

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00993

# NAC 转录因子在植物抗病和抗非生物胁迫反应中的作用

孙利军, 李大勇, 张慧娟, 宋凤鸣

浙江大学生物技术研究水稻生物学国家重点实验室, 杭州 310029

**摘要:** NAC 转录因子是植物特有的一类转录因子, 其共同特点是在 N 端含有一段高度保守、由约 150 个氨基酸组成的 NAC 结构域, 而 C 端为高度变异的转录调控区。研究表明, NAC 转录因子不仅参与植物生长发育的调控, 而且在植物抗逆反应中具有重要的调控作用。文章着重介绍 NAC 转录因子在植物抗逆反应中的作用及其调控机制, 并简要讨论 NAC 转录因子生物学功能的研究方向。

**关键词:** NAC 转录因子; 生物和非生物胁迫; 调控机制

## Functions of NAC transcription factors in biotic and abiotic stress responses in plants

SUN Li-Jun, LI Da-Yong, ZHANG Hui-Juan, SONG Feng-Ming

State Key Laboratory for Rice Biology, Institute of Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

**Abstract:** NAC transcription factors belong to a unique class of transcription factors in plants. The common characteristics of the NAC proteins are the presence of a conserved NAC domain, comprising of about 150 amino acids in N-terminals and a highly variable transcriptional regulation region in C-terminals. Extensive studies have revealed that NAC transcription factors not only play important roles in plant growth and development, but also have functions in regulation of responses to biotic and abiotic stresses. In this minireview, we summarized the functions and mechanisms of the NAC transcriptional factors in plant abiotic and biotic stress responses. We also discussed future directions towards understanding the biological functions of the members of the NAC transcriptional factors in plants.

**Keywords:** NAC transcription factor; biotic and abiotic stresses; regulation mechanism

植物在生长发育过程中, 经常会受到干旱、高盐、低温、病原菌等各种非生物和生物胁迫的影响。这些胁迫通常会造成植物细胞的损伤, 进而严重影

响植物的生长发育和作物产量。在长期的进化过程中, 植物形成了一系列生理、生化、代谢及防御机制, 以适应和抵御各种生物和非生物逆境。在众多

收稿日期: 2012-01-19; 修回日期: 2012-03-21

基金项目: 国家转基因重大专项(编号: 2009ZX08001-017B)和国家自然科学基金项目(编号: 30971880)资助

作者简介: 孙利军, 博士研究生, 专业方向: 分子植物病理学。E-mail: slj.1226@163.com

通讯作者: 宋凤鸣, 博士, 教授, 研究方向: 植物抗病性分子生物学、植物与病原菌互作机理。E-mail: fmsong@zju.edu.cn

网络出版时间: 2012-6-28 10:36

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120628.1036.002.html>

的适应和抗逆机制中, 基因表达的转录调控在植物适应环境和抵御逆境胁迫中起重要作用。转录因子(Transcription factor)是一类调节基因表达水平上的重要调控基因, 通过与靶标基因启动子中特定的DNA序列结合, 激活或抑制靶标基因的转录表达。在植物基因组中存在大量编码不同类别转录因子的基因, 如拟南芥基因组中有 1 500 个以上基因编码转录因子。研究表明, AP2/ERF、bZIP、WRKY、MYB等类型转录因子参与植物逆境胁迫反应的调控<sup>[1]</sup>。NAC转录因子家族, 是近 10 年新发现的最大的一类植物特有的转录因子<sup>[2]</sup>。研究显示, NAC转录因子在植物生长发育中具有重要的调控作用<sup>[2]</sup>, 而且也参与植物对干旱、高盐、低温等非生物和病原菌侵染等生物胁迫的抗逆反应。本文重点介绍NAC转录因子在植物抗逆反应中的作用及其调控机制。

## 1 NAC 转录因子的特征

### 1.1 结构特征

最早在矮牵牛(*Pharbitis nil*)NAM、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)ATAF1/2 和 CUC2 基因编码蛋白的N端中发现一段高度保守的氨基酸序列, 并命名为NAC结构域<sup>[3]</sup>, 并将包含NAC结构域的蛋白称为NAC转录因子。NAC结构域一般由约 150 个氨基酸组成<sup>[4,5]</sup>, 可分为A、B、C、D、E等 5 个亚结构域, 而最初鉴定的NAM结构域则由A、B、C、D亚结构域组成, 其中A、C、D 3 个亚结构域在不同的物种中都是高度保守的, C、D亚结构域中含有核定位信号, 而B、E亚结构域的保守性不强<sup>[4,5]</sup>。通过采用X-射线结晶方法测定了拟南芥ANAC019 的NAC结构域, 发现NAC结构域不同于经典的螺旋-转角-螺旋的结构特征, 是一个对称的同型二聚体, 每个单体由多个螺旋环绕一个反向平行的 $\beta$ -折叠构成, 两单体通过精氨酸和谷氨酸间的氢键或盐桥形成二聚体, 在二聚体表面的一侧富含正电荷, 可能与DNA结合有关<sup>[2,6,7]</sup>。NAC转录因子的C端是转录调控区, 可能具有转录激活或转录抑制活性, 该区域的氨基酸序列具有高度的多样性。尽管NAC转录因子C端转录调控区具有高度多样性, 但仍然存在 13 个相对比较保守的基序, 这些基序分布于不同的NAC亚组中, 且在同一亚组的蛋白含有相同的基序, 如在C端转录

调控区, 丝氨酸、苏氨酸、脯氨酸、谷氨酸等简单氨基酸重复出现的频率较高<sup>[2]</sup>。因此, 同一亚组的NAC转录因子在结构上更加接近, 而且也可能行使相似的生物学功能<sup>[5]</sup>。

### 1.2 家族特征

NAC转录因子是植物中最大的一类转录因子, 生物信息学分析表明: 水稻(*Oryza sativa*)基因组中有 151 个成员、拟南芥有 117 个<sup>[8]</sup>、烟草(*Nicotiana tabacum*)和大豆(*Glycine max*)中各有 152 个成员<sup>[9,10]</sup>。Ooka等<sup>[5]</sup>分析了 28 469 条水稻和 28 581 条拟南芥cDNA序列, 分别鉴定出 75 个水稻和 105 个拟南芥的NAC转录因子, 并根据NAC结构域的氨基酸序列特征分成 2 个组(组I和组II), 其中组I又分为 14 个亚组, 组 II 分成 4 个亚组。Fang等<sup>[11]</sup>采用系统序列分析方法研究了水稻 140 个OsNAC或类似OsNAC转录因子基因, 并将水稻NAC转录因子家族分为 5 类(I-V), 其中I类包括 54 个OsNAC基因, 分为 5 个亚类, 已报道的与发育相关的OsNAC转录因子归属于I-2、I-3、I-4 亚类; II类也包括 54 个OsNAC基因成员, 其进化树要比I类复杂的多, 且多数基因的功能还没有报道; III类包括 14 个OsNAC基因, 已报道的与胁迫相关的NAC转录因子归属于第III类, 如SNAC1、OsNAC6 等; IV类包含 14 个OsNAC基因, V类包含 2 个基因。最近, Nuruzzaman等<sup>[8]</sup>分析了MSU、NCBI、DRTF和KOME等 4 个公共数据库中有关OsNAC基因的序列, 鉴定了 151 个水稻OsNAC基因, 并进行了进化关系分析, 将水稻OsNAC基因分为A和B两个组, 其中A组包括 7 个亚组 65 个OsNAC基因; B组包括 9 个亚组 86 个OsNAC基因, 与拟南芥的NAC基因具有较高的同源性。另外, Rush-ton等<sup>[9]</sup>分析了烟草、拟南芥、水稻、白杨树、茄科植物中的 450 个NAC基因的进化关系, 并将NAC基因家族分成 7 个亚族, 其中 6 个亚族为各科植物所共有, 而另一个亚族只包括烟草、辣椒、马铃薯、蕃茄茄科类植物的NAC基因, 为茄科所特有, 故将其命名为TNACS。随着其他植物基因组测序以及不同植物中NAC基因序列的深入分析, 可能会揭示NAC转录因子家族更复杂的进化关系, 有助于认识NAC转录因子家族在不同植物中的进化关系, 当然, 由于采用不同的算法和软件, 会使NAC基因在进化关

系上存在一些差异。另外, NAC转录因子家族的分类或分组与其生物学功能存在一定的关联, 如在Fang等<sup>[11]</sup>的水稻NAC转录因子家族分类中, 已报道的与发育相关的NAC转录因子归属于I-2、I-3、I-4亚类, 而已报道的与胁迫相关的NAC转录因子归属于第III类。

## 2 NAC 转录因子在植物抗非生物逆境胁迫中的作用

干旱、高盐是影响植物生长发育的主要逆境因子。当植物处于干旱、高盐的胁迫下, 植物细胞会感知外界的胁迫信号, 通过一系列复杂的信号传导途径如ABA信号途径, 把信号传递到胁迫应答的转录因子, 由各类转录因子启动胁迫应答反应基因表达, 从而激活植物抗逆反应, 降低或消除干旱、高盐逆境所造成的伤害。研究发现, NAC转录因子直接参与或通过调控参与干旱、高盐应答基因的表达, 在植物抗干旱、高盐等非生物逆境胁迫中起重要作用。

### 2.1 NAC 基因表达对非生物逆境的响应

NAC基因家族中的很多成员在植物对非生物逆境胁迫反应中存在差别表达特征, 这种在非生物逆境胁迫反应中的差别表达可能反映了NAC基因在植物抗非生物胁迫中具有一定的生物学功能。研究显示, 干旱、高盐等逆境胁迫或脱落酸(Abscissic acid, ABA)能诱导水稻*SNAC1*、*OsNAC6/SNAC2*、*OsNAC5*、*OsNAC10*、*ONAC045*、拟南芥*ATAF1*、*ANAC019*、*ANAC055*和*ANAC072/RD26*等NAC转录因子基因的表达, 而且功能研究也证明这些NAC基因在抗旱、抗盐反应中具有作用<sup>[12~20]</sup>。据此, 我们利用水稻基因芯片数据库(<http://www.ricearray.org>)中的表达谱数据(GSE6901)<sup>[21]</sup>, 分析了水稻*OsNAC*家族基因在高盐、干旱、低温胁迫后的表达水平, 发现45个盐胁迫响应*OsNAC*基因(33个上调表达, 表达水平比对照增加2倍; 12个下调表达, 表达水平比对照下降0.5倍)、50个干旱胁迫响应*OsNAC*基因(35个上调表达、15个下调表达)、44个低温胁迫响应*OsNAC*基因(31个上调表达、13个下调表达)(结果待发表)。Jiang等<sup>[22]</sup>分析了拟南芥NAC基因家族对盐胁迫的反应, 从盐胁迫处理后拟南芥植株根部组织中发现33个NAC基因的表达发生改变, 其中26

个上调表达, 7个下调表达。在152个鉴定的大豆*GmNAC*转录因子中, 25个基因在干旱胁迫处理中上调表达, 6个基因下调表达<sup>[10]</sup>, Tang等<sup>[23]</sup>从小麦(*Triticum aestivum*)中分离鉴定了6个*TaNAC*基因(*TaNAC2a*、*TaNAC4a*、*TaNAC6*、*TaNAC7*、*TaNAC13*、*TaNTL5*), 这些基因不同程度的被一种或多种胁迫因子(干旱、高盐、低温)所诱导表达。*TaNAC2*和*TaNAC2a*高度同源, 也能被干旱、高盐、低温、ABA所诱导<sup>[24]</sup>。Tran等<sup>[25]</sup>从大豆中鉴定了31个*GmNAC*基因, 其中9个*GmNAC*基因可被干旱胁迫所诱导。这些结果表明, 来自不同植物的NAC转录因子可能参与非生物胁迫的响应。

### 2.2 NAC 转录因子在干旱和高盐逆境胁迫反应中的作用

利用过量表达、T-DNA插入突变(或RNAi)等技术研究NAC基因在非生物逆境胁迫反应中的功能, 发现一些NAC基因正向或负向调控植物对干旱、高盐胁迫的耐受能力。研究发现, 拟南芥和水稻NAC转录因子家族中多个成员参与抗旱、抗盐胁迫反应(图1)。在水稻中, 至少5个NAC基因正向调控抗旱、抗盐胁迫反应, 并受ABA的调控。过量表达*SNAC1*基因后, 可以促进转基因水稻叶片气孔关闭, 减少水分丧失速率, 增强抗旱能力, 结实率提高22%~34%, 而且过量表达*SNAC1*转基因水稻提高耐盐性; 芯片分析表明大量与气孔运动、渗透调节、细胞膜稳定性、脱毒作用等胁迫相关基因表达增强<sup>[2]</sup>。同样, 过量表达*OsNAC6/SNAC2*、*OsNAC5*和*ONAC045*后能显著提高转基因水稻对干旱、高盐的耐受力, 且一些与胁迫相关的基因表达上调, 如*OsERD1*(Early responsive to dehydration)、*OsLEA3*(Late embryogenesis abundant)基因。研究还发现, *OsNAC5*和*OsNAC6*蛋白能与*OsLEA3*的启动子区域结合<sup>[13~15,17]</sup>。过量表达*OsNAC10*基因, 可以显著增强水稻对干旱、高盐的耐受性, 且相对于对照在干旱条件下能使水稻的产量增加25%~42%或在正常条件下增加5%~14%<sup>[16]</sup>。将*ONAC063*基因转到拟南芥中, 可以增强植株增强抗旱抗盐能力<sup>[26]</sup>。在拟南芥中, *ATAF1*基因功能丧失后, 能提高抗旱能力, *COR47*、*ERD10*、*KIN1*、*RD22*等抗旱相关基因表达增强, 表明*ATAF1*基因通过调节胁迫反应基因的表达实现对抗旱反应

的负调控<sup>[18]</sup>, 但是也有研究发现, 在拟南芥中过量表达 *ATAF1* 基因后可以增强抗旱性<sup>[19]</sup>, 这些相悖的结果有待进一步验证。过量表达拟南芥 *ANAC019*、*ANAC055* 和 *ANAC072/RD26* 3 个基因后, 能显著提高植株的抗旱能力<sup>[20]</sup>, 多个胁迫诱导基因表达上调, 而且 *ANAC019*、*ANAC055* 和 *ANAC072/RD26* 可以与干旱诱导反应基因 *ERD1* 启动子中的 CATGTG 序列结合, 表明 *ANAC019*、*ANAC055* 和 *ANAC072/RD26* 可以通过与启动子中 CATGTG 顺式作用元件结合, 调控 *ERD1* (Early responsive to dehydration) 及其下游基因的表达, 从而参与抗旱胁迫反应<sup>[20]</sup>。过量表达 *ANAC072/RD26* 的转基因植株表现出对 ABA 高度敏感, 而且 ABA 应答基因和非生物胁迫反应基因都出现上调表达; 而 *anac072/rd26* 基因丧失功能突变体对 ABA 不敏感, ABA 应答基因的表达受到抑制, 因此 *ANAC072/RD26* 基因通过调控依赖 ABA 抗逆信号途径参与抗旱胁迫反应<sup>[27]</sup>。过量表达小麦基因 *TaNAC2* 在拟南芥中, 提高了拟南芥对干旱、高盐、和冷害的耐受性<sup>[23]</sup>。同样, 在烟草中过量表达 *TaNAC2* 的同源基因 *TaNAC2a*, 可以增强, 可以增强对干旱的耐受性<sup>[24]</sup>。这些结果表明, NAC 转录因子在转基因抗干旱、高盐、低温等非生物逆境育种中具

有潜在的应用价值。

### 2.3 NAC 转录因子在其他非生物逆境中的作用

除了在抗旱和抗盐胁迫反应中的作用外, 研究还发现 NAC 转录因子在植物其他逆境胁迫反应中同样起到重要作用。研究发现, 拟南芥 *lov1* 突变体表现出对冻害的高度敏感性, 在低温处理下的存活率仅为 24%, 野生型存活率为 54%, 而过量表达 *LOV1* 的转基因植株存活率达到 88%, *LOV1* 基因能调控 *COR15A*、*KIN1* 等抗冻相关基因的表达, 证明 *LOV1* 正向调控拟南芥抗冻能力<sup>[28]</sup>。拟南芥 *ANAC102* 基因可在低氧胁迫下诱导表达, 过量表达 *ANAC102* 的转基因植株中一些与低氧胁迫相关的基因的表达增强, 而敲减 *ANAC102* 基因表达后, 在低氧胁迫下的种子萌发率显著下降, 表明 *ANAC102* 转录因子与低氧胁迫反应有关<sup>[29]</sup>。由此看来, NAC 转录因子家族广泛参与植物各种逆境胁迫反应的调控。

### 3 NAC 转录因子在抗病反应中的作用

植物在其生长发育的环境中, 经常会受到细菌、真菌和病毒等病原物的侵害, 促使植物形成了一系列复杂的抗病机制。在受到病原菌的侵染时,

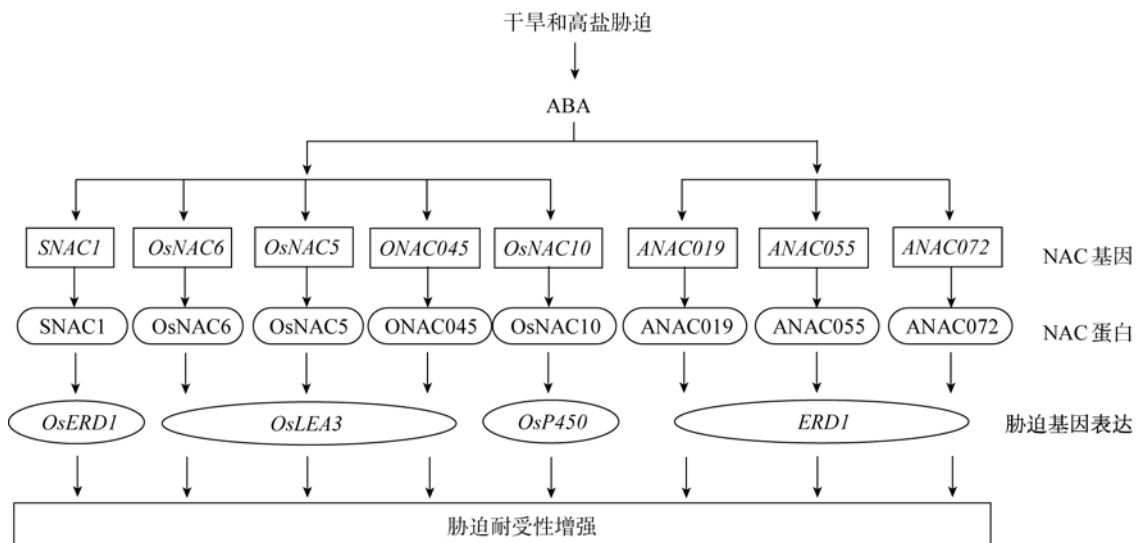


图 1 已知参与干旱和高盐胁迫反应的 NAC 转录因子

5 个水稻和 3 个拟南芥 NAC 转录因子基因的表达受干旱、高盐、ABA 所诱导, 过量表达后可以增强对干旱、高盐的抗性, 且能调控一些抗逆相关基因 *OsERD1*、*OsLEA3*、*OsP450* 和 *ERD1* 的表达, 其中 *OsNAC5* 和 *OsNAC6* 可以和 *OsLEA3* 启动子结合, *ANAC019*、*ANAC055* 和 *ANAC072* 能与 *ERD1* 的启动子结合。这些 NAC 转录因子在干旱和高盐胁迫反应中的作用可能涉及 ABA 信号通路。所列基因的 NCBI 登录号为: *SNAC1*: AEG21060.1; *OsNAC6*: BAA89800.1; *OsNAC5*: AB028184; *ONAC045*: CT829509; *OsNAC10*: AK069257; *ANAC019*: NM\_104167.4; *ANAC055*: NM\_112418.2; *ANAC072*: NM\_118875.2。



植物通常通过水杨酸(Salicylic acid, SA)、茉莉酸(Jasmonic acid, JA)、乙烯(Ethylene, ET)等抗病信号传导途径来活化一大批防卫反应基因的协同表达,从而激活植物的抗病防卫反应。研究显示,AP2/ERF、bZIP、WRKY 等不同类型的转录因子参与植物抗病反应中防卫基因的表达调控。近年来的研究表明,NAC 转录因子家族基因在植物对不同类型病原菌的抗病反应中起重要作用(图 2)。

### 3.1 NAC 基因表达对病菌侵染的响应

基因表达谱和常规基因表达分析表明,NAC 基因家族中的很多成员在植物对病菌侵染或抗病相关信号分子处理后表现出差别表达特征,反映了 NAC 基因在植物抗病反应中具有一定的生物学功能。在水稻中,*OsNAC19* 的表达受稻瘟菌侵染以及抗病信号分子 MeJA、ABA 和乙烯等所诱导<sup>[30]</sup>;我们对水稻基因芯片数据库(<http://www.ricearray.org>)中 *OsNAC* 基因在稻瘟病(GSE7256)<sup>[31]</sup>、条纹叶枯病(GSE11025)<sup>[32]</sup>等侵染后的表达谱进行分析,发现在稻瘟菌侵染后 3 d 时有 47 个 *OsNAC* 基因的表达水平发生显著变化,其中 28 个 *OsNAC* 基因上调表达(表达水平比对照增

加 2 倍以上)、19 个 *OsNAC* 基因下调表达(表达水平比对照下降 0.5 倍);侵染 4 d 时有 76 个 *OsNAC* 基因的表达水平发生显著变化(49 个 *OsNAC* 基因上调表达、27 个 *ONAC* 基因下调表达);条纹叶枯病毒侵染后有 54 个 *ONAC* 基因表达水平发生显著变化,其中 22 个 *OsNAC* 基因上调表达,32 个 *OsNAC* 基因下调表达(结果待发表)。基于对 *OsNAC* 基因表达谱的分析,我们分离了 21 个 *OsNAC* 基因,研究了这些基因在抗病相关激素(SA、JA 和 ACC)处理、稻瘟病菌和白叶枯病菌等病原物侵染后的基因表达模式,结果表明这些基因通过不同的信号途径参与水稻对稻瘟病菌和白叶枯病菌的响应(结果待发表)。早期的研究发现,马铃薯 *StNAC* 基因受机械损伤和病菌侵染的诱导,如在晚疫霉菌接种 48 h 后 *StNAC* 的表达显著增强,并伴随 HR 反应<sup>[33]</sup>。辣椒 *CaNAC1* 在细菌性斑点病菌或辣椒轻斑驳病毒侵染后快速诱导,而且非寄主病菌侵染和抗病信号分子 SA 和 ET 处理后也能诱导 *CaNAC1* 强烈的表达<sup>[34]</sup>。小麦 *TaNAC4* 与水稻 *OsNAC4* 高度同源,从接种条锈病菌的小麦叶片中分离获得,抗病信号分子 MeJA、ABA、ET 等能

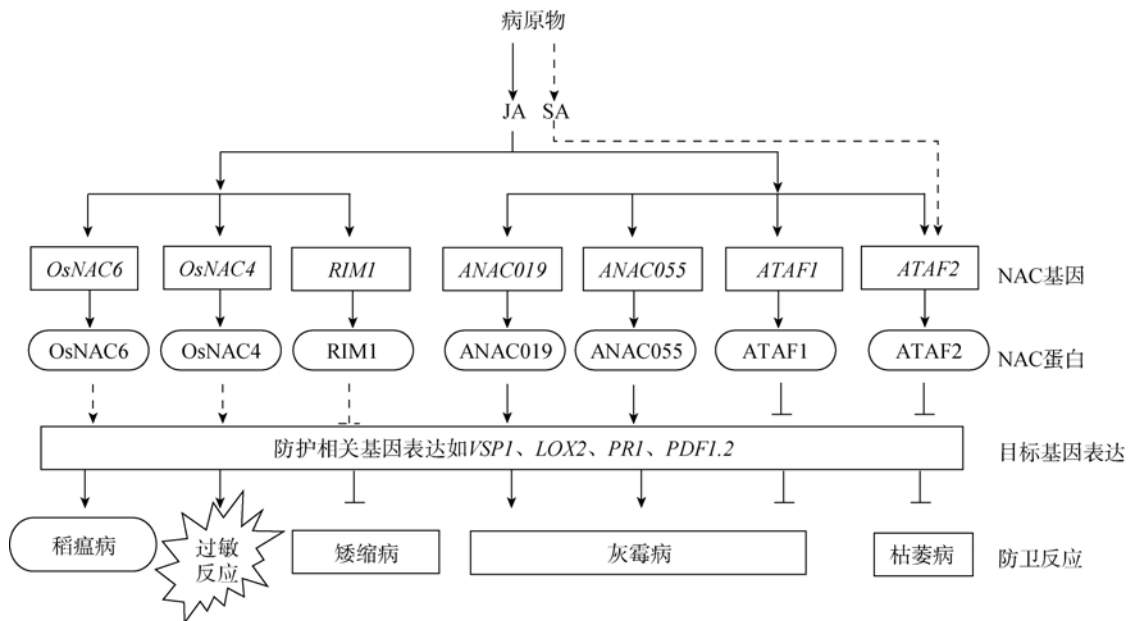


图 2 参与抗病反应的水稻和拟南芥 NAC 转录因子

水稻和拟南芥病 NAC 转录因子正调控或负调控对不同类型病害的抗病反应,其作用可能分别需要 JA 和 SA 信号通路所介导。其中水稻基因 *OsNAC6* 正向调控水稻对稻瘟病的抗性、*OsNAC4* 使水稻细胞发生过敏反应、*RIM1* 负向调控水稻对矮缩病的抗性;拟南芥基因 *ANAC019* 和 *ANAC055* 正向调控拟南芥对灰霉病的抗性,而 *ATAF1* 和 *ATAF2* 负向调控拟南芥对枯萎病的抗性。所列基因的 NCBI 登录号为: *OsNAC6*: BAA89800.1; *OsNAC4*: AB028183.1; *RIM1*: AB265821; *ANAC019*: NM\_104167.4; *ANAC055*: NM\_112418.2; *ATAF1*: NM\_100054.2; *ATAF2*: CAA52772.1。

诱导*TaNAC4*表达,高盐、伤口、低温等非生物胁迫处理也能诱导*TaNAC4*表达<sup>[35]</sup>。这些病菌侵染或抗病信号分子处理后诱导表达的*NAC*基因在植物抗病反应中的作用有待研究。

### 3.2 在活体寄生真菌病害抗性中的作用

活体寄生病原物只能从活的植物细胞和组织中获得所需营养物质,属活体营养型。大多数活体病原菌(包括半活体病原菌)与其寄主植物的互作符合“基因对基因”学说,植物中存在针对活体病原菌(或其生理小种)的抗病基因,抗病反应一般由SA途径所调控。研究发现,*NAC*转录因子在植物抗活体寄生病害中有着重要的作用。Jensen等<sup>[36]</sup>发现在过量表达*ATAF1*基因,增强了大麦白粉病的抗性,而突变体*ataf1*植株则降低白粉病抗性。大麦基因*HvNAC6*与拟南芥*ATAF1*高度同源,在白粉病菌侵染早期,*HvNAC6*的表达集中在表皮细胞内;在表皮细胞瞬时过量表达*HvNAC*后能增强大麦表皮细胞对白粉病菌的耐穿透力,而在表皮细胞内短暂沉默*HvNAC6*后则降低表皮细胞对白粉病菌的耐穿透力<sup>[37]</sup>。水稻*OsNAC6*与拟南芥*ATAF1*高度同源,其基因表达受机械损伤和稻瘟所诱导,过量表达*OsNAC6*可以提高水稻对稻瘟病的抗性<sup>[13]</sup>。我们利用病毒诱导基因沉默技术(VIGS)对6个JA诱导表达的*OsNAC*基因的功能进行了初步研究,发现当这些*OsNAC*基因表达下调后,增加对稻瘟病的感病性,表明这些*OsNAC*基因可能在水稻对稻瘟病的抗性反应中起正调控作用(结果待发表)。

病毒只能在活体植物上引起侵染,并感染植物细胞正常代谢活动,引起植物生长和发育受阻,出现褪绿、矮化、畸形等症状。研究表明,*NAC*转录因子或感染病毒复制等过程或与病毒蛋白因子互作从而在病毒病抗性中起作用。水稻*RIM1*控制水稻对矮缩病毒(Rice dwarf virus, RDV)的感病性,*RIM1*基因的丧失功能突变体*rim1*植株增强RDV抗性,不表现任何病害症状,且RDV病毒粒子量显著下降,但不改变对黄叶病毒和条纹叶枯病毒的抗性<sup>[38]</sup>;过量表达*RIM1*的转基因水稻对RDV的感病性增强,病害症状提前,病毒复制增加<sup>[39]</sup>。因此,*RIM1*是一个与RDV复制有关的因子,而且直接参与JA信号途径<sup>[38, 39]</sup>。拟南芥TIP蛋白可以与芜菁皱缩病毒(Turnip

crinkle virus, TCV)的外壳蛋白结合,TIP-CP互作介导拟南芥对TCV产生过敏反应从而提高对TCV的抗性<sup>[40]</sup>。小麦*GRAB1*和*GRAB2*能与矮化双生病毒(Wheat dwarf geminivirus, WDV)的RepA蛋白结合,*GRAB*蛋白N端保守区是与WDV的RepA蛋白活化所必需的,过量表达*GRAB1*和*GRAB2*基因后可以抑制WDV的DNA复制<sup>[41]</sup>。番茄*SINAC1*能与番茄曲叶病毒(Tomato leaf curl virus, TLCV)复制增强蛋白结合,过量表达*SINAC1*后可以增加TLCV DNA的积累<sup>[42]</sup>。

### 3.3 在抗坏死性真菌病害中性中的作用

坏死性病菌一般在死亡的植物组织上生活并获取所需要的营养物质,营死体营养型寄生方式。与活体病原菌不同,坏死性病原菌与其寄主植物的互作不存在“基因对基因”关系,一般认为植物中不存在对坏死性病原菌的抗病基因,而抗病反应通常由JA、ET等途径所调控。最近研究发现,*NAC*转录因子在植物对坏死性真菌病害的抗病反应中起作用。在拟南芥中,灰霉病菌侵染或JA处理后能诱导*ATAF1*基因表达,过量表达*ATAF1*的转基因植株降低灰霉病抗性<sup>[19, 43]</sup>,而利用嵌合抑制子技术抑制内源*ATAF1*蛋白活性后则增强对灰霉病的抗病性<sup>[43]</sup>,表明*ATAF1*是灰霉病抗性的一个负调控因子。与*ATAF1*高度同源的*ATAF2*基因受JA和SA诱导,过量表达*ATAF2*的转基因植株中*PR1*、*PDF1.2*等防卫基因表达水平下降,且对枯萎病菌的抗性下降,而丧失功能突变体中这些防卫基因表达水平增强,枯萎病抗性也随之增强<sup>[44]</sup>。拟南芥*ANAC019*和*ANAC055*参与JA介导的防卫反应,并可能转录调控JA诱导的防卫基因*VSP1*和*LOX2*的表达;过量表达*ANAC019*和*ANAC055*后可增强JA诱导的*VSP1*和*LOX2*的表达,而这两个基因的双突变体则降低*VSP1*和*LOX2*的表达,并减弱灰霉病抗性<sup>[45]</sup>。上述研究表明,拟南芥*ATAF1*和*ATAF2*是坏死性真菌病害抗性的负调控因子,而*ANAC019*和*ANAC055*则是灰霉病抗性的正调控因子。

### 3.4 在过敏性反应中的作用

在植物与非亲和性病菌互作中,病菌无毒菌株的侵染常常会引起寄主植物侵染位点细胞的快速死亡,形成局部坏死斑,成为过敏反应(Hypersensitive

response, HR)。NAC转录因子在植物HR中的作用主要来自水稻*OsNAC4* 功能的研究。褐条病细菌(*Acidovorax avenae*)无毒菌株N1141 接种以及鞭毛素处理能诱导*OsNAC4* 基因表达,如在褐条病菌接种后6 h时*OsNAC4* 基因表达升高30倍,但是接种不能引起HR的褐条病菌后并不能诱导*OsNAC4* 基因的表达<sup>[46]</sup>。在过量表达*OsNAC4* 的水稻细胞中,细胞膜完整性受到损失,引起细胞过敏性死亡;而*OsNAC4* 基因沉默后,在接种褐条病菌无毒菌株N1141 后,过敏性死亡的细胞数显著减少<sup>[47]</sup>。*OsNAC4* 在HR反应中的作用涉及到其自身的磷酸化修饰以及在细胞质-细胞核之间的穿梭定位变化。在没有病菌存在时,*OsNAC4* 均匀分布在细胞质和细胞核内,但当有病菌侵染时*OsNAC4* 蛋白在细胞质中迅速积累,随后发生磷酸化修饰并转移到核内。另外,*OsNAC4* 调控了与细胞膜完整性相关的HSP90 以及与DNA片段化相关的IREN等基因的表达<sup>[47]</sup>。

## 4 NAC 转录因子活性的调控机制

NAC转录因子的活性调控主要涉及转录水平上基因表达调控、蛋白水平的修饰以及与其他蛋白间的互作等方面。

### 4.1 miRNA 对 NAC 基因表达的调控

MicroRNA(miRNA)是一类长度约为22个核苷酸的非编码单链RNA分子,是一种重要的转录水平调控因子<sup>[48]</sup>。研究显示,miRNA能调控NAC基因的表达水平,进而调控NAC转录因子的生物学功能。在拟南芥中,*miR164* 调控*CUC1*、*CUC2*、*NAC1* 等NAC基因的mRNA丰度<sup>[49,50]</sup>。*miR164* 导致内源*NAC1* mRNA的降解,当*NAC1* 基因中与*miRNA164* 配对的序列发生突变后,miRNA不能引起*NAC1* mRNA的降解<sup>[51]</sup>。在*miR164* 突变体中,*miR164* 表达量显著降低,而*NAC1* mRNA水平显著增加,而在野生型植株中诱导*miR164* 的表达后,*NAC1* mRNA水平下降<sup>[51]</sup>。过量表达*miR164* 后,*CUC1*、*CUC2* 等基因mRNA水平下降,而当破坏*miR164* 与*CUC1*、*CUC2* 间的配对序列或*miR164* 突变后,*CUC1*、*CUC2* 等基因mRNA水平升高<sup>[51,52]</sup>。

### 4.2 NAC 转录因子蛋白水平上的调控

磷酸化是转录因子翻译后修饰的一种重要形式,不仅调节转录因子的细胞定位,而且可以改变转录因子的活性。在无病原识别信号时,水稻*OsNAC4* 均匀分布在细胞质和细胞核内,但当病菌侵染时*OsNAC4* 蛋白在细胞质中迅速积累,并发生磷酸化修饰;磷酸化修饰的*OsNAC4* 蛋白进入细胞核内,调控细胞凋亡相关基因的表达,从而调控HR反应<sup>[47]</sup>。泛素介导的蛋白降解途径是翻译后调控NAC转录因子蛋白水平的另一个机制。在拟南芥中,含RING结构域的*SINAT5* 具有泛素蛋白连接酶活性,过量表达*SINAT5* 后,引起*NAC1* 的泛素化修饰,导致*NAC1* 蛋白的降解,使其丧失生物学功能<sup>[53]</sup>。另外,NAC转录因子还能与其他蛋白发生互作,影响NAC转录因子活性,从而调控下游基因的转录表达。拟南芥ANAC019、ANAC055 以及ANAC072/RD26 等都能与锌指蛋白ZFHD1 蛋白直接互作,从而激活下游基因的表达<sup>[54]</sup>。

## 5 结语与展望

综上所述,NAC转录因子在植物对不同类型病害以及对不同类型逆境胁迫的抗性反应中起重要作用,但是作为植物特有的一个庞大转录因子家族,目前对NAC转录因子在植物抗病抗逆反应中的作用及其机制的认识仍比较肤浅。今后的研究集中在以下5个方面:(1)进一步研究明确NAC转录因子家族成员的生物学功能。通过基因表达谱数据分析,水稻*OsNAC*家族的很多成员在病菌侵染、非生物逆境胁迫处理后发生表达的变化,表明这些NAC转录因子可能参与对不同生物和非生物逆境的反应,但是目前只研究明确少数几个NAC转录因子在抗病抗逆反应中的功能,大多数NAC转录因子在植物抗病抗逆反应中的作用需要进一步的研究。构建NAC转录因子的过量表达、丧失功能突变体(包括基因敲除或敲减突变体和嵌合抑制子介导的丧失蛋白活性突变体),并分析其表型变化,可望获得在抗病抗逆反应中起作用的新NAC转录因子。(2)NAC转录因子的功能多效性。基因表达谱数据分析表明,NAC转录因子应答不同生物和非生物逆境胁迫,而且一些研究显示,有些NAC转录因子具有生物学功能的多效性,



如SNAC2、ATAF1、ANAC019和ANAC055等同时非生物逆境抗性、抗病性中具有生物学功能[13,18~20,36,43,45]。这种生物学功能的多效性对于NAC转录因子的转基因利用极为有利,即有可能通过改变一个NAC转录因子基因的表达或其蛋白活性达到改良多个生物学性状。(3)NAC转录因子的功能冗余现象。NAC转录因子家族成员之间功能冗余现象相当普遍,如拟南芥ATAF2/At5g63790、ANAC019/ANAC055是功能冗余基因对,这些基因对其中单个基因的插入突变或RNAi沉默后不会引起任何生物学表型的变化,而只有基因对中2个基因同时突变的双突变体才能表现出可见的表型[48,49]。新近发展起来的嵌合抑制子(Chimeric repressor)技术在蛋白水平上抑制内源相应转录因子的活性,克服了高度同源基因的功能冗余,从而为NAC转录因子的生物学功能鉴定提供了可靠的方法[55]。利用嵌合抑制子技术构建NAC转录因子的丧失蛋白活性突变体,结合过量表达转基因株系,可以进一步鉴定NAC转录因子的生物学功能。(4)NAC转录因子的活性调控机制。作为转录因子,理论上NAC蛋白通过与靶标基因启动子中顺式作用元件的结合从而调控靶标基因的表达,但是现有研究显示NAC转录因子本身也存在着复杂的活性调控机制,如miRNA在转录水平的调控[49~52]、磷酸化和泛素化修饰及蛋白-蛋白互作等蛋白水平上的调控机制等[53~55]。深入研究NAC转录因子的活性调控机制及其调控的下游靶标基因有助于阐明NAC转录因子在植物抗病抗逆反应中的作用机制。(5)NAC转录因子所参与的信号传导途径。NAC转录因子在应答不同生物与非生物胁迫反应时,与多种信号分子如ABA、SA和JA/ET所介导的信号转导途径有关。因此,今后应关注NAC转录因子所参与的信号传导途径,从而有助于理解NAC转录因子作用网络的复杂性和多样性。(6)NAC转录因子在转基因育种中的应用。近年来的研究越来越显示出NAC转录因子在转基因育种中的应用潜力,如过量表达SNAC1、SNAC2的转基因水稻植株增强抗旱抗盐能力[12~14],过量表达OsNAC06的转基因水稻、丧失RIM1活性的水稻以及丧失ATAF1或ATAF2活性的拟南芥植株都表现出增强抗病性[13,19,42~44]。因此,通过转基因技术改变NAC基因表达水平或NAC蛋白活性有可能获得抗病抗逆转基因作物新品种或新材

料。

## 参考文献(References):

- [1] Singh K, Foley RC, Onate-Sanchez L. Transcription factors in plant defense and stress responses. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5(5): 430–436. DOI
- [2] Olsen AN, Ernst HA, Leggio LL, Skriver K. NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse. *Trends Plant Sci*, 2005, 10(2): 79–87. DOI
- [3] 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*, 1997, 9(6): 841–857. DOI
- [4] 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. DOI
- [5] Ooka H, Satoh K, Doi K, Nagata T, Otomo Y, Murakami K, Matsubara K, Osato N, Kawai J, Carninci P, Hayashizaki Y, Suzuki K, Kojima K, Takahara Y, Yamamoto K, Kikuchi S. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res*, 2003, 10(6): 239–247. DOI
- [6] 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 Rep*, 2004, 5(3): 297–303. DOI
- [7] Yamasaki K, Kigawa T, Inoue M, Watanabe S, Tateno M, Shinozaki K, Yokoyama S. Structures and evolutionary origins of plant specific transcription factor DNA-binding domains. *Plant Physiol Biochem*, 2008, 46(3): 394–401. DOI
- [8] Nuruzzaman M, Manimekalai R, Sharoni AM, Satoh K, Kondoh H, Ooka H, Kikuchi S. Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice. *Gene*, 2010, 465(1-2): 30–44. DOI
- [9] Rushton PJ, Bokowiec MT, Han SC, Zhang HB, Brannock JF, Chen XF, Laudeman TW, Timko MP. Tobacco transcription factors: novel insights into transcriptional regulation in the Solanaceae. *Plant Physiol*, 2008, 147(1): 280–295. DOI
- [10] Le DT, Nisjiyama R, Watanabe Y, Mochida K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran LS. Genome-wide survey and expression analysis of the plant-specific NAC transcription factor family in soybean during development and dehydration stress. *DNA Res*, 2011, 18(4): 263–276. DOI



- [11] Fang YJ, You J, Xie K, Xie WB, Xiong LZ. Systematic sequence analysis and identification of tissue-specific or stress-responsive genes of NAC transcription factor family in rice. *Mol Genet Genomics*, 2008, 280(6): 547–563. DOI
- [12] Hu HH, Dai MQ, Yao JL, Xiao BZ, Li XH, Zhang QF, Xiong LZ. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(35): 12987–12992. DOI
- [13] Nakashima K, Tran L P, Nguyen D V, 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. DOI
- [14] Hu HH, You J, Fang YJ, Zhu XY, Qi ZY, Xiong LZ. Characterization of transcription factor gene *SNAC2* conferring cold and salt tolerance in rice. *Plant Mol Biol*, 2008, 67(1–2): 169–181. DOI
- [15] Takasaki H, Maruyama K, Kidokoro S, Ito Y, Fujita Y, Shinozaki K, Yamaguchi S K, Nakashima K. The abiotic stress-responsive NAC-type transcription factor OsNAC5 regulates stress-inducible genes and stress tolerance in rice. *Mol Genet Genomics*, 2010, 284(3): 173–183. DOI
- [16] Jeong JS, Kim YS, Baek KH, Jung H, Ha SH, Choi DY, Kim M, Reuzeau C, Kim JK. Root-specific expression of *OsNAC10* improves drought tolerance and grain yield in rice under field drought conditions. *Plant Physiol*, 2010, 153(1): 185–197. DOI
- [17] Zheng XN, Zhen B, Lu GJ, Han B. Overexpression of a NAC transcription factor enhances rice drought and salt tolerance. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(4): 985–989. DOI
- [18] 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. DOI
- [19] Wu Y, Deng Z, Lai J, Zhang Y, Yang C, Yin B, Zhao Q, Zhang L, Li Y, Yang C, Xie Q. Dual function of Arabidopsis *ATAF1* in abiotic and biotic stress responses. *Cell Res*, 2009, 19(11): 1279–1290. DOI
- [20] Tran LS, 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 promoter. *Plant Cell*, 2004, 16(9): 2481–2498. DOI
- [21] Tyagi AK, Kapoor S, Khurana JP, Ray S. Expression data for stress treatment in rice seedlings. Rice Array database (<http://www.ricearray.org>), 2007, GSE6901. DOI
- [22] Jiang YQ, Deyholos MK. Comprehensive transcriptional profiling of NaCl-stressed Arabidopsis roots reveals novel classes of responsive genes. *BMC Plant Biol*, 2006, 6: 25. DOI
- [23] Tang YM, Liu MY, Gao SQ, Zhang Z, Zhao X, Zhao CP, Zhang FT, Chen XP. Molecular characterization of novel *TaNAC* genes in wheat and overexpression of *TaNAC2a* confers drought tolerance in tobacco. *Physiol Plant*, 2012, 114(3): 210–224. DOI
- [24] Mao XG, Zhang HY, Qian XY, Li A, Zhao GY, Jing RL. *TaNAC2*, a NAC-type wheat transcription factor conferring enhanced multiple abiotic stress tolerances in Arabidopsis. *J Exp Bot*, 2012, 63(8): 2933–2946. DOI
- [25] Tran LS, 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 Genomics*, 2009, 281(6): 647–664. DOI
- [26] 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. DOI
- [27] Fujita M, Fujita Y, Maruyama K, Seki M, Hiratsu K, Ohme-Takagi M, Tran LS, 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. DOI
- [28] Yoo SY, Kim Y, Kim SY, Lee JS, Ahn JH. Control of flowering time and cold response by a NAC-domain protein in Arabidopsis. *PLoS One*, 2007, 2(7): e642. DOI
- [29] 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. DOI
- [30] Lin RM, Zhao WS, Meng XB, Wang M, Peng YL. Rice gene *OsNAC19* encodes a novel NAC-domain transcription factor and responds to infection by *Magnaporthe grisea*. *Plant Sci*, 2007, 172(1): 120–130. DOI
- [31] Balzergue S, Morel J, Martin-Magnetite ML. Identification of rice genes differentially expressed upon virulent infection by *Magnaporthe grisea*. Rice Array database (<http://www.ricearray.org>), 2007, GSE7256. DOI
- [32] Zhang X, Wu Z, Xie L, Lin Q, Xie L. Comparative transcriptional profiling of two contrasting rice genotypes response to rice stripe virus infection. Rice Array database (<http://www.ricearray.org>), 2008, GSE11025. DOI

- [33] 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. [DOI](#)
- [34] Oh SK, Lee S, Yu S H, 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. [DOI](#)
- [35] Xia N, Zhang G, Liu XY, Deng L, Cai GL, Zhang Y, Wang XJ, Zhao JZ, Huang LL, Kang ZS. Characterization of a novel wheat NAC transcription factor gene involved in defense response against stripe rust pathogen infection and abiotic stresses. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(8): 3703–3712. [DOI](#)
- [36] Jensen MK, Hagedorn PH, de Torres-Zabala M, Grant M R, Rung JH, Collinge DB, Lyngkjaer MF. Transcriptional regulation by an NAC (NAM-ATAF1, 2-CUC2) transcription factor attenuates ABA signaling for efficient basal defense towards *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2008, 56(6): 867–880. [DOI](#)
- [37] 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. [DOI](#)
- [38] 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. [DOI](#)
- [39] 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. [DOI](#)
- [40] Ren T, Qu F, Morris TJ. HRT gene function requires interaction between a NAC protein and viral capsid protein to confer resistance to turnip crinkle virus. *Plant Cell*, 2000, 12(10): 1917–1926. [DOI](#)
- [41] Xie Q, Sanz-Burgos AP, Guo H, García JA, Gutiérrez C. GRAB proteins, novel members of the NAC domain family, isolated by their interaction with a geminivirus protein. *Plant Mol Biol*, 1999, 39(4): 647–656. [DOI](#)
- [42] 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*, 2005, 17(1): 311–325. [DOI](#)
- [43] Wang XE, Basnayake BM, Zhang HJ, Li GJ, Li W, Virk N, Menqiste T, Song FM. 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. [DOI](#)
- [44] Delessert C, Kazan K, Wilsom LW, Straetend DVD, Manners J, Dennis E S, Dolferus R. The transcription factor ATAF2 represses the expression of pathogenesis-related genes in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2005, 43(5): 745–757. [DOI](#)
- [45] Bu QY, Jiang HL, Li CB, Zhai QZ, Zhang J, Wu XY, Sun JQ, Xie Q, Li CY. 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. [DOI](#)
- [46] Kaneda T, Fujiwara S, Takai R, Takayama S, Isogai A, Che FS. Identification of genes involved in induction of plant hypersensitive cell death. *Plant Biotech*, 2007, 24(2): 191–200. [DOI](#)
- [47] Kaneda T, Taga Y, Takai R, Wano M, Matsui H, Takayama S, Isoga A, Che FS. The transcription factor OsNAC4 is a key positive regulator of plant hypersensitive cell death. *EMBO J*, 2009, 28(7): 926–936. [DOI](#)
- [48] Cuperus JT, Fahlgren N, Carrington JC. Evolution and functional diversification of *MIRNA* genes. *Cell*, 2011, 23(2): 431–442. [DOI](#)
- [49] Rhoades MW, Reinhart BJ, Lim LP, Burge CB, Bartel B, Bartel DP. Prediction of plant microRNA targets. *Cell*, 2002, 110(4): 513–520. [DOI](#)
- [50] Mallory AC, Dugas DV, Bartel DP, Bartel B. MicroRNA regulation of NAC-domain targets is required for proper formation and separation of adjacent embryonic, vegetative, and floral organs. *Curr Biol*, 2004, 14(12): 1035–1046. [DOI](#)
- [51] Guo HS, Xie Q, Fei JF, Chua NH. MicroRNA directs mRNA cleavage of the transcription factor *NAC1* to downregulate auxin signals for *Arabidopsis* lateral root development. *Plant Cell*, 2005, 17(5): 1376–1386. [DOI](#)
- [52] Laufs P, Peaucelle A, Morin H, Traas J. MicroRNA regulation of the *CUC* genes is required for boundary size control in *Arabidopsis* meristems. *Development*, 2004, 131(17): 4311–4322. [DOI](#)
- [53] Xie Q, Guo HS, Dallman G, Fang SY, Welissman AM, Chua NH. *SINAT5* promotes ubiquitin-related degradation of *NAC1* to attenuate auxin signals. *Nature*, 2002, 419(6903): 167–170. [DOI](#)
- [54] Tran LS, Nakashima K, Sakuma Y, Osakabe Y, Qin F, Simpson SD, Maruyama K, Fujita Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Co-expression of the stress-inducible zinc finger homeodomain ZFHD1 and NAC transcription factors enhances expression of the *ERD1* gene in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2007, 49(1): 46–63. [DOI](#)
- [55] Mitsuda N, Matsui K, Ikeda M, Nakata M, Oshima Y, Nagatoshi Y, Ohme-Takagi M. CRES-T, an effective gene

silencing system utilizing chimeric repressors. *Methods*

*Mol Biol*, 2011, 754(3): 87–105. [DOI](#)