细胞特异表达,并促进气孔关闭,但不影响光合速率,因而植株抗旱性大为提高,过表达*SNAC1*亦能显著改善植株耐旱能力,且没有表型的改变和产量的下降[75]。此后,Hu等在水稻中又鉴定了*SNAC2*。*SNAC2*受干旱、盐、冷、机械损伤和ABA处理的诱导。在日本晴粳稻中花-11中,所有野生型植株在低温(4~8℃下维持5 d)条件下死亡时,*SNAC2*超表达植株存活率达50%以上。转基因植株在低温下细胞膜稳定性高,在高盐下具有较高的萌发率和生长率。并且,超表达*SNAC2*的植株对PEG耐受力提高,很多胁迫响应基因表达上调,如过氧化氢酶、鸟氨酸转移酶、重金属结合蛋白、Na/H泵、热激蛋白、GDSL-like脂肪酶和苯丙氨酸裂解酶,表明这些基因中有一些可能受到*SNAC2*的直接调控[76]。*SNAC1*和*SNAC2*密切相关,两基因都受干旱、盐、寒冷和ABA的诱导[51]。但它们的表达由于*SNAC1*和*SNAC2*激活的目标基因不同而存在着差异,*SNAC2*受到损伤的强烈诱导,但*SNAC1*不受伤害的诱导[75]。过表达*SNAC2*能改进植株耐寒能力,*SNAC1*虽受到寒冷的诱导,但过表达*SNAC1*并未显著改进植株耐寒性[76]。

Yokotani等在表达水稻全长cDNA的转基因拟南芥耐热系R08946中分离到*ONAC063* [28]。Nakashima等发现水稻*ONAC063*不受高温的影响,而在根部受到高盐、高渗透压和高水平活性氧的诱导时表达[23]。表达*ONAC063*的转基因拟南芥种子表现出对高盐和渗透压耐受性,以及较高的萌发率,过量表达*ONAC063*促进一些盐诱导基因的表达,其中包括淀粉酶基因*AMY1* (Amylase),进而提高了植株对高温、高盐和高渗透压的耐受性。由此推测*ONAC063*可能在诱导高盐反应方面起着重要作用[28]。

来自于水稻的*ONAC045*受到干旱、高盐、低温、ABA的诱导表达。过表达*ONAC045*的水稻表现出抗旱和耐盐能力提高。转基因水稻中胁迫响应基因*OsLEA3-1*和*OsPM1*表达上调[49],其中*OsLEA3-1*属于LEA家族(Late embryogenesis abundant protein)。*OsLEA3-1*和*OsPM1*受ABA、干旱和高盐诱导表达。结果表明*ONAC045*可能参与ABA信号途径[27,49]。水稻的*OsNAC5*能与*OsLEA3*的启动子区结合,诱导其表达上调,*OsNAC5*过表达植株抗旱性提高[77]。

其他非模式植物中也发现NAC基因在参与非生物胁迫应答方面起着重要作用。Meng等首次从棉花中分离出6个GhNAC,属于ATAF、AtNAC3、NAP和NAC等4个NAC蛋白亚家族[25],其中ATAF、AtNAC3和NAP亚家族在其他植物中包含很多压力响应性NAC基因,如*BnNAC*、*AtNAC072* (*RD26*)、*AtNAC019/055/047* [14,62,78]。胁迫诱导的基因调控包含ABA依赖和ABA独立的途径[79],GhNACs则可能参与两种途径[39]。Tran等从大豆中鉴定并克隆了31个GmNAC蛋白[80]。Pinheiro等研究发现,*GmNAC2/3/4*受渗透压的强烈诱导,且*GmNAC3/4*也受到脱落酸、茉莉酸和盐的诱导[81]。但

GmNAC20没有转录激活能力,因为在DNA结合域的亚结构域有35个氨基酸组成的NARD (NAC Repression Domain)。当NARD结合到转录因子的N端或C端时,便能抑制它们的转录活性,而且在其他NAC家族成员中也发现了NARD类序列[78]。刘旭等从花生中克隆了2个NAC基因,*AhNAC2*和*AhNAC3*,它们受ABA、GA3、低温的诱导表达,且与拟南芥*RD26*同源性较高,推测可能与响应干旱和ABA信号有关[82]。海茄冬NAC蛋白AmNAC1与西红柿和土豆受生物压力诱导后产生的NAC蛋白高度同源。*AmNAC1*受到高盐和ABA的诱导,暗示AmNAC1参与早期的盐胁迫响应和对盐胁迫的长期调节[83]。柳展基等首次从玉米中克隆了一个NAC类基因,命名为*ZmNAC1*,*ZmNAC1*可以被低温、PEG、高盐和ABA诱导[84]。Peng等从鹰嘴豆叶片中鉴定了NAP亚家族成员*CarNAC3* [85]。*CarNAC3*受干旱、ABA、IAA和乙烯(衰老促进因子)的强烈诱导,但6-BA抑制其表达,推测*CarNAC3*可能通过ABA信号途径参与干旱响应[81]。*CarNAC3*还可能参与不同的发育进程,因为*CarNAC3*主要在花中表达,这与*GmNAC1*和*NAP*相似[22,52]。

5 NAC蛋白的调控

NAC转录因子作为一种重要的调控因子,参与植物的生长发育和响应环境胁迫等,同时其自身也处于复杂的调控网络当中。

miRNAs是约21个核苷酸的RNA [23]。miRNA通过裂解mRNA或抑制其转录在植物和动物中起着重要的作用,可能影响很多蛋白编码基因的输出[86]。已有研究表明,15个已知miRNA基因家族中至少有4个参与生物调控,分别为*miR172*、*miR159*、*miR165*和*miR168*。在拟南芥中,一些NAC基因受到*miR164*的调控,包括*CUC1*、*CUC2*、*NAC1*、At5g07680和At5g6143 [50]。*miR164*能够导致内源的或者转基因*NAC1* mRNA的裂解,产生特异的3'-片段。同时,真核生物可以将转录因子由细胞质运输到细胞核,直接控制基因的表达。而细胞质中处于休眠状态的膜锚定转录因子则可通过膜结合蛋白酶催化的膜内蛋白裂解或者泛素/蛋白酶体途径调控,进入细胞核发挥作用[87]。

6 结语

NAC转录因子是成员最多的植物特异转录因子之一,迄今,已在几十种植物中相继发现NAC转录因子,对其结构特点、表达特性和功能的研究也取得了一定的进展,但由于NAC转录因子种类和功能的多样性,目前有关NAC转录因子的研究依旧很薄弱,主要体现在以下几个方面:

1) 目前对NAC转录因子的研究主要集中于模式植物拟南芥和水稻,而且在数量众多的NAC蛋白中,功能明确的只占很少一部分,大部分NAC转录因子的研究尚处于基因克隆、结构鉴定和表达分析等层面上,广泛地从不同植物中分离和鉴定NAC基因尤为必要;

2) 通过以往的研究发现,尽管NAC基因广泛参与生长发育、生物和非生物胁迫,但对NAC蛋白复杂的调控网络的研究仍处于起步阶段,对于NAC蛋白涉及的调控途径,组成因子以及NAC基因的上下游调控基因也知之甚少,研究单一的植物发育或胁迫响应过程,已无法全面阐述NAC基因的表

达规律;

3) NAC基因间往往存在功能性冗余, 传统的T-DNA插入突变以及RNAi技术等难以达到预期结果, miRNA技术能有效排除冗余, 但目前所报道的仅有*miRNA164*在mRNA水平上参与对NAC转录因子的调控, 对于其他*miRNA*是否也参与NAC蛋白活性的调控, 还有待深入探讨;

4) 目前针对NAC转录因子的研究主要集中在基因克隆和转基因研究方面, 然而鉴于NAC基因的多功能性以及NAC家族成员的庞大, 转基因植物的表型并不是预期的那样显著, 因此, 有必要对NAC转录因子的结构与功能之间的联系展开研究。

尽管NAC基因的功能还有待深入研究, 但它们在植物遗传工程方面已展现出了巨大的应用潜力, 利用基因工程手段导入或改良关键的NAC转录因子, 使植株的综合品质的提高已成为可能, 因此, NAC在植物分子育种中具有巨大的潜在价值和广阔的应用前景。同时, 借助高通量基因表达分析技术——基因芯片和蛋白芯片, 将有助于快速揭开NAC转录因子在植物生长发育以及外界刺激条件下的调控机制及信号转导, 全面的认识NAC基因的调控网络。

References

- Riechmann JL, Heard J, Martin G, Reuber L. *Arabidopsis* transcription factors: Genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 2000, **290** (5499): 2105~2110
- Guo Y, Cai Z, Gan S. Transcriptome of *Arabidopsis* leaf senescence. *Plant Cell & Environ*, 2004, **27** (5): 521~549
- Souer E, van Houwelingen A, Kloos D, Mol J, Koes R. The no apical meristem gene of *Petunia* is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. *Cell*, 1996, **85** (2): 159~170.
- Aida M, Ishida T, Fukaki H, Fujisawa H, Tasaka M. Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: An analysis of the cup-shaped cotyledon mutant. *Plant Cell Online*, 1997, **9** (6): 841~857
- Kusano H, Asano T, Shimada H, Kadowaki K. Molecular characterization of ONAC300, a novel NAC gene specifically expressed at early stages in various developing tissues of rice. *Mol Genet & Genomics*, 2005, **272** (6): 616~626
- Vroemen CW, Mordhorst AP, Albrecht C, Kwaaitaal M, de Vries SC. The CUP-SHAPED COTYLEDON3 gene is required for boundary and shoot meristem formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell Online*, 2003, **15** (7): 1563~1577
- Duval M, Hsieh TF, Kim SY, Thomas TL. Molecular characterization of AtNAM: A member of the *Arabidopsis* NAC domain superfamily. *Plant Mol Biol*, 2002, **50** (2): 237~248
- Ooka H, Satoh K, Doi K, Nagata T, Otomo Y, Murakami K, Matsubara K, Osato N, Kawai J, Carninci P. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res*, 2003, **10** (6): 239~247
- Ernst HA, Olsen AN, Skriver K, Larsen S, Leggio LL. Structure of the conserved domain of ANAC, a member of the NAC family of transcription factors. *EMBO Reports*, 2004, **5** (3): 297~303
- Greve K, La Cour T, Jensen MK, Poulsen FM, Skriver K. Interactions between plant RING-H2 and plant-specific NAC (NAM/ATAF1/2/CUC2) proteins: RING~H2 molecular specificity and cellular localization. *Biochem J*, 2003, **371** (Pt1): 97~108
- Jensen MK, Rung JH, Gregersen PL, Gjetting T, Fuglsang AT, Hansen M, Joehnk N, Lyngkjaer MF, Collinge DB. The HvNAC6 transcription factor: A positive regulator of penetration resistance in barley and *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 2007, **65** (1/2): 137~150
- Kim SG, Lee AK, Yoon HK, Park CM. General A membrane bound NAC transcription factor NTL8 regulates gibberellic acid mediated salt signaling in *Arabidopsis* seed germination. *Plant J*, 2008, **55** (1): 77~88
- Olsen AN, Ernst HA, Leggio L, Johansson E, Larsen S, Skriver K. Preliminary crystallographic analysis of the NAC domain of ANAC, a member of the plant-specific NAC transcription factor family. *Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr*, 2003, **60** (Pt1): 112~115
- Tran LSP, Nakashima K, Sakuma Y, Simpson SD, Fujita Y, Maruyama K, Fujita M, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Isolation and functional analysis of *Arabidopsis* stress-inducible NAC transcription factors that bind to a drought-responsive cis-element in the early responsive to dehydration stress 1 promoter. *Plant Cell Online*, 2004, **16** (9): 2481~2498
- Zhao C, Avci U, Grant EH, Haigler CH, Beers EP. XND1, a member of the NAC domain family in *Arabidopsis thaliana*, negatively regulates lignocellulose synthesis and programmed cell death in xylem. *Plant J*, 2008, **53** (3): 425~436
- Doyle JJ. Trees within trees: Genes and species, molecules and morphology. *Syst Biol*, 1997, **46** (3): 537~553
- Ko JH, Yang SH, Park AH, Lerouxel O, Han KH. ANAC012, a member of the plant specific NAC transcription factor family, negatively regulates xylary fiber development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2007, **50** (6): 1035~1048
- Zhong R, Lee C, Ye ZH. Functional characterization of poplar wood-associated NAC domain transcription factors. *Plant Physiol*, 2010a, **152** (2), 1044~1055
- Zhong R, Lee C, Ye ZH. Global analysis of direct targets of secondary wall NAC master switches in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2010b, **3** (6): 1087~1103
- Zhong R, Lee C, Zhou J, McCarthy RL, Ye ZH. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Online*, 2008, **20** (10): 2763~2782
- Zheng X, Chen B, Lu G, Han B. Overexpression of a NAC transcription factor enhances rice drought and salt tolerance. *Biochem & Biophys Res Commun*, 2009, **379** (4): 985~989
- Meng Q, Zhang C, Gai J, Yu D. Molecular cloning, sequence characterization and tissue-specific expression of six NAC-like genes in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *J Plant Physiol*, 2007, **164** (8): 1002~1012
- Mitsuda N, Iwase A, Yamamoto H, Yoshida M, Seki M, Shinozaki K, Ohme-Takagi M. NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of

- Arabidopsis*. *Plant Cell Online*, 2007, **19** (1): 270~280
- 24 Mitsuda N, Seki M, Shinozaki K, Ohme-Takagi M. The NAC transcription factors NST1 and NST2 of *Arabidopsis* regulate secondary wall thickenings and are required for anther dehiscence. *Plant Cell Online*, 2005, **17** (11): 2993~3006
 - 25 Meng C, Cai C, Zhang T, Guo W. Characterization of six novel NAC genes and their responses to abiotic stresses in *Gossypium hirsutum* L. *Plant Sci*, 2009, **176** (3): 352~359
 - 26 Yamaguchi M, Kubo M, Fukuda H, Demura T. VASCULAR RELATED NAC DOMAIN7 is involved in the differentiation of all types of xylem vessels in *Arabidopsis* roots and shoots. *Plant J*, 2008, **55** (4): 652~664
 - 27 Xiao B, Huang Y, Tang N, Xiong L. Over-expression of a LEA gene in rice improves drought resistance under the field conditions. *TAG Theor & Appl Genet*, 2007, **115** (1): 35~46
 - 28 Yokotani N, Ichikawa T, Kondou Y, Matsui M, Hirochika H, Iwabuchi M, Oda K. Tolerance to various environmental stresses conferred by the salt-responsive rice gene ONAC063 in transgenic *Arabidopsis*. *Planta*, 2009, **229** (5): 1065~1075
 - 29 Zhong R, Demura T, Ye ZH. SND1, a NAC domain transcription factor, is a key regulator of secondary wall synthesis in fibers of *Arabidopsis*. *Plant Cell Online*, 2006, **18** (11): 3158~3170
 - 30 Grant EH, Fujino T, Beers EP, Brunner AM. Characterization of NAC domain transcription factors implicated in control of vascular cell differentiation in *Arabidopsis* and *Populus*. *Planta*, 2010, **232** (2): 337~352
 - 31 Zhao Q, Gallego Giraldo, L, Wang H, Zeng Y, Ding SY, Chen F, Dixon RA. An NAC transcription factor orchestrates multiple features of cell wall development in *Medicago truncatula*. *Plant J*, 2009, **63**: 100~114
 - 32 Kim SY, Kim SG, Kim YS, Seo PJ, Bae M, Yoon HK, Park CM. Exploring membrane-associated NAC transcription factors in *Arabidopsis*: Implications for membrane biology in genome regulation. *Nucl Acids Res*, 2006, **35** (1): 203~213
 - 33 Kunieda T, Mitsuda N, Ohme-Takagi M, Takeda S, Aida M, Tasaka M, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I. NAC family proteins NARS1/NAC2 and NARS2/NAM in the outer integument regulate embryogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Online*, 2008, **20** (10): 2631~2642
 - 34 He XJ, Mu RL, Cao WH, Zhang ZG, Zhang JS, Chen SY. AtNAC2, a transcription factor downstream of ethylene and auxin signaling pathways, is involved in salt stress response and lateral root development. *Plant J*, 2005, **44** (6): 903~916
 - 35 Wang X, Basnayake B, Zhang H, Li G, Li W, Virk N, Mengiste T, Song F. The *Arabidopsis* ATAF1, a NAC transcription factor, is a negative regulator of defense responses against necrotrophic fungal and bacterial pathogens. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2009, **22** (10): 1227~1238
 - 36 Balazadeh S, Siddiqui H, Allu AD, Matallana-Ramirez LP, Caldana C, Mehrnia M, Zanol MI, Köhler B, Mueller-Roeber B. A gene regulatory network controlled by the NAC transcription factor ANAC092/AtNAC2/ORE1 during salt-promoted senescence. *Plant J*, 2010, **62** (2): 250~264
 - 37 Kasuga M, Liu Q, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nat Biotechnol*, 1999, **17** (3): 287~291
 - 38 Guo Y, Gan S. AtNAP, a NAC family transcription factor, has an important role in leaf senescence. *Plant J*, 2006, **46** (4): 601~612.
 - 39 Liu YZ, Baig MNR, Fan R, Ye JL, Cao YC, Deng XX. Identification and expression pattern of a novel NAM, ATAF, and CUC-like Gene from *Citrus sinensis* Osbeck. *Plant Mol Biol Rep*, 2009, **27** (3): 292~297
 - 40 Sperotto RA, Ricachenevsky FK, Duarte GL, Boff T, Lopes KL, Sperb ER, Grusak MA, Fett JP. Identification of up-regulated genes in flag leaves during rice grain filling and characterization of OsNAC5, a new ABA-dependent transcription factor. *Planta*, 2009, **230** (5): 985~1002
 - 41 Uauy C, Distelfeld A, Fahima T, Blechl A, Dubcovsky J. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science*, 2006, **314** (5803): 1298~1301
 - 42 Ogo Y, Kobayashi T, Nakanishi R. A novel NAC transcription factor, IDEF2, that recognizes the iron deficiency-responsive element 2 regulates the genes involved in iron homeostasis in plants. *J Biol Chem*, 2008, **283** (19): 13407~13417
 - 43 Delessert C, Kazan K, Wilson IW, Straeten DVD, Manners J, Dennis ES, Dolferus R. The transcription factor ATAF2 represses the expression of pathogenesis related genes in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2005, **43** (5): 745~757
 - 44 Ren T, Qu F, Morris TJ. The nuclear localization of the *Arabidopsis* transcription factor TIP is blocked by its interaction with the coat protein of Turnip crinkle virus. *Virology*, 2005, **331** (2): 316~324
 - 45 Seo PJ, Kim MJ, Park JY, Kim SY, Jeon J, Lee YH, Kim J, Park CM. Cold activation of a plasma membrane-tethered NAC transcription factor induces a pathogen resistance response in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2010, **61**: 661~671
 - 46 Collinge M, Boller T. Differential induction of two potato genes, Stprx2 and StNAC, in response to infection by *Phytophthora infestans* and to wounding. *Plant Mol Biol*, 2001, **46** (5): 521~529
 - 47 Lin R, Zhao W, Meng X, Wang M, Peng Y. Rice gene OsNAC19 encodes a novel NAC-domain transcription factor and responds to infection by *Magnaporthe grisea*. *Plant Sci*, 2007, **172** (1): 120~130
 - 48 Yoshii M, Shimizu T, Yamazaki M, Higashi T, Miyao A, Hirochika H, Omura T. Disruption of a novel gene for a NAC-domain protein in rice confers resistance to rice dwarf virus. *Plant J*, 2009, **57** (4): 615~625
 - 49 Yoshii M, Yamazaki M, Rakwal R, Kishi-Kaboshi M, Miyao A, Hirochika H. The NAC transcription factor RIM1 of rice is a new regulator of jasmonate signaling. *Plant J*, 2010, **61** (5): 804~815
 - 50 Selth LA, Dogra SC, Rasheed MS, Healy H, Randles JW, Rezaian MA. A NAC domain protein interacts with tomato leaf curl virus replication accessory protein and enhances viral replication. *Plant Cell Online*, 2005, **17** (1): 311~325
 - 51 Oh SK, Lee S, Yu SH, Choi D. Expression of a novel NAC domain-containing transcription factor (CaNAC1) is preferentially associated with incompatible interactions between chili pepper and pathogens. *Planta*, 2005, **222** (5): 876~887

- 52 Sablowski RWM, Meyerowitz EM. A homolog of NO APICAL MERISTEM is an immediate target of the floral homeotic genes APETALA3/PISTILLATA. *Cell*, 1998, **92** (1): 93~103
- 53 Kim JH, Woo HR, Kim J, Lim PO, Lee IC, Choi SH, Hwang D, Nam HG. General Trifurcate feed-forward regulation of age-dependent cell death involving miR164 in *Arabidopsis*. *Science*, 2009, **323** (5917): 1053~1057
- 54 Xie Q, Frugis G, Colgan D, Chua NH. Arabidopsis NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development. *Genes & Dev*, 2000, **14** (23): 3024~3036
- 55 Xie Q, Guo HS, Dallman G, Fang S, Weissman AM, Chua NH. SINAT5 promotes ubiquitin-related degradation of NAC1 to attenuate auxin signals. *Nature*, 2002, **419** (6903): 167~170
- 56 Haake V, Cook D, Riechmann JL, Pineda O, Thomashow MF, Zhang JZ. Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2002, **130** (2): 639~648
- 57 Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, Abe H, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 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 Online*, 1998, **10** (8): 1391~1406
- 58 Abe H, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao T, Iwasaki T, Hosokawa D, Shinozaki K. Role of *Arabidopsis* MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell Online*, 1997, **9** (10): 1859~1868
- 59 Uno Y, Furihata T, Abe H, Yoshida R, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Arabidopsis basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2000, **97** (21): 11632~11637
- 60 Lu PL, Chen NZ, An R, Su Z, Qi BS, Ren F, Chen J, Wang XC. A novel drought-inducible gene, ATAF1, encodes a NAC family protein that negatively regulates the expression of stress-responsive genes in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 2007, **63** (2): 289~305
- 61 Fan J, Gao X, Yang YW, Deng W, Li ZG. Molecular cloning and characterization of a NAC-like gene in "Navel" orange fruit response to postharvest stresses. *Plant Mol Biol Rep*, 2007, **25** (3/4): 145~153
- 62 Fujita M, Fujita Y, Maruyama K, Seki M, Hiratsu K, Ohme Takagi M, Tran LSP, Yamaguchi Shinozaki K, Shinozaki K. A dehydration induced NAC protein, RD26, is involved in a novel ABA dependent stress signaling pathway. *Plant J*, 2004, **39** (6): 863~876
- 63 Shao FX (邵凤霞), Liu ZJ (柳展基), Wei L (魏丽奇), Cao M (曹敏), Bi YP (毕玉平). Cloning and sequence analysis of a novel NAC2 like gene AhNAC1 in peanut (*Arachis hypogaea*). *Acta Bot Bor-Occid Sin* (西北植物学报), 2008, **28** (10): 1929~1934
- 64 Green R, Fluhr R. UV-B-induced PR-1 accumulation is mediated by active oxygen species. *Plant Cell Online*, 1995, **7** (2): 203~212
- 65 Narusaka Y, Narusaka M, Seki M, Ishida J, Nakashima M, Kamiya A, Enju A, Sakurai T, Satoh M, Kobayashi M. The cDNA microarray analysis using an Arabidopsis pad3 mutant reveals the expression profiles and classification of genes induced by *Alternaria brassicicola* attack. *Plant & Cell Physiol*, 2003, **44** (4): 377~387
- 66 Hegedus D, Yu M, Baldwin D, Gruber M, Sharpe A, Parkin I, Whitwill S, Lydiate D. Molecular characterization of Brassicanapus NAC domain transcriptional activators induced in response to biotic and abiotic stress. *Plant Mol Biol*, 2003, **53** (3): 383~397
- 67 Ohnishi T, Sugahara S, Yamada T, Kikuchi K, Yoshida Y, Hirano HY, Tsutsumi N. OsNAC6, a member of the NAC gene family, is induced by various stresses in rice. *Genes & Genet Syst*, 2005, **80** (2): 135~139.
- 68 Nakashima K, Tran LSP, Van Nguyen D, Fujita M, Maruyama K, Todaka D, Ito Y, Hayashi N, Shinozaki K, Yamaguchi Shinozaki K. Functional analysis of a NAC type transcription factor OsNAC6 involved in abiotic and biotic stress responsive gene expression in rice. *Plant J*, 2007, **51** (4): 617~630
- 69 Nogueira FTS, Schlögl PS, Camargo SR, Fernandez JH, De Rosa VE. SsNAC23, a member of the NAC domain protein family, is associated with cold, herbivory and water stress in sugarcane. *Plant Sci*, 2005, **169** (1): 93~106
- 70 Kikuchi K, Ueguchi-Tanaka M, Yoshida KT, Nagato Y, Matsusoka M, Hirano HY. Molecular analysis of the NAC gene family in rice. *Mol & Gen Genet MGG*, 2000, **262** (6): 1047~1051
- 71 Christianson JA, Wilson IW, Llewellyn DJ, Dennis ES. The low-oxygen-induced NAC domain transcription factor ANAC102 affects viability of *Arabidopsis* seeds following low-oxygen treatment. *Plant Physiol*, 2009, **149** (4): 1724~1738
- 72 Bu Q, Jiang H, Li CB, Zhai Q, Zhang J, Wu X, Sun J, Xie Q, Li C. Role of the *Arabidopsis thaliana* NAC transcription factors ANAC019 and ANAC055 in regulating jasmonic acid-signaled defense responses. *Cell Res*, 2008, **18** (7): 756~767
- 73 Bieniawska Z, Paul Barratt DH, Garlick AP, Thole V, Kruger NJ, Martin C, Zrenner R, Smith AM. Analysis of the sucrose synthase gene family in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2007, **49** (5): 810~828
- 74 Ellis MH, Dennis ES, James Peacock W. *Arabidopsis* roots and shoots have different mechanisms for hypoxic stress tolerance. *Plant physiol*, 1999, **119** (1): 57~64
- 75 Hu H, Dai M, Yao J, Xiao B, Li X, Zhang Q, Xiong L. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Proc Nat Acad Sci*, 2006, **103** (35): 12987~12992
- 76 Hu H, You J, Fang Y, Zhu X, Qi Z, Xiong L. Characterization of transcription factor gene SNAC2 conferring cold and salt tolerance in rice. *Plant Mol Biol*, 2008, **67** (1/2): 169~181
- 77 Takasaki H, Maruyama K, Kidokoro S, Ito Y, Fujita Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, Nakashima K. The abiotic stress-responsive NAC-type transcription factor OsNAC5 regulates stress-inducible genes and stress tolerance in rice. *Mol Genet & Genom*, 2010, **284** (3): 173~183
- 78 Hao YJ, Song QX, Chen HW, Zou HF, Wei W, Kang XS, Ma B, Zhang WK, Zhang JS, Chen SY. Plant NAC-type transcription factor proteins contain a NARD domain for repression of transcriptional activation.

- Planta*, 2010, **232** (5): 1033~1043
- 79 Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiol*, 1997, **115** (2): 327~334
- 80 Tran LSP, Quach TN, Guttikonda SK, Aldrich DL, Kumar R, Neelakandan A, Valliyodan B, Nguyen HT. Molecular characterization of stress-inducible GmNAC genes in soybean. *Mol Genet & Genom*, 2009, **281** (6): 647~664
- 81 Pinheiro GL, Marques CS, Costa M, Reis PAB, Alves MS, Carvalho CM, Fietto LG, Fontes EPB. Complete inventory of soybean NAC transcription factors: Sequence conservation and expression analysis uncover their distinct roles in stress response. *Gene*, 2009, **444** (1/2): 10~23
- 82 Liu X (刘旭), Li L (李玲). Cloning and characterization of the NAC-like gene AhNAC2 and AhNAC3 in peanut. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2009, **35** (3): 541~545
- 83 Ganesan G, Sankararamasubramanian HM, Narayanan JM, Sivaprakash KR, Parida A. Transcript level characterization of a cDNA encoding stress regulated NAC transcription factor in the mangrove plant *Avicennia marina*. *Plant Physiol & Biochem*, 2008, **46** (10): 928~934
- 84 Liu ZJ (柳展基), Shao FX (邵凤霞), Tang GY (唐桂英), Shan L (单雷), Bi YP (毕玉平). Cloning and characterization of a transcription factor ZmNAC1 in maize (*Zea mays*). *Hereditas* (遗传), 2009, **31** (2): 199~205
- 85 Peng H, Cheng HY, Chen C, Yu XW, Yang JN, Gao WR, Shi QH, Zhang H, Li JG, Ma H. A NAC transcription factor gene of Chickpea (*Cicer arietinum*), CarNAC3, is involved in drought stress response and various developmental processes. *J Plant Physiol*, 2009, **166** (17): 1934~1945
- 86 Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Cell*, 2004, **116** (2): 281~297
- 87 Hoppe T, Rape M, Jentsch S. Membrane-bound transcription factors: Regulated release by RIP or RUP. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, **13** (3): 344~348