



CBF 转录因子介导的植物低温信号转导研究进展

曹云飞, 张海娜, 肖 凯*

(河北农业大学农学院, 河北 保定 071001)

摘要:对低温造成植物伤害的生理机制、低温诱导的植物信号转导系统、转录因子 CBF 的结构及表达特征、调控 CBF 基因表达的上游信号传递体和 CBF 调控的下游基因进行了概述。旨在为今后揭示棉花响应低温逆境的分子机制以及促进棉花耐低温品种的遗传改良提供理论依据。

关键词:低温; 信号转导系统; CBF 转录因子; CBF 上下游传递体; 棉花

中图分类号:Q756 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2007)04-0304-08

The Signal Transduction Pathways under Low Temperature Mediated by CBF Transcription Factor in Plants

CAO Yun-fei, ZHANG Hai-na, XIAO Kai*

(College of Agronomy, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: The physiological mechanism that low temperature injures the plants, the signal transduction pathways in plants induced by low temperature, the structure of CBF and the corresponding CBF expression patterns, and the upstream signal transmitters of CBF, as well as the regulated downstream genes by CBF in plant species, were discussed. It is found that the G-protein, IP_3 , Ca^{2+} -dependent CDPKs and the inducer of CBF expression 1 (ICE1) could be the up-regulators of CBF genes. Meanwhile, the expressions of down-regulated genes of CBF, such as the cold responsive genes (COR), *RD29A/LTI78* and *KIN1*, etc. were induced under cold stress condition. The potential values of important CBF genes and the genes regulated by CBF, such as *arf*, *fad* and *des* which maybe contribute cold resistance in plants in the creation of cotton cultivars with cold resistance by transgenic approach were evaluated.

Key words: low temperature; signal transduction system; CBF transcription factor; upstream and downstream transmitters of CBF; cotton

低温是限制作物生长季节和生长地域的重要环境因子, 过度低温会造成植物受到不同程度的伤害, 甚至死亡。植物在与低温的相互作用中, 逐渐形成了一套感受和传导低温信号的系统, 并产生一系列适应低温的变化, 以增强抗寒性。近年来研究表明, 植物冷驯化和抗寒能力的获得, 在分子水平上是植物对逆境产生迅速应答、逆境信号

在体内转导, 由此调控应答和抵御基因表达综合作用的结果。在植物体内的低温逆境信号转导通路中, CBF 类转录因子是感受上游传递的低温信号、并将信号向下游传递的重要调控因子, 在增强植物适应和抵御低温的能力中具有重要作用。在我国北方地区, 由于是典型的大陆性季风气候区, 生产中大田棉花在种子萌发和幼苗生长期, 易

收稿日期: 2006-12-31

作者简介: 曹云飞 (1982-), 男, 在读硕士, yunfei8437@163.com. * : 通讯作者, xiaokai@hebau.edu.cn

基金项目: 教育部博士点基金和河北省自然科学基金 (C2006000434)

受到春季低温的危害,造成植株生长迟缓、病害发生加重,对棉花产生极为不利的影 响。深刻揭示低温对棉花伤害的分子机制,对于今后培育抗寒性强的棉花品种,以及棉花抗寒高产实践具有重要的指导意义。

1 低温对植物造成的伤害

按照植物受到低温伤害的程度,可分为冷害(chilling injury,零上低温对植物的伤害)和冻害(freezing injury,零下低温对植物的伤害)两种。植物冷害所表现的生理特征是,细胞胞质环流减慢或停止,水分平衡失调,光合速率减弱等。细胞膜系统的不饱和脂肪酸含量对植物的抗寒能力具有重要影响,抗寒性弱植物的细胞膜含有的不饱和脂肪酸少,膜的液化程度差,伸缩性小。遭遇低温时,膜系统从液态转变为凝胶态,膜易收缩而导致裂缝发生,造成膜透性急剧增加;也使结合在膜上的蛋白和酶系统受到破坏。植物冻害在外界温度降到 0℃ 以下时发生,植物体内因温度低于冰点造成细胞间隙乃至原生质中发生冰冻。当温度缓慢下降时,细胞间隙细胞壁附近的水分先结冰,使该部位水势降低,胞内水分外流,导致细胞质过度脱水,蛋白结构破坏,胞质凝固变性;温度迅速下降时,使细胞间隙和胞质水分同时结冰,造成细胞机械损伤,使植物产生冻害甚至死亡^[1]。作物对于低温的抵御能力存在着物种间和品种间的遗传多样性现象,如起源于冷凉地区的小麦具有较强的抗寒能力^[2],不同棉花品种抗寒能力也有所不同^[3]。

2 低温诱导的植物信号转导系统

在遭遇低温时,植物启动感受低温信号和将信号向下游传递的信号转导通路。位于细胞壁、质膜和原生质中的信号传递体,将外部低温信号级联放大,传递到细胞核内,诱导低温响应基因的表达,使植物在较短时间内完成低温适应和驯化过程。

双组分信号系统的组氨酸激酶(two component histidine kinase)是感受低温逆境的可能膜蛋白受体之一。研究发现,蓝细菌组氨酸激酶 Hik33 和细菌组氨酸激酶 DesK,是植物低温适应过程中调控不饱和脂肪酸相关基因表达的信号传递元件^[4-5]。在拟南芥中,几个可能的两组分组氨酸激酶已被鉴定^[6],但上述激酶介导的低温信号机制尚有待进一步探讨。

ABA 是低温逆境下的主要第二信使之一。低温逆境下,ABA 结合蛋白(ABA-BP)与 ABA 结合活性提高,是感知和传递环境信号通路中的重要环节。另外,低温逆境可激活在时间、空间和结果上不同的多种信号通路,即植物体内存在着非生物逆境信号受体和信号通路的多样性;同时,在信号分子 ABA 的下游,存在着逆境信号不同的传递信号受体和传递途径。例如,低温使得原生质膜的流动性发生改变^[7],引起该结果的级联反应上游信号受体,启动与膜流动性相关的信号级联通路,而对于细胞内部蛋白质的构象和活性没有影响。

在细胞信号传递过程中,除 ABA 外,还存在着其它第二信使物质,如活性氧(ROS)、Ca²⁺、1,4,5-三磷酸肌醇(IP₃)等。ROS 一方面在过量时导致细胞膜质过氧化,破坏细胞结构^[8-9],另一方面,还作为胞内信号物质,诱导抗氧化物质及保护物质的产生^[10];作为 ABA 调节下游基因表达的媒介,甚至调节 ABA 的生物合成,参与 Ca²⁺ 激活的低温下游级联信号^[11]。Ca²⁺ 则是胞内普遍存在的第二信使,还是磷脂酰肌醇信号通路的“第三信使”。研究发现,细胞壁是胞外钙库,通过 Ca²⁺ 通道和 Ca²⁺ 泵的作用,控制钙离子的跨膜运转以调节细胞内的钙稳态。在低温和其它非生物逆境条件下,细胞内 Ca²⁺ 浓度增加,介导信号在细胞内部的传递。IP₃ 参与介导的信号转导通路中,通路元件磷脂酶 C 受到 Ca²⁺ 的激活,激活后的磷脂酶 C 进而催化 IP₃ 的合成。此外,研究发现,IP₃ 反过来还可以激活钙离子通道和 Ca²⁺ 向细胞内的释放^[12],表明植物体内的逆境信号转导通路存在着相互制约的复杂性。

细胞信号通过第二信使向下传递产生的级联信号以及形成的产物、作用的形式有所不同。Xiong 等^[12]提出了第二信使下游的三种典型信号途径:MAPK、CDPK、SOS3/SCaBP。低温信号可经过不同的途径向下传递,调控不同家族的转录因子,提高或抑制各自作用的靶基因的转录,进而调控相关基因的表达,使植物获得抵御低温的能力。研究表明,不同的信号途径在时间和空间上可能是不同的,最终调控的基因表达和生化代谢产物也存在差异。其中,MAPK 途径主要产生的一些抗氧化类物质;CDPK 途径多产生耐渗透胁迫的相关物质(如 HVA1、CBF1 等)^[13];而 SOS3/SCaBP 途径主要调控参与离子运输类蛋白

相关基因的表达,该途径的传递体 SOS2/PKS 也具有参与介导 CDPK 途径的作用。MAKP 途径和 CDPK 途径也存在相互转化的可能性^[12]。植物体内的低温信号转导通路见图 1。

3 CBF 基因研究进展

转录因子也称反式作用因子,CBF(C-repeat binding factor)转录因子家族在植物低温信号通路中发挥重要作用^[14-15]。有关不同植物种属 CBF 基因表达调控和功能的研究,对拟南芥的报道较多,对棉花的研究较少(表 1)。研究发现,CBF 家族属于 AP2/EREBP 转录因子家族。家族成员 CBF1、CBF2 和 CBF3,又分别被称为 DREB1b、DREB1c 和 DREB1a(Dehydration-Responsive Element Binding Factor),首先被鉴定。随后,Volker 等又分离出 CBF4,构成了转录因子 DREB 亚族。CBF 转录因子家族的典型结构特征是含有一个 AP2 保守结构域。该结构域由大约 60 个氨基酸残基组成,含有三个反向平行的 β -折叠,参与调控基因的上游启动子区结合。其中第二个 β -折叠的第 14 位缬氨酸和第 19 位谷氨酸起着识别特异 DNA 顺式作用元件的作用,但该第 19 位谷氨酸的保守性相对较差,所起作用小于缬氨酸^[15]。

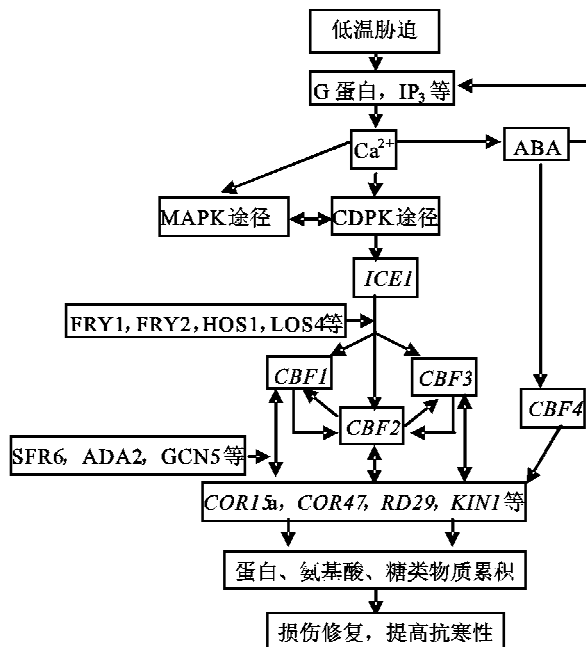


图 1 低温胁迫条件下 CBF 介导的信号传递途径
Fig. 1 The signal transduction pathways under low temperature mediated by transcription factor CBF in plants

在拟南芥中,CBF 基因家族位于拟南芥第 IV 号染色体短臂的 72.8 cM 处,相互之间连锁。CBF3 位于 CBF1 下游 3 kb 处,CBF2 位于 CBF1 下游 7 kb 处。该基因家族的编码阅读框中均不含有内含子,且阅读框中的核苷酸高度同源。其中,CBF1 与 CBF2 的同源性为 81%,CBF1 与 CBF3 及 CBF2 与 CBF3 间的同源性均为 84%^[16]。CBF4 与上述 CBF 转录因子在氨基酸水平上的同源性为 63%^[16]。目前,除拟南芥外,在油菜、小麦、大麦、烟草、水稻、玉米和棉花等作物中均克隆了 CBF 基因(表 1)。其中,文献检索表明,棉花 *GhDREB1L* 是有关棉花种属中 CBF 转录因子的首次报道。*GhDREB1L* 含有与拟南芥等其它植物 CBF 家族成员相似的氨基酸序列和一个保守的 AP2/ERF 功能域,具有与下游调控基因启动子区 DRE 元件(核心序列为 ACCGAC)的结合能力^[17]。

在低温信号传递过程中,CBF 是感受上游信号并将外界低温信号向下游传递的重要信号传递体。拟南芥 CBF1 和 CBF3 可直接调控其下游靶基因,也可通过 CBF2 将信号向下游传递(图 1)。研究发现,CBF2 对 CBF1 和 CBF3 具有反向调控作用,当 CBF1 和 CBF3 下游基因表达产物过量时,CBF2 对 CBF1 和 CBF3 进行反馈调节,保持各成员调控的下游基因表达产物数量的相对平衡。在低温驯化过程中,CBF 基因的表达受到低温条件的快速诱导^[18],通常在遭受低温后 15 min 内 CBF 的表达即被启动^[19]。对棉花 *GhDREB1L* 基因的表达特性研究表明,该基因受到低温、NaCl 和干旱的诱导。表明该基因通过与下游调控基因启动子 DRE 顺式作用元件的结合,介导上述逆境信号在植株体内的转导,在诱发棉花植株对低温、盐分和干旱的响应中具有重要作用^[17]。

4 CBF 基因的上游调控

有关转录因子 CBF 基因上下游调控的研究多是在模式植物中进行的^[12,20-21],对棉花等其它植物的研究少。在拟南芥中,调控低温下 CBF 基因表达或 CBF 活化的完整上游调控信号分子如图 1 所示。表明在植物体中,低温逆境信号的传递表现为极其复杂的网络特征。

(1)G 蛋白和 IP₃。植物细胞壁受体感受外界低温信号后,将信号相继传递到细胞质膜和原

生质中。位于细胞膜上的 G 蛋白是感受低温的早期信号传递体(图 1)。低温条件下,位于质膜上的 G 蛋白被激活,调控磷酸酯酶 C(PI-PLC)表

表 1 不同作物中已克隆的 CBF 转录因子家族成员

Table 1 The cloned CBF family members in different crops

植物	GenBank 登录号	基因编码蛋白	
拟南芥	AB007787	DREB1A	
	AB007788	DREB1B	
	AB007789	DREB1C	
	AB007790	DREB2A	
	AB007791	DREB2B	
	AY072421	DREB-like 转录因子	
	CAA18178	CBF1-like 转录因子蛋白	
	CAB81358	CBF1-like 转录因子蛋白	
	T05800	转录调节子	
	NP181186	DREB 转录因子蛋白	
	NP172723	DREB 转录因子蛋白	
	NP200012	DREB 转录因子蛋白	
	芸薹	AF370733	CBF-like 蛋白
		AF370734	CBF-like 蛋白
AF084185		DREB 蛋白	
AF499031		CBF-like 蛋白 CBF5	
AF499032		CBF-like 蛋白 CBF7	
AF499033		CBF-like 蛋白 CBF16	
AF499034		CBF-like 蛋白 CBF17	
甜樱桃		BAC20183	DREB1-like 转录因子蛋白
	BAC20184	DREB1-like 转录因子蛋白	
	BAC20185	DREB1-like 转录因子蛋白	
烟草	AAC14323	TSII	
番茄	AY034473	转录因子 CBF1	
黑麦	AF370728	CBF-like 蛋白	
	AF370729	CBF-like 蛋白	
	AF370730	CBF-like 蛋白	
小麦	AF376136	CBF-like 因子	
大麦	AF298230	CBF1-like 蛋白 BCBF1	
	AAK01089	CBF3-like 蛋白 BCBF3	
	AF418204	CRT/DRE 结合因子 1	
	AF442489	CRT/DRE 结合因子 2	
	AF239616	CRT/DRE 结合因子	
	水稻	AF243384	CRT/DRE 结合因子
AF300972		OsDREB1B	
AF300971		OsDREB2	
AF300970		OsDREB1A	
BAA90812		类 CBF1 转录因子	
AF474899		编码抗干旱蛋白	
玉米	AF493799	DRE 结合蛋白 2 (dbf2)	
	AF493800	DRE 结合蛋白 1 (dbf1)	
棉花	DQ409060	GhDREB1L	

达的增强,后者进一步水解 PIP_2 ,产生重要的信号分子 1,4,5-三磷酸肌醇(IP_3)^[12]。如上所述, IP_3 是一种第二信使,调控细胞内的 Ca^{2+} 释放量,由此调控 CDPK 信号途径。研究发现,当 IP_3 积累水平减少时,低温诱导表达基因 *RD29A*, *KIN2*, *RD22* 等的诱导水平受到抑制。表明位于细胞质膜上的 G 蛋白及其调控产物 IP_3 是 CBF 基因上游的早期调控物质。对 *fry1* 突变体的研究表明,*FRY1* 基因缺失减少了 IP_3 的降解,且在 ABA 诱导的野生型植株中, IP_3 的含量仍低于 *fry1* 突变体,表明 *FRY1* 是参与降解 IP_3 的关键基因, IP_3 受到 *FRY1* 的负向调节。除 *FRY1* 基因外,*FRY2*, *HOS1* 等基因也是 IP_3 的逆向调节因子。其中,*FRY2* 是与 *FRY1* 同源的转录抑制因子,同样通过抑制 IP_3 抑制下游信号的传递。拟南芥 *HOS1* 编码一胞质 RING 指状蛋白,低温处理下转运至核内积累,具有 E3 泛素结合酶(ubiquitin ligases)的功能^[20]。*HOS1* 突变体表现出冷诱导基因 CBF 及其下游冷响应基因表达的增强^[21]。

(2)依赖 Ca^{2+} 的 CDPK。 Ca^{2+} 是一个重要的第二信使。低温下,胞外和胞内钙库 Ca^{2+} 通过钙通道进入胞质,引起胞质 Ca^{2+} 浓度增加。对烟草研究发现,低温可导致烟草体内 Ca^{2+} 浓度的瞬时增加;用 Ca^{2+} 螯合剂和通道阻塞剂处理苜蓿悬浮细胞,*Cas15*、*Cas18* 两个冷驯化特异基因的表达受到抑制,使冷驯化受到阻碍^[22]。在时间上,低温处理 15 s 使植物细胞质 Ca^{2+} 水平出现峰值^[23]。 Ca^{2+} 信号系统包括 Ca^{2+} 运载蛋白、CaM(钙调蛋白)、依赖 CaM 的酶、依赖 Ca^{2+} 的蛋白激酶(CDPK),上述组分在低温下通过传导信号,调控基因表达、调节蛋白或酶的活性、参与 ABA 的信号传导和气孔关闭、参与活性氧的产生以及其它的生理过程,增强植物适应性^[24]。尽管目前对钙信使系统的作用有了初步的了解,但在低温逆境如何诱导植物产生钙信号、植物体如何感受刺激并引发钙信号的时空特异性等方面仍有待进一步研究。

在前已述及的 CDPK、MAPK 和 SOS3/SCaBP 三种主要信号途径中,由各途径所产生的物质及其在植物受到低温胁迫时所发生的作用推断,CDPK 途径最有可能成为其所属的信号通路。CDPKs 是一类钙依赖性的丝氨酸/酪氨酸蛋白激酶,C-端具有与钙调素(calmodulin)相似的功能

域,含有4个与 Ca^{2+} 直接结合的EF手型结构。在部分CDPKs的N-端,含有与膜结合潜在能力的豆蔻酰化(myristoylation)基序。在拟南芥基因组中,已发现34个可能的CDPKs^[25]。研究发现,2C型蛋白磷酸酶(AtPP2CA)具有阻断AtCDPK1对HVA1驱动的报告基因表达的效应^[26]。表明AtPP2CA可能是作用于AtCDPK1或通过调节下游磷酸化级联反应实现上述功能的作用元件。

(3)ICE1。ICE1(inducer of CBF expression 1)是直接调控CBF表达的上游信号。ICE1编码含有一个bHLH(basic helix-loop-helix)结构域,具有DNA结合特征的MYC、MYB类蛋白,而上述蛋白通过bHLH结构域与MYCR/MYBR元件互作,诱导CBF基因的表达^[27]。对CBF基因响应低温的区域进行突变分析发现,CBF家族基因启动子区有两个顺式作用元件ICEr1(TTCA-CACGTGACTC)和ICEr2(TCTAGA)(Induction of CBF expression region 1 or 2),与冷调控基因的表达有关^[28]。ICEr1中顺式作用元件的回文序列对特定的低温存在记忆,使植株对该温度由敏感变为迟钝。如当植株由正常温度放至4℃条件下时,CBF含量剧增,但达到峰值后又慢慢降低,14 d后植株体内CBF降至很低水平。在此期间内,植株体内的CBF基因不受4℃低温的再度诱导;一定温度、一定时间的恢复后,才使得植株恢复对低温敏感的诱导机制。Knight等发现,在拟南芥中,低温使细胞外和胞内的钙库快速向胞质释放,使胞质 Ca^{2+} 浓度的短暂瞬时增加,对植物记忆低温信号具有重要作用。

ICEr1基因启动子中的CACGTG回文序列,也是bZIP蛋白家族(ABRE-binding factors)的结合位点^[29],由于该序列也是ABA响应元件,表明含有ICEr1顺式作用元件的基因,不仅受到 Ca^{2+} 参与的CDPK途径的介导,还受到第二信使ABA的调控。即CBF所受的上游信号途径有可能不仅是CDPK一条,而由两种或多种信号途径调控,也有可能是通过信号途径间的交叉作用,调控CBF基因的表达。对不同CBF家族成员的研究发现,ABA不能诱导CBF1、CBF2、CBF3基因的表达,即CBF1、CBF2、CBF3的上游信号传递是通过非ABA依赖途径进行的,仅CBF4基因受到ABA的直接诱导(图1)^[18,30]。

(4)LOS4。LOS4也是调控CBF的上游基

因,编码一个含有DEAD盒RNA解旋酶,对于CBF基因的表达有促进作用,在LOS4-1突变体等位基因隐性纯合的植株中,CBF转录受到削弱或延迟^[31]。

5 CBF调控的下游基因

CBF与下游基因启动子区含有的CCGAC核心序列专一结合。迄今,已发现多种植物冷响应基因的启动子区含有此核心序列,如COR15a^[32],COR78/RD29A/LTI78^[30,33],KIN1^[34]等。对棉花种属中唯一报道的CBF转录因子家族成员*GhDREB1L*的研究发现,该基因编码蛋白在体外也具有与CCGAC核心序列专一结合的能力^[17],但迄今还未见棉花中CBF转录因子作用的下游基因的报道。表2列出了CBF转录因子作用的下游目的基因。迄今,对CBF作用的下游基因研究以COR基因较多。研究发现,COR基因编码的蛋白可直接或间接的激活下游多种编码低渗物质的基因表达,进而增加可溶性糖,如蔗糖、果糖、葡萄糖、棉籽糖等的含量,增强植株的抗冻性。另外,COR基因表达的增强,使脯氨酸、苏氨酸的水平上升,间接保护膜和蛋白免受损伤,增加植株整体水平上对冰冻伤害的忍耐能力。另有研究发现,当植株受到冰冻低温胁迫时,其膜系统首先因冰冻而脱水,直接损害植物的非双分子层结构,如脂质二相六角形结构^[35],而COR15a调控编码亲水的LEA或LEA类多肽的Lea表达,增强植株忍耐脱水的能力;且COR15a编码蛋白是一种亲水多肽,具有 α -螺旋亲水区,定位于叶绿体中,可直接作为抗冻多肽保持叶绿体被膜的结构,防止冰冻低温下叶绿体结构的伤害^[18]。

在冷敏感的植物番茄中鉴定出了COR同源的基因,CAT1^[36],在小麦WCS120基因的启动子中也发现含有CRT/DRE保守序列CCGAC^[37]。在番茄中,超量表达拟南芥CBF1基因,可以激活CAT1基因的表达,并且转基因植株对冰冻的抗性明显提高。Kirsten等^[38]发现,在芸薹中同样存在CBF冷响应途径,并鉴定了与拟南芥中COR15a基因相似的冷调节基因*Bn115*,在芸薹中组成型表达拟南芥的CBF基因,也可以增强植株对低温的抗性。

对酵母的研究发现,在CBF激活下游COR基因的过程中,CBF与COR基因的启动子结合,需要其它组分的参与。如CBF1激活CRT/DRE

元件的能力,依赖于 ADA 和 SAGA 复合体中三个关键组分,组氨酸乙酰转移酶(HAT)Gcn5、转录适应蛋白 Ada2 和 Ada3^[39]。同样,在拟南芥中,CBF 对 COR 的激活也需要其它辅助因子的参与,CBF1 转录激活因子可以与拟南芥 GCN5 和 ADA2 蛋白发生互作。Heather 等^[40]认为,CBF 蛋白和其它与 CRT/DRE 元件结合的蛋白,在与 DNA 的结合过程中,存在着其它辅助因子参与。

表 2 CBF 转录因子调控的下游目的基因

Table 2 The downstream genes regulated by transcription factor CBF

基因	GenBank 登录号	基因功能
RD29/LTI78/COR78	D13044	亲水、冷调节蛋白
COR15a	U01377	冷调节蛋白
KIN2/COR6.6	X55053	冷调节蛋白
ERD10	D17714	LEA 蛋白
KIN1	X51474	冷诱导蛋白
RD17/COR47	AB004872	LEA 蛋白
FL3-5A3	AB044404	冷冻富积蛋白
FL5-77	AB050556	过氧化物酶抑制子 TPX1
FL5-94	AB050561	烯醇化酶
FL3-27	AB044405	半胱氨酸蛋白酶抑制子同源物
FL5-2I22	AB046991	DC1.2 同源物
ERD4	AB039928	响应脱水的膜蛋白,ERD4 蛋白

除 COR 基因成员外, RD29A/LTI78^[38], KIN1^[34]是另外一些低温胁迫诱导的拟南芥中特异性表达基因。过去几年来,在大麦、苜蓿、马铃薯、小麦、油菜、菠菜和高粱中,也相继鉴定了相关低温诱导基因,如大麦的 *HVA1*、*blt4*、*blt14*、*blt63*、*blt101* 和 *blt801*;苜蓿的 *cas15*、*cas17*、*Msa-ciA* 以及马铃薯的 *ci21* 等^[41]。研究发现,上述冷诱导的基因多为编码低温诱导蛋白或一些酶类,与提高植物的耐冷性具有直接或间接的关系。迄今,有关棉花低温诱导基因特异性表达或上调表达的研究还少见报道。因此,CBF 转录因子 *GhDREB1L* 等家族成员调控的下游基因尚不明确。

6 前景展望

6.1 目前,在模式植物拟南芥上,有关植物感受低温信号及植物体内的低温信号转导通路已有相当详尽的了解;在小麦、大麦和马铃薯等作物上,有关低温诱导的特异表达基因及可能的低温信号

传递体也得到了初步的鉴定和分析。上述工作作为尚处于起步阶段的棉花低温信号转导通路的研究提供了有价值的借鉴和参考。

6.2 CBF 在介导棉花等作物的低温信号转导中具有重要作用。采用现代分子生物学技术,系统阐明棉花种中 CBF 转录因子家族的成员数量、低温下各成员的表达特性,以及上下游的调控机制,由此系统阐明 CBF 在介导棉花的低温信号转导通路中的作用,对于今后揭示棉花感受低温的分子机制具有重要意义。

6.3 超表达某些 CBF 基因家族成员,可使其调控的下游基因表达增强,植株的抗低温能力得到改善^[16],为今后采用遗传工程技术创制抗寒作物品种提供了新的途径。因此,通过日渐成熟的花粉管通道法和农杆菌介导的转化法等,在棉花中超表达功能强、对改善棉花植株抗寒能力具有重要功能和价值的 CBF 基因,有望创制抗寒性强的棉花新品种。此外,遗传转化与 CBF 转录因子相互作用的关键性抗寒植物基因,如 *afp*、*fad*、*desA* 等基因,对于改善棉花的抗寒能力可能也具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] LEVITT J. Responses of plants to environmental stresses[M]. 2nd ed. California: Academic Press, USA, 1980.
- [2] 苗芳,张嵩午,王长发,等. 低温小麦种质叶片结构及某些生理特性[J]. 应用生态学报, 2006, 17(3): 408-412.
- [3] 龚双军,李国英,杨德松,等. 不同棉花品种苗期抗寒性及其生理指标测定[J]. 中国棉花, 2005, 32(3): 16-17.
- [4] SUZUKI I, Los D A, Kanesaki Y, et al. The pathway for perception and transcription of low-temperature signals in *Synechocystis* [J]. EMBO Journal, 2000, 19: 1327-1334.
- [5] AGUILAR P S, Hernandez-Arriaga A M, Cybulski L E, et al. Molecular basis of thermosensing: a two-component signal transduction thermometer in *Bacillus subtilis* [J]. EMBO Journal, 2001, 20: 1681-1691.
- [6] URAO T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Two-component systems in plant signal transduction [J]. Trends Plant Science, 2000, 5: 67-74.
- [7] MURATA N, Los D A. Membrane fluidity and tem-

- perature perception [J]. *Plant Physiology*, 1997, 115: 875-879.
- [8] NUCCIO M L, Rhodes D, McNeil S D, et al. Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance[J]. *Current Opinion Plant Biology*, 1999, 2: 128-134.
- [9] KOCSY G, Galiba G, Brunold C. Role of glutathione in adaptation and signaling during chilling and cold acclimation in plants[J]. *Physiologium Plant*, 2001, 113: 158-164.
- [10] PRASAD T K, Anderson M D, Martin B A, et al. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide[J]. *Plant Cell*, 1994, 6: 65-74.
- [11] PRICE A H, Taylor A, Ripley S J, et al. Oxidative signals in tobacco increase cytosolic calcium [J]. *Plant Cell*, 1994, 6: 1301-1310.
- [12] XIONG L, Karen S, Zhu J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress[J]. *Plant Cell*, 2002 (supplement):165-183.
- [13] SHEEN J. Ca²⁺-dependant protein kinases and stress signal transduction in plants [J]. *Science*, 1996, 274:1900-1902.
- [14] XIONG Y, Fi S Z. Functional and phylogenetic analysis of a DREB/CBF-like gene in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) [J]. *Planta*, 2006, 224(4): 878-888.
- [15] VOLKER H, Cook D, Riechmann J L, et al. Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130: 639-648.
- [16] LIU Q, Kasuga M, Sakuma Y, et al. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction path ways in drought and low temperature responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 1998, 10: 1391-1406.
- [17] HUANG B, Jin L G, Liu J Y. Molecular cloning and functional characterization of a DREB1/CBF-like gene (*GhDREB1L*) from cotton[J]. *Science China (C Life Science)*, 2007, 50(1): 7-14.
- [18] THOMASHOW M F. Plant cold acclimation, freezing tolerance genes and regulatory mechanisms[J]. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 1999, 50: 571-599.
- [19] GILMOUR S J, Zarka D G, Stockinger E J, et al. Low temperature regulation of the *Arabidopsis* CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced *COR* gene expression[J]. *Plant Journal*, 1998, 16: 433-442.
- [20] LEE H, Xiong L, Gong Z, et al. The *Arabidopsis* *HOS1* gene negatively regulates cold signal transduction and encodes a RING finger protein that displays cold-regulated nucleo-cytoplasmic partitioning [J]. *Genes & Development*, 2001, 15: 912-924.
- [21] SHITANI M, Xiong L, Lee H, et al. *HOS1*, a genetic locus involved in cold-responsive gene expression in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 1998, 10: 1151-1161.
- [22] MONROY A F, Sarhan F, Dhindsa R S. Cold-induced change in freezing tolerance, protein phosphorylation, and gene expression[J]. *Plant Physiology*, 1993, 102: 1127-1135.
- [23] 章文华, 陈亚华, 刘友良. 钙在植物细胞胁迫信号转导中的作用[J]. *植物生理学通讯*, 2000, 36: 146-153.
- [24] 宗会, 李明启. 钙信使在植物适应非生物逆境中的作用研究进展[M]// 吴平, 陈昆松. *植物分子生物学进展*. 杭州: 浙江大学出版社, 2000: 258-269.
- [25] HARMON A C, Gribskov M, Gubrium E, et al. The CDPK superfamily of protein kinase[J]. *New Physiologist*, 2001, 151, 175-183.
- [26] SHEEN J. Mutational analysis of protein phosphatase 2C involved in abscisic acid signal transduction in higher plants[J]. *Proceedings National Academy Science*, 1998, 95: 975-980.
- [27] CHINNUSAMY V, Ohta M, Kanrar S, et al. ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Genes & Development*, 2003, 17: 1043-1054.
- [28] ZARKA D G, Vogel J T, Cook D, et al. Cold induction of *Arabidopsis* CBF genes involves multiple ICE (inducer of CBF expression) promoter elements and a cold-regulatory circuit that is desensitized by low temperature[J]. *Plant Physiology*, 2003, 133: 910-918.
- [29] BUSK P K, Pages M. Regulation of abscisic acid-induced transcription [J]. *Plant Molecular Biology*, 1998, 37: 425-435.
- [30] YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, Shinozaki K. A novel cis-acting element in an *Arabidopsis* gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress[J]. *Plant Cell*, 1994, 6: 251-264.
- [31] GONG Z, Lee H, Xiong L, et al. RNA helicase-like

- protein as an early regulator of transcription factors for plant chilling and freezing tolerance[J]. *Proceedings National Academy Science*, 2002, 99: 11507-11512.
- [32] ARTUS N N, Uemura M, Steponkus P L, et al. Constitutive expression of the cold-regulated *Arabidopsis thaliana* *COR15a* gene affects both chloroplast and protoplast freezing tolerance[J]. *Proceedings National Academy Science*, 1996, 93, 13404-13409.
- [33] MANTYLA E, Lang V, Palva E T. Role of abscisic acid in drought-induced freezing tolerance, cold acclimation and accumulation of LTI78 and RAB18 proteins in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiology*, 1995, 107, 141-148.
- [34] KURKELA S, Franck M. Cloning and characterization of a cold- and ABA-inducible *Arabidopsis* gene [J]. *Plant Molecular Biology*, 1990, 15, 137-144.
- [35] STEPONKUS P L, Uemura M, Webb M S. A contrast of the cryostability of the plasma membrane of winter rye and spring oat-two species that widely differ in their freezing tolerance and plasma membrane lipid composition[M]// Steponkus P L. *Advances in Low-Temperature Biology*. London: JAI Press, 1993; 211-312.
- [36] HSIEH T H, Lee J, Charnng Y, et al. Tomato plants ectopically expressing *Arabidopsis* *CBF1* show enhanced resistanc to water deficit stress[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130; 618-626.
- [37] OUELLET F, Vazquez-Tello A, Sarhan F. The wheat WCS120 promoter is cold-inducible in both monocotyledonous and dicotyledonous species[J]. *FEBS Letters*, 1998, 423; 324-328.
- [38] JAGLO K R, Kleff S, Amundsen K L, et al. Components of the *Arabidopsis* C-Repeat/Dehydration-Responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species[J]. *Plant Physiology*, 2001, 127; 910-917.
- [39] STOCHINGER E J, Mao Y, Regier M K, et al. Transcriptional adaptor and histone acetyltransferase proteins in *Arabidopsis* and their interactions with *CBF1*, a transcriptional activator involved in cold-regulated gene expression [J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, 29; 1524-1533.
- [40] KNIGHT H, Veale E L, Warren G J, et al. The *sfr6* mutation in *Arabidopsis* suppresses low-temperature induction of genes dependent on the CRT/DRE sequence motif[J]. *Plant Cell*, 1999, 11; 875-886.
- [41] 王 艇, 唐振亚. 植物冷驯化和热激反应的分子基础[M]// 刘良式. *植物分子遗传学*. 北京: 科学出版社, 1997; 499-541. ●