

植物化學可誘導 基因表現系統

Chemically regulated
gene expression in plants

主講人：蔡宇淳

指導教授：常玉強 助理教授

時間地點：4月8日 農藝系館 112R

一、前言

阿拉伯芥與水稻基因組相繼完成定續後，接下來的工作就是了解各基因的功能與基因間的交互作用。在研究植物生長發育、植物生理上，常需要特定的表現或抑制某基因，才能進行研究，例如研究過量或抑制某基因是否影響植物正常生長發育。其中，最重要的是**精確控制基因表現時間**。

這類可針對某特定基因進行誘導或抑制的系統(持續基因表現系統所無法達到)，亦可應用於產業中。目前，不同可誘導系統，分別用於分析基因功能、去除標誌基因的植物轉殖方法、特定條件下之過量表現研究、co-suppression研究、site-specific DNA excision、activation tagging、恢復雄稔性、利用植物生產工業用或藥用材料...等。

可誘導系統中，誘導劑的選擇也十分重要，目前較常用來誘導的化合物質包括四環素、dexamethasone、雌激素、銅離子、乙醇、methoxyfenozide。

要成為能廣泛應用的可誘導系統必須符合以下幾點：

1. 誘導劑對植物無毒害
2. 誘導劑對特定啟動子具有高度專一性
3. 誘導後具低背景而高誘導表現
4. 反應快速，去除誘導劑後可快速停止表現
5. 誘導劑使用濃度範圍廣，低濃度誘導劑即可誘導基因表現
6. 方便施用，從葉片或從根部吸收皆可
7. 誘導物質為植物本身所沒有的，避免內生物質干擾表現
8. 誘導劑便宜

目前，利用非植物內生的材料，已發展出多套可誘導系統，將在此依序介紹。

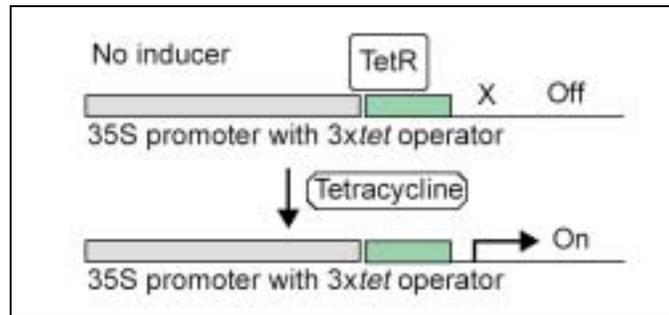
這些系統通常包含兩個轉錄基本單位(transcription units)：

1. 轉錄因子：對誘導劑有反應的轉錄因子，通常使用持續表現啟動子或具細胞/組織/生長發育特異性之啟動子
 2. Response element：可與轉錄因子、目標基因結合
- 而理論上成功轉殖株只在加入誘導劑後才會表現目標基因。

二、各可誘導系統介紹

(I) Tetracycline repressor(TetR)-based, tetracycline inducible system [1988]

◎原理：*Escherichia coli*中，TetR會與目標基因的tetracycline(tet) 操縱子結合，阻止基因進行轉錄作用。加入誘導劑---tetracycline後，誘導劑與TetR結合，造成抑制子構形改變，使TetR離開操縱子→目標基因得以表現。



◎成功例子：菸草全株、馬鈴薯全株、番茄全株、菸草SR1與Bright Yellow2(BY2)細胞系。

1. 菸草全株：

- 利用此可誘導系統研究cytokinin載訊息傳導中所扮演的角色。已知isopentenyl transferase (ipt)為植物體內合成cytokinin的重要酵素之一，而少量的ipt蛋白即可合成cyctokinin，並看到突變株型態上的差異，因此藉由調節ipt表現量來研究此議題。[Faiss *et al.* 1996]
- 利用轉殖菸草葉片，大量生產燕麥的arginine decarboxylase。[Masgrau *et al.* 1996]

2. 馬鈴薯全株：

利用可誘導啟動子執行antisense RNA實驗。[Kumar *et al.* 1995]

3. 番茄全株：

葉片與果實中誘導後都可高度表現。[Thompson *et al.* 1997]

4. SR1細胞系：

GUS背景表現與誘導表現量都很高。[Boetti *et al.* 1999]

5. BY2細胞系：

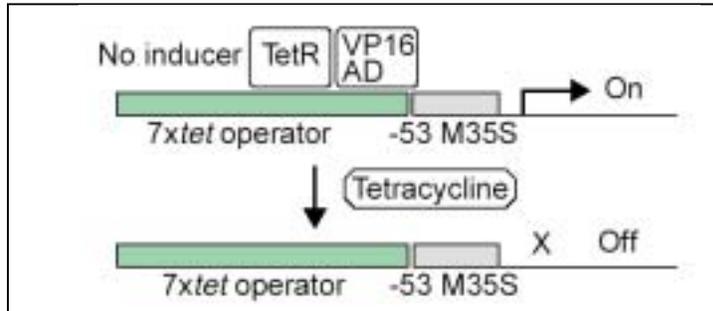
在無誘導劑時，無GFP(green florescent protein)表現，當產生高濃度TetR時，此系統經證實可在轉錄層次上進行基因調控。[David *et al.* 2001]

◎失敗例子：阿拉伯芥，因為無法得到足量的TetR。

◎缺點：細胞核中需要大量TetR才能有效進行repression工作，然而此高濃度TetR對某些植物是有毒性的。

(II) Tetracycline repressor-based, tetracycline-inactivatable system [1994]

原理：將TetR與VP16 AD融合，形成tTA(tetracycline-controlled transcriptional activator)。無誘導劑時，tTA與目標基因啟動子區域的tet操縱子結合，啟動基因表現；加入誘導劑，基因停止表現。



成功例子：阿拉伯芥、菸草[Pamela and Gatz *et al.* 1994]、moss *Physcomitrella patens* [Zeidler *et al.* 1996]

1.阿拉伯芥：

得到可表現tTA的同型結合體(homozygous)品系後，將此品系與含有 tetracycline-inactivated 啟動子Top10 (包含7個tet操縱子、35S啟動子)植株雜交，並以GFP為報導基因，用以測試不同 tetracycline濃度時基因的表現量。[Love *et al.* 2000]

2.菸草NT1細胞系：

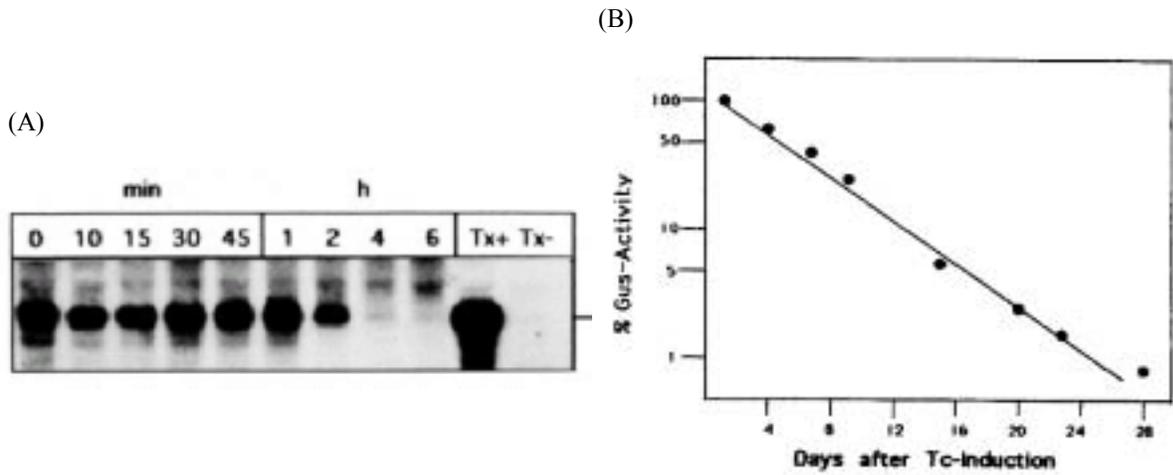
Love等人測試tetracycline與五種類似物(anhydrotetracycline, doxycycline, minocycline, oxytetracycline, oxytetracycline, glucocorticoid receptor GR33076X)在菸草NT1細胞系中Top10 啟動子的誘導效果。結果：doxycycline最有效，4nM濃度即可完全抑制GUS基因表現； tetracycline在10nM時才可抑制GUS表現，但與其他類似物相較，去除誘導劑後較容易回復 GUS表現。[Love *et al.* 2002]

3.菸草BY2細胞系：

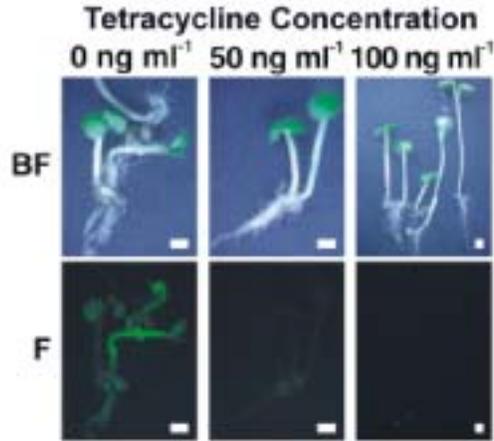
此系統可用於研究基因產物的穩定性，目前已成功在菸草BY2細胞中測量mRNA decay速率。[Gil *et al.* 1995]

4.TetR與tTA系統都是以抑制啟動子為基礎，但在真核生物中”活化啟動子”比”抑制啟動子”更能精確調控基因轉錄。因此，Gossen等人發展出reverse TetR-based transcription，加入誘導劑(tetracycline)後，reverse抑制子與VP16活化區域才會與DNA結合。

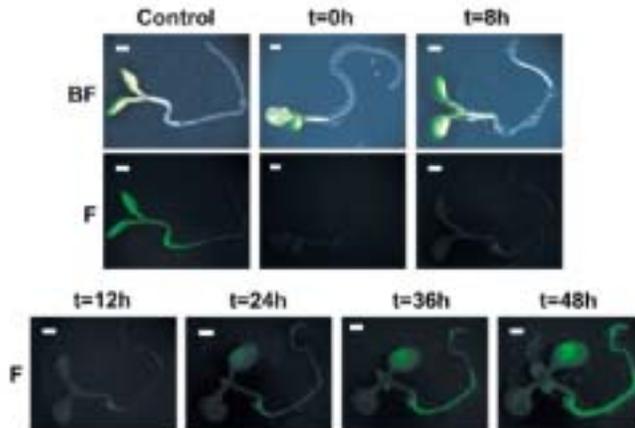
優點：相較於系統I，背景表現較低。



圖一、tTA可誘導系統不同誘導時間下轉植株菸草GUS表現量。(A)GUS mRNA表現量，將轉植株菸草葉片置於含1mg/L之MS培養基中，依圖示時間收集葉片，結果發現誘導1小時後，RNA半衰期小於一小時。(B)Gus表現量測定，將轉植株菸草培養於水耕液，依不同時間各收集8葉片，結果發現誘導四週後Gus活性只有原來1%，得知Gus活性在此系統中半衰期約為3-4天。[Pamela and Gatz *et al.* 1994]



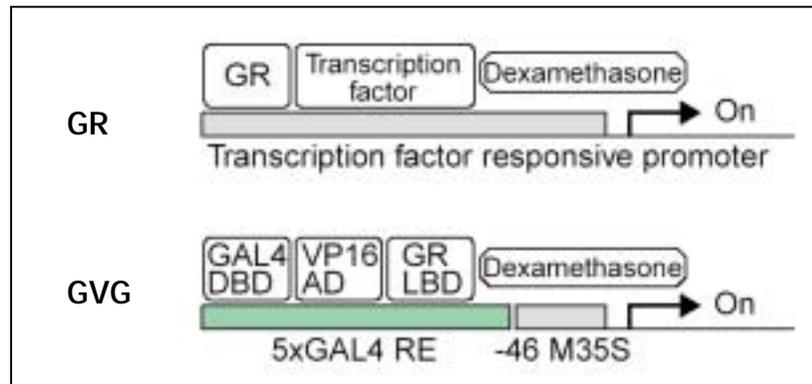
圖二、誘導劑濃度與阿拉伯芥轉植株GFP表現量關係。將含有tTA與GFP的轉植株以Bright field(BF)、Fluorecence(F)照射。種子分別培養於含0、50、100ng/ml tetracycline中五天，結果發現在100ng/ml濃度下，GFP完全停止表現。[Love *et al.*2000]



圖三、tTA可誘導系統不同誘導時間下轉植株阿拉伯芥GFP表現量。將轉植株種子培養於含100ng/ml tetracycline中五天後進行測試，洗去誘導劑(30min)，觀察GFP表現變化。結果發現去除誘導劑後48小時可完全恢復GFP表現。[Love *et al.*2000]

(III) Glucocorticoid receptor-based, steroid inducible system [1994]

原理：哺乳類中，腎上腺促糖皮質激素、雌激素、及其他類固醇的受體都可當作molecular switch應用，可調控與受體融合的蛋白。無誘導劑時，融合蛋白與heat shock protein 90形成複合體存於細胞質中，此複合體利用立體結構障礙或阻止其nuclear localization，達到抑制融合蛋白活性。由於並非所有蛋白皆為轉錄活化子，因此科學家以上述為基礎，將GR LBD與VP16 AD、GAL4 DBD融合成GVG系統。[Picard *et al.* 1994]



◎成功例子：阿拉伯芥、菸草

1. Glucocorticoid receptor (GR) 與植物轉錄活化子融合，產生類固醇可誘導活化子，可用於研究控制trichome發育、葉片型態、開花時間、誘導開花...等。

2. 阿拉伯芥、菸草：

在含有GVG活化子(包含GAL4蛋白、VP16 AD、GR LBD之嵌合蛋白)的轉植株中，加入dexamethasone(合成的GR配體)，LUC其表現為原本的100倍，此系統被用來表現不同基。
[Chua *et al.* 1997]

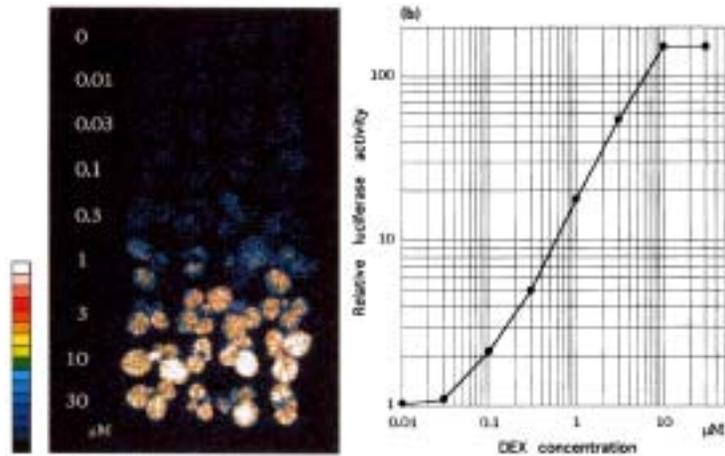
3. 菸草：

Mori等人以GVG可誘導系統為工具，在菸草中利用可誘導的病毒複製酶(BMV replicase)，表現外來基因，其目的為利用植物表現大量外來蛋白。作者製造可產生人類gamma-interferon之病毒RNA，實驗結果發現，利用此系統所產生的gamma-interferon是利用35S持續表現啟動子的300倍。[Mori *et al.* 2001]

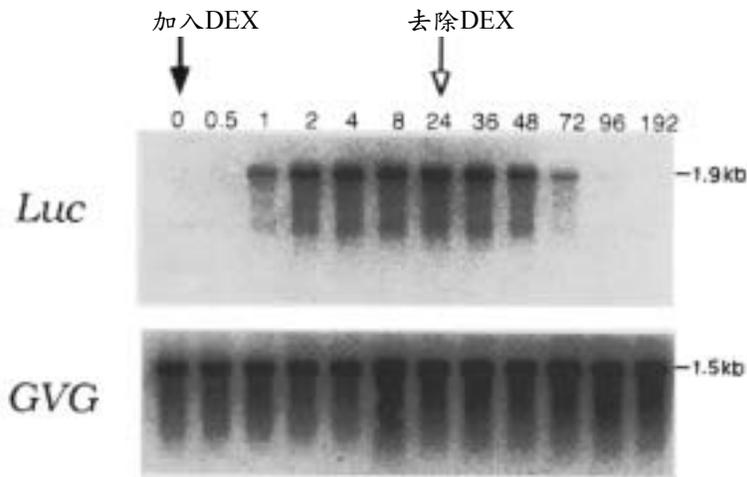
◎缺點：此系統(GR、GVG)會同時誘導防衛性基因表現、加入dexamethasone會出現間歇毒性。
改進方法：

選擇少量活化子即可進行誘導工作的植物或尋找dexamethasone類似物，降低誘導劑對植物的毒性。

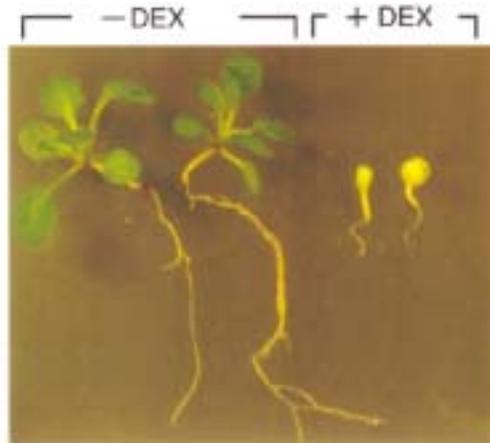
◎優點：許多植物並不會合成固醇類化合物，因此不外加類固醇就不會活化基因表現。



圖四、誘導劑濃度與Luc表現量關係。(a)不同的LUC活性，以不同顏色顯示之，白色表現最強，深黑色表現最弱。(b) 轉殖菸草在不同濃度誘導劑(DEX)下，LUC相對活性；1為DEX=0 μ M的表現量。[Chua *et al.* 1997]



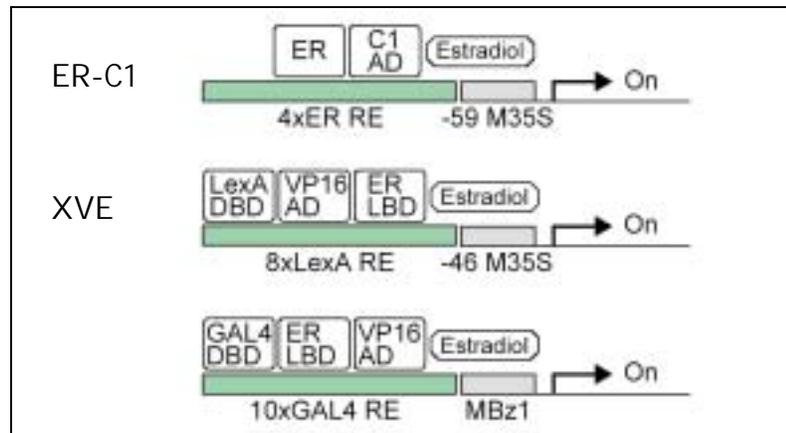
圖五、GVG可誘導系統不同誘導時間下Luc表現量。加入誘導劑後，觀察Luc mRNA的表現量變化。將含有GVG與Luc基因的轉殖菸草於培養基上培養14天後以水耕培養3天，再加入10 μ M DEX。抽取植物所有RNA，以Luc、GVG基因為探針進行北方雜合分析。[Chua *et al.* 1997]



圖六、利用轉殖阿拉伯芥，分別培養於含有0 μ M與30 μ M的DEX培養基上16天，發現加入誘導劑者發育受到影響。

(IV) Estrogen receptor-based , steroid-inducible system [2000]

◎原理：由先前文獻中可知，雌激素受體若與AD、DBD形成融合蛋白，將使此LBD在植物體內容易控制，並有高度可誘導性。



成功例子：甜玉米細胞、阿拉伯芥、菸草、BY2細胞系、水稻

1. 甜玉米細胞：

Bruce等人將人類與玉米的C1 AD(ER-C1)做成融合蛋白，用來研究玉米中參與flavonoid pathway的基因。這群作者以墨西哥甜玉米細胞為材料，將玉米轉錄因子CRC、P轉殖入植物細胞，加入誘導劑---estradiol後，可活化許多參與anthocyanin pathway的基因。藉由比較受誘導與無誘導細胞，了解不同基因表現，然而，ER-C1可誘導系統尚未在轉殖植株中測試。[Bruce *et al.* 2000]

2. 阿拉伯芥、菸草：

Zuo等人同樣以ER為基礎，發展出XVE可誘導系統，與上述ER-C1系統不同，此系統由ER與LexA蛋白(來自*E. coli*)、VP16 AD融合而成。在轉殖阿拉伯芥與菸草中，不同濃度的estradiol都可讓XVE產生反應，且誘導後GFP表現量比35S::GFP轉殖株高出數倍，易於偵測。[Zuo and Chua *et al.* 2000]

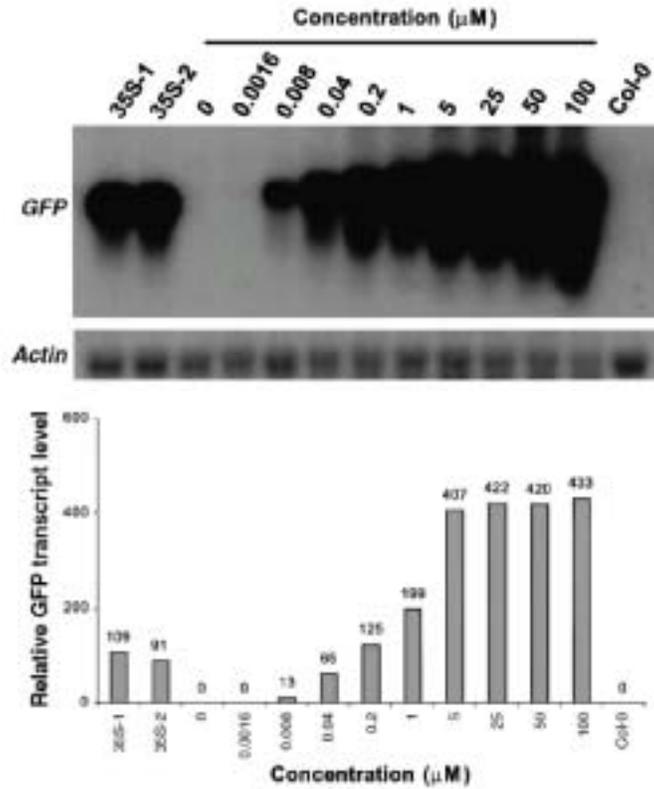
3. 阿拉伯芥：

- 利用XVE系統，以site-specific recombination方法去除轉殖株中的篩選標誌(selectable marker)。[Zuo and Chua *et al.* 2001]
- 以activation tagging方法找出與植物生長相關的活化子基因。利用可誘導啟動子系統，去除誘導劑後，使突變株能恢復野生種外表型態。[Zuo and Chua *et al.* 2002]

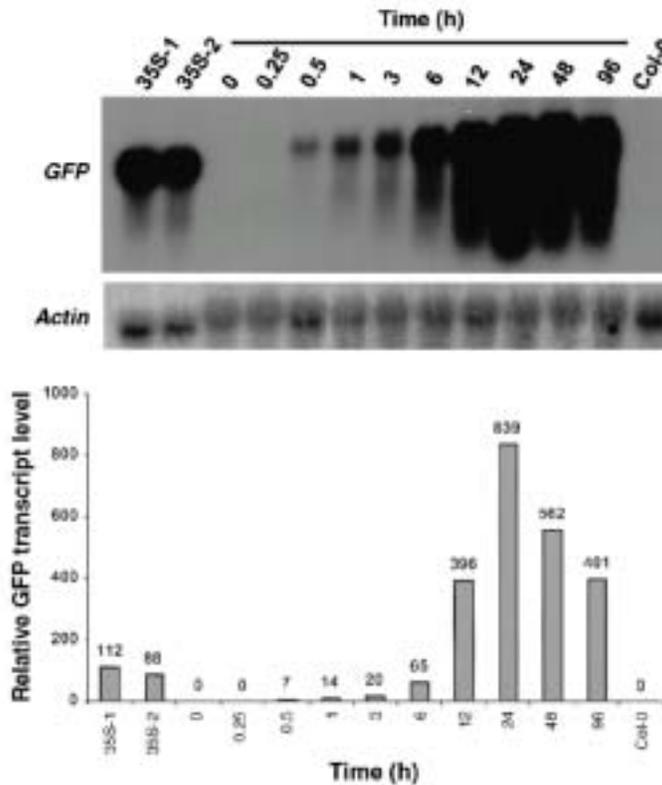
4. 水稻：

Zhang等人將ER與VP16 AD、GAL4 DBD融合而成，加入誘導劑後，LUC活性增加數千倍，移除estradiol後一天內能停止基因表現，且可重複誘導數次。[Zhang *et al.* 2001]

◎ 優點：誘導劑對植物無毒害現象。



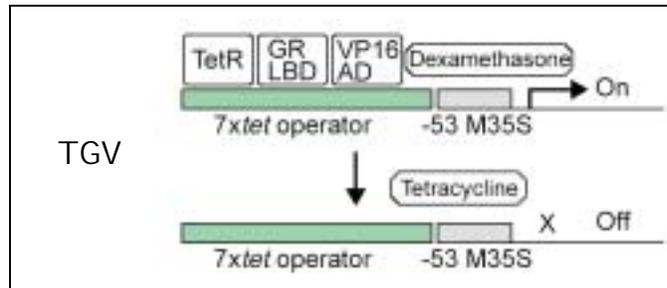
圖七、誘導劑濃度與轉殖株GFP表現量關係。將轉殖菸草於無誘導劑培養基上培養20天後，分別以不同濃度誘導劑(17-β-estradiol)進行測試，同樣誘導16小時，抽取植株RNA，以GFP cDNA為探針進行北方雜合反應。以35S-GFP表現量為100%作出相對表現量圖。[Zuo and Chua *et al.* 2000]



圖八、XVE可誘導系統不同誘導時間下轉殖株GFP表現量。將轉殖菸草(同型結合種子)於無誘導劑培養基上培養20天後，加入2μM誘導劑(17-β-estradiol)，抽取植株RNA，以GFP cDNA為探針進行北方雜合反應，觀察不同時間下GFP表現量。[Zuo and Chua *et al.* 2000]

(V) Glucocorticoid receptor-,tetracycline repressor-based dual control system [1999]

原理：Böhner等人利用TGV融合蛋白(融合TetR、GR LBD、VP16 AD)，調控基因表現與否。加入dexamethasone時可誘導基因表現；加入tetracycline時則可停止基因表現。



成功例子：阿拉伯芥、菸草、BY2細胞

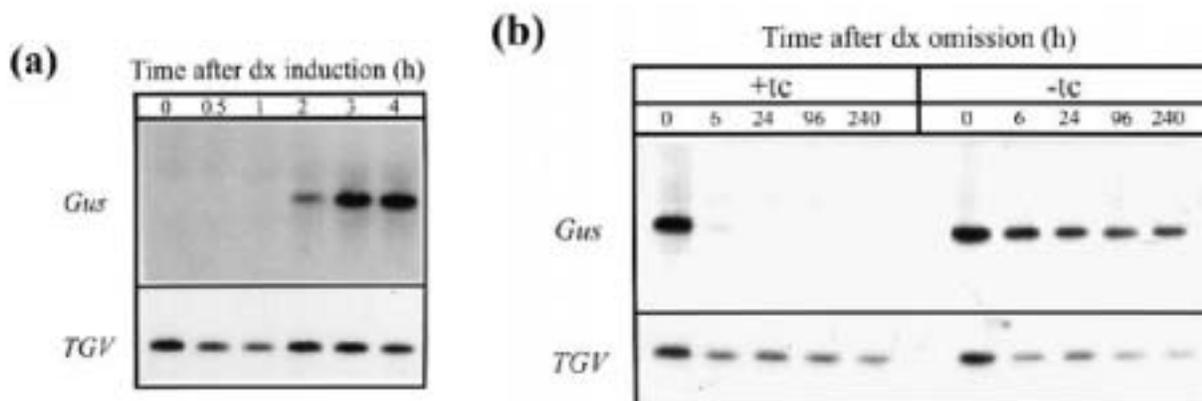
1.阿拉伯芥：

表現TGV融合蛋白及可誘導之GUS基因。其缺點為在某些組織中，其背景表現過高，例如：莖頂、水孔、一些primary vasculature，不同植物中背景表現量歧異度高，多表現於分化中細胞*；優點為加入dexamethasone後，大多數植物在所有組織中都有高量GUS表現，此可誘導系統在植物中並不影響生長，且加入誘導劑後，GUS活性為平常的50倍*。

2.菸草：以TGV融合蛋白自Top10啟動子調控GUS表現。[Böhner and Gatz *et al.* 1999]

3.BY2細胞：

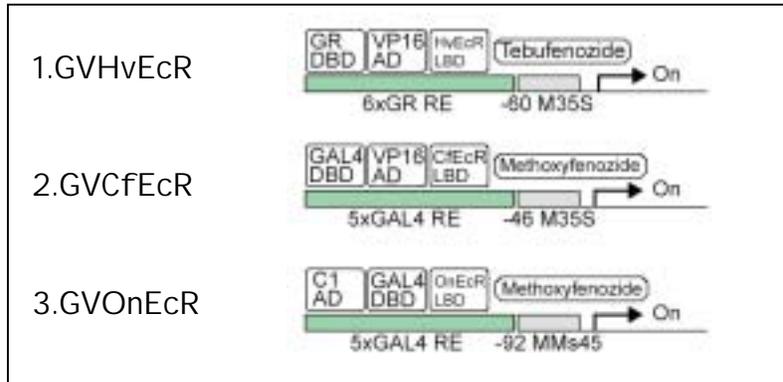
其背景表現低(GUS與GFP)，但加入dexamethasone後可使基因表現；加入anhydrotetracycline後可抑制基因表現。其誘導表現/抑制時的誘導劑使用量為dexamethasone (0.1 mM)、anhydrotetracycline (100 ng/ml)，都對植物無害*。



圖九、誘導劑與Gus表現量關係。(a)含TGV之轉殖菸草以水耕液培養，t=0時加入dx(30μM)，抽取植株RNA，以Gus、TGV為探針分別進行北方雜合反應，在不同誘導時間下觀察Gus、TGV表現量，結果發現RNA最大表現量為誘導3小時之結果。(b) 含TGV之轉殖菸草以含有dx之水耕液培養14天，t=0時表示更換水耕液成含tc(1mg/ml)者，抽取植株RNA，以Gus、TGV為探針分別進行北方雜合反應，在不同誘導時間下觀察Gus、TGV表現量，結果發現，加入tc後6小時可完全停止表現，至於沒加入tc者，由於先前培養於含dx水耕液，藥劑仍累積在植物體內，因此仍可測出隨時間遞減之Gus活性。[Böhner and Gatz *et al.* 1999]

(VI) Ecdysone receptor-based, insecticide inducible system [1998]

原理：EcR為類固醇受體的一員，在昆蟲體內可與ultraspiracle protein(USP)及ecdysteroid結合，調控昆蟲的生長發育。誘導劑，Rohm與Hass等人找到一些非類固醇的競爭物(對生物無害、結合力高)，可廣為應用。



◎成功例子：阿拉伯芥、菸草、BY2細胞、玉米

1. 菸草：

Martinez等人利用GR DBD、GR、VP16AD、Heliothis virescens EcR LBD創造出活化子，加入誘導劑(tebufenozide)後此活化子會誘導基因表現，其誘導表現量為不加誘導劑表現量40倍，且與轉殖35S::GUS基因的轉植株相比，誘導表現量為150%。[Martinez *et al.* 1999]

缺點：背景表現量過高(由於T-DNA插入位置不同造成)，約有35S::GUS轉植株1-5%表現量。

2. 阿拉伯芥、菸草、BY2細胞：

Padidam等人從Cloristoneura fumiferana中取出EcR。此實驗測試GAL4或LexA DBD、VP16 AD、EcR LBD不同排列位置、方向，找出具有低背景表現與高誘導表現的組合。[Padidam *et al.* 2003]

結果：

- 成功做出符合條件之轉殖菸草與阿拉伯芥，即背景表現低而誘導表現高
- 誘導劑(methoxyfenoside)的適用濃度範圍很廣
- methoxyfenoside在植物中的活性為tebufenozide 6-10倍
- 加入誘導劑後，具有系統性表現

未來應用：

此系統將可在菸草BY2細胞中表現水稻的轉錄因子*。此外，也可在阿拉伯芥中表現菸草鑲嵌病毒的鞘蛋白*，此含有可誘導鞘蛋白的轉殖阿拉伯芥，當誘導劑存在時，可對抗病毒感染。

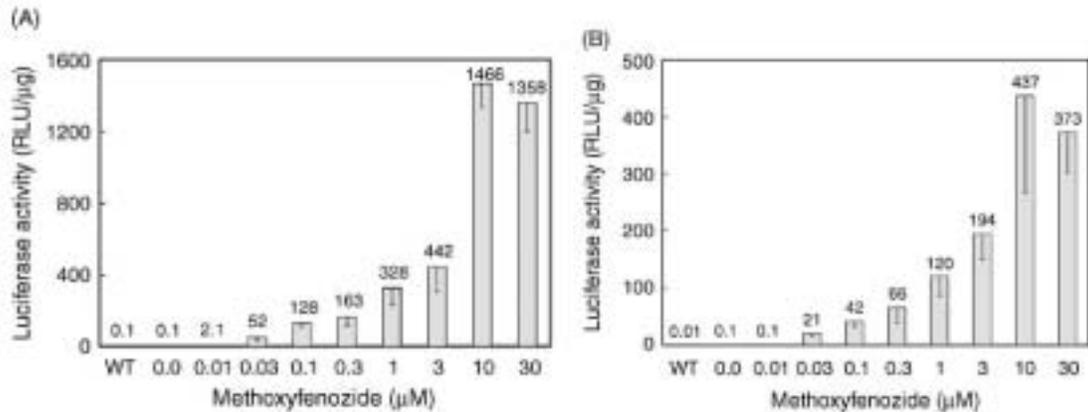
3. 玉米：

Unger等人所構築的嵌合活化子包含Ostrinia nubilalis EcR LBD、maize C1 AD、GAL4、DBD。利用此系統誘導玉米雄不稔ms45突變株之可恢復稔性基因---MS45，MS45蛋白質表現於反光色素層(tapetum)，將誘導劑methoxyfenozide加入土中(1200 mg/盆)，使之到達反光色素層並誘導MS45基因表現，必須維持一段表現時間，使玉米能再度授粉。[Unger *et al.* 2002]

◎優點：

1. Methoxyfenozide為有登記的農業用藥
2. 具有系統性
3. 可用於實驗室或田間上應用
4. 多數作物僅含少量phytoecdysteroids
5. 利用來自不同昆蟲的EcRs，可以不同誘導劑分別誘導不同基因。

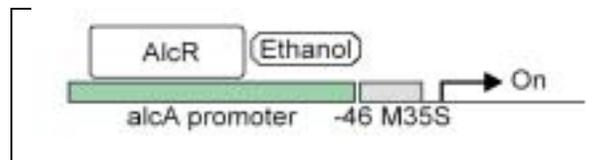
◎缺點：葉片對誘導劑吸收效果差。



圖十、誘導劑濃度與Luc表現量關係。(A)轉殖阿拉伯芥種子以不同誘導劑濃度，培養17天後測Luc活性，結果發現0.01μM即可誘導基因表現，且Luc活性隨誘導劑增加而增加，10μM時達最高表現量。(B)轉殖菸草，0.03μM可誘導基因表現，同樣的10μM時達最高表現量。[Padidam *et al.* 2003]

(VII) AlcR-based, ethanol-inducible system [1991]

原理：在Aspergillus nidulans中，乙醇會與轉錄活化子AlcR結合，AlcR構形改變，使之與AlcA啟動子結合，開啟基因表現。



成功例子：菸草、馬鈴薯、阿拉伯芥

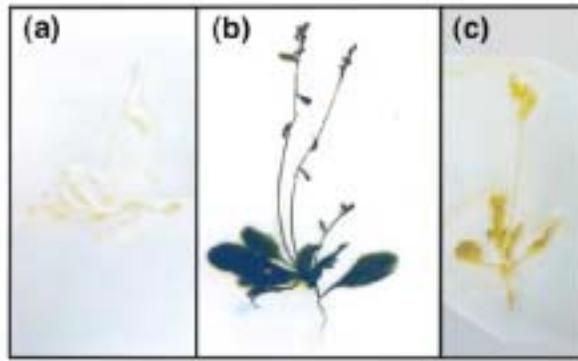
1. 菸草、馬鈴薯：

1998年Caddick與Salter等人在植物內持續表現AlcR，將目標基因與AlcA啟動子融合，成功誘導基因表現。此外，AlcR對一些沒毒性的化合物有反應，包括酞安酸、乙基胺、propan-1-ol、butan-2-ol等，皆可於田間上應用。[Caddick *et al.* 1998 ; Salter *et al.* 1998]

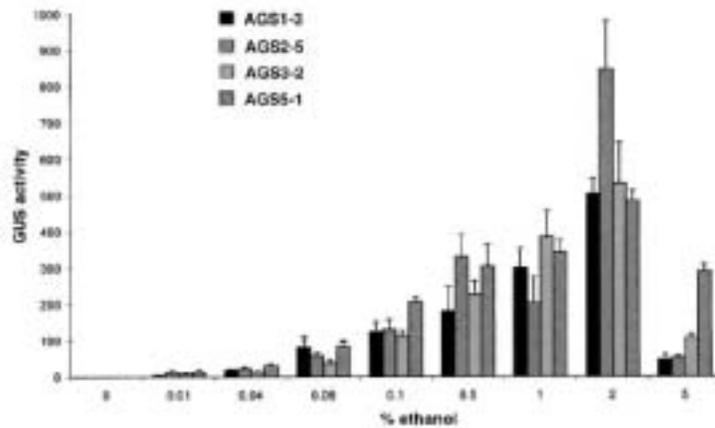
2. 阿拉伯芥：

2001年報導指出，在阿拉伯芥中使用此可誘導系統，必須在特殊條件下才可使用。GUS、LUC、GFP等報導基因在加入誘導劑一小時後產生反應，且去除誘導劑可回復；至於種植於土壤中的植株，加入誘導劑後5天到達最高表現量。[Caddick *et al.* 2001]

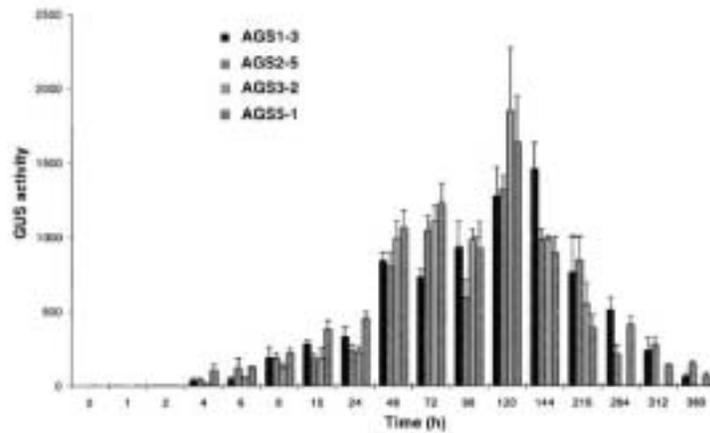
缺點：使用此系統時，必須避免組織或植物接觸到乙醇蒸氣。



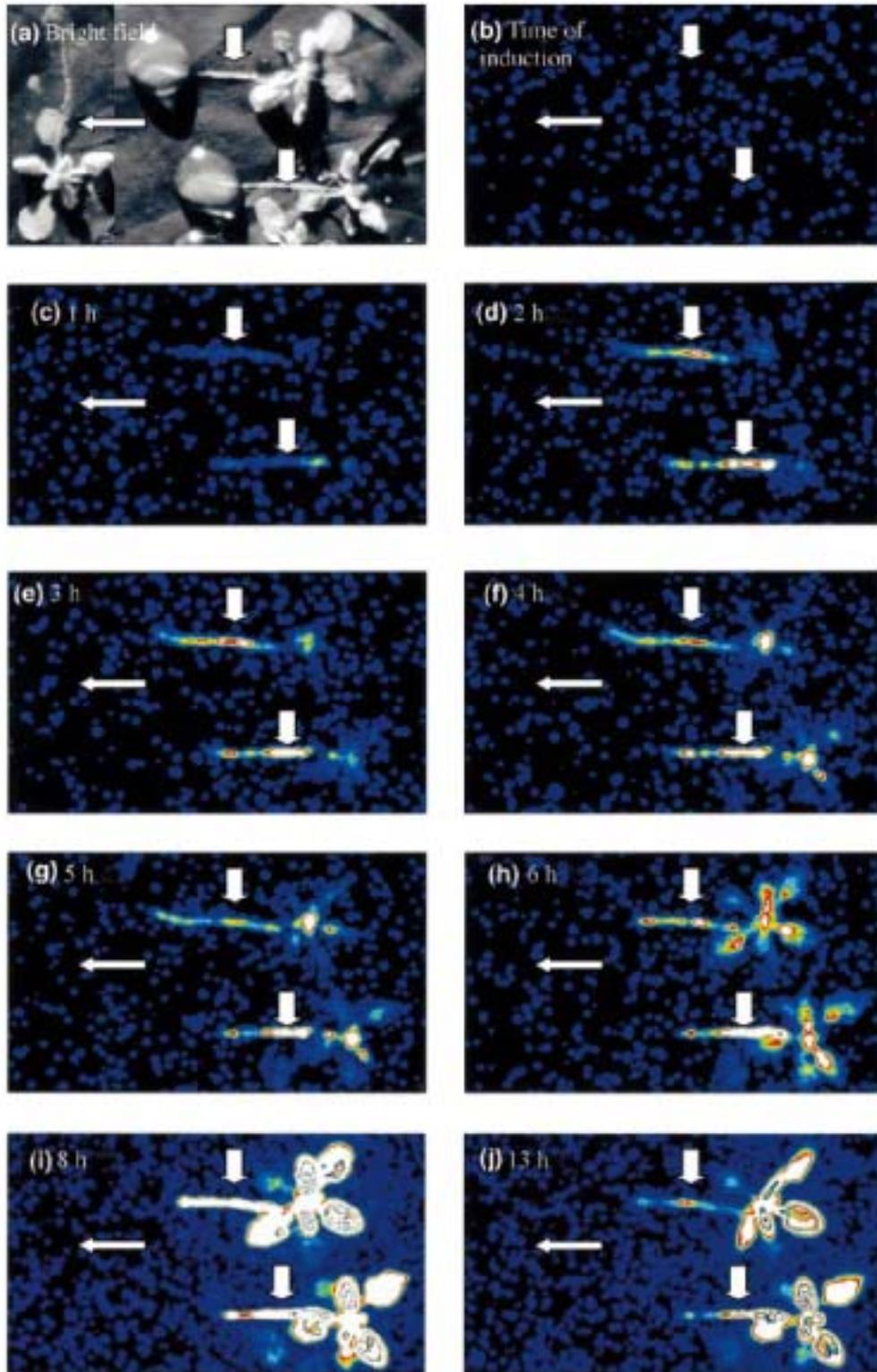
圖十一、含alcR alc::GUS構築之轉殖阿拉伯芥，受誘導後其GUS表現情形。以四週大、土中培養的阿拉伯芥為測試材料。(a)野生型，將1%乙醇(v/v)加入土壤中，誘導24小時。(b)轉殖株(AGS1-3品系)，誘導方式同a。(c)轉殖株，但未加誘導劑。[Caddick *et al.* 2001]



圖十二、誘導劑濃度與轉殖株GUS表現量關係。以於土中培養二週大的阿拉伯芥為測試材料，將5ml/100ml soil 不同濃度乙醇加入土壤中，移至培養箱，誘導17小時後測GUS活性。結果發現最低誘導濃度為0.01%(v/v)，而2%為最佳誘導濃度，同時發現濃度大於2%者植株葉片發生捲曲、褪色現象，推測與乙醇毒害有關。[Caddick *et al.* 2001]



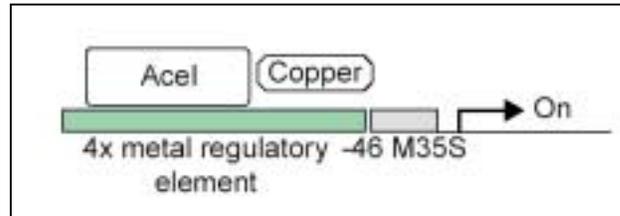
圖十三、AlcR可誘導系統不同誘導時間下轉殖株GUS表現量。以於土中培養二週大的阿拉伯芥為測試材料，在t=0時於土壤中加入2%乙醇(v/v)。結果發現誘導後4小時可偵測出GUS表現，且GUS表現量隨誘導時間而增加，在120小時(5天)達最高表現量，約為誘導前2000倍。120小時後GUS表現量遞減，360小時(10天)表現量與誘導6天時相同。[Caddick *et al.* 2001]



圖十四、Real-time bioluminescence imaging。以於土中培養四週大的阿拉伯芥為測試材料，移植到培養基後，將 100 μ l 2%乙醇、0.5mM D-luciferin加於根尖，依圖中(b-j)時間測量LUC表現。圖a為日燈光下植株圖像，左側為野生型，右側為二轉殖阿拉伯芥。結果發現野生型在13小時誘導中皆無表現，轉植株在誘導1小時後可測出LUC表現，8小時整株皆表現。[Caddick *et al.* 2001]

(VIII) ACEI-based, copper-inducible system [1993]

◎原理：來自酵母菌的轉錄因子ACEI會與酵母菌的copper-metallothionein啟動子結合，並在銅離子存在下活化基因轉錄。



成功例子：阿拉伯芥、菸草、根瘤細胞

1. 菸草

持續表現*aceI*基因，並以此系統誘導報導基因表現(GUS)。[Mett *et al.* 1993]

表現isopentenyl transferase基因。[McKenzie *et al.* 1998]

2. Lotus corniculatus根瘤細胞

調控基因表現，表現此系統的組織特異性。[Mett *et al.* 1996]

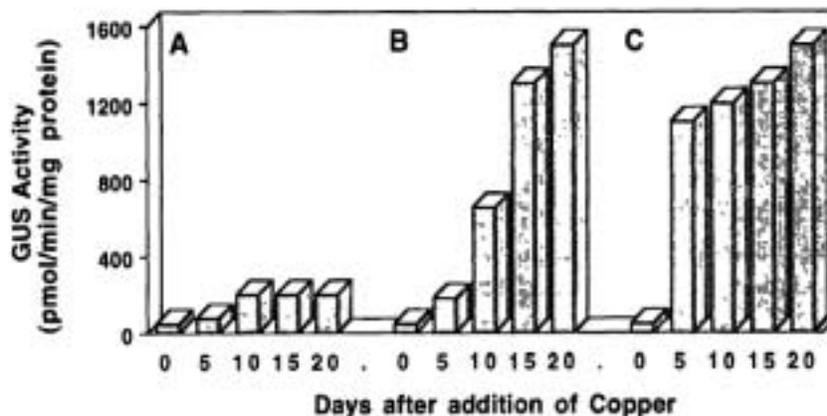
缺點：有些細胞中無法使用

1. 在polar中，目標基因無法被驅動。

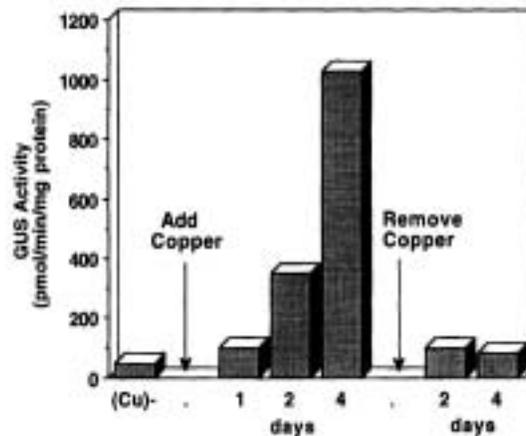
2. BY2細胞中，銅離子無法誘導GFP表現。

3. 菸草葉原生質體中，加入銅離子只讓GUS表現增加1-4倍。

4. 由於不同植物的誘導效率不同，Granger等人以阿拉伯芥進行研究，結果發現不同植物系、不同器官、不同組織都會影響GFP表現。[Granger *et al.* 2001]



圖十五、誘導劑濃度、誘導時間與轉植株GUS表現量關係。將轉殖菸草(Full construct)培養於無銅離子水耕液，15天後進行試驗。水耕液中加入(A)0.5μM、(B) 5.0μM (C) 50μM CuSO₄培養20天，其中，0、5、10、15、20分別取葉片進行GUS活性分析。結果發現50μM誘導5天後表現量為35倍，然而有證據顯示誘導15天後銅離子對植物有害。



圖十六、ACE可誘導系統不同誘導時間下GUS表現量。將轉殖菸草(Full construct)培養於無銅離子水耕液，15天後進行試驗。在水耕液中加入 $50\mu\text{MCuSO}_4$ ，第1、2、4天取葉片進行GUS活性分析，第四天後去除誘導劑。結果發現未加誘導劑前，背景表現為48單位/毫克蛋白，1天後到達100單位/毫克蛋白(約2倍)；4天後到達1030單位/毫克蛋白(約50倍)。去除誘導劑後4天，GUS活性回到80單位/毫克蛋白。[Mett *et al.* 1993]

三、結論與未來展望

以上介紹的幾項方法，其優缺點如Table1所示，截至目前為止並無任何系統擁有所有優點，因此選擇使用系統時必須依需求考量(基因要被抑制或被表現、植物種類、特殊用途...等)。

假設某系統具有非常低的背景表現與誘導表現量，可利用於少量分子即可出現外表型的轉錄活化子中；相反的，高表現系統可用於產生蛋白質。倘若要大量應用，誘導劑必須對環境無害。目前，已發展出許多化學可誘導基因調節系統，但必須進一步修飾LBD才能得到低背景表現、高誘導表現系統，可改造不同的DNA活化區、DNA結合區、最小啟動子與其中的response element sequence。

未來發展的可誘導系統，希望能在不同器官內誘導並使誘導後的表現量更穩定。此外，希望發展直接作用於轉錄活化子或直接與啟動子結合之抑制子，來調控基因表現。最後，多重可誘導系統(可獨立地同時誘導不同基因)可用於蛋白質體學與系統生物學，為可誘導系統發展的最高境界。

四、中英對照與名詞解釋：

報導基因，常用的有三種

1. *gus* 基因：可測定啟動子表現量，但必須將作物殺死才能測量。

2. *gfp* 基因：可在活體測驗，但只能定性無法定量分析(無法測定表現量)。

3. *luc* 基因：可在活體測定，亦可精確定量分析。

Repressor：抑制子

Operator：操縱子

Glucocorticoid receptor：腎上腺促糖皮質激素受體

Estrogen receptor：雌激素受體

Ecdysone：脫皮激素

Aspergillus nidulans：小巢狀麴菌

Activator：活化子

Chimeric protein：嵌合蛋白

Tetracycline：四環素

Tebufenozide. 得芬諾，殺蟲劑的一種

Benzothiadiazole：苯並硫二唑

五、簡寫：

ACEI	activating copper-metallothionein expression I
AD	activation domain
AlcR	alcohol-regulated transcription factor
BTH	benzothiadiazole
BY2	Bright Yellow2
DBD	DNA-binding domain
EcR	ecdysone receptor
ER	estrogen receptor
GFP	green fluorescent protein
GR	glucocorticoid receptor
GUS	b-glucuronidase
GVG	chimeric protein consisting of GAL4 DBD, VP16 AD and GR LBD
LBD	ligand-binding domain
LUC	luciferase
PR	pathogen-related
tet	tetracycline
TetR	tetracycline-repressor
TGV	fusion of TetR, GR LBD, and VP16 AD
Top10	tetracycline-inactivated promoter
tTA	TetR-based transcriptional activator
VP16	human herpes viral protein16
XVE	chimeric protein consisting of LexA DBD, VP16 AD and ER LB

六、參考文獻：

1. Gatz C: Chemically inducible promoters in transgenic plants. *Curr Opin Biotechnol* 1996, 7:168-172.
2. Gatz C: Chemical control of gene expression. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1997, 48:89-108.
3. Gatz C, Lenk I: Promoters that respond to chemical inducers. *Trend Plant Sci* 1998, 3:352-358.
4. Zuo J, Chua N-H: Chemical-inducible systems for regulated expression of plant genes. *Curr Opin Biotechnol* 2000, 11:146-151.
5. Gatz C, Froberg C, Wendenburg R: Stringent repression and homogeneous derepression by tetracycline of a modified CaMV 35S promoter in intact transgenic tobacco plants. *Plant J* 1992, 2:397-404.
8. Weinmann P, Gossen M, Hillen W, Bujard H, Gatz C: A chimeric transactivator allows tetracycline-responsive gene expression in whole plants. *Plant J* 1994, 5:559-569.
9. Love J, Scott AC, Thompson WF: Stringent control of transgene expression in *Arabidopsis thaliana* using Top10 promoter system. *Plant J* 2000, 21:579-588.
10. Love J, Allen GC, Gatz C, Thompson WF: Differential Top10 promoter regulation by six tetracycline analogues in plant cells. *J Exp Bot* 2002, 53:1871-1877.
11. Moore I, Baroux C, Gaelweier L, Grosskopt D, Mader P, Schell J, Palme K: A transactivation system for regulating expression of transgenes in whole plants. *J Exp Bot* 1997, 48S:51.
12. Aoyama T, Chua N-H: A glucocorticoid-mediated transcriptional induction system in transgenic plants. *Plant J* 1997, 11:605-612.
13. Kang HG, Fang Y, Singh KB: A glucocorticoid-inducible transcription system causes severe growth defects in *Arabidopsis* and induces defense-related genes. *Plant J* 1999, 20:127-133.
14. Zuo J, Niu Q-W, Chua N-H: An estrogen receptor-based transactivator XVE mediates highly inducible gene expression in transgenic plants. *Plant J* 2000, 24:265-273.
15. Bohner S, Lenk I, Rieping M, Herold M, Gatz C: Transcriptional activator TGV mediates dexamethasone-inducible and tetracycline-inactivatable gene expression. *Plant J* 1999, 19:87-95.
16. Padidam M, Gore M, Lu DL, Smirnova O: Chemical-inducible, ecdysone receptor-based gene expression system for plants. *Transgenic Res* 2003, 12:in press.
17. Felenbok B: The ethanol utilization regulon of *Aspergillus nidulans*: the alcA–alcR system as a tool for the expression of recombinant proteins. *J Biotechnol* 1991, 17:11-17.
18. Salter MG, Paine JA, Riddell KV, Jepson I, Greenland AJ, Caddick MX, Tomsett AB: Characterization of the ethanol-inducible alc gene expression system for transgenic plants. *Plant J* 1998, 16:127-132.
19. Roslan HA, Salter MG, Wood CS, White MRH, Croft KP, Robson F, Coupland G, Doonan J, Laufs P, Tomsett AB, Caddick MX: Characterization of the ethanol-inducible alc gene-expression system in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 2001, 28:225-235.
19. Mett VL, Lochhead LP, Reynolds PHS: Copper-controllable gene expression system for whole plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:4567-4571.
20. McKenzie MJ, Mett V, Lochhead LP, Reynolds PHS: Controlled cytokinin production in transgenic tobacco using a copper inducible promoter. *Plant Physiol* 1998, 116:969-977.
21. Granger C, Cyr RJ: Characterization of the yeast copper-inducible promoter system in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep* 2001, 20:227-234.