

Bioinformatics Analysis of Promoter Region of an AP2/EREBP Transcription Factor Gene *BrABR1* in Chinese Cabbage (*Brassica rapa* subsp. *Pekinensis*)

Chaofeng Wu, Chao Liu, Hui Zheng, Xiang Gao, Chaowei Deng, Hanbing Tuo, Chuan Deng, Yushan Deng, Liuxin Xiang*

Chongqing University of Posts and Communications, Chongqing

Email: *xianglx@cqupt.edu.cn

Received: Nov. 2nd, 2016; accepted: Nov. 22nd, 2016; published: Nov. 28th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

BrABR1 gene of Chinese cabbage belongs to the AP2/EREBP transcript factor family genes, which is involved in the phytohormone ABA and the stress response. By searching *BrABR1* gene in the NCBI, its cDNA sequence was 1299 bp (Gene ID: XM_009113908) and we obtained its 3377 bp promoter region. The results of bioinformatics analysis of the promoter region sequence of the *BrABR1* gene by using various SaaS showed that there were several TATA-box and CAAT-box in the promoter region; 162 cis-elements such as G-box, I-box, gibberellin response elements and other regulatory elements were found; there were three possible core promoter sequences, but no CpG island.

Keywords

Chinese Cabbage, *BrABR1* Gene, Promoter, Bioinformatics Analysis

大白菜AP2/EREBP转录因子基因*BrABR1*的启动子区生物信息学分析

吴朝峰, 刘超, 郑慧, 高翔, 邓朝伟, 度汉兵, 邓川, 邓聿杉, 向浏欣*

*通讯作者。

文章引用: 吴朝峰, 刘超, 郑慧, 高翔, 邓朝伟, 度汉兵, 邓川, 邓聿杉, 向浏欣. 大白菜 AP2/EREBP 转录因子基因 *BrABR1* 的启动子区生物信息学分析[J]. 植物学研究, 2016, 5(6): 180-185. <http://dx.doi.org/10.12677/br.2016.56023>

重庆邮电大学, 重庆
Email: *xianglx@cqupt.edu.cn

收稿日期: 2016年11月2日; 录用日期: 2016年11月22日; 发布日期: 2016年11月28日

摘要

大白菜*BrABR1*基因属于AP2/EREBP家族转录因子, 与植物激素脱落酸(ABA)和胁迫反应相关。*BrABR1*基因cDNA全长1299 bp, 基因登录号为XM_009113908。通过在NCBI上查找获取*BrABR1*基因的启动子区序列3377 bp片段。利用多种在线相关软件对*BrABR1*基因的启动子区序列预测知, 启动子区存在多个可能的TATA-box和CAAT-box, 以及126个顺式作用元件如G-box、I-box等光响应元件、赤霉素响应元件及其他调控元件; 含3个可能的核心启动子序列; 不含CpG岛。

关键词

大白菜, *BrABR1*基因, 启动子, 生物信息学分析

1. 引言

APETALA2/ethylene responsive element-binding protein(AP2/EREBP)蛋白是植物中一类多基因家族转录因子, 其主要特征是含有1个或2个由60~70个高度保守的氨基酸残基组成的AP2 DNA结构域。AP2/EREBP转录因子包括AP2、RAV、EREBP三个亚家族, 其中AP2亚家族主要在植物生长发育中起作用, 如调控花、分生组织、胚珠和种子发育[1][2][3][4]; EREBP和RAV亚家族主要在植物激素反应、生物或非生物胁迫应答(如冷、热、高盐、干旱)等方面起作用, 还调控很多基因的表达, 如非生物胁迫反应基因、乙烯反应基因等[5]-[11]。前期研究表明, 拟南芥AP2-like ABA repressor 1(*ABR1*)基因参与脱落酸ABA和胁迫条件(包括冷、高盐度和干旱)反应[12]; 茎瘤芥*ABR1*基因受高盐、低温等胁迫条件诱导表达[13]。

启动子是一段位于基因5'端上游区、能被RNA聚合酶识别、结合和起始转录的特定DNA序列[14][15][16]。目前, 能应用于植物基因工程的启动子还非常有限, 并且大多数存在某些局限性[17]。植物基因启动子具有很重要的研究意义, 其中有很多种重要的顺式作用元件, 在转录水平上参与调控相应基因表达, 从而使植物能够抵御外界环境胁迫[18]。大白菜*BrABR1*基因属于AP2/EREBP转录因子基因家族, 本研究利用生物信息学技术对大白菜*BrABR1*基因启动子区进行序列分析, 为*ABR1*基因调控区的分析与鉴定、基因表达调控研究奠定了基础。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

*BrABR1*基因结构

大白菜(*Brassica rapa* subsp.*pekinensis*) *BrABR1*基因登录号为XM_009113908, 定位于大白菜第9号染色体上, *BrABR1*基因cDNA长度为1299 bp, 编码381氨基酸。*BrABR1*基因组DNA长度为2155 bp, 含2个外显子和1个内含子。该基因尚未记录启动子序列。

2.2. 数据库

① 在线核酸序列数据库: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>。② CpG岛预测软件: CpGplot Searcher

(<http://www.bioon.com.cn/doc/showarticle.asp?newsid=1115>)；CpG Finder (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=cpgfinder&group=programs&subgroup=promoter>)。③ 启动子在线分析软件：BDGP (http://www.fruitfly.org/seq_tools/promoter.html)。④ 转录结合位点预测软件：Plantcare (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)；Place (<http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/signalup.html>)；TSSP (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=tssp&group=programs&subgroup=promoter>)。

2.3. 实验方法

2.3.1. *BrABR1* 基因序列的获取

在 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> 数据库中检索获得大白菜 *BrABR1* 基因，基因登录号为 XM_009113908。

2.3.2. *BrABR1* 基因启动子区序列的获取

在 NCBI 的 GenBank 中查找，获得大白菜 *BrABR* 基因的 mRNA 在基因序列图上的定位，并获取该基因翻译起始位点上游-3377 bp 的序列，如图 1 所示。

2.3.3. *BrABR1* 基因核心启动子预测

通过 BDGP 启动子分析在线软件对 *BrABR1* 基因翻译起始位点上游-3377 bp 的启动子区进行核心启动子预测。

2.3.4. *BrABR1* 基因启动子区顺式作用元件分析

利用 Plantcare、Place 和 TSSP 转录因子结合位点预测软件，输入 *BrABR1* 基因翻译起始位点上游-3377 bp 序列，搜索后获得该基因启动子区顺式作用元件。

2.3.5. *BrABR1* 基因启动子区 CpG 分析

输入 *BrABR1* 基因翻译起始位点上游-3377 bp 序列，按照 CpGplot Searcher 和 CpG Finder 预测软件默认条件进行预测分析。

3. 结果

3.1. 大白菜 *BrABR1* 基因启动子预测结果

利用 BDGP (Berkeley Drosophila Genome Project (伯克利果蝇基因组计划) Neural Network Promoter Prediction) 软件进行预测，得到 3 个可能的核心启动子序列，结果如表 1 所示。

3.2. *BrABR1* 基因启动子区 CpG 岛的预测

在线软件 CpGplot Searcher 和 CpG Finder 预测均未发现 CpG 岛。

3.3. *BrABR1* 基因启动子区顺式作用元件的预测

经 Plantcare 和 TSSP 等软件分析发现，在翻译起始密码子上游存在着多个可能的 TATA-box 和 CAAT-box。经 PLACE 软件分析获得转录因子结合位点获得大白菜 *BrABR1* 基因启动子转录起始点上游-3377 bp 的正负链顺式作用元件共计 126 个 [18]，主要包括核心元件：TATA-box、CAAT-box；光调控元件：IBOXCORE、REALPHALGLHCB21、REBETALGLHCB21、RYREPEATGMGY2、RYREPEATLEGUMINBOX、SORLIP1AT；低温响应原件：DRECRTCOREAT、LTRECOREATCOR15；赤霉素相关元件：GAREAT、MYBGAHV、WRKY71OS；自身反馈元件：CARGCW8GAT [19]。大白菜 *BrABR1* 基因启动区序列具体顺式作用元件位点

标注*斜体 ATG: 起始密码子; 阴影: 预测核心启动子序列; : TATA-box; : CAAT-box; : 光响应元件(包括 G-box、Box I、Box 4、Sp1、chs-CMA1a 等); : 赤霉素响应元件(GARE-motif); : 热诱导响应相关顺式作用元件(HSE); : 低温响应元件(LTR)

Figure 1. Sequence analysis of *BrABR1* promoter from Chinese cabbage

图 1. 大白菜 *BrABR1* 基因启动子序列分析

Table 1. Predicted results of core promoter sequences in *BrABR1***表 1. *BrABR1* 基因核心启动子序列预测结果**

软件				预测结果
	Start	End	Score	
BDGP	300	350	0.95	ACATGTATTATATAAAAATGATTGATCAAGTTTAATTTCCTTT
	1431	1481	0.81	AAGGACACTATATATACGTATACGCCGTGATGAACTAATTAAGTTGATCA
	2092	2142	0.90	AAACAAACTATATAAGGAAGCGGTTGATCAAAGAAAAAGGGAAAGC

如图 1 所示。

4. 讨论

ABR1 基因属于 AP2/EREBP 转录因子家族，与植物激素 ABA 和逆境反应相关[12]，大白菜 *BrABR1* 基因启动子区序列分析对 *BrABR1* 基因调控区的分析与鉴定、基因表达调控研究奠定了基础。

DNA 甲基化是一种表观遗传修饰，它是由 DNA 甲基转移酶催化 S-腺苷甲硫氨酸作为甲基供体，将胞嘧啶转变为 5-甲基胞嘧啶(mC)的一种反应[20]。一般来说，DNA 的甲基化会抑制基因的表达，其基因的序列并没有因此而发生改变。DNA 甲基化能够直接或间接的抑制基因的转录，通过甲基化直接影响蛋白质因子的结合活性从而不能起始基因转录，或者通过染色体构象的改变、与甲基化 CpG 结合的蛋白因子间接影响转录因子与 DNA 的结合[21]。本研究使用 CpGFinder 软件，并未预测到 CpG 岛的存在，故推测不存在该启动子区域甲基化 CpG 对基因表达的调控。

BDGP 软件对基因启动子进行了分析预测，发现在转录起始密码子相近区域没有核心序列，最相近的一个启动子核心区域也相差将近 1000 bp，这说明是转录起始密码子不是转录起始位点。通过核心序列可进一步确定转录起始位点，对于分析启动子核心元件和顺式作用元件有重要作用。由于利用生物信息学的方法对核心启动子序列的预测只具有部分参考作用，具体的核心序列的确定可能还需通过实验方法进行验证。众所周知，外源基因在细胞中的表达是基因工程研究的关键，而外源基因的表达首先取决于其转录的启动[18][19][22]。

转录因子在植物的各种应答反应中具有重要的作用。转录因子，又称反式作用因子，它是在转录起始复合体组装的过程中，通过与启动子区域和 RNA 聚合酶相互作用从而影响转录效率的一种蛋白质。针对发育阶段的不同信号和来自外界环境的不同刺激，不同的转录因子可做出其相关反应，结合顺式作用元件，从而对基因的转录起激活或抑制的作用，进而调控不同基因的表达[23]。Plantcare、TSSP 等软件分析获得大白菜 *ABR1* 基因启动子转录起始点上游 3377 bp 正负链顺式作用元件 126 个，包括核心元件 TATA-box 和 CAAT-box，其他还包括光调控元件、低温响应原件、赤霉素相关元件、自身反馈元件等。因此预测该启动子的表达可能受赤霉素的调控；还可能受外界非生物胁迫反应相关，与拟南芥 *ABR1* 基因参与植物非生物胁迫反应一致。

基金项目

重庆市基础与前沿研究计划一般项目(cstc2014jcyjA80032)。

参考文献 (References)

- [1] Jofuku, K.D., den Boer, B.G., Van Montagu, M., et al. (1994) Control of *Arabidopsis* Flower and Seed Development by the Homeotic Gene *APETALA2*. *Plant Cell*, **6**, 1211-1225. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.9.1211>

- [2] Imin, N., Nizamidin, M., Wu, T., et al. (2007) Factors Involved in Root Formation in *Medicago truncatula*. *Journal of Experimental Botany*, **58**, 439-451. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl224>
- [3] El Ouakfaoui, S., Schnell, J., Abdeen, A., et al. (2010) Control of Somatic Embryogenesis and Embryo Development by AP2 Transcription Factors. *Plant Molecular Biology*, **74**, 313-326. <https://doi.org/10.1007/s11103-010-9674-8>
- [4] Kitomi, Y., Ito, H., Hobo, T., et al. (2011) The Auxin Responsive AP2/ERF Transcription Factor *CROWN ROOTLESS5* Is Involved in Crown Root Initiation in Rice through the Induction of *OsRR1*, a Type-A Response Regulator of Cytokinin Signaling. *The Plant Journal*, **67**, 472-484. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04610.x>
- [5] Nakashima, K., Shinwari, Z.K., Sakuma, Y., et al. (2000) Organization and Expression of Two *Arabidopsis* DREB2 Genes Encoding DRE-Binding Proteins Involved in Dehydration- and High-Salinity-Responsive Gene Expression. *Plant Molecular Biology*, **42**, 657-665. <https://doi.org/10.1023/A:1006321900483>
- [6] Sohn, K.H., Lee, S.C., Jung, H.W., et al. (2006) Expression and Functional Roles of the Pepper Pathogen-Induced Transcription Factor RAV1 in Bacterial Disease Resistance, and Drought and Salt Stress Tolerance. *Plant Molecular Biology*, **61**, 897-915. <https://doi.org/10.1007/s11103-006-0057-0>
- [7] Bihani, P., Char, B. and Bhargava, S. (2011) Transgenic Expression of Sorghum DREB2 in Rice Improves Tolerance and Yield under Water Limitation. *Journal of Agricultural Science*, **149**, 95-101. <https://doi.org/10.1017/S0021859610000742>
- [8] Carvalho, M.A., Pino, M.T., Jeknic, Z., et al. (2011) A Comparison of the Low Temperature Transcriptomes and CBF Regulons of Three Plant Species That Differ in Freezing Tolerance: *Solanum commersonii*, *Solanum tuberosum*, and *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, **62**, 3807-3819. <https://doi.org/10.1093/jxb/err066>
- [9] Li, C.W., Su, R.C., Cheng, C.P., et al. (2011) Tomato RAV Transcription Factor Is a Pivotal Modulator Involved in the AP2/EREBP Mediated Defense Pathway. *Plant Physiology*, **156**, 213-227. <https://doi.org/10.1104/pp.111.174268>
- [10] Mizoi, J., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2011) AP2/ERF Family Transcription Factors in Plant Abiotic Stress Responses. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1819**, 86-96. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.08.004>
- [11] Zhuang, J., Sun, C.C., Zhou, X.R., et al. (2011) Isolation and Characterization of an AP2/ERF-RAV Transcription Factor BnaRAV-1-HY15 in *Brassica napus* L. HuYou 15. *Molecular Biology Reports*, **38**, 3921-3928. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0508-1>
- [12] Pandey, G.K., Grant, J.J., et al. (2005) ABR1, an APETALA2-Domain Transcription Factor That Functions as a Repressor of ABA Response in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **139**, 1185-1193. <https://doi.org/10.1104/pp.105.066324>
- [13] 向浏欣, 夏玉先, 蔡应繁, 等. 茎瘤芥 AP2/EREBP 转录因子基因 *BjABR1* 的克隆和表达分析[J]. 园艺学报, 2014, 41(1): 89-98.
- [14] 呂兆勇, 赵春梅, 薛仁镐. 葡萄逆境胁迫诱导启动子的克隆及表达分析[J]. 华北农学报, 2016, 31 (1): 77-82.
- [15] 夏江东, 夏平. 高等植物启动子功能和结构研究进展[J]. 楚雄师范学院学报, 2005, 20 (3): 41-48.
- [16] 杨晓娜, 赵昶灵, 李云, 等. 启动子序列克隆和功能分析方法的研究进展[J]. 云南农业大学学报, 2010, 25(5): 712-720.
- [17] 郭荣起, 苏杰, 王福慧, 等. 拟南芥 VHA-c3 启动子的 GUS 基因融合表达[J]. 中国生物工程杂志, 2008, 28(7): 58-62.
- [18] 聂丽娜, 夏兰琴, 徐兆师. 植物基因启动子的克隆及其功能研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(3): 385-391.
- [19] 汪潇琳, 陈艳萍, 喻德跃. MADS-box 基因 GmAGL15 在大豆种子发育过程中的表达[J]. 作物学报, 2008, 34(2): 330-332.
- [20] Takai, D. and Jones, P.A. (2002) Comprehensive Analysis of CpG Islands in Human Chromosomes 21 and 22. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 3740-3745. <https://doi.org/10.1073/pnas.052410099>
- [21] Kurkjian, C., Kummar, S. and Murgo, A.J. (2008) DNA Methylation: Its Role in Cancer Development and Therapy. *Current Problems in Cancer*, **32**, 187-235. <https://doi.org/10.1016/j.cucrprobancer.2008.08.002>
- [22] 宋扬, 周军会, 张永强. 植物组织特异性启动子研究[J]. 生物技术通报, 2007(6): 21-24.
- [23] Robertson, K.D. (2005) DNA Methylation and Human Disease. *Nature Reviews Genetics*, **6**, 597-610. <https://doi.org/10.1038/nrg1655>

期刊投稿者将享受如下服务：

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org