

BpNAC90 基因调控白桦耐旱的分子机制*

王智博, 贺子航, 高彩球, 王超, 宋兴舜, 王玉成

(东北林业大学 哈尔滨 150040)

摘要: 【目的】NAC 转录因子 (TF) 家族是植物中特有的一类转录因子, 包含大量成员。NAC 转录因子主要参与调节植物生长发育的许多生物学过程, 包括对外界胁迫的响应, 植物形态的形成, 植物衰老调节和果实发育等。白桦 (*Betula platyphylla* Suk.) 为落叶乔木, 广泛的分布在北欧、西伯利亚以及我们国家的东北大部分地区。目前日渐频繁的非生物胁迫对白桦正常生长产生了严重的影响。白桦为了适应复杂恶劣的环境, 会通过相应的基因表达调控来应对。因此, 为了使其更快的适应复杂恶劣的环境, 利用分子生物学手段进行林木的优良选种以及培育则显得越发的重要。然而, 目前对于白桦 NAC 转录因子在非生物胁迫方面的研究较少, 本研究系统揭示了 *BpNAC90* 基因调控白桦耐旱的分子机制, 为阐明白桦抗旱及创制高抗白桦提供了重要数据。【方法】利用叶盘法稳定转化白桦; 通过实时荧光定量 PCR、Western Blot 等相关实验进行抗逆生理学鉴定; 利用表观遗传学、EMSA、ChIP、CoIP、Pull down 等方法解析其调控机制。通过 R-ChIP-dCas9-Strep 系统找到 *BpNAC90* 基因的上游调控因子。【结果】*BpNAC90* 属于白桦响应干旱的基因调控网络的顶层调控基因, 受干旱诱导, 并在干旱胁迫 3 h 时表达量达到最高, 且主要在根和叶中响应干旱胁迫, 说明其具有组织特异性。同时, *BpNAC90* 过表达植株能显著增加白桦的耐旱性, 其中包括增加根冠比、鲜重以及提高在土壤中的存活能力等, 说明 *BpNAC90* 基因对白桦的耐旱性起正向调控作用。*BpNAC90* 主要通过降低活性氧 (ROS) 以及过氧化氢 (H_2O_2) 的含量以及增加脯氨酸 (Pro) 的合成来降低干旱渗透对白桦造成的损伤, 从而对白桦耐旱性进行调控。*BpNAC90* 基因可以结合 EOMES2 (“AACACC”)、ABRE (“CACGTG”) 以及 Tgif2 (“TGTCA”) 元件来调控下游基因的表达。*BpNAC90* 可以通过转录后的磷酸化修饰来感应干旱胁迫, 通过增强其对下游靶基因的调控来应对干旱胁迫。*BpNAC90* 的第 205 位丝氨酸位点是其磷酸化位点, 当其突变成丙氨酸后, 丧失磷酸化功能。将其稳定转化野生型白桦后, 通过在干旱胁迫下的表型以及生理生化指标的测定, 发现在 *BpNAC90* 磷酸化修饰消失后, 其与元件的结合能力明显减弱, 同时对下游靶基因的表达调控能力降低, 进而降低调控抗旱的能力。*BpNAC90* 与蛋白激酶 BpSRK2A 蛋白互作进而产生磷酸化。通过 R-ChIP-dCas9-Strep 系统找到 BpZIP16、BpC3H14、BpAGL11、BpWHY1 以及 BpGeBP 转录因子, 可以通过结合 *BpNAC90* 启动子对其进行正调控。【结论】以上研究系统揭示了 *BpNAC90* 转录因子可以被干旱诱导, 与 BpSRK2A 蛋白互作发生磷酸化修饰, 增强与元件的结合能力, 从而显著诱导下游靶基因的表达, 上游调控因子通过结合其启动子对其正调控, 从而提高白桦抗旱能力的分子机制。