

• 综 述 •

植物萜类物质生物合成的相关转录因子及其应用前景

赵恒伟, 葛 锋*, 孙 颖, 刘迪秋, 陈朝银

昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500

摘 要: 植物萜类化合物具有很高的经济价值和药用价值。近年来, 开始利用转录因子来提高萜类次生代谢物的产量。转录因子在萜类次生代谢生物合成中起着重要的作用, 通过与结构基因的结合, 转录因子可激活次生代谢合成途径中多个基因协同表达, 从而有效启动次生代谢途径; 转录因子还可激活不同植物中相似萜类次生代谢合成基因的表达, 将从特定植物中分离出来的转录因子基因在不同植物中进行遗传转化, 可以有效提高转基因植物中萜类物质的量。因此, 转录因子的应用是萜类次生代谢基因工程中的一个新方向, 已显示出广泛的应用前景。介绍了萜类次生代谢途径相关的重要转录因子: AP2/ERF、WRKY、bZCT、bHLH 及其在萜类生物合成遗传改良中的研究进展。

关键词: 萜类; 转录因子; AP2/ERF; WRKY; 次生代谢

中图分类号: R282.12

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)12-2512-08

Transcription factors involved in plant terpenoid biosynthesis and their application prospect

ZHAO Heng-wei, GE Feng, SUN Ying, LIU Di-qiu, CHEN Chao-yin

Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

Key words: terpenoids; transcription factor; AP2/ERF; WRKY; secondary metabolism

植物萜类化合物是以异戊二烯为结构单位的一类植物天然产物, 包括单萜如柠檬烯(limonene)、芳樟醇(linalool), 倍半萜如青蒿素(artemisinin)、橙花叔醇(nerolidol), 双萜如赤霉素(gibberellin)、叶绿醇(phytol)、紫杉醇(taxol)、三萜如植物甾醇(phytosterols), 四萜如类胡萝卜素(carotenoid)以及多萜如质体醌(plastoquinone)和多萜醇(polyprenol)。植物萜类包括初生代谢物和次生代谢物, 其中次生萜类表现出生物活性, 具有较高的药用价值, 如紫杉醇对多种癌症具有较强的疗效; 青蒿素是治疗疟疾的特效药; 柠檬烯是重要的防癌化合物; 三七总皂苷(total saponins of *Panax notoginseng*, PNS)是防治心脑血管疾病的首选药物。因此, 对植物萜类生物合成途径的认识以及调控研究成为近些年植物代谢工程领域研究的热点。

植物萜类结构复杂, 化学合成困难, 目前主要以原植物提取获得。随着萜类生物合成途径中有关结构基因不断被克隆, 使得以代谢工程原理为指导, 采用基因工程技术调控和改造萜类生物合成过程成为可能。随着后基因组工作的深入, 转录因子(transcription factor, TF)作为改造植物代谢途径的工具, 以其独有的“多点调控”优势, 弥补了代谢工程操作中单个关键酶基因作用不足和多个关键酶基因可能产生组成性致死表达的情况。从理论上说, 通过转录因子基因的表达调控可以激活特定代谢支路中多个基因的协同表达, 还可激活不同植物中相似次生代谢物合成基因的表达^[1], 这就意味着可将特定植物中分离的转录因子基因在不同的植物中进行转化, 有效地提高转基因植物中目标次生代谢物的合成量。本文综述近些年来与萜类化合物次生代谢相关的转录因子的研究进展。

收稿日期: 2012-07-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31260070, 31060044)

作者简介: 赵恒伟(1989—), 男, 在读硕士生。Tel: 18213541408 E-mail: zhaohengwei1989@163.com

*通讯作者 葛 锋 Tel: 15808853070 E-mail: gefeng79@yahoo.com.cn

1 植物萜类的生物合成途径

植物萜类的生物合成有 2 条途径, 即甲羟戊酸 (MVA) 途径和 2-C-甲基-D-赤藓糖醇-4-磷酸 (MEP) 途径^[2-3]。MVA 途径存在于细胞质中, 以糖酵解产物乙酰辅酶 A 作为原初供体; MEP 途径存在于质体中, 以丙酮酸和甘油醛-3-磷酸为原初供体。2 条途径都可生成萜类结构单位——异戊烯基焦磷酸 (IPP) 及其异构体二甲基烯丙基焦磷酸 (DMAPP) (图 1)。

2 参与萜类物质次生代谢合成的转录因子

转录因子也称反式作用因子, 是能够与真核基

因启动子区域中顺式作用元件发生特异性相互作用的 DNA 结合蛋白, 通过它们之间以及与其他相关蛋白之间的相互作用, 激活或抑制转录。目前发现的萜类转录因子主要集中在长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don.、拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. 等植物中, 包括 AP2 类、WRKY 类、锌指类、bZIP 类等 (表 1)。

2.1 AP2/ERF 类转录因子

AP2/ERF 转录因子家族, 也称 AP2/EREBP, 是植物特有的一类转录因子, 近年来已从拟南芥、烟草 *Nicotiana tabacum* L.、水稻 *Oryza sativa* L.、玉米

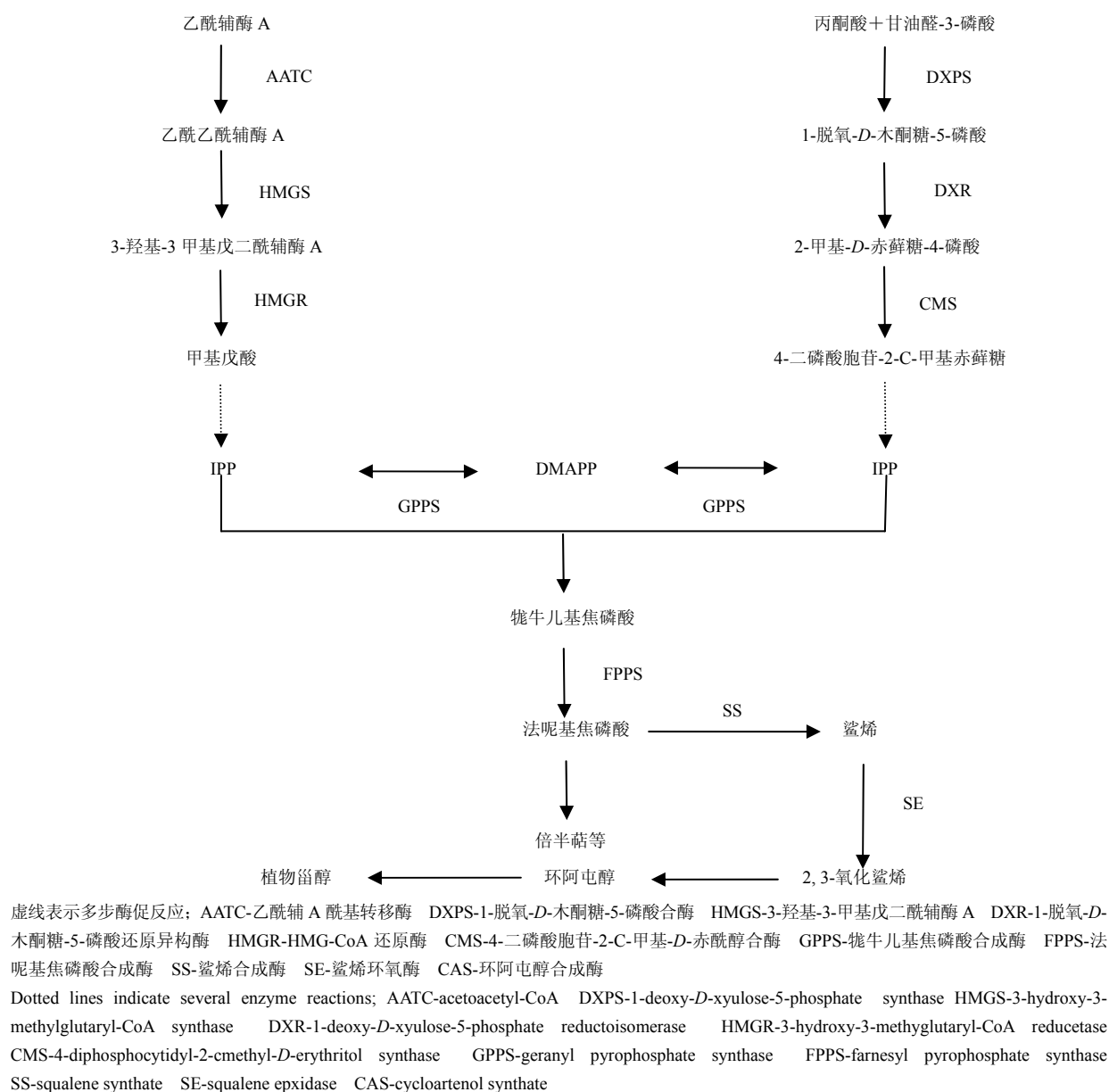


图 1 萜类物质的生物合成途径

Fig. 1 Biosynthesis pathway of terpenoids

表1 已克隆和鉴定的与植物萜类合成相关的转录因子基因

Table 1 Cloned and identified transcription factor genes involved in plant terpenoid synthesis

基因家族	转录因子基因	植物来源	分离或鉴定方法	参考文献
AP2/ERF 蛋白	ORCA1	长春花	酵母单杂交	4
	ORCA2	长春花	酵母单杂交	4
	ORCA3	长春花	T-DNA 激活标记	5
	TcAP2	红豆杉属	酵母单杂交	6
	TcDREB	红豆杉属	酵母单杂交	7
WRKY 蛋白	CrWRKYI	长春花	PCR	8
	GaWRKYI	树棉	PCR	9
	AaWRKYI	黄花蒿	PCR	10
bHLH 蛋白	CrMYC2	长春花	酵母单杂交	11
	CrMYC1	长春花	酵母单杂交	12
bZIP 蛋白	CrGBF1	长春花	酵母单杂交	13
	CrGBF2	长春花	酵母单杂交	13
锌指蛋白	ZCT1	长春花	酵母单杂交	14
	ZCT2	长春花	酵母单杂交	14
	ZCT3	长春花	酵母单杂交	14

Zea mays L.、番茄 *Solanum lycopersicum* L.、长春花等多种植物中分离获得。它们在植物的生长^[15-16]、发育、各种生物和非生物胁迫^[17-18]以及多种生理生化反应中发挥重要作用。AP2/ERF 家族成员在结构上含有一个或多个 AP2/ERF 结合域。每个 AP2/ERF 结合域有 2 个保守序列块 (block) ——YRG 元件和 RAYD 元件。RAYD 元件含由 18 个氨基酸残基组成的高度保守的核心序列, 该核心序列可能参与 AP2/ERF 转录因子与其他转录因子或 DNA 的相互作用^[19]。AP2/ERF 转录因子家族可以分为 3 个亚家族^[20]: 亚家族 I-无花瓣基因 2 (APETALA2), 含 2 个 AP2/ERF 结合域; 亚家族 II-乙烯应答元件结合蛋白 EREBP (ethylene-responsive element binding protein), 只含一个 AP2/ERF 结合域; 亚家族 III-RAV, 包括一个 AP2/ERF 和 B3 结构域^[21]。

目前, 已从长春花中克隆出 10 余种转录因子基因。研究表明, ORCA1、ORCA2、ORCA3 是控制萜类吲哚生物碱 (TIA) 合成相关基因表达的转录因子, 而 ORCA3 则是 AP2/ERF 中参与萜类生物合成的典型代表^[22]。ORCA3 属于 AP2/ERF 中只含 1 个 AP2 结合域的 AP2 结合蛋白亚族^[23]。ORCA3 与 TIA 的合成密切相关^[24-25], 其过量表达可以增加 TIA 的产量, 还可增强参与 TIA 合成的基因 TDC、STR、

SGD、CPR 和 D4H 的表达^[22]以及色氨酸和色胺的合成, 说明 ORCA3 能诱导吲哚前体的代谢合成^[26], 且是 TIA 合成途径中的一个中心调控子^[5,27], TIA 合成途径中的许多酶合成基因的调节都与其密切相关^[28]。但是 ORCA3 并不能调节整个合成过程^[4]。

STR 是 TIA 合成途径中的一个关键酶, 利用 STR 启动子区中的 JERE (茉莉酸诱导响应元件) 序列为诱饵通过酵母单杂交技术, 可分离出 2 个 AP2/ERF 类转录因子: ORCA1 和 ORCA2^[4]。茉莉酸甲酯 (MeJA) 能快速诱导 ORCA2 表达, 而且 JERE 和 ORCA2 结合能特异性激活 TIA 合成基因 STR 的表达^[4], 但是 ORCA1 对 STR 的表达影响很小^[29]。另外发现 ORCA2 基因在长春花叶片中过表达, 可使长春质碱和文朵灵碱的产量增加^[30]。

TcAP2^[6]和 TcDREB^[7]是从红豆杉属植物中发现的与异戊二烯代谢途径相关的 AP2 类转录因子。TcAP2 具有典型的 AP2/ERF 类转录因子结构特征, 属于 EREBP 亚族的分支 DREB 类转录因子。在紫杉醇生物合成中, TcAP2 可以调控 MeJA 响应基因的表达, 而 MeJA 可以诱导并增强关键酶基因的表达^[31-32]。RT-QPCR 试验表明 TcAP2 受 MeJA、水杨酸 (SA)、高盐和低温的诱导而不受脱落酸 (ABA) 诱导, 说明 TcAP2 是诱导型表达转录因子^[33]。

TcDREB 的保守域与长春花 ORCA 家族的高度同源,也属于 DREB 类转录因子^[23]。TcDREB 能与紫杉醇下游合成途径中 4 个关键酶基因 TS、5 α 、10 β 、13 α 的启动子和 TS 基因启动子上的 MeJA 响应元件 GCC-Box 结合,表明转录因子 TcDREB 可能与紫杉醇的合成调控有关,且受信号分子 MeJA 的影响^[7]。

2.2 WRKY 类转录因子

WRKY 是近年来新发现的植物特有锌指型转录调控因子。WRKY 类转录因子是植物中一大类转录调控家族,能够调控植物信号传导和生理生化过程^[34-36],如 ABA 的信号调控^[37-38],并且在植物抗病及免疫方面具有重要作用^[39]。WRKY 转录因子的典型特征是 DNA 结合域,以及不规则的锌指结构^[34,40],其 N-端含有由 WRKYGQK 组成的高度保守的 7 个氨基酸序列,其后连有锌指结构^[40-41]。WRKY 类转录因子各成员的 DNA 结合域中含有一个或多个 WRKY 结构域。根据转录因子所含 WRKY 结构域的个数和锌指结构的特征,可将 WRKY 转录因子分为三大类^[42]:第 1 类含有 2 个 WRKY 结构域,锌指结构为 C₂H₂ (C-X₄₋₅-C-X₂₂₋₂₃-H-X₁-H) 型,如 PcWRKY1、IbSPF1 等;第 2 类有 1 个 WRKY 结构域,锌指结构也为 C₂H₂ (C-X₄₋₅-C-X₂₂₋₂₃-H-X₁-H) 型,大部分研究过的 WRKY 转录因子都属于该类型,如 PcWRKY3、AfABF2 等;第 3 类也只含 1 个 WRKY 结构域,锌指结构是 C₂-HC (C-X₇-C-X₂₃-H-X₁-C) 型,如 PcWRKY5、NtWRKY4 等。WRKY 类转录因子另一主要特点是其 WRKY 结构域所对应的编码序列中都有一个高度保守的内含子,但其存在的意义还不清楚^[43]。

Xu 等^[9]从棉花 *Gossypium hirsutum* L. 中分离出转录因子 GaWRKY1,发现 GaWRKY1 通过调节棉花(+)- δ -杜松烯合酶-A (CAD1-A) 基因的活性从而参与棉花倍半萜烯生物合成的调控。CAD1 是一种倍半萜烯环化酶,可催化合成倍半萜植物抗毒素,是棉子酚合成过程中的关键基因^[44]。而 CAD1-A 是 CAD1 基因家族的一员,其启动子上含有能与 GaWRKY1 蛋白专一结合的 TTGAC 序列(又称 W-box)。与编码棉花倍半萜合成的酶类似,GaWRKY1 在棉子酚量低的棉花作物中进行下行调节,但 GaWRKY1 在各种器官组织中只是暂时性表达。在悬浮细胞中,一种真菌诱导子和 MeJA 可以强烈诱导 GaWRKY1 和 CAD1-A 基因的表达以及倍半萜烯醛类的合成。研究发现,在转基因植

物拟南芥中, GaWRKY1 的过量表达能高效激活 CAD1-A 启动子,在烟草叶片中 GaWRKY1 的活化作用需要 W-box 的参与。这些表明 GaWRKY1 参与棉花倍半萜合成的调控,且 CAD1-A 是该转录因子的靶基因^[9]。

青蒿素是目前治疗疟疾最有效的物质,可从青蒿素合成场所(glandular secretory trichomes, GSTs)分离出基因 AaWRKY1,其编码含有 311 个氨基酸和 1 个 WRKY 结构域的蛋白质;而 amorpha-4, 11-diene 合成酶(ADS)是青蒿素合成过程中的关键酶,其启动子区域中含有 2 个能与 WRKY 类转录因子结合的顺式作用元件 W-box。MeJA 和脱乙酰几丁质可以强烈诱导 AaWRKY1 和 ADS 基因在 GSTs 中的高效表达。研究表明,AaWRKY1 蛋白能与 ADS 启动子中的顺式作用元件 W-box 结合并激活 ADSpro2 启动子,如果破坏 W-box 则产生抑制作用。黄花蒿 *Artemisia annua* L. 叶片中 AaWRKY1 cDNA 的表达能明显激活大多数青蒿素合成基因的表达。这些结论有力的说明黄花蒿中 AaWRKY1 转录因子参与青蒿素合成的调控,并且 ADS 是 AaWRKY1 的靶基因^[10]。

从长春花中发现另外一种与萜类物质合成相关的转录因子是 CrWRKY1,同属于 WRKY 家族。植物激素茉莉酮酸(JA)和赤霉素以及乙烯可以诱导 CrWRKY1 并在根系中优先表达。研究发现 CrWRKY1 是 TIA 合成调控网络中的一员,可以对 TIA 合成途经中的几个关键酶和一些转录因子进行不同的调节,能与萜类合成中的 DXS 和 SLS 基因,吲哚合成中的 AS 和 TDC 基因,下游基因 STR、SGD 以及调控子 ORCA、CrMYC2、ZCT 相互作用^[8]。

2.3 bHLH 类转录因子

碱性螺旋-环-螺旋(basic Helix-Loop-Helix, bHLH)类转录因子是真核生物蛋白质中的一大家族,在生物的生长发育调控过程中起着极为重要的作用^[45-47]。已知的 bHLH 基因序列主要来源于拟南芥和水稻。

以 STR 启动子上的 G-box 作为诱导,可以从长春花 cDNA 文库中分离出一个由 cDNA 编码的 bHLH 类转录因子 CrMYC1,在酵母细胞中发现该基因相应的蛋白能特异性地与 G-box 结合。在长春花悬浮培养细胞中,真菌诱导子和 JA 可以诱导 CrMYC1 mRNA 的表达,且 JA 与上述转录因子家族中的转录因子的表达有密切关系。说明 CrMYC1

可能参与和这些信号应答有关的基因表达调控^[48]。

通过酵母单杂交技术分离出的 bHLH 类转录因子 CrMYC2^[12]，是 MeJA 应答体系中 ORCA3 表达的主要激活剂，但 CrMYC2 与其他的 CrMYCs 之间无协同作用，且不激活 STR 启动子。研究发现 MeJA 应答中 ORCA 基因的表达需要 CrMYC2 的参与，CrMYC2 的过量表达可以诱导 ORCA 基因的表达，但 CrMYC2 不是唯一的参与 JA 调控的转录因子，还有许多其他转录因子也参与到其中，如 ERF1、WRKYs 和 MYBs 等^[49-50]。体外实验中，CrMYC2 与 ORCA3 JERE 中的定性序列结合，通过此序列再激活报告基因的表达。RNA 干涉 (RNAi) 能导致 CrMYC2 表达量的减少和 MeJA 应答中 ORCA3 mRNA 量的剧烈降低，以及与 MeJA 响应有关的 ORCA2 表达量减少。研究表明，CrMYC2 与 ORCA3 启动子上的 G-box 类定性序列结合激活基因的表达^[11]。MeJA 应答中，CrMYC2 的下行调节对生物碱合成相关基因 TDC 和 STR 的表达没有影响，但对生物碱的积累有强烈的作用，这表明一个或多个下游的合成基因或者是别的未知的直接或间接的转录因子被 CrMYC2 控制。CrMYC2 在调控系统中占据非常重要的位置，既控制 ORCA2 和 ORCA3 基因的表达，同时也可能控制生物碱合成中别的编码转录因子基因的表达^[11]。

2.4 bZIP 类转录因子

碱性亮氨酸拉链 (basic leucine zipper motif, bZIP) 类转录因子是转录因子中较大的家族^[51]，所有的真核生物中都存在含 bZIP 结构域的蛋白质。bZIP 转录因子与植物抵抗各种非生物胁迫以及植物发育与生理代谢过程密切相关^[52]。Siberil 等^[13]用 STR 基因启动子中的 G-box 作为诱导，从长春花 cDNA 文库中分离鉴定出 bZIP 家族的 CrGBF (*Catharanthus roseus* G-box binding factor) 类转录因子：CrGBF1 和 CrGBF2，过渡相实验表明 CrGBF1 和 CrGBF2 能抑制 STR 基因的表达^[53]。研究还表明转录因子 CrGBF 能与 TDC 启动子中的 G-box 结合^[35]，但 CrGBF1 与 STR 基因启动子上 G-box 结合的能力较强，与 TDC 基因启动子 G-box 结合较弱。这表明 CrGBFs 能调控一些 TIA 合成途径中的相关基因。

2.5 锌指类转录因子

锌指类转录因子在高等生物中广泛存在并且含有特殊的 DNA 结合序列^[53]。2004 年，Pauw 等^[14]发现一个锌指蛋白家族 ZCT (zinc finger

Catharanthus transcription factor): ZCT1、ZCT2、ZCT3。ZCT 类蛋白具有 2 个锌指结构^[14]，同属于 TFIIIA (transcription factor IIIA) 类锌指蛋白 EPF 亚族。该亚族锌指结构含有能与 DNA 结合的必要保守序列 QALGGH，ZCT 重组蛋白以锌指结构与 TDC 和 STR 启动子结合抑制其活性，并且这 3 种 ZCT 蛋白都含有 LxLxL 结构，这可能是 ZCT 蛋白具有抑制作用的原因；还有一些研究认为 ZCT 蛋白通过阻止某个转录控制激活剂和启动子之间的联系，或抑制转录控制激活剂 DNA 上启动子的功能来负调控 TDC 和 STR 启动子的活性。正常条件下，MeJA 和酵母诱导子可以诱导增加 ZCT mRNA 的量，而 ZCT 蛋白可以抑制未结合的 ORCAs 活性，并参与 TDC 和 STR 的表达调控。研究表明，ZCT 蛋白可能通过对别的转录因子的抑制作用，或诱导与 TDC 和 STR 启动子有关的钝性染色质结构的形成来参与 TIA 合成的调控。

2.6 其他转录因子

CrBPF1 是一个 P-box 结合因子，参与 TIA 合成途径的调控^[5]。2007 年，Vom Endt 等^[54]发现在 JA 的诱导下，AT-Hook 的家族成员参与 ORCA3 的表达调控，这与萜类物质的合成有密切关系。但是这些调控机制还需要进一步探讨，还有一些未被发现或未分离的转录因子也需要进一步研究。

3 转录因子在萜类次级代谢物合成方面的应用前景

目前了解到与萜类次级代谢物生物合成相关的 AP2/ERF 和 WRKY 等转录因子家族在其合成调控中有关键作用。通过代谢工程来生产具有实际应用价值的萜类化合物，这是一种非常有效的手段和方法。由于代谢途径通常有多个限速酶，而且限速步骤很难确定，因此通过调节转录因子的表达量从整体角度调控代谢途径进而提高目的代谢物的产量具有诱人的前景。如在番茄果实中特异表达玉米花青素 (anthocyanidin) 合成途径相关转录因子，可使果实中类黄酮的量增加^[55]。虽然目前已经发现多个参与次生代谢的转录因子，但是其中多数和花青素代谢途径相关。萜类代谢途径相关酶基因的表达在转录水平上常常呈正相关，如 AP2/ERF 中的 ORCA2、ORCA3 的过量表达可以增加 TIA 的产量。

从转录因子角度进行代谢工程还有另外一种策略，即调节控制腺毛发育的转录因子。由于中药中的萜类多为挥发性物质，其产生与分泌和腺毛的分布、类型及结构等有直接关系。许多萜类物质如薄

荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 中的精油(essential oil)、青蒿中的青蒿素等均储存在腺毛中,腺毛的分布密度越大、处于分泌时期的数量越多,其分泌能力就越强。而腺毛的发育受转录因子调控,在拟南芥中,GL1、TTG1 和 GL3 是腺毛正常形成过程中起重要作用的 3 个转录因子。其中, GL1 在幼叶原基中广泛表达,随着叶片的生长, GL1 可在发育的腺毛中短暂性特异表达^[56-57]。GL3 是 bHLH 家族的转录因子,对其进行过量表达可使腺毛数目增加。此外, TRY 可对 GL3 的活性进行负调控。通过调节以上几个转录因子的水平可以增加腺毛的密度,进而增加腺毛中萜类物质的产量,从而大幅度提高中药中有效成分的量^[58]。

4 结语与展望

转录因子对合成基因的转录激活是植物次生代谢最为重要的调节环节之一。转录因子通过激活植物次生代谢物合成途径中多个合成基因的表达,可有效地启动或关闭次生代谢合成途径,从而调节特定次生代谢物的合成。随着植物次生代谢调控机制的阐明,特别是随着调节特定次生代谢物合成的转录因子的分离和鉴定,转录因子基因工程将为人类开发利用植物次生代谢物这一巨大的宝库提供有效的手段。而大部分萜类次生代谢物都具有良好的药用价值,如紫杉醇、三七皂苷等。因此,在中药次生代谢调控研究中,采用基因工程的方法调控转录因子,具有巨大的潜在价值和广阔的应用前景。

目前,已有大量与苯丙氨酸代谢途径和生物碱代谢途径有关的转录因子被报道。但与萜类物质合成相关的转录因子报道还不多,而且有关转录因子调控机制的研究还不透彻,大部分的转录因子还处于认识和探索阶段,离应用开发还有一定距离。同时,萜类物质生物合成过程的调控比较复杂,其合成还与环境刺激因子如光、温度和营养供给有关;此外也受内部因子的作用,如生长调节因子、代谢物以及组织特殊发育阶段的影响。不同的调控因子控制了生物合成途径的不同部分,不同的调控因子之间也存在着相互作用,而这些调控机制仍需要进一步研究。总之,研究萜类次级代谢物的生物合成及其基因调控模式,将有利于更好地采用基因工程手段改良植物萜类次生代谢途径。

参考文献

[1] Aharoni A, Galili G. Metabolic engineering of the plant

primary-secondary metabolism interface [J]. *Curr Opin Biotech*, 2011, 22(2): 239-244.

[2] 赵云生, 万德光, 陈 新, 等. 五环三萜皂苷生物合成与调控的研究进展 [J]. *中草药*, 2009, 40(2): 327-330.

[3] Laule O, Fürholz A, Chang H S, *et al.* Crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *PNAS*, 2003, 100(11): 6866-6871.

[4] Menke F L H, Champion A, Kijne J W, *et al.* 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 [J]. *EMBO J*, 1999, 18(16): 4455-4463.

[5] Memelink J, Gantet P. Transcription factors involved in terpenoid indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* [J]. *Phytochemistry*, 2007, 6(2/3): 353-362.

[6] Dai Y L, Qin Q L, Dai D L, *et al.* Isolation and characterization of a novel cDNA encoding methyl jasmonate-responsive transcription factor TcAP2 from *Taxus cuspidata* [J]. *Biotechnol Lett*, 2009, 31(11): 1801-1809.

[7] 戴怡龄, 唐克轩, 杨金水, 等. 红豆杉中与异戊二烯代谢途径相关的 AP2 类转录调控因子的克隆与功能研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2008.

[8] Suttipanta N, Pattanaik S, Kulshrestha M, *et al.* The transcription factor CrWRKY1 positively regulates the terpenoid indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* [J]. *Plant Physiol*, 2011, 157(4): 2081-2093.

[9] 田 云, 卢向阳, 彭丽莎, 等. 植物 WRKY 转录因子结构特点及其生物学功能 [J]. *遗传*, 2006, 28(12): 1607-1612.

[10] Cai Y F, Chen M, Sun Q. Profiling gene expression during gland morphogenesis of a glanded and a glandless upland cotton [J]. *J Plant Biol*, 2009, 52(6): 609-615.

[11] Zhang H T, Hedhili S, Montiel G, *et al.* The basic helix-loop-helix transcription factor CrMYC2 controls the jasmonate-responsive expression of the ORCA genes that regulate alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* [J]. *Plant J*, 2011, 67(1): 61-71.

[12] Chatel G, Montiel G, Pré M, *et al.* CrMYC1, a *Catharanthus roseus* elicitor- and jasmonate-responsive bHLH transcription factor that binds the G-box element of the strictosidine synthase gene promoter [J]. *J Exp Bot*, 2003, 54(392): 2587-2588.

[13] Sibérl Y, Benhamron S, Memelink J, *et al.* *Catharanthus roseus* G-box binding factors 1 and 2 act as repressors of strictosidine synthase gene expression in cell cultures [J].

- Plant Mol Biol*, 2001, 45(4): 477-488.
- [14] Pauw B, Hilliou F A O, Martin V S, *et al.* Zinc finger proteins act as transcriptional repressors of alkaloid biosynthesis genes in *Catharanthus roseus* [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(51): 52940-52948.
- [15] Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, *et al.* The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in *Arabidopsis* [J]. *Curr Biol*, 2011, 21(6): 508-514.
- [16] Qi W W, Sun F, Wang Q J, *et al.* Rice ethylene-response AP2/ERF factor OsEATB restricts internode elongation by down-regulating a gibberellin biosynthetic gene [J]. *Plant Physiol*, 2011, 157(1): 216-228.
- [17] Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1819(2): 86-96.
- [18] Yang C Y, Hsu F C, Li J P, *et al.* The AP2/ERF transcription factor AtERF73/HRE1 modulates ethylene responses during hypoxia in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2011, 156(1): 202-212.
- [19] Okamuro J K, Caster B, Villarreal R, *et al.* The AP2 domain of APETALA2 defines a large new family of DNA binding protein in *Arabidopsis* [J]. *PNAS*, 1997, 94(6): 7076-7081.
- [20] Riechmann J L, Heard J, Martin G, *et al.* *Arabidopsis* transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes [J]. *Science*, 2000, 290(5499): 2105-2110.
- [21] Licausi F, Giorgi F M, Zenoni S, *et al.* Genomic and transcriptomic analysis of the AP2/ERF superfamily in *Vitis vinifera* [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11(719): 1-15.
- [22] Boer K D, Tilleman S, Pauwels L, *et al.* APETALA2/ETHYLENE response factor and basic helix-loop-helix tobacco transcription factors cooperatively mediate jasmonate-elicited nicotine biosynthesis [J]. *Plant J*, 2011, 66(6): 1053-1065.
- [23] Fujimoto S Y, Ohta M, Usui A, *et al.* *Arabidopsis* ethylene-responsive element binding factors act as transcriptional activators or repressors of GCC box-mediated gene expression [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(3): 393-404.
- [24] Wang C T, Liu H, Gao X S, *et al.* Overexpression of G10H and ORCA3 in the hairy roots of *Catharanthus roseus* improves catharanthine production [J]. *Plant Cell Rep*, 2010, 29(8): 887-894.
- [25] Montiel G, Zarei A, Körbes A P, *et al.* The jasmonate-responsive element from the ORCA3 promoter from *Catharanthus roseus* is active in *Arabidopsis* and is controlled by the transcription factor AtMYC2 [J]. *Plant Cell Physiol*, 2011, 52(3): 578-587.
- [26] van der Fits L, Memelink J. The jasmonate-inducible AP2/ERF-domain transcription factor ORCA3 activates gene expression via interaction with a jasmonate-responsive promoter element [J]. *Plant J*, 2001, 25(1): 43-53.
- [27] van der Fits L, Memelink J. ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism [J]. *Science*, 2000, 289(5477): 295-297.
- [28] Peebles C A M, Hughes E H, Shanks J V, *et al.* Transcriptional response of the terpenoid indole alkaloid pathway to the overexpression of ORCA3 along with jasmonic acid elicitation of *Catharanthus roseus* hairy roots over time [J]. *Metab Eng*, 2009, 11(2): 76-86.
- [29] Tang K X, Liu D H, Wang Y L, *et al.* Overexpression of transcriptional factor ORCA3 increases the accumulation of catharanthine and vindoline in *Catharanthus roseus* hairy roots [J]. *Russ J Plant Physiol*, 2011, 58(3): 415-422.
- [30] Liu D H, Ren W W, Cui L J, *et al.* Enhanced accumulation of catharanthine and vindoline in *Catharanthus roseus* hairy roots by overexpression of transcriptional factor ORCA2 [J]. *Afr J Biotechnol*, 2011, 10(17): 3260-3268.
- [31] Wilker K, Croteau R. Taxol biosynthesis: molecular cloning of a benzoyl-CoA: taxane 2a-O-benzoyl-transferase cDNA from *Taxus* and functional expression in *Escherichia coli* [J]. *PNAS*, 2000, 97: 13591-13596.
- [32] Wilker K, Fujisaki S, Long R, *et al.* Molecular cloning and heterologous expression of the C-13 phenylpropanoid side chain-CoA acyltransferase that functions in taxol biosynthesis [J]. *PNAS*, 2002, 99(20): 12715-12720.
- [33] Dubouzet J G, Sakuma Y, Ito Y, *et al.* OsDREB genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression [J]. *Plant J*, 2003, 33(4): 751-763.
- [34] Rushton P J, Somssich I E, Ringler P, *et al.* WRKY transcription factors [J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15(5): 1360-1385.
- [35] Tripathi P, Rabara R C, Langum T J, *et al.* The WRKY transcription factor family in brachypodium distachyon [J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(270): 1-35.
- [36] van Verk M C, Bol J F, Linthorst H J M. WRKY transcription factors involved in activation of SA biosynthesis genes [J]. *BMC Plant Biol*, 2011, 11(89): 1-12.
- [37] Shang Y, Yan L, Liu Z Q, *et al.* The Mg-chelatase H

- subunit of *Arabidopsis* antagonizes a group of WRKY transcription repressors to relieve ABA-responsive genes of inhibition [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(6): 1909-1935.
- [38] Rushton D L, Tripathi P, Rabara R C, *et al.* WRKY transcription factors: key components in abscisic acid signaling [J]. *Plant Biotech*, 2012, 10(1): 2-11.
- [39] Pandey S P, Somssich I E. The role of WRKY transcription factors in plant immunity [J]. *Plant Physiol*, 2009, 150(4): 1648-1655.
- [40] Cheng Y, Zhou Y, Yang Y, *et al.* Structural and functional analysis of VQ motif-containing proteins in *Arabidopsis* as interacting proteins of WRKY transcription factors [J]. *Plant Physiol*, 2012, 159(2): 810-825.
- [41] Berri S, Abbruscato P, Faivre-Rampant O. Characterization of WRKY co-regulatory networks in rice and *Arabidopsis* [J]. *BMC Plant Biol*, 2009, 9(120): 1-22.
- [42] Eulgem T, Rushton P J, Robatzek S, *et al.* The WRKY superfamily of plant transcription factors [J]. *Trends Plant Sci*, 2000, 5(5): 199-206.
- [43] Xu Y H, Wang J W, Wang S, *et al.* Characterization of GaWRKY1, a cotton transcription factor that regulates the sesquiterpene synthase gene (+)- δ -cadinene synthase-A [J]. *Plant Physiol*, 2004, 135(1): 507-515.
- [44] Ma D M, Pu G B, Lei C Y, *et al.* Isolation and characterization of AaWRKY1, an *Artemisia annua* transcription factor that regulates the amorpha-4, 11-diene synthase gene, a key gene of artemisinin biosynthesis [J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50(12): 2146-2161.
- [45] 王 勇, 陈克平, 姚 勤. bHLH 转录因子家族研究进展 [J]. 遗传, 2008, 30(7): 821-830.
- [46] Koini M A, Alvey L, Allen T, *et al.* High temperature-mediated adaptations in plant architecture require the bHLH transcription factor PIF4 [J]. *Curr Biol*, 2009, 19(5): 408-413.
- [47] Castillon A, Shen H, Huq E. Phytochrome interacting factors: central players in phytochrome-mediated light signaling networks [J]. *Trends Plant Sci*, 2007, 12(11): 514-521.
- [48] Pré M, Sibéril Y, Memelink J, *et al.* Isolation by the yeast one-hybrid system of cDNAs encoding transcription factors that bind to the G-box element of the strictosidine synthase gene promoter from *Catharanthus roseus* [J]. *Int J Bio-Chromatogr*, 2000, 5: 229-244.
- [49] Fonseca S, Chico J M, Solano R. The jasmonate pathway: the ligand, the receptor and the core signaling module [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12(5): 539-547.
- [50] Fernández-Calvo P, Chini A, Fernández-Barberoa G, *et al.* The *Arabidopsis* bHLH transcription factors MYC3 and MYC4 are targets of JAZ repressors and act additively with MYC2 in the activation of jasmonate responses [J]. *Plant Cell*, 2011, 23(2): 701-715.
- [51] Landschulz W H, Johnson P F, McKnight S L. The leucine zipper: a hypothetical structure common to a new class of DNA binding proteins [J]. *Science*, 1988, 240(4860): 1759-1764.
- [52] Schütze K, Harter K, Chaban C. Post-translational regulation of plant bZIP factors [J]. *Trends Plant Sci*, 2008, 13(5): 247-255.
- [53] Burdach J, O'Connell M R, Mackay J P, *et al.* Two-timing zinc finger transcription factors liaising with RNA [J]. *Trends Biochem Sci*, 2012, 37(5): 199-205.
- [54] Vom Endt D, Soares S M, Kijne J W, *et al.* Identification of a bipartite jasmonate-responsive promoter element in the *Catharanthus roseus* ORCA3 transcription factor gene that interacts specifically with AT-Hook DNA-binding proteins [J]. *Plant Physiol*, 2007, 144(3): 1680-1689.
- [55] Bovy A, De Vos R, Kemper M, *et al.* High-flavonol tomatoes resulting from the heterologous expression of the maize transcription factor genes LC and C1 [J]. *Plant Cell*, 2002, 14(10): 2509-2526.
- [56] Larkin J C, Oppenheimer D G, Lloyd A M, *et al.* Roles of the glabrous1 and transparent testa glabra genes in *Arabidopsis* trichome development [J]. *Plant Cell*, 1994, 6(8): 1065-1076.
- [57] Payne C T, Zhang F, Lloyd A M. GL3 encodes a bHLH protein that regulates trichome development in *Arabidopsis* through interaction with GL1 and TTG1 [J]. *Genetics*, 2000, 156(3): 1349-1362.
- [58] 陆 续, 王玥月, 张芳源, 等. 转录调控因子在中药次生代谢调控中的研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 159-162.