

文章编号: 1004-0374(2012)01-0074-07

植物NAC膜结合转录因子的研究进展

赵翠珠, 刘振华, 赵 赫, 向凤宁*

(山东大学生命科学学院, 植物细胞工程与种质创新教育部重点实验室, 济南 250100)

摘 要: NAC 膜结合转录因子 (NTLs) 是 NAC 转录因子家族中一类带有跨膜结构域的转录调控因子, 其 N 端含有高度保守的 NAC 结构域, C 端含有跨膜结构域, 在植物的生长发育、逆境胁迫应答中具有重要作用。主要介绍了植物 NAC 膜结合转录因子结构特点、生物学功能、作用机制等方面的最新研究进展。

关键词: NAC 膜结合转录因子; 结构特点; 生物学功能; 作用机制

中图分类号: Q786

文献标志码: A

The research progress of membrane-bound NAC transcription factors in plants

ZHAO Cui-Zhu, LIU Zhen-Hua, ZHAO He, XIANG Feng-Ning*

(Plant Cell Engineering and Germplasm Innovation Key Lab of Ministry of Education,
Life Sciences School of Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract: Membrane-bound NAC transcription factors are a group of NAC transcription factors with transmembrane domain. They contain a highly conserved NAC domain in N-terminal ends and a membrane-bound motif in C-terminal ends. It was reported that membrane-bound NAC transcription factors play important roles in multiple biological functions such as development, growth, responses to stresses. This article reviewed characters of structure, biological function, mechanism of regulation of plant membrane-bound NAC transcription factors, as well as the recent research progress.

Key words: membrane-bound NAC transcription factors; structure; biological function; mechanism of regulation

高等植物自身生长发育和对环境变化响应是通过转录因子调控目的基因表达而实现的^[1]。绝大多数的转录因子存在于细胞质, 进入细胞核后被激活而行使功能, 少数直接整合在细胞膜(如质膜、内质网膜)上处于休眠状态, 称为膜结合转录因子(membrane-bound transcription factors, MTFs)。

MTFs 特点是转录因子翻译后被转运到细胞膜上, 当细胞受到刺激, 便从膜上释放并转运到细胞核中行使调控功能。目前, MTFs 在酵母、原核生物和动物中已发现, 并证实可激活目的基因表达而行使多种功能^[2-3]。植物中亦发现两类转录因子: bZIP (basic leucine zipper) 和 NAC, 它们存在膜结合成员, 其中, 至少有 4 个 bZIP MTFs (*AtbZIP17*、*AtbZIP28*、*AtbZIP49*、*AtbZIP60*) 与内质网胁迫有关,

整合在内质网膜^[4-6]。多个 NAC MTFs 整合在内质网膜、核膜和细胞膜, 与各种环境胁迫应答密切相关^[7-9]。基因组序列分析预测, 在拟南芥所有转录因子中, 有超过 10% 是膜结合的^[8]。

NAC 转录因子是近年来发现的具有多种生物功能的植物特异转录因子^[10-12]。研究表明, 拟南芥

收稿日期: 2011-06-22; 修回日期: 2011-08-31

基金项目: 国家重大科学研究计划项目(2007-CB948203); 国家自然科学基金项目(30970243, 30771116); 山东省杰出青年基金项目(QJ200810); 教育部博士点基金项目(913111006); 山东省公关项目(2009GG10002001)

*通信作者: E-mail: xfn0990@sdu.edu.cn; Tel: 0531-88363629

中为数不少的 NAC 家族成员是与膜相结合的, NAC MTFs 的活性受到膜联释放这个步骤的调节, 在内质网胁迫和环境胁迫下由膜结合蛋白酶激活。目前在拟南芥基因组中已发现的 110 个 NAC 转录因子中至少有 18 个是膜结合 NAC 转录因子, 水稻中发现的 140 个 NAC 转录因子中至少有 6 个是膜结合 NAC 转录因子^[8,13-14]。膜结合 NAC 转录因子在调控植物生长发育、逆境胁迫应答等中起着重要的作用。本文介绍植物 NAC 膜结合转录因子的起源、结构特点、作用机制与生物学功能等, 并对其未来的研究方向进行了展望。

1 NAC 膜结合转录因子的发现及结构特点

1996 年, 第一个 NAC 转录因子 NAM 由 Souer 等^[15] 从矮牵牛中克隆得到, NAM 突变体可导致拟南芥幼胚缺失根尖分生组织、幼苗缺失根和叶。1997 年, Aida 等^[16] 在拟南芥中发现了 *NAM*、*CUC2* 和 *ATAF1/2* 三种基因, 因其编码蛋白的 N 末端都包含一段保守的氨基酸序列, 约包含 150 个氨基酸残基, 取三基因首字母名为 *NAC*。

2006 年, 韩国 Park 研究小组首次发现拟南芥 NAC 转录因子中存在 MTFs 的类型, 并通过突变体 *ntm1* 证实这种具有跨膜特性的转录因子 (NAC with transmembrane motif 1, NTM1) 参与植物细胞周期调控, 其功能激活需要特异蛋白酶将其从内质网膜上释放^[7]。随后, 发现在拟南芥 NAC 基因中至少有 18 个成员具有跨膜功能, 由于其 C 端含有多 α 螺旋的跨膜基序 (transmembrane motifs, TMs), 因此将它们称为 NAC 膜结合转录因子, 简称 NTL (NTM1-like)^[7,17-18]。NAC 蛋白有同源和异源两种二聚物^[19], 而 NAC 的二聚化能力有赖于它的 NAC 结构域, NAC 结构域是一个大约包含 160 个氨基酸残基的高度保守的结构域^[18,20-21]。通过 X-射线观察拟南芥 ANAC019 的 NAC 结构域, 发现 NAC 结构域不含有经典的螺旋-转角-螺旋的结构, 其结构域中一段 60 个氨基酸残基的区域由一卷曲的反向 β 序列组成, 该 β 序列的一端被一个 N 末端 α 螺旋包裹, 另一端被一个短的螺旋包裹^[10]。通过酵母^[10] 和植物^[22] 体内检测, NAC 蛋白已被证明是转录因子, C 末端是其转录激活功能区。但是 C 末端没有发现任何可鉴别的序列相似性, 其共同特点是一些简单氨基酸重复出现的频率较高, 同时富含丝氨酸、苏氨酸、脯氨酸和谷氨酸等, 但是 NAC 结构域的中间部分与 GCM DNA 结合结构域的大子

域之间有一些结构相类似, GCM 存在于多细胞动物体内而不存在于植物体内。尽管这两个蛋白质的整体结构有差异, 但是这两类转录因子有可能存在一些相同的 DNA 识别特征。

2 NAC 膜结合转录因子的作用机制

NAC 膜结合转录因子以一种膜结合的、没有活性的形式表达, 然后从膜上释放并定位到细胞核, 在核内再激发一系列分子反应, 它们的活性受到从膜上释放这个步骤的调节。对转基因植株和敲除突变体的分析表明, NAC 膜结合转录因子与各种环境胁迫应答密切相关^[8-9]。越来越多的证据表明, 膜结合转录因子 (MTF) 的受控蛋白水解作用是保证转录活性能对突然的环境变化做出快速反应的有效策略^[3,23], 因此, 其作用机制与其膜结合的特点紧密结合。

2.1 NAC 膜结合转录因子的激活

在原核生物、酵母及动物中, 一些膜结合转录因子已在功能上得到阐明。迄今为止, 已阐明的膜结合转录因子都是通过受控的泛素/26S 蛋白酶体依赖进程 (RUP) 或受控的膜内蛋白水解作用 (RIP) 的方式释放^[2,23]。在 RIP 中, 有活性的转录因子由特殊的膜结合蛋白酶释放, 例如 SREBP 转录因子是以内质网膜结合形式存在, 它通过 RIP 两步蛋白水解过程而激活^[24]。一种内质网膜结合的丝氨酸蛋白酶 (rhoboids), 位点 -1 蛋白酶 (S1P), 分解 SREBP 的 luminal 环; 另一种蛋白酶 S2P (一种金属蛋白酶^[24-25]) 随后水解跨膜 (TM) 结构域, 释放有活性的 SREBP 形式^[25,27-28]。动物中有很多 MTF 是通过 RIP 机制激活的。Notch、APP 以及 ErbB4 等膜结合转录因子是由名叫早老素 (presenilin) 的天冬氨酸蛋白酶激活的^[29-30]。ATF6 膜结合转录因子是由 S2P 的作用而从内质网膜上释放的^[31]。因此, Rhoboids (丝氨酸蛋白酶) 和 SPP (信号肽酶) 在多肽信号和配位体的释放中起重要作用^[30,32]。

在 RUP 中, 转录因子被泛素化, 然后以某种方式被 26S 蛋白酶体降解, 从而释放出有活性的转录因子。由 RUP 激活转录因子的一个例子是酵母中的 SPT23/MGA2 转录因子的激活^[33]。酵母 SPT32/MGA2 转录因子对于 OLE1 基因的转录激活起重要作用 (OLE1 基因编码一种酶, 参与不饱和脂肪酸的生物合成^[33])。SPT32/MGA2 转录因子以一种内质网膜结合蛋白的形式合成。当细胞需要不饱和脂肪酸时, 有转录活性的结构域通过受控泛素/蛋白酶

体依赖途径 (RUP) 释放^[34-35]。

RIP 途径和 RUP 途径都可能参与了膜结合 NAC 转录因子的激活。对 NTM1 基因的研究发现, NTM1 的活性受到双重机制的调控: 从膜上释放的调节以及蛋白稳定性的调节^[7]。钙蛋白酶抑制剂 ALLN 能抑制 NTM1 的加工, 表明 NTM1 是由钙蛋白酶从膜上释放的。但是, ALLN 对钙蛋白酶的特异性不是很高。所以, 有可能其他的蛋白酶, 如 S1P、S2P、presenilins 等也参与了 NTM1 的加工。NTM1 的功能可通过蛋白稳定性的调控而受到进一步的调节。用 MG132, 一种 26S 蛋白酶体的特异抑制剂, 来处理 35S::myc-NTM1 转基因植株时, NTM1 蛋白的水平极大地升高。这表明 NTM1 被泛素化, 泛素化的 NTM1 被 26S 蛋白酶体降解。研究发现, NTM1 可在细胞分裂素的作用下变得稳定。所以, 细胞分裂素可能通过阻止 NTM1 的泛素化或抑制 26S 蛋白酶体活性来调节 NTM1 的稳定性。细胞分裂素信号途径中 26S 蛋白酶体的活性已得到阐明^[36]。RPN12a, 拟南芥 26S 蛋白酶体的一个组分, 在细胞分裂素信号途径中起到正调节因子的作用。所以, NTM1 的稳定性可能受 E3 泛素连接酶复合物调节, 这种复合物在细胞分裂素信号途径中受到抑制。RING-H2 结构域是一类特殊类型的锌指, 它出现在多种多亚基 E3 泛素连接酶中, 例如 SCF 复合物。这个结构域与 ANAC 相互作用 (ANAC 是一种通过 NAC 结构域对脱落酸做出响应的 NAC)^[7]。MG132 和钙蛋白酶抑制剂 ALLN 都不会影响 NTL6 和 NTL8 从膜上的释放, 表明它们的释放既非泛素化调节也非钙蛋白酶水解^[37-38]。抑制 NTL6 和 NTL8 释放的均是金属蛋白酶抑制剂邻二氮杂菲, 即它们均通过金属蛋白酶的水解从膜上释放。这表明 NTLs 从膜上释放的机制是存在基因特异性的, 这也就解释了为什么 NTLs 各自的蛋白加工会受到不同环境因素或激素影响了^[37-38]。到目前为止, 在拟南芥中, 据预测至少有 150 种膜结合的蛋白酶^[39]。编码膜结合蛋白酶的基因特异地受到各种不同的非生物胁迫的影响^[40]。目前, 在不同的胁迫条件下,

特异的膜结合蛋白酶可能对一定的 NAC 膜结合转录因子的加工激活起作用 (表 1)。

Kim 等^[38]为了验证 NTM1 的转录激活活性, 将 NTM1 的不同部分与酵母表达载体 pGBKT7 中的 GAL4 DNA 结合结构域融合。GAL4- Δ C 融合蛋白在包含报告基因 *LacZ* 的酵母株系中表达, 检测 α 半乳糖苷酶的活性。表达 Δ C 的酵母细胞清楚地表现出 *LacZ* 活性。另外, Δ C 的 C 末端区域可强烈激活 *LacZ* 报告基因, 但 NAC 结构域却不能单独激活报告基因。NTL8 表现出同样的转录活性, Δ C 区及 Δ C 的 C 末端区域都能比全长 NTL8 更强烈地激活 *LacZ* 报告基因, 但 NAC 结构域却不能单独激活报告基因。NTL6 的 Δ C 的 C 末端区域激活的 *LacZ* 报告基因的表达水平最高, 而只去除膜结合区的 Δ TM 区不能激活的 *LacZ* 报告基因。综上所述, 当去除跨膜基序后, NTM1、NTL6 和 NTL8 才具有转录活性, 激活域在跨膜基序与 NAC 结构域之间^[7-9]。

2.2 NAC 结构域的作用机制

对 NAC 蛋白的分子功能的阐释始于对两个可以活化花椰菜花叶病毒 35S 启动子 (于酵母中构建) 的 NAC 蛋白的报道^[15]。自此之后, 人们发现拟南芥中的三个 NAC 蛋白和其他的几个 *Brassica napus* 蛋白可与 CaMV 35S 启动子相结合。人们发现有三个 ANAC 蛋白可以结合到启动子 ERD1 片段上。通过置换分析得出: CATGTG 和 CACG 序列是 ANAC 蛋白在启动子处识别的核心 DNA 序列^[42]。NAC 蛋白能够结合 DNA 得益于 NAC 结构域, 但是 NAC 结构域介导的识别机制仍是未知的。目前, 对 NAC 结构域的研究还不完善, NAC 蛋白与 DNA 的结合机制还不明确。目前, 已发现部分 NAC 转录因子能定位到核上, 利用 Predict NLS^[43] 和 PSORT^[44] 软件对植物大量 NAC 蛋白的序列分析表明, 所有的 NAC 转录因子都具有 NLS (核定位序列), 且 NLS 序列具有多样性。在拟南芥 NAC 结构域中含一个 NES, 该 NES 富含保守的疏水氨基酸^[45], 如 ANAC019 的 NAC 结构域中 43~51 位

表1 拟南芥中4个NAC膜结合转录因子的特征和功能

膜结合转录因子	激活所需蛋白酶	拓扑结构	激活信号	靶基因	功能	参考文献
NTM1 (At4g01540)	钙蛋白酶?	Type II (ER/NM)	盐胁迫?	KRPs	细胞分裂	[7, 41]
NTL6 (At3g49530)	金属蛋白酶?	Type II (PM)	冷/ABA	PRs	抗病	[8]
NTL8 (At2g27300)	金属蛋白酶	Type II (PM)	盐胁迫	FT	开花、种子萌发	[8-9, 38]
NTL9 (At4g45580)	未知	Type II (PM)	渗透胁迫	SAGs	叶片衰老	[8,37]

置的氨基酸与已知的 NES 结构非常一致。

3 NAC膜结合转录因子的功能

NAC 膜结合转录因子的功能相关研究较少, 并且集中在模式植物拟南芥中。目前已知的 NAC 膜结合转录因子参与了植物生长发育、激素调控和环境胁迫应答等生理反应。

3.1 影响植物的生长发育

NAC 膜结合转录因子参与了多个植物生长发育阶段的调控^[7-8,38,46]。例如, 拟南芥 NTM1 基因参与其细胞分裂, 它通过诱导 KRPs(CDK 抑制基因) 而对细胞分裂起负调控作用。NTM1 在细胞分裂过程中特异介导细胞分裂素信号途径。NTM1 转录因子可在细胞分裂素存在的条件下变得稳定, 它通过诱导 KRP 基因的表达来对细胞分裂产生负调控作用。NTM1 介导的细胞分裂素信号途径可用来平衡 CYCD3 介导的细胞分裂素信号途径对细胞分裂的促进作用, 从而更好地调节细胞分裂, 这与动物细胞分裂调控过程中 c-MYC 所起的双重作用一样^[7]。NTM1 从膜上水解释放, 失去跨膜结构的 NTM1 蛋白被运送到细胞核中, 进而促进 CDK (细胞周期蛋白依赖激酶) 抑制基因的表达, 同时抑制组蛋白 H4 的合成^[7]。

NTL6 在植物生长发育中起着重要作用。去除膜结合区的 NTL6 的转基因株的表型发生了显著的改变, 譬如生长延迟、植株矮小、叶呈锯齿状等。对表型所作的详细研究揭示这些转基因植株的脉络模式复杂性降低、细胞的大小增大^[8]。

NTL8 调节拟南芥开花时间, 过表达去除掉膜结合区的 NTL8 基因, 转基因植株出现晚花现象, 与晚花现象相对应的是调节开花时间的基因 *FT* (*flowering locus T*) 及其下游基因 *FUL* (*fruitful*) 和 *CAL* (*cauliflower*) 的转录水平在转基因植物中的表达明显下调^[38]。

ANAC089 亦参与调节拟南芥开花时间, 在拟南芥的开花诱导过程中起负调控作用。长日照条件下, 35S::ANAC089 Δ C 转基因植株株型矮小、叶片小而浓绿, 最为明显的是开花延迟。与此表型相应, 转基因植株中 CO、SOC1、FT 和 LFY 的表达水平受到了不同程度地抑制, 而 FLC 的表达水平被增强^[47]。另外, Li 等^[46]发现 NAC 膜结合转录因子 ANAC089(FSQ6) 是果糖信号的抑制子, 缺失跨膜基序的 ANAC089 突变体对果糖的敏感性被抑制。研究发现 ANAC089 是一个果糖特异的数量性

状位点, FSQ6 相关的果糖信号途径是独立于 *HXK1* 的一条新途径, 其途径下游与 ABA 信号途径及乙烯信号途径均有交叉。

NTL9 参与叶片衰老的过程, 一些与衰老相关的基因 (senescence-associated genes, SAGs) 在过表达去除 TM 的 NTL9 基因的转基因植物中表达上调, 而在敲除突变体 *ntl9* 中表达下调^[48]。

本实验室研究发现, NTL5 基因亦参与拟南芥开花时间的调控。

3.2 参与环境胁迫应答

NAC 膜结合转录因子的一个重要的功能是参与环境胁迫应答, 在逆境下保护生物体或促使生物体适应逆境。蛋白质降解所介导的膜结合转录因子的活化能够诱发快速转录反应, 譬如环境改变、渗透压改变。Kim 等^[8]将两周大的 Col-0 植株分别转移到 4 °C 条件下培养 24 h, 转移到 37 °C 培养 1 h, 分别作为冷、热胁迫; 把植株从培养基上取下来, 脱水处理 30 min、1 h 作为干旱胁迫。将植株从琼脂板上转移到含有 100 mmol/L NaCl 的液体培养基上作为盐胁迫^[8]。大多数的 NTLs 的转录水平发生显著变化 (表 2)。拟南芥 NTL1 和 NTL11 转基因植株为热胁迫诱导表达, NTL4 和 NTL7 受冷胁迫诱导表达, NTL3 和 NTL6 在冷、盐胁迫条件下表达上调, NTL2、NTL3 被冷、干旱和盐胁迫诱导表达。另外, NTLs 还对多种激素有响应 (表 3), 例如, NTL2、NTL4 和 NTL6 受脱落酸 (abscisic acid, ABA) 诱导表达^[8]。这些结果揭示了在不同的胁迫反应中, NTLs 间可能形成信号网络。

Kim 等^[38]通过 RT-Southern 杂交技术分析 NTL6 在胁迫下的表达情况。在所有这些胁迫处理的条件下, NTL6 mRNA 的水平升高很容易被检测到。用 100 μ mol/L ABA 处理 2 h 后, NTL6 的转录水平增加, 但是此时间过后它的水平降低; 但用 ABA 处理的样品仍比相应的未受处理的样品高出 2 点^[8]。因此, NTL6 转录水平的增加可能是植物体内 ABA 堆积的结果。另外, 在用 1 mmol/L SA 处理 1 h 后, NTL6 转录水平的升高仍会持续 6 h; 然而, 用 1 mmol/L JA 处理后, NTL6 的转录水平不受影响。PR1 和 AtWhy1 mRNA 的水平在 NTL6 Δ C 型过表达植株中被上调^[37]。因此, NTL6 参与 SA 介导的信号转导机制, 该机制受转录因子 Whirly 的调节。另外, 低温也能促进 NTL6 表达, 病程相关蛋白 pathogenesis(PR1-5) 在其转基因植物中也被诱导。因此, NTL6 可能参与生物胁迫和非生物胁迫

胁迫信号, NTL9 的激活可能是由于在渗透胁迫下膜的生理状态恶化引起的^[48]。

本实验室对拟南芥 NTL5 的研究发现, NTL5 在 ABA 和高盐胁迫下受到诱导上调表达。

4 结语

膜结合 NAC 转录因子是 NAC 转录因子家族中独特的一类, 目前关于膜结合 NAC 转录因子的研究还很少, 主要集中在模式植物拟南芥中。对 NAC 蛋白与 DNA 的结合等机制还不明确, 其功能还有待深入研究。功能研究已经证实膜结合 NAC 基因在植物生长发育以及逆境应答中扮演着极其重要的角色, 膜结合的特点使其能对突然的环境变化做出快速反应, 因此, 膜结合在植物遗传工程方面的巨大应用潜力值得深入探讨。

[参 考 文 献]

- [1] Seki M, Narusaka M, Abe H, et al. Monitoring the expression pattern of 1300 *Arabidopsis* genes under drought and cold stresses by using a full-length cDNA microarray. *Plant Cell*, 2001, 13(1): 61-72
- [2] Hoppe T, Rape M, Jentsch S. Membrane-bound transcription factors: regulated release by RIP or RUP. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13(3): 344-8
- [3] Poon I.K, Jans DA. Regulation of nuclear transport: central role in development and transformation? *Traffic*, 2005, 6(3): 173-86
- [4] Liu JX, Srivastava R, Che P, et al. An endoplasmic reticulum stress responses in *Arabidopsis* is mediated by proteolytic processing and nuclear relocation of a membrane-associated transcription factor, bZIP28. *Plant Cell*, 2007, 19(12): 4111-9
- [5] Liu JX, Srivastava R, Che P, et al. Salt stress responses in *Arabidopsis* utilize a signal transduction pathway related to endoplasmic reticulum stress signaling. *Plant J*, 2007, 51(5): 897-909
- [6] Iwata Y, Koizumi N. An *Arabidopsis* transcription factor, AtbZIP60, regulates the endoplasmic reticulum stress response in a manner unique to plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(14):5280-5
- [7] Kim YS, Kim SG, Park JE, et al. A membrane-bound NAC transcription factor regulates cell division in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18: 3132-44
- [8] Kim SY, Kim SG, Kim YS, et al. Exploring membrane-associated NAC transcription factors in *Arabidopsis*: implications for membrane biology in genome regulation. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(1):203-13
- [9] Kim SG, Kim SY, Park CM. A membrane-associated NAC transcription factor regulates salt-responsive flowering via FLOWERING LOCUS T in *Arabidopsis*. *Planta*, 2007, 226(3):647-54
- [10] Duval M, Hsieh TF, Kim SY, et al. Molecular characterization of *AtNAM*: a member of the *Arabidopsis* NAC domain superfamily. *Plant Mol Biol*, 2002, 50(2): 237-48
- [11] Ooka H, Satoh K, Doi K, et al. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res*, 2003, 10(6): 239-47
- [12] Hao YJ, Wei W, Song QX, et al. Soybean NAC transcription factors promote abiotic stress tolerance and lateral root formation in transgenic plants. *Plant J*, 2011, 68: 302-13
- [13] Riechmann JL, Heard J, Martin G, et al. *Arabidopsis* transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 2000, 290(5499): 2105-10
- [14] Fang Y, You J, Xie K, et al. 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):535-46
- [15] Souer E, van Houwelingen A, Kloos D, et al. The *no apical meristem* gene of *Petunia* is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. *Cell*, 1996, 85(2): 159-70
- [16] Aida M, Ishida T, Fukaki H, et al. Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: an analysis of cup-shaped cotyledon mutant. *Plant Cell*, 1997, 9(6): 841-57
- [17] Olsen AN, Ernst HA, Leggio LL, et al. NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse. *Trends Plant Sci*, 2005, 10(2): 79-87
- [18] Kim SG, Lee S, Seo PJ, et al. Genome-scale screening and molecular characterization of membrane-bound transcription factors in *Arabidopsis* and rice. *Genomics*, 2010, 95(1): 56-65
- [19] Ernst HA, Olsen AN, Skriver K, et al. Structure of the conserved domain of ANAC, a member of the NAC family of transcription factors. *EMBO Rep*, 2004, 5(3): 297-303
- [20] Takada S, Hibara K, Ishida T, et al. The CUP-SHAPED COTYLEDON1 gene of *Arabidopsis* regulates shoot apical meristem formation. *Development*, 2001, 128(7): 1127-35
- [21] Hibara K, Takada S, Tasaka M. CUC1 gene activates the expression of SAM related genes to induce adventitious shoot formation. *Plant J*, 2003, 36 (5): 687-96
- [22] Xie Q, Frugis G, Colgan D, et al. *Arabidopsis* NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development. *Genes Dev*, 2000, 14(23): 3024-36
- [23] Vik A, Rine J. Membrane biology: membrane-regulated transcription. *Curr Biol*, 2000, 10(23): R869-71
- [24] Bengoechea-Alonso MT, Ericsson J. SREBP in signal transduction: cholesterol metabolism and beyond. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, 19(2): 215-22
- [25] Eberle D, Hegarty B, Bossard P, et al. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie*, 2004, 86(11): 839-48
- [26] Sakai J, Duncan EA, Rawson RB, et al. Sterol-regulated release of SREBP-2 from cell membranes requires two sequential cleavages, one within a transmembrane

- segment. *Cell*, 1996, 85(7): 1037-46
- [27] Rawson RB. Control of lipid metabolism by regulated intramembrane proteolysis of sterol regulatory element binding proteins (SREBPs). *Biochem Soc*, 2003, (70): 221-31
- [28] Dobrosotskaya IY, Goldstein JL, Brown MS, et al. Reconstitution of sterol-regulated endoplasmic reticulum-to-Golgi transport of SREBP-2 in insect cells by co-expression of mammalian SCAP and Insigs. *J Biol Chem*, 2003, 278(37): 35837-43
- [29] Weihofen A, Martoglio B. Intramembrane-cleaving proteases: controlled liberation of proteins and bioactive peptides. *Trends Cell Biol*, 2003, 13(2): 71-8
- [30] Urban S, Freeman M. Intramembrane proteolysis controls diverse signaling pathways throughout evolution. *Curr Opin Genet Dev*, 2002, 12: 512-8
- [31] Shen J, Chen X, Hendershot L, et al. ER stress regulation of ATF6 localization by dissociation of BiP/GRP78 binding and unmasking of Golgi localization signals. *Dev Cell*, 2002, 3(1): 99-111
- [32] Wolfe MS, Kopan R. Intramembrane proteolysis: theme and variations. *Science*, 2004, 305(5687): 1119-23
- [33] Hoppe T, Matuschewski K, Rape M, et al. Activation of a membrane-bound transcription factor by regulated ubiquitin/proteasome-dependent processing. *Cell*, 2000, 102(5): 577-86
- [34] Auld KL, Silver PA. Transcriptional regulation by the proteasome as a mechanism for cellular protein homeostasis. *Cell Cycle*, 2006, 5(14): 1503-05
- [35] Shcherbik N, Haines DS. Cdc48p(Npl4p/Ufd1p) binds and segregates membrane-anchored/tethered complexes via polyubiquitin signal present on the anchors. *Mol Cell*, 2007, 25(3): 385-97
- [36] Smalle J, Kurepa J, Yang P, et al. Cytokinin growth responses in *Arabidopsis* involve the 26S proteasome subunit RPN12. *Plant Cell*, 2002, 14(1): 17-32
- [37] Seo PJ, Kim MJ, Park JY, et al. Cold activation of a plasma membrane-tethered NAC transcription factor induces a pathogen resistance response in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2010, 61(4): 661-71
- [38] Kim SG, Lee AK, Yoon HK, et al. A membrane-bound NAC transcription factor NTL8 regulates gibberellic acid-mediated salt signaling in *Arabidopsis* seed germination. *Plant J*, 2008, 55(1): 77-88
- [39] Upchurch RG. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. *Biotechnol. Lett.*, 2008, 30(6): 967-77
- [40] Zimmermann P, Hirsch-Hoffmann M, Hennig L, et al. *Arabidopsis* microarray database and analysis toolbox. *Plant Physiol*, 2004, 136(1): 2621-32
- [41] Kim YS, Park CM. Membrane regulation of cytokinin-mediated cell division in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav*, 2008, 2(1): 15-6
- [42] Tran L, Nakashima K, Sakuma Y, et al. 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): 2481-98
- [43] Cokol M, Nair R, Rost B. Finding nuclear localization signals. *EMBO Reports*, 2000, 1(5): 411-5
- [44] Nakai K, Kanehisa M. A knowledge base for predicting protein localization sites in eukaryotic cells. *Genomics*, 1992, 14 (4): 897-911
- [45] la Cour T, Kiemer L, Molgaard A, et al. Analysis and prediction of leucine-rich nuclear export signals. *Protein Eng Des Sel*, 2004, 17 (6): 527-36
- [46] Li P, Wind JJ, Shi XL, et al. Fructose sensitivity is suppressed in *Arabidopsis* by the transcription factor ANAC089 lacking the membrane-bound domain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(8): 3436-41
- [47] 李建琴, 张娟, 王学臣, 等. 膜系留转录因子ANAC089在拟南芥开花诱导过程中起负调控作用. *中国科学: 生命科学*, 2010, 40(5): 408-17
- [48] Yoon HK, Kim SG, Kim SY, et al. Regulation of leaf senescence by NTL9-mediated osmotic stress signaling in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, 2008, 25(3): 438-45