植物学报 *Chinese Bulletin of Botany* 2013, **48** (2): 219–229, www.chinbullbotany.com
doi: 10.3724/SP.J.1259.2013.00219

·专题论坛·

病原菌诱导型启动子顺式作用元件及其互作的转录因子

昝新丽[1,2], 高英[2,3*], 陈玉玲[1], 赵开军[2,3]

[1]河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050016; [2]中国农业科学院作物科学研究所, 农业部作物遗传育种重点实验室, 北京 100081
[3]农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081

摘要 启动子是位于基因5′端上游的一段DNA序列, 负责调控基因的转录。与植物抗病相关基因的启动子区含有能针对病原菌胁迫做出应答的顺式作用元件, 这些顺式作用元件通过与转录因子特异性结合, 进而增强抗病基因的转录表达, 提高植物的抗病性。该文主要综述了病原菌诱导型启动子相关顺式作用元件及与这些元件互作的转录因子, 特别对一类特殊的转录因子——病原菌TAL效应子与植物靶基因启动子之间的相互作用机制进行了阐述, 并对其应用前景进行了展望。

关键词 顺式作用元件, 诱导型启动子, 病原菌, 抗病性, 转录因子

昝新丽, 高英, 陈玉玲, 赵开军 (2013). 病原菌诱导型启动子顺式作用元件及其互作的转录因子. 植物学报 **48**, 219–229.

农业生产是人类赖以生存的基础, 而农作物在生长过程中却极易遭受各种病原菌的侵袭, 造成农作物的产量和质量下降, 甚至产生对机体有毒害的物质。因此, 有效防治植物病害, 对提高作物产量和品质至关重要。除了传统的农药防治病害方法外, 转基因抗病植物的培育也越来越受到人们的关注。但是, 目前在转基因植物中所使用的启动子多数为组成型启动子, 其驱动外源基因在植物体内持续大量地表达, 打破了植物原有的代谢平衡, 增加了植株的代谢负担, 造成了物质和能量上的巨大浪费, 且还可能影响食物的安全性(Kasuga et al., 1999; Moreno et al., 2005)。而诱导型启动子就可以很好地规避上述问题, 如病原菌诱导型启动子在病原物的激发下才会启动抗病相关基因的表达。因此, 研究和利用病原菌诱导型启动子, 特别是对其关键调控元件的鉴定和利用, 将有利于抗病转基因植物的培育(Lippok et al., 2007; Cai et al., 2008; Chujo et al., 2009)。本文主要综述了病原菌诱导型启动子相关顺式作用元件及与这些元件相互作用的转录因子, 特别对病原菌TAL(transcription activator like effector)效应子与植物靶基因启动子的特异识别模式进行了阐述, 旨在为抗病转基因植物的研究利用提供新的思路。

1 植物基因启动子的基本结构和功能

启动子是一段位于结构基因5′端上游区的DNA序列。它既能够活化RNA聚合酶, 使之与模板DNA准确地结合, 又具有转录起始的特异性, 可控制基因转录的起始时间和表达程度。它就像一个“开关”, 决定基因的活动, 是基因表达不可或缺的重要调控序列(朱玉贤和李毅, 2002)。一个典型的启动子包括TATA-box和CAAT-box, 它们位于转录起始点上游几十个碱基处。由TATA-box及转录起始点即可构成最简单的启动子。TATA-box决定启动子的转录方向并保证转录精确地起始(朱玉贤和李毅, 2002)。转录起始点通常位于基因的–40– –70 bp处, 基因转录起始区域的DNA序列较保守, 一般为CTCATCA, 中间的A即为转录起始点, 记作+1 (Joshi, 1987)。一般把含有TATA-box的启动子区称为核心启动子区, 核心启动子区具有较低的转录活性。如椰菜花叶病毒基因*CaMV*35S启动子的核心区–46/+8仅具有基础转录活性(Odell et al., 1985)。除了核心区外, 启动子5′端上游调控区往往含有许多其它调控元件, 例如一些与组织特异表达有关的元件和各种(如植物激素、干旱、低温、伤害和病原菌等)诱导表达元件。深入了解这

收稿日期: 2012-04-20; 接受日期: 2012-10-09
基金项目: 国家自然科学基金(No.31071484)
* 通讯作者。E-mail: gaoying@caas.net.cn

些诱导调控元件的组成及功能有助于构建高效且特异性的植物表达载体，对于培育生物安全的转基因新品种具有重要指导意义。

2 病原菌诱导型启动子相关顺式作用元件及与其作用的转录因子

植物有多种转录因子参与抗病反应，如WRKY类、AP2/EREBP (APETALA2/ethylene-responsive element binding proteins)类、MYB类和bZIP类(刘蕾等, 2008)。这些转录因子通过与其调控的基因启动子区相关顺式作用元件的特异性结合进而直接调控植物靶基因的转录表达，或形成同源、异源二聚体，或与其它的蛋白质互作形成某种活化形式参与茉莉酸(jasmonic acid, JA)、水杨酸(salicylic acid, SA)和乙烯等介导的信号转导，形成基因表达的调控网络，参与植物抗病反应(刘蕾等，2008)。目前已从它们与PR(pathogenesis-related protein)基因特异结合的位点找到了抗性相关元件，如W-box、GCC-box、S-box、MREs、G-box、E-box、PRE2和PRE4等(表1)。

2.1 W-box元件和WRKY类转录因子

目前研究得比较透彻的W-box核酸序列有2种形式，一种是TTGACC；另一种是TGAC-Nx-GTCA。研究表明，W-box与基因的真菌诱导性有关(Rushton and Somssich, 1998)。欧芹(*Petroselinum crispum*)中的PR1病程相关蛋白由*PR1-1*、*PR-2*和*PR-3*组成的基因家族所编码。Rushton等(1996)通过对*PR1*基因启动子的缺失和功能分析，发现*PR1-1*、*PR-2*启动子上各有2个响应真菌激发子的元件，*PR1-1*启动子上为W1-box(AATTTGACCGAG) 和 W2-box(TATTCAG-CCATCAAAGTTGACCAA)，*PR1-2*启动子上为W1-box和W3-box (TTATGACTAAATAGTCAGAA)。这3个W-box元件都包含核心序列TGAC(下划线处)，突变该核心序列会使启动子的真菌诱导活性丧失。*PR1-1*和*PR1-2*启动子上的2个W-box元件的功能是独立的，单独一个W-box足以响应真菌的诱导。Fukuda和Shinshi (1994)在烟草(*Nicotiana tabacum*) I型几丁质酶基因*CHN50*启动子中鉴定出1个具有真菌诱导活性且与W-box相似的EIRE(elicitor responsive element): GGTCAGAAAGTCAG元件。该元件是一个激发子应答元件，含有类似W-box元件核心序列TGAC的反向互补序列GTCA。Raventórs等(1995)在玉米(*Zea mays*)的*PRms*基因启动子上鉴定到一个20 bp的应答真菌激发子的元件。序列分析发现，–251– –231区域含有基序AATTGACC，这与其它基因应答真菌或激发子的保守序列ANT/TGACC相似。

转录因子WRKY家族蛋白能够特异性地结合W-box元件(Meier et al., 1991; Rushton et al., 1996)。WRKY蛋白因含有WRKY结构域而得名，WRKY结构域的主要功能是结合目的基因DNA，这是WRKY蛋白发挥其生物学活性所必需的。WRKY结

表1 应答病原菌的顺式作用元件及其特性

Table 1 The *cis*-acting elements responsive to pathogens and their characteristics

顺式作用元件	核心序列(5′–3′)	典型基因	材料	作用元件特性
W-box	TGAC	*PR1*, *PRms*	欧芹	应答真菌
EIRE	GTCA	*CHN50*	烟草	应答真菌
GCC-box	AGCCGCC	*Gln2*	烟草	应答真菌
S-box	CAGCCACCAAAGAGGACC	*ELI7*	欧芹	应答真菌
P-box	CTCCAACAAACCCCTTC	*PAL1*	欧芹	应答真菌激发子
L-box	TCTCACCTACC	*4CL1*	欧芹	应答真菌激发子
H-box	CCTACC	*Chs15*	蚕豆	应答烟草花叶病毒
G-box	ACGT	*PI-II*	马铃薯	应答ABA、光照、紫外线、伤害及病原物
*ocs*元件	CTGACGTAAGGGATGACGCAC	*ocs*	根癌农杆菌	应答SA、茉莉酮酸酯和过氧化氢
PRE2	ACGCTGCCG	*OsWRKY13*	水稻	应答真菌
PRE4	TACTGCGCTTAGT	*OsWRKY13*	水稻	应答真菌
E-box	ACCCATCAAG	*CcoAoMT*	欧芹	应答真菌激发子

构域约由60个氨基酸组成，靠近氨基(N)末端有7个保守的氨基酸残基WRKYGQK，构成了该结构域的核心序列。当核心序列发生变化时，WRKY结构域的活性减弱甚至失去DNA结合能力(Dong et al., 2003)。WRKY蛋白的C端含有一个锌指结构。该锌指结构由WRKY蛋白区域上的半胱氨酸或组氨酸残基与单个的锌原子结合而成，锌指区域和锌原子是WRKY蛋白结合DNA所必需的(Rushton et al., 1995, 1996)。WRKY蛋白能与包含TGAC(W-box)核心序列的DNA片段特异性结合(Yu et al., 2001; Sun et al., 2003)，并能与自身启动子中的W-box结合，进而参与基因的表达调控(Turck et al., 2004)。W-box通过与WRKY蛋白特异性结合，促使其调节下游目标基因的转录，从而在植物防御过程中发挥作用。W-box元件的核心序列TGAC中任一碱基发生改变，都会使其与WRKY蛋白结合的能力减弱甚至丧失(Yu et al., 2001)。结合WRKY蛋白的目标基因中大多数都含有数目不等的W-box元件，这些元件同向排列或呈回文结构，不同的W-box元件之间可能具有协同效应。W-box元件数量和排列方式的不同使其可以与不同的WRKY转录因子结合，从而调控不同的目标基因，参与植物体内多种信号转导及调控途径(吴坤陆, 2005) 。WRKY转录因子不仅参与植物的抗病反应，而且还会影响植物的生长发育、衰老及抗胁迫能力(Johnson et al., 2002; Dong et al., 2003; Li et al., 2004; Pandey and Somssich, 2009)。

已有报道显示，植物体被细菌(Eulgem et al., 1999)、病毒(Wang et al., 1998)和真菌激发子(Rushton et al., 1996; Fukuda, 1997)等侵染后，体内WRKY蛋白的mRNA、蛋白质及DNA结合活性均会有所提高。启动子上成簇存在的W-box序列足以响应多种病原激发子和伤害的诱导(Rushton et al., 2002)。Robatzek和Somssich(2001)的研究结果表明，拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)WRKY6蛋白通过特异性结合*SIRK*基因启动子区域的W-box进而调节其衰老和抗病反应。在欧芹中，3类WRKY蛋白(即WRKY1, 2和3)与*PR1-1*和*PR1-2*基因启动子上的W-boxes特异性结合发挥作用。欧芹的WRKY1蛋白定向作用于细胞核。在真菌激发子诱导下, *WRKY1, -2, -3*的mRNA水平迅速升高。因此，推测WRKY蛋白可能通过与应答真菌的基因启动子上的W-box元件结合进而参与植物的防御反应(Rushton et al., 1996)。

2.2 GCC-box、S-box和乙烯应答因子

在很多应答真菌的基因启动子区域均发现含有元件GCC-box(AGCCGCC)(Ohme-Takagi and Shinshi, 1995; Büttner and Singh, 1997)。该元件是一类乙烯应答元件，在植物与真菌互作过程中，乙烯的生物合成量迅速增加，乙烯作为信号分子可能参与应答病原物基因的表达(Ohme-Takagi and shinshi, 1995; Zhou et al., 1997)。现已分离到一些与GCC-box结合的乙烯应答元件结合蛋白(ethylene-responsive element binding protein, EREBPs)，或称乙烯应答因子(ethylene-responsive factors, ERFs)(Ohme-Takagi and shinshi, 1995; Büttner and singh, 1997; Zhou et al., 1997; Stockinger et al., 1997)。第1类被分离的EREBPs是烟草的EREBP-1, -2, -3, -4(Ohme-Takagi and shinshi, 1995)，这4个蛋白都特异性地与GCC-box结合并且在烟草叶片中受乙烯诱导。AP2/EREBP(APETALA2/ethylene-responsive element binding proteins)是一个起源古老的转录因子超家族，它含有1–2个约由60–70个氨基酸残基组成的极其保守的DNA结合域(DNA-binding domain)，即AP2/ERF结构域。根据AP2/ERF结构域的数目，AP2/EREBP转录因子可以分为2个亚族: EREBP亚族(含有1个AP2/ERF结构域)和AP2亚族(含有2个AP2/ERF结构域)。AP2亚族转录因子调控植物花、胚珠和种子的发育; 而EREBP亚族转录因子的主要功能是调节植物对激素(乙烯和ABA等)、病原菌和胁迫(低温、干旱及高盐)等的应答(赵利锋和柴团耀, 2008)。

Brown等(2003)的实验结果显示，乙烯介导的基因表达及应答乙烯的转录因子可能通过与GCC-box作用在茉莉酸调控的基因表达中发挥功能。他们鉴定出一个响应茉莉酸和病原菌的乙烯应答转录因子AtERF2，该转录因子在包含GCC-box的防卫基因中具有组成型转录活性; 并且可通过与GCC-box结合被激活。张海文等(2004)推测，GCC-box可作为乙烯和茉莉素信号途径的连接因子激活相关基因表达的协同作用，可能汇合于GCC-box与茉莉素及乙烯应答反应因子JERFs/TERFs(jasmonate and/or ethylene responsive factors)的互作，JERFs/TERFs通过

调节*PR*基因的表达提高植物对多种胁迫的耐受性，进而发挥植物的防卫(胁迫)应答反应。在番茄(*Solanum lycopersicum*)中，Pto激酶通过识别假单胞杆菌的一个无毒基因*avrPto,* 参与番茄细菌性斑点病的抗性。运用酵母双杂交体系，Zhou等(1997)鉴定出3个基因——*Pti4*、*Pti5*和*Pti6*，其编码蛋白可与Pto激酶作用，且每个基因的编码蛋白均具有与番茄乙烯应答元件结合蛋白相似的转录因子特征(EREBPs)。之后，他们运用凝胶阻滞实验分析，证实了*Pti4*/*5*/*6*与EREBPs相似，并可特异性识别并结合大量病程相关蛋白*PR*基因启动子区域的一段DNA核心序列GCCGCC。在番茄中，通过*Pto-avrPto*识别可增强一些*PR*基因和番茄*EREBP*基因的表达。上述研究结果证明，植物防御基因的特异性激活与抗病基因间存在直接联系。

在防御基因启动子区经常含有GCC-box(TAAGAGCCGCC)，其核心序列与调控茉莉酸和(或)激发子诱导表达的JERE(jasmonate and/or elicitor responsive element)元件(AGACCGCC)及被真菌诱导表达的S-box(AGCCACC)相似。JA是一类重要的植物激素，能诱导许多植物产生防卫应答反应，包括合成一些与防卫相关的次生代谢产物。受真菌激发子诱导的长春花(*Catharanthus roseus*)*Str*基因次生代谢产物的生成需要JA作为第2信号分子。*Str*基因启动子上一段42 bp序列是启动子响应JA和激发子所必需的。这段序列与之前鉴定出的响应JA的区域不同，它包含1个GCC-box-like元件。酵母单杂交实验鉴定出2个AP2类转录因子，ORCA1和ORCA2(octadecanoidderivative responsive *Catharanthus* AP2-domain)，这2个转录因子特异性结合JERE元件。ORCA2能够激活转录*Str*基因的启动子，且JA和激发子能快速诱导ORCA2的转录活性。这些结果暗示GCC-box-like元件和ORCA2在*Str*基因响应JA及激发子过程中发挥着重要作用(Menke et al., 1999)。在欧芹中，*ELI7*基因家族成员能被真菌衍生物(植物疫霉属病菌)激发子Pep-25 oligopeptide快速诱导表达。Kirsch等(2000)分析了2个受激发子强烈诱导的启动子ELI7.1和ELI7.2，这2个启动子上有一段18 bp的共有序列CAGCCACCAAAGAGGACC，称之为S-box。将其中的CCACCA突变为AAGAAG，或者将S-box缺失，激发子的诱导活性都会大大减弱，说明S-box在应答真菌诱导过程中发挥着重要作用。

2.3 MREs元件和MYB类转录因子

欧芹*PAL(phenylalanine ammonialyase)*基因启动子上的Box-P(CTCCAACAAACCCCTTC)、*4CL(4-coumarate:CoA ligase)*基因启动子上的Box-L(TCTCACCTACC)及蚕豆(*Vicia faba*)*Chs15*基因启动子上的H-box(CCTACC)都含有识别MYB蛋白因子的保守序列A(A/C)C(A/T)A(A/C)C，即MYB识别元件MREs (MYB recognition elements) (Logemann et al., 1995; Faktor et al., 1997a)。Box-P和Box-L最初是在欧芹*PAL-1*基因启动子上发现的受真菌激发子诱导的DNA-蛋白互作位点(Lois et al., 1989)，它们可与MYB类蛋白BPF-1结合(box P-binding factor) (da Costae Silva et al., 1993; Feldbrügge et al., 1997)。da Costae Silva等(1993)的研究发现，BPF-1能与欧芹*PAL-1*基因启动子上的Box-P特异性结合。用激发子处理欧芹细胞后，*BPF-1*的mRNA快速积累，说明*BPF-1*参与了植物的防御反应。Faktor等(1997a, 1997b)的研究结果显示，单独的H-box(CCTACC)活性不高；而功能获得实验显示，在转基因烟草中H-box与G-box(CACGTG)协同作用时才具活性，且突变H-box或G-box后降低了植物对烟草花叶病毒的应答。

MYB蛋白家族是植物中最大的转录因子家族之一，由*MYB*基因编码，MYB蛋白一般都具有高度保守的DNA结合域——MYB结构域。根据含MYB结构域不完全重复子(用R表示)的个数，可将MYB蛋白分为3类: (1) 单一MYB结构域(R1/R2)蛋白; (2)含有2个重复MYB结构域(R2R3)蛋白；(3)含有3个重复MYB结构域(R1R2R3)蛋白。在c-MYB蛋白(原型MYB蛋白)中，此结构域重复3次(R1R2R3)(万小荣和李玲，2002)。c-MYB蛋白包含3个保守的功能域，即1个DNA结合结构域(DNA binding domain, DBD)、 1个富含酸性氨基酸的转录激活功能域(trans activation domain，TAD)和1个不完全界定的负调节区(negative regulatory domain, NRD)(Thompson and Ramsay, 1995)。其中，DNA结合结构域最为保守，一般包含1–3个不完全重复序列R(MYB结构域)，每个重复序列R约由52个氨基酸残基和间隔序列组成，每隔18–19个氨基酸间隔1个色氨酸残基，这些氨基酸残

基在空间上的规则排列使MYB结构域折叠成螺旋-转角-螺旋(helix-turn-helix, HTH)结构, MYB蛋白凭借此结构插入靶基因DNA分子大沟与目的DNA序列结合(陈俊和王宗阳, 2002)。

研究显示, *MYB*基因在植株中的过表达可明显提高植物的抗病能力, 且此作用具有一定的广谱效应。Yang和Klessig(1996)及Raffaele等(2006)的研究结果表明, SA在植物抵御病原菌侵染中起着重要作用。例如拟南芥中的一个MYB转录因子基因*AtMYB30*在过敏性反应HR(hypersensitive response)早期特异性瞬时表达; 在拟南芥和烟草中, 该基因的过表达及抑制实验证明, *AtMYB30*是植物受到病菌侵染时HR反应的正调控因子(Raffaele et al., 2006)。该基因在应答细菌病原菌侵染引起的过敏性死亡中的表达依赖于SA的积累, 改变*AtMYB30*的表达量(使其过表达或T-DNA插入突变)可调整SA的水平和SA相关基因的表达。说明*AtMYB30*参与调控SA的合成, 进而调控细胞的死亡。烟草的一个MYB转录因子基因*MYB1*编码一个水杨酸信号复合物, 该复合物能与病程相关蛋白*PR*基因的启动子序列结合, 参与*PR*基因的激活和植物的抗病防卫反应; 用水杨酸处理后, 烟草植株中*MYB1*表达量先升高, PR蛋白量随后增加, 表明*MYB1*基因可能作用于SA信号的下游, 参与调控*PR*基因的表达及植物的抗病反应(Yang and Klessig, 1996)。

2.4 G-boxes、as-1-like元件和bZIP类转录因子

G-boxes为一类包含ACGT家族的顺式作用元件, 能够应答一些环境因子, 如ABA、光照、紫外线、伤害以及病原物信号(Kim et al., 1992; Menkens et al., 1995)。这类元件经常与其它顺式作用元件互作发挥功能。如蚕豆*Chs15*基因启动子上的G-box和H-box协同作用响应植物对烟草花叶病毒的应答(Faktor et al., 1997a)。

as-1-like元件或称ocs元件(CTG<u>ACGT</u>AAGGGATGACGCAC)也是一类植物防御反应元件, 最初从椰菜花叶病毒的35S启动子和根癌农杆菌的*nos*及*ocs*基因启动子中分离得到(Lam et al., 1989; Ellis et al., 1993)。as-1-like元件参与一些信号(包括SA、植物生长激素、茉莉酮酸酯和过氧化氢)的应答(Yang et al., 1997)。尽管as-1-like元件在一些病原物基因中有活性, 但尚不清楚其是否在植物基因中发挥作用(Ellis et al., 1993)。

G-box和as-1-like元件(或ocs元件)都能与bZIP蛋白结合。bZIP蛋白(basic leucine zipper)是植物中最大的转录因子家族之一, 参与高等植物基因的表达与调控。G-box和as-1-like元件能够结合到带有ACGT核心元件的DNA序列上(Foster et al., 1994)。有研究表明, bZIP蛋白可能在植物防御反应中发挥重要作用。例如, Dröge-Laser等(1997)从大豆(*Glycine max*)中分离的bZIP蛋白因子G/HBF-1能与蚕豆*Chs15*基因启动子上的G-box及其附近的H-box结合, 蛋白的磷酸化及合成第二信使水杨酸是植物受病原物侵袭后的早期反应, 在大豆病原物的诱导下G/HBF-1蛋白迅速磷酸化, 进而增强了其与启动子上H-box III的结合。现已鉴定出一种能磷酸化G/HBF-1蛋白的丝氨酸激酶, 该激酶在激发子处理的细胞中能瞬时表达, 进而将G/HBF-1蛋白迅速磷酸化(Dröge-Laser et al., 1997)。G-box除了是bZIP因子的结合位点, 还是一个潜在的螺旋-环-螺旋bHLH(basic helix-loop-helix)蛋白的结合位点(Kawagoe and Murai, 1996)。植物激素JA参与植物的防御反应和生殖发育过程。Figueroa和Browse(2011)分析了拟南芥中一个编码茉莉酮酸酯JA-ZIM区域2的蛋白——JAZ2, 并在*JAZ2*基因启动子区鉴定出一个G-Box元件。该元件是诱导早期JA反应基因活性所必需的, 可能通过选择性地结合bHLH类转录因子(MYC2、MYC3和MYC4)发挥作用。

2.5 PRE2和PRE4

Cai等(2008)在水稻(*Oryza sativa*)抗病基因*OsWRKY13*启动子上鉴定出2个新型的响应真菌诱导的顺式作用元件PRE2(ACGCTGCCG)和PRE4(TACTGCGCTTAGT)。经研究表明, 细菌和真菌等病原菌能诱导*OsWRKY13*基因的表达, 进而增强水稻对白叶枯病和真菌病害的抗性。在转基因烟草中, *OsWRKY13*启动子(–691–+37)受真菌强烈诱导表达, 接种2小时后表达量最高。对*OsWRKY13*基因启动子进行分析, 发现W-box定位于启动子的–481– –477, PRE2(ACGCTGCCG)定位于启动子的–313– –305, PRE4(TACTGCGCTTAGT)定位于启动子的–101– –89。对*OsWRKY13*启动子进行5′端缺失后GUS活性分析, 结果显示缺失W-box(保留启动子序列–384–

+37), 缺失W-Box和PRE2(保留启动子序列–191–+37), 缺失W-box、PRE2和PRE4(保留启动子序列–43–+37)比*OsWRKY13*启动子(–691–+37)的GUS活性分别降低了54%、81%和85%。说明缺失的这3个元件对于*OsWRKY13*启动子应答真菌诱导起关键作用。

研究显示, OsWRKY13既能与W-box结合也能与PRE4结合, 但与两者结合的核心序列不同。与W-box相比, PRE4与OsWRKY13的结合更具特异性。PRE4既不含有W-box(TTGACC/TTGACC/T)核心序列, 也不含有W-box-like (TTGACA, TGACC/T, TTGAC)核心序列, 预示PRE4可能包含新型的W-box-like元件。

2.6 E-box

在欧芹类植物体内发现的咖啡酰辅酶A甲基转移酶基因(*CcoAoMT*)属于防卫基因, 其与植物体内木质素的生成有关, 并参与植物的防御反应。Grimmig和Matern(1997)通过足迹分析和凝胶阻滞实验, 从欧芹*CcoAoMT*基因启动子中鉴定出一个新型的响应激发子诱导的元件, 并命名为E-box, 该元件含有保守的功能域(ACCCATCAAG)。凝胶阻滞实验分析结果显示, E-box在体内可结合核蛋白, 缺失E-box序列后*CcoAoMT*基因启动子在瞬时表达分析中将丧失真菌激发子(*Phytophthora megasperma* f. sp. *Glycinea*的粗提物)应答活性, 表明E-box元件与真菌诱导出有关。

3 病原菌TAL效应子与植物靶基因启动子的特异识别

植物的抗病反应是一个复杂的过程。在抗病基因的诱导表达过程中, 除了真核转录因子能与启动子特异序列结合诱导基因表达外, 病原菌产生的TAL效应子也能模拟真核转录因子与植物基因启动子区的特异序列结合从而诱导基因的表达(赵开军等, 2011; 李岩强等, 2011)。如黄单胞杆菌属(*Xanthomonas*)的系列变种, 可使辣椒(*Capsieum annuum*)和番茄感染细菌性斑点病(*Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*); 使水稻感染白叶枯病(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)和条斑病(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*)(Boch and Bonas, 2010)。这些病菌能够将其产生的效应子蛋白TAL effector通过III型分泌系统注入寄主植物细胞中, 并模拟真核生物转录因子的功能, 与寄主基因启动子区的DNA序列结合, 启动相关基因的表达, 进而控制寄主植物的一系列生理生化进程(Yang et al., 2006; Kay et al., 2007; Römer et al., 2007; Sugio et al., 2007; Scholze and Boch, 2011)。

Bonas等(1989)在辣椒斑点病细菌*Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* (*xcv*)中发现了第1个TAL效应子——AvrBs3。该效应子就是通过特异识别寄主植物的一个控制细胞大小的关键调节基因*upa20*的启动子区上的保守元件, 调节该基因的表达, 进而激发寄主叶肉细胞增大, 以便于病菌在寄主细胞中扩散和繁殖(Kay et al., 2007)。之后, Scholze和Boch(2010)的研究发现, TAL效应子蛋白PthXo1、PthXo6和AvrXa7能够分别特异识别水稻的*Xa13*、*OsTFX1*和*Os11N3*的启动子区。本研究组通过构建Tn5转座子插入的白叶枯病菌PXO99的突变体库, 筛选使近等基因系CBB23致病的突变菌株(Wang et al., 2009), 最终克隆到水稻*Xa23*基因对应的无毒基因*avrXa23*, 并发现AvrXa23蛋白是一个TAL效应子, 能够识别*Xa23*基因的启动子序列进而激发水稻产生强烈的抗病反应(数据未显示)。此时, TAL效应子对于寄主植物就是无毒因子; 而对于不含相应抗病基因的植物则为毒性因子, 原因是这些无毒蛋白能使其发病。

Herbers等(1992)的研究表明, TAL效应子类蛋白具有相似的结构特征: (1) N端高度保守, 且其mRNA上存在TTSS分泌信号(T3S); (2) C端含有亮氨酸拉链结构LZ(leucine zipper)、核定位信号NLSs (nuclear localization signals)及酸性转录激活域AD(acidic activation domain); (3) 中间是串联重复区, 每个重复单元约由34个氨基酸残基组成, 其中第12和13位氨基酸高度可变, 称为重复可变区(repeat-variable diresidue, RVD)。TAL效应子与寄主植物基因识别的特异性由重复可变区的重复类型和数目决定(Conrads-Strauch and Bonas, 1992; Yang et al., 2005)。这种特殊的结构特征决定了TAL效应子类蛋白与寄主靶基因的特异性识别。目前, 这种识别的分子密码已被破解: 即效应子蛋白每个重复区的第12位和第13位2个可变氨基酸识别寄主启动子区的

1个核苷酸, 且这种识别具有偏爱性。如氨基酸HD和NI分别对碱基C和A有很强的偏爱, 不同的重复(repeat)类型识别不同的核苷酸, 正是第12位和第13位氨基酸残基决定了这种识别的特异性。通过这种特异的识别, TAL效应子调控植物靶基因的表达, 并引发寄主植物的抗病或感病反应(Boch et al., 2009; Moscou and Bogdanove, 2009)。目前, 特异识别的结构基础也已被解析, 详情可参见有关文献(Bradley, 2012; Deng et al., 2012; Mak et al., 2012)。

4 研究展望

农作物在生长过程中经常遭受各种病原菌的侵袭, 应用基因工程技术提高作物对病原物的抗性在很大程度上依赖于具有良好特性的病原物诱导型启动子。迄今为止, 自然界中仅有少数病原物诱导型启动子具有诱导因子广、本底活性低和启动表达快等优点。作者认为组合不同的启动子元件构建人工启动子, 可使启动子应答多种信号并具备更严谨的调节能力, 有望得到理想的人工病原物诱导型启动子。本研究组从芥菜(*Brassica juncea*)*BjCHI1*基因中分离到一个诱导型启动子BjC-P(吴雪峰, 2009)。由于*BjCHI1*基因在植物正常生长条件下几乎不表达, 在受伤害、虫食、茉莉酸甲酯MeJA和真菌侵染等因素的诱导时强烈表达(Zhao and Chye, 1999; Fung et al., 2002; Chye et al., 2005), 暗示该启动子含有重要的顺式作用元件。经研究发现, BjC-P含有应答真菌的关键调控元件(未发表资料), 但如何更好地应用该启动子, 尚需进一步研究。

TAL效应子与寄主靶基因识别分子密码的破解, 为开辟作物抗病育种新方法(包括构建广谱抗病基因复合体及通过效应子核酸酶(TAL effector nucleases, TALNs)对目标基因进行定点突变和重组的新的基因工程手段)提供了理论和实验基础。Römer等(2009)利用基因工程技术将不同的UPT-box相互组合, 得到了能与多个TAL效应子识别的新启动子, 用该启动子驱动一个抗病基因, 可以扩大该抗病基因的抗谱。目前, 人工重组的TALENs的基因剪切效果已在酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)(Li et al., 2011)、斑马鱼(*Danio rerio*)(Huang et al., 2011; Sander et al., 2011)、大鼠(*Rattus norvegicus*)(Tesson et al., 2011)、线虫(*Caenorhabditis elegans*)(Wood et al., 2011)和人类(Hockemeyer et al., 2011)等物种的细胞上得到证实。Li等(2012)利用TALENs技术成功地将水稻感病基因*Os11N3*启动子序列定点剪切, 使得水稻白叶枯病原菌TAL效应子AvrXa7和PthXo3不能识别*Os11N*3启动子靶点序列, 使白叶枯病原菌不能致病, 从而提高了水稻的抗病能力。上述利用TALENs技术对植物基因组实施定点剪切并获得目标性状改良的植物在世界上尚属首次。

随着分子生物学和生物信息学的快速发展, 对病原菌诱导型启动子上顺式作用元件及转录因子的研究将会越来越深入和广泛, 相信以后会鉴定出更多与抗病相关的顺式作用元件和转录因子。对这些元件结构及功能的深入研究将有助于理解植物病原菌诱导的基因表达调控机制, 为人工构建植物病原菌诱导型特异启动子提供新的遗传材料, 并为抗病转基因植物的研究和培育提供有力的工具。TALENs作为新兴的技术无论在基础研究还是在植物应用研究方面都将有巨大的应用潜力。

参考文献

陈俊, 王宗阳 (2002). 植物MYB类转录因子研究进展. 植物生理与分子生物学学报 **28**, 81–88.

李岩强, 王春连, 赵开军 (2011). 病原菌TAL效应子与寄主靶基因相互识别的分子密码. 生物工程学报 **27**, 1132−1141.

刘蕾, 杜海, 唐晓凤, 吴燕民, 黄玉碧, 唐益雄 (2008). MYB转录因子在植物抗逆胁迫中的作用及其分子机理. 遗传 **30**, 1265–1271.

万小荣, 李玲 (2002). 植物的MYB蛋白. 植物生理学通讯 **38**, 165–170.

吴坤陆 (2005). WRKY基因家族的进化及水稻WRKY基因表达谱的研究. 博士论文. 杭州: 浙江大学. pp. 16–21.

吴雪峰 (2009). 诱导型启动子BjC-P的功能分析. 博士论文. 北京: 中国农业科学院研究生院. pp. 22−33.

张海文, 谢丙炎, 卢向阳, 杨宇红, 陈琪, 黄荣峰 (2004). 拟南芥防卫基因*PDF1.2*启动子中GCC盒是应答茉莉素反应必要的顺式作用元件. 科学通报 **49**, 2444–2448.

赵开军, 李岩强, 王春连, 高英 (2011). 植物天然免疫性研究进展及其对作物抗病育种的可能影响. 作物学报 **37**, 935–942.

赵利锋, 柴团耀 (2008). AP2/EREBP转录因子在植物发育和

胁迫应答中的作用. 植物学通报 **25**, 89–101.

朱玉贤, 李毅 (2002). 现代分子生物学(第2版). 北京: 高等教育出版社. pp. 71–77.

Boch J, Bonas U (2010). *Xanthomonas* AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. *Annu Rev Phytopathol* **48**, 419–436.

Boch J, Scholze H, Schornack S, Landgraf A, Hahn S, Kay S, Lahaye T, Nickstadt A, Bonas U (2009). Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* **326**, 1509–1512.

Bonas U, Stall RE, Staskawicz B (1989). Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Mol Gen Genet* **218**, 127–136.

Bradley P (2012). Structural modeling of TAL effector-DNA interactions. *Protein Sci* **21**, 471–474.

Brown RL, Kazan K, McGrath KC, Maclean DJ, Manners JM (2003). A role for the GCC-Box in jasmonate-mediated activation of the *PDF1.2* gene of Arabidopsis. *Plant Physiol* **132**, 1020–1032.

Büttner M, Singh KB (1997). *Arabidopsis thaliana* ethylene-responsive element binding protein (AtEBP), an ethylene-inducible, GCC box DNA-binding protein interacts with an ocs element binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**, 5961–5966.

Cai M, Qiu D, Yuan T, Ding X, Li H, Duan L, Xu C, Li X, Wang S (2008). Identification of novel pathogen-responsive *cis*-elements and their binding proteins in the promoter of *OsWRKY13,* a gene regulating rice disease resistance. *Plant Cell Environ* **31**, 86–96.

Chujo T, Sugioka N, Masuda Y, Shibuya N, Takemura T, Okada K, Nojiri H, Yamane H (2009). Promoter analysis of the elicitor-induced WRKY gene *OsWRKY53,* which is involved in defense responses in rice. *Biosci Biotechnol Biochem* **73**, 1901–1904.

Chye ML, Zhao KJ, He ZM, Ramalingam S, Fung KL (2005). An agglutinating chitinase with two chitin-binding domains confers fungal protection in transgenic potato. *Planta* **220**, 717–730.

Conrads-Strauch JHK, Bonas U (1992). Race-specificity of plant resistance to bacterial spot disease determined by repetitive motifs in a bacterial avirulence protein. *Nature* **356**, 172–174.

da Costae Silva O, Klein L, Schmelzer E, Trezzini GF, Hahlbrock K (1993). BPF-1, a pathogen-induced DNA-binding protein involved in the plant defense response. *Plant J* **4**, 125–135.

Deng D, Yan CY, Pan XJ, Mahfouz M, Wang JW, Zhu JK, Shi YG, Yan N (2012). Structural basis for sequence-specific recognition of DNA by TAL effectors. *Science* **335**, 720–723.

Dong JX, Chen CC, Chen ZX (2003). Expression profiles of the Arabidopsis *WRKY* gene superfamily during plant defense response. *Plant Mol Biol* **51**, 21–37.

Dröge-Laser W, Kaiser A, Lindsay WP, Halkier BA, Loake GJ, Doerner P, Dixon RA, Lamb C (1997). Rapid stimulation of a soybean protein-serine kinase that phosphorylates a novel bZIP DNA-binding protein, G/HBF-1, during the induction of early transcription-dependent defenses. *EMBO J* **16**, 726–738.

Ellis JG, Tokuhisa JG, Llewellyn DJ, Bouchez D, Singh K, Dennis ES, Peacock WJ (1993). Does the ocs-element occur as a functional component of the promoters of plant genes? *Plant J* **4**, 433–443.

Eulgem T, Rushton PJ, Schmelzer E, Hahlbrock K, Somssich IE (1999). Early nuclear events in plant defence signaling: rapid gene activation by WRKY transcription factors. *EMBO J* **18**, 4689–4699.

Faktor O, Kooter JM, Loake GJ, Dixon RA, Lamb CJ (1997a). Differential utilization of regulatory *cis*-elements for stress-induced and tissue-specific activity of a French bean chalcone synthase promoter. *Plant Sci* **124**, 175–182.

Faktor O, Loake G, Dixon RA, Lamb CJ (1997b). The G-box and H-box in a 39 bp region of a French bean chalcone synthase promoter constitute a tissue-specific regulatory element. *Plant J* **11**, 1105–1113.

Feldbrügge M, Sprenger M, Hahlbrock K, Weisshaar B (1997). PcMYB1, a novel plant protein containing a DNA-binding domain with one MYB repeat, interacts *in vivo* with a light-regulatory promoter unit. *Plant J* **11**, 1079–1093.

Figueroa P, Browse J (2011). The Arabidopsis JAZ2 promoter contains a G-box and thymidine-rich module that are necessary and sufficient for jasmonate-dependent activation by MYC transcription factors and repression by JAZ proteins. *Plant Cell Physiol* **53**, 330–343.

Foster R, Izawa T, Chua NH (1994). Plant bZIP proteins gather at ACGT elements. *FASEB J* **8**, 192–200.

Fukuda Y (1997). Interaction of tobacco nuclear protein with an elicitor-responsive element in the promoter of a basic class I chitinase gene. *Plant Mol Biol* **34**, 81–87.

Fukuda Y, Shinshi H (1994). Characterization of a novel *cis*-acting element that is responsive to a fungal elicitor in

the promoter of a tobacco class I chitinase gene. *Plant Mol Biol* **24**, 485–493.

Fung KL, Zhao KJ, He ZM, Chye ML (2002). Tobacco-expressed *Brassica juncea* chitinase BjCHI1 shows anti-fungal activity *in vitro*. *Plant Mol Biol* **50**, 283–294.

Grimmig B, Matern U (1997). Structure of the parsley caffeoyl-CoA O-methyltransferase gene, harbouring a novel elicitor responsive *cis*-acting element. *Plant Mol Biol* **33**, 323–341.

Herbers K, Conrads-Strauch J, Bonas U (1992). Race-specificity of plant resistance to bacterial spot disease determined by repetitive motifs in a bacterial avirulence protein. *Nature* **6365**, 172−174.

Hockemeyer D, Wang HY, Kiani S, Lai CS, Gao Q, Cassady JP, Cost GJ, Zhang L, Santiago Y, Miller JC, Zeitler B, Cherone JM, Meng XD, Hinkley SJ, Rebar EJ, Gregory PD, Urnov FD, Jaenisch R (2011). Genetic engineering of human pluripotent cells using TALE nucleases. *Nat Biotechnol* **29**, 731−734.

Huang P, Xiao A, Zhou MG, Zhu ZY, Lin S, Zhang B (2011). Heritable gene targeting in zebrafish using customized TALENs. *Nat Biotechnol* **29**, 699−700.

Johnson CS, Kolevski B, Smyth DR (2002). *TRANSPARENT TESTA GLABRA2*, a trichome and seed coat development gene of Arabidopsis, encodes a WRKY transcription factor. *Plant Cell* **14**, 1359–1375.

Joshi CP (1987). An inspection of the domain between Putative TATA box and translation start site in 79 plant genes. *Nucleic Acids Res* **15**, 6643–6653.

Kasuga M, Liu Q, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1999). Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nat Biotechnol* **17**, 287–291.

Kawagoe Y, Murai N (1996). A novel basic region/ helix-loop-helix protein binds to a G-box motif CACGTG of the bean seed storage protein β-*phaseolin* gene. *Plant Sci* **116**, 47–57.

Kay S, Hahn S, Marois E, Hause G, Bonas U (2007). A bacterial effector acts as a plant transcription factor and induces a cell size regulator. *Science* **318**, 648–651.

Kim SR, Choi JL, Costa MA, An G (1992). Identification of G-box sequence as an essential element for methyl jasmonate response of potato proteinase inhibitor II promoter. *Plant Physiol* **99**, 627–631.

Kirsch C, Takamiya-Wik M, Schmelzer E, Hahlbrock K, Somssich IE (2000). A novel regulatory element involved in rapid activation of parsley ELI7 gene family members by fungal elicitor or pathogen infection. *Mol Plant Pathol* **1**, 243–251.

Lam E, Benfey PN, Gilmartin PM, Fang RX, Chua NH (1989). Site specific mutations alter *in vitro* factor binding and change promoter expression pattern in transgenic plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **86**, 7890–7894.

Li J, Brader G, Palva ET (2004). The WRKY70 transcription factor: a node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense. *Plant Cell* **16**, 319–331.

Li T, Huang S, Jiang WZ, Wright D, Spalding MH, Weeks DP, Yang B (2011). TAL nucleases (TALNs): hybrid proteins composed of TAL effectors and FokI DNA-cleavage domain. *Nucleic Acids Res* **39**, 359–372.

Li T, Liu B, Spalding HM, Weeks DP, Yang B (2012). High-efficiency TALEN-based gene editing produces disease-resistant rice. *Nat Biotechnol* **30**, 390−392.

Lippok B, Birkenbihl RP, Rivory G, Brümmer J, Schmelzer E, Logemann E, Somssich IE (2007). Expression of *AtWRKY33* encoding a pathogen- or PAMP-responsive WRKY transcription factor is regulated by a composite DNA motif containing W-box elements. *Mol Plant Microbe Interact* **20**, 420–429.

Logemann E, Parniske M, Hahlbrock K (1995). Modes of expression and common structural features of the complete phenylalanine ammonia-lyase gene family in parsley. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 5905−5909.

Lois R, Dietrich A, Hahlbrock K, Schulz W (1989). A phenylalanine ammonia-lyase gene from parsley: structure, regulation and identification of elicitor and light responsive *cis*-acting elements. *EMBO J* **8**, 1641–1648.

Mak ANS, Bradley P, Cernadas RA, Bogdanove AJ, Stoddard BL (2012). The crystal structure of TAL effector PthXo1 bound to its DNA target. *Science* **335**, 716−719.

Meier I, Hahlbrock K, Somssich IE (1991). Elicitor-inducible and constitutive *in vivo* DNA footprints indicate novel *cis*-acting elements in the promoter of a parsley gene encoding pathogenesis-related protein 1. *Plant Cell* **3**, 309–315.

Menke FLH, Champion A, Kijne JW, Memelink J (1999). A novel jasmonate- and elicitor-responsive element in the periwinkle secondary metabolite biosynthetic gene *Str* interacts with a jasmonate- and elicitor-inducible AP2-domain transcription factor, ORCA2. *EMBO J* **18**, 4455–4463.

Menkens AE, Schindler U, Cashmore AR (1995). The G-box: a ubiquitous regulatory DNA element in plants

bound by the GBF family of bZIP proteins. *Trends Biochem Sci* **20**, 506–510.

Moreno AB, Peñas G, Rufat M, Bravo JM, Estopà M, Messeguer J, San Segundo BS (2005). Pathogen-induced production of the antifungal AFP protein from *Aspergillus giganteus* confers resistance to the blast fungus *Magnaporthe grisea* in transgenic rice. *Mol Plant Microbe Interact* **18**, 960–972.

Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009). A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* **5959**, 1501–1501.

Odell JT, Nagy F, Chua NH (1985). Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature* **313**, 810–812.

Ohme-Takagi M, Shinshi H (1995). Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. *Plant Cell* **7**, 173–182.

Pandey SP, Somssich IE (2009). The role of WRKY transcription factors in plant immunity. *Plant Physiol* **150**, 1648–1655.

Raffaele S, Rivas S, Roby D (2006). An essential role for salicylic acid in AtMYB30-mediated control of the hypersensitive cell death program in Arabidopsis. *FEBS Lett* **580**, 3498–3504.

Raventórs D, Jensen AB, Rask MB, Casacuberta JM, Mundy J, Segundo BS (1995). A 20 bp *cis*-acting element is both necessary and sufficient to mediate elicitor response of a maize *PRms* gene. *Plant J* **7**, 147–155.

Robatzek S, Somssich IE (2001). A new member of the Arabidopsis WRKY transcription factor family, AtWRKY6, is associated with both senescence- and defence-related processes. *Plant J* **28**, 123–133.

Römer P, Hahn S, Jordan T, Strauß T, Bonas U, Lahaye T (2007). Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper *Bs3* resistance gene. *Science* **318**, 645–648.

Römer P, Recht S, Lahaye T (2009). A single plant resistance gene promoter engineered to recognize multiple TAL effectors from disparate pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 20526–20531.

Rushton PJ, Macdonald H, Huttly AK, Lazarus CM, Hooley R (1995). Members of a new family of DNA-binding proteins bind to a conserved *cis*-element in the promoters of α-*Amy2* genes. *Plant Mol Biol* **29**, 691– 702.

Rushton PJ, Reinstädler A, Lipka V, Lippok B, Somssich IE (2002). Synthetic plant promoters containing defined regulatory elements provide novel insights into pathogen- and wound-induced signaling. *Plant Cell* **14**, 749–762.

Rushton PJ, Somssich IE (1998). Transcriptional control of plant genes responsive to pathogens. *Curr Opin Plant Biol* **1**, 311–315.

Rushton PJ, Torres JT, Parniske M, Wernert P, Hahibrock K, Somssich IE (1996). Interaction of elicitor induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley *PR1* genes. *EMBO J* **15**, 5690–5700.

Sander JD, Cade L, Khayter C, Reyon D, Peterson RT, Joung JK, Yeh JRJ (2011). Targeted gene disruption in somatic zebrafish cells using engineered TALENs. *Nat Biotechnol* **29**, 697−698.

Scholze H, Boch J (2010). TAL effector-DNA specificity. *Virulence* **1**, 428–432.

Scholze H, Boch J (2011). TAL effectors are remote controls for gene activation. *Curr Opin Microbiol* **14**, 47–53.

Stockinger EJ, Gilmour SJ, Thomashow MF (1997). *Arabidopsis thaliana CBF1* encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a *cis*-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**, 1035–1040.

Sugio A, Yang B, Zhu T, White FF (2007). Two type III effector genes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* control the induction of the host genes *OsTFIIAγ1* and *OsTFX1* during bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 10720–10725.

Sun CX, Palmqvist S, Olsson H, Borén M, Ahlandsberg S, Jansson C (2003). A novel WRKY transcription factor, SUSIBA2, participates in sugar signaling in barley by binding to the sugar-responsive elements of the *iso1* promoter. *Plant Cell* **15**, 2076–2092.

Tesson L, Usal C, Ménoret S, Leung E, Niles BJ, Remy S, Santiago Y, Vincent AI, Meng XD, Zhang L, Gregory PD, Anegon I, Cost GJ (2011). Knockout rats generated by embryo microinjection of TALENs. *Nat Biotechnol* **29**, 695–696.

Thompson MA, Ramsay RG (1995). Myb: an old oncoprotein with new roles. *Bioessays* **17**, 341–350.

Turck F, Zhou AF, Somssich IE (2004). Stimulus-dependent, promoter-specific binding of transcription factor WRKY1 to its native promoter and the defense-related gene *PcPR1-1* in parsley. *Plant Cell* **16**, 2573–2585.

Wang CL, Xu AB, Gao Y, Fan YL, Liang YT, Zheng CK,

Sun LQ, Wang WQ, Zhao KJ (2009). Generation and characterization of Tn5-tagged *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* mutants that overcome *Xa23*-mediated resistance to bacterial blight of rice. *Eur J Plant Pathol* **123**, 343–351.

Wang ZP, Yang PZ, Fan BF, Chen ZX (1998). An oligo selection procedure for identification of sequence-specific DNA-binding activities associated with the plant defence response. *Plant J* **16**, 515–522.

Wood AJ, Lo TW, Zeitler B, Pickle CS, Ralston EJ, Lee AH, Amora R, Miller JC, Leung E, Meng XD, Zhang L, Rebar EJ, Gregory PD, Urnov FD, Meyer BJ (2011). Targeted genome editing across species using ZFNs and TALENs. *Science* **333**, 307–307.

Yang B, Sugio A, White FF (2005). Avoidance of host recognition by alterations in the repetitive and C-terminal regions of AvrXa7, a type III effector of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol Plant Microbe Interact* **18**, 142–149.

Yang B, Sugio A, White FF (2006). *Os8N3* is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 10503–10508.

Yang Y, Shah J, Klessig DF (1997). Signal perception and transduction in plant defense responses. *Genes Dev* **11**, 1621–1639.

Yang YN, Klessig DF (1996). Isolation and characterization of a tobacco mosaic virus-inducible *myb* oncogene homolog from tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 14972–14977.

Yu D, Chen C, Chen Z (2001). Evidence for an important role of WRKY DNA binding proteins in the regulation of *NPR1* gene expression. *Plant Cell* **13**, 1527–1540.

Zhao KJ, Chye ML (1999). Methyl jasmonate induces expression of a novel *Brassica juncea* chitinase with two chitin-binding domains. *Plant Mol Biol* **40**, 1009–1018.

Zhou JM, Tang XY, Martin GB (1997). The Pto kinase conferring resistance to tomato bacterial speck disease interacts with proteins that bind a *cis*-element of pathogenesis-related genes. *EMBO J* **16**, 3207–3218.

Pathogen-responsive *Cis*-acting Elements and Their Interactive Transcription Factors

Xinli Zan[1, 2], Ying Gao[2, 3*], Yuling Chen[1], Kaijun Zhao[2, 3]

[1]College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China; [2]Key Laboratory of Crop Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture, Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China; [3]National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Beijing 100081, China

Abstract A gene's promoter is the 5' upstream region of the DNA sequence and it regulates the transcription of a gene. Pathogen-inducible promoters contain *cis*-acting elements responsive to pathogenic stresses. The *cis*-acting elements can enhance the transcription of a resistant gene to improve disease resistance in a plant by specifically interacting with transcription factors. This article reviews the pathogen-related *cis*-acting elements in pathogen-inducible promoters and the transcription factors that interact with these components. It elaborates the mechanism between the transcription activator-like effectors and the target gene promoters in plants. Possible applications and future prospects for these pathogen-responsive *cis*-acting elements are discussed.

Key words *cis*-acting elements, inducible promoter, pathogens, disease resistance, transcription factors

Zan XL, Gao Y, Chen YL, Zhao KJ (2013). Pathogen-responsive *cis*-acting elements and their interactive transcription factors. *Chin Bull Bot* **48**, 219–229.

---

* Author for correspondence. E-mail: gaoying@caas.net.cn

(责任编辑: 孙冬花)