

文章编号: 1004-0374(2009)02-0335-08

拟南芥春化作用相关基因 *FLC* 的表达调控及 天然早花突变体的研究进展

李 勇, 胡宗利, 顾 峰, 胡功铃, 陈国平*

(重庆大学生物工程学院, 重庆 400030)

摘 要: 植物开花是从营养生长到生殖状态的重要发育转变, 是多种内在因子和环境因素共同作用的结果。在拟南芥开花调控网络中, 开花抑制基因 *FLC* 处于枢纽地位。*FLC* 的表达受许多来自环境和生长发育的信号调控, 主要包括: PAF1 复合体、SWR1 复合体成员, FRI 依赖途径、自主途径和春化作用途径基因。本文主要综述了影响 *FLC* 表达的春化相关基因及天然早花突变体的研究进展, 并根据最新的研究成果提出该研究领域的研究方向和重点。

关键词: *FLC*; 春化相关基因; 染色质修饰; 天然早花突变体
中图分类号: Q945.6⁺4; Q949.748.3; Q78 **文献标识码:** A

Research progress on the regulation of expression of *Arabidopsis* vernalization-related gene *FLC* and natural early flowering variation

LI Yong, HU Zong-li, GU Feng, HU Gong-ling, CHEN Guo-ping*

(Bioengineering College of Chongqing University, Chongqing 400030, China)

Abstract: Plant flowering is a crucial developmental transition from the vegetative to reproductive phase and is properly timed by a number of intrinsic and environmental cues. In the regulation network of flowering of *Arabidopsis*, *FLC* is a potent repressor of flowering. The expression of *FLC* is regulated by lots of factors, including endogenous cues and environmental stimuli which mainly contain: SWR1 complex, PAF1 complex, FRI complex, autonomous pathway and vernalization pathway genes. This paper reviews the progress of study on vernalization-related genes that regulate the expression of *FLC* and natural early flowering variation, and the new directions and focal points in this research field.

Key words: *FLC*; vernalization-related genes; modifications of chromatin; natural early flowering variation

植物开花是高等植物由营养生长向生殖生长的转变过程, 是个体发育和后代繁衍的中心环节。这一发育的转变是植物体自身的发育条件和外部环境因素共同决定的。在对模式植物特定基因人工突变研究的同时, 人们对天然早花突变体也进行了大量的研究。对天然早花突变体的研究丰富了人们研究植物春化作用机理和成花过程的手段和内容, 同时对于完善和推进植物春化作用机理的研究有着重要的意义。

对模式植物拟南芥开花的生理学和遗传学研究表

明, 影响植物开花的因素主要分为四个途径: 光周期途径、赤霉素途径、自主途径和春化作用途径^[1] (图 1)。光周期途径和赤霉素途径通过激活开花整合基因 *FT* (*flowering locus T*)、*SOC1* (*suppressor of overexpression of col*) 促进植物的开花^[2,3]。自主途径

收稿日期: 2008-09-24; 修回日期: 2008-12-30

基金项目: 国家自然科学基金(30600044, 30771463); 重庆市自然科学基金(CSTC, 2007BB1204, 2007BB0250)

*通讯作者: chenguoping@cqu.edu.cn

和春化作用途径通过抑制 *FLC* 的表达从而促进植物开花。

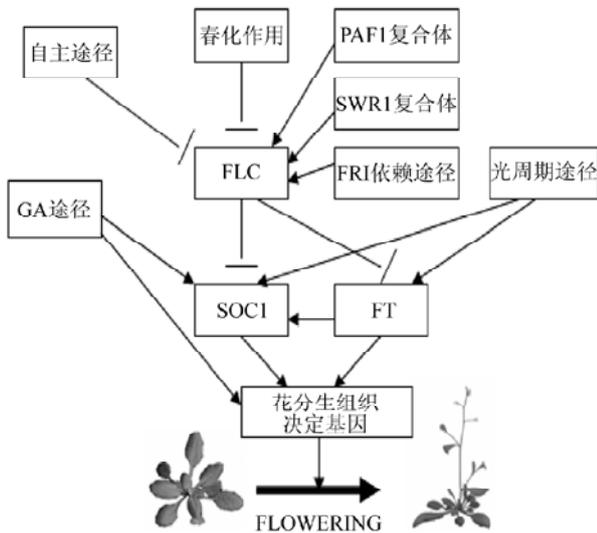


图1 调控拟南芥开花时间的途径

1 拟南芥开花关键基因 *FLC*

在拟南芥开花调控网络中, MADS-box 类的转录因子 *FLC* 处于枢纽地位^[4]。*FLC* 是开花的负调控因子, 是植物开花调控的关键基因。自主途径、春化作用途径中有许多控制开花的基因, 其功能都是通过调节 *FLC* 的表达来实现的。*FLC* 通过分别结合到 *SOC1* 启动子的 CArG 盒上和 *FT* 第一个内含子一段包含 CArG 盒结构的区域上抑制它们的表达, 从而抑制花分生组织决定基因延迟植物成花^[6, 7]。*FLC* 主要在植物的根尖、茎尖等分裂活跃的组织中表达, 其表达量与对开花的抑制程度呈正相关^[5]。

2 *FLC* 基因的表达调控

FLC 的表达受来自环境和生长发育的信号调控, 目前已经从拟南芥中分离了大量调控 *FLC* 表达的基因, 其中大部分基因是通过抑制 *FLC* 染色质的修饰来实现的, 这些修饰主要包括组蛋白的去乙酰化和甲基化。其中 H3K4 (组蛋白 3 赖氨酸 4 位)、H3K36 的甲基化激活 *FLC* 的表达; H3K9、H3K27、H4R3 (组蛋白 3 精氨酸 4 位) 的甲基化和 H3K9、H3K14 的去乙酰化抑制 *FLC* 的表达。目前研究表明, 影响 *FLC* 表达的基因主要包括: PAF1 复合体、SWR1 复合体成员, FRI 依赖途径、自主途径和春化作用途径相关基因 (图 2)。

2.1 自主途径 (autonomous pathway) 自主途径相关基因通过抑制 *FLC* 的表达促进植物开花, 其突变体

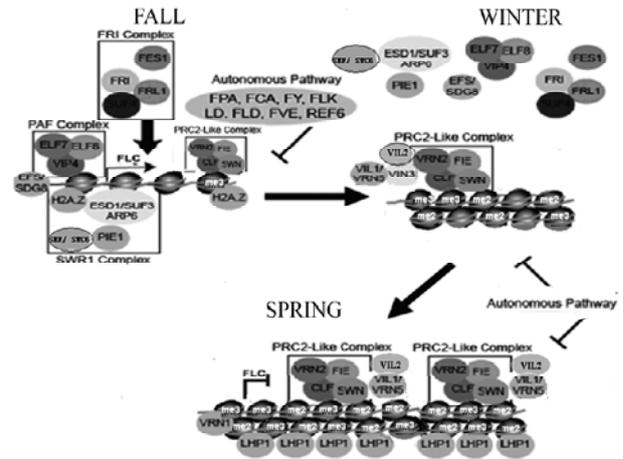


图 2 *FLC* 表达的激活和抑制

在长日照和短日照条件下都能延迟开花。自主途径相关蛋白主要分为染色质修饰蛋白、mRNA 结合和加工因子^[8, 9]。*FLD* (Flowering Locus D)、*FVE*、*AtHAC1*、*AtSWP1*、*AtCZS*、*REF6*、*AtPRMT5* 属于染色质修饰蛋白型, 通过对 *FLC* 染色质的修饰抑制其表达。其中 *FLD* 和 *FVE* 参与形成组蛋白脱乙酰基酶复合体, 它们通过对 *FLC* 染色质组蛋白去乙酰化来抑制 *FLC* 的表达^[10, 11]。同时, *FLD* 还与 *LSD1* 的两个同源基因 *LDL1 (LSD1-LIKE1)* 和 *LDL2 (LSD1-LIKE2)* 一起参与阻止 *FLC* 染色质 H3K4 的甲基化, 抑制 *FLC* 的表达^[12]。*AtSWP1* 和 *AtCZS* 相互作用形成复合体, 通过 H3K9、H3K27 的甲基化及 H4 的去乙酰化抑制 *FLC* 的表达^[13]。最近发现, 组蛋白乙酰转移酶 *AtHAC1* 和精氨酸甲基转移酶 II 型蛋白 *AtPRMT5* (又名 *SKB1*) 可以通过 *FLC* 染色质组蛋白修饰抑制 *FLC* 的表达^[14-16]。

FCA、*FY*、*FPA*、*FLK*、*ATPRP39-1* 和 *AtGRP7* 属于 mRNA 结合型, 它们都编码 RNA 结合蛋白, 通过对 *FLC* 前体 mRNA 的调控抑制 *FLC* 的表达, 属于转录后调节。其中 *FY* 通过 *FCA* 的 WW- 蛋白相互作用区与 *FCA* 形成 *FCA/FY* 复合体调节 *FLC* 前体 mRNA 3' 端剪接^[17, 18]。同时, *FCA* 还与 *FY* 共同负调控 *FCA* 自身的转录后加工, 这一过程可能还有类 Pcf11p 蛋白 4 (*PCFS4*) 的参与^[19]。*FCA* 还与 *FLD* 一起参与 *FLC* 染色质 H3K4 的去甲基化抑制 *FLC* 的表达^[10]。最近发现, 与酵母中 mRNA 加工蛋白 *Prp39p* 类似的 *AtPRP39-1*, 编码富含甘氨酸的 RNA 结合蛋白的 *AtGRP7* 也参与 *FLC* 的表达调控^[20, 21]。

2.2 PAF1 复合体 (PAF1 complex) *FLC* 的转录活性需要 PAF1 复合体的参与, PAF1 成员的突变使植物

在有 FRI 活性下或者自主途径突变体中表现为早花。在拟南芥中已经分离了 *ELF7*(*early flowering 7*)、*ELF8*和 *VIP4*(*vernalization independent proteins 4*)等 PAF1 复合体成员。其中 *ELF7*、*ELF8*和 *VIP4*分别与酵母 PAF1 复合体成份 PAF1、CTR9、LEO1 同源, *ELF7*和 *ELF8*的突变会导致 FLC 染色质 H3K4 的三甲基化水平降低^[22,23]。在酵母中, PAF1 复合体参与许多基因的转录起始和延伸, 还与组蛋白甲基转移酶 SET1 和 SET2 相互作用参与 H3K4 和 H3K36 残基的甲基化, 影响染色质的转录活性^[24]。在拟南芥中 PAF1 复合体可能和 EFS 协同作用, 参与 *FLC* 染色质的修饰, 激活 *FLC* 的表达。*EFS*(*early flowering in short days*, 又名 *SDG8*) 编码的蛋白是一种组蛋白甲基转移酶, 催化 *FLC* 染色质 H3K4 的三甲基化和 H3K36 的二甲基化^[25]。

2.3 SWR1 复合体(SWR1 complex) SWR1 复合体是一个染色质修饰复合体, SWR1 复合体成员的突变使植物在有 FRI 活性下和自主途径突变体中都表现为早花。SWR1 复合体由 *PIE1* (*photoperiod independent early flowering*)、*ARP6*(*actin related protein 6*, 又名 *ESD1*或 *SUF3*)、*SEF*(*serrated leaves and early flowering*, 又名 *SWC6*) 三个基因编码。它们编码的蛋白与酵母中 SWR1 复合体成员同源。*PIE1* 编码一个 ATP 依赖的 ISWI 家族染色质修饰蛋白, 除了参与 SWR1 复合体, *PIE1* 还可能参与其他染色质修饰复合体影响 *FLC* 的表达^[26]。*SEF* 编码核 HIT- 锌指结构蛋白, 与酵母中 SWC6 同源^[27]。*ARP6* 编码一种对于 *FLC* 高水平表达必需的核蛋白, 影响植物叶的发育。染色质免疫沉淀分析表明 *SEF* 和 *ARP6* 可以结合到 *FLC* 启动子附近区域, 参与 *FLC* 染色质 H3K4 的三甲基化和组蛋白 3 的乙酰化^[28]。

在动物和酵母中 SWR1 复合体催化 H2A 的变异体 H2A.Z 置换 H2A, 将 H2A.Z 分子插入染色质中。*FLC* 的转录活性也需要组蛋白变异体 H2A.Z, 当 *FLC* 有转录活性时, 在 *FLC* 的启动子和基因中发现了 H2A.Z 的插入^[29]。H2A.Z 本身不能激活 *FLC*, 当核小体中 H2A.Z 置换了 H2A 之后, 可能形成一个结合特异调控蛋白独特尾部的核小体变异体, 帮助 *FLC* 的激活。另外, SWR1 还具有组蛋白乙酰转移酶活性, 参与 *FLC* 染色质 H3 的去乙酰化。并且 SWR1 复合体还与 PAF1 复合体相互作用, 参与 *FLC* 染色质 H3K4 的甲基化。

2.4 FRI 依赖途径(FRI complex) *FRI*(*Frigida*) 是影

响拟南芥开花时间的关键基因, FRI 能够促进 *FLC* 的表达从而延迟开花。*FRI* 编码一个含有 2 个螺旋环-螺旋结构域的蛋白, FRI 可能通过这一区域与其他蛋白或者核酸相互作用来实现功能。*FRI* 的缺失会降低 *FLC* 的表达, 但是超表达并不能提高 *FLC* 的表达^[30]。FRI 依赖途径的基因通过与 FRI 形成复合体激活 *FLC* 的表达。它们的突变体在存在 FRI 活性时降低 *FLC* 的表达使植物表现为早花, 但在自主途径突变体中不能降低 *FLC* 的表达。*SUF4*(*suppressor of frigida 4*) 是其中一个 FRI 依赖途径基因, 它可与 FRI 相互作用形成复合体, 结合到 *FLC* 启动子的特殊区域, 共同促进 *FLC* 的表达进而抑制开花^[31]。另外, FRI 依赖途径基因 *FESI*(*frigida essential1*)、*FLX*(*FLC expressor*)、*FRL1*(*frigida-like1*) 和 *FRL2*(*frigida-like2*) 也可能参与形成这个复合体, 促进 *FLC* 的表达^[32,33]。*FLX* 也可能作为复合体的下游基因影响 *FLC* 的表达^[34]。

另外, *SUF4* 蛋白还可以与自主途径的 LD 发生相互作用。当 FRI 存在时, *SUF4* 与 FRI、*FRL1* 等形成复合体激活 *FLC* 的表达。当没有 FRI 时, *SUF4* 不能与 *FRL1* 等形成复合体, 而是结合到 LD 上抑制其活性, 从而降低 *FLC* 的表达。*PAF1* 复合体和 *EFS* 是 *SUF4* 激活 *FLC* 的必要条件, *PAF1* 复合体和 *EFS* 的突变可以完全抑制 *FLC* 的表达。在 *suf4* 突变体中, *FLC* 染色质上 *PAF1* 复合体介导的 H3K4 三甲基化和 *EFS* 介导的 H3K36 二甲基化水平降低, 这说明 *PAF1* 复合体和 *EFS* 的活性也需要 *SUF4*。可以说, *PAF1* 复合体和 *EFS* 建立并保持 *FLC* 的转录状态, *SUF4* 复合体则参与 *FLC* 转录的最终激活。

2.5 春化作用途径(vernalization pathway) 长时间低温处理促进植物开花的过程称为春化作用(vernalization)。春化作用途径和其他途径相关基因介导的 *FLC* 的表达调控在二年生冬性拟南芥从营养生长到生殖生长转变的过程中起着重要的作用(图 2)。春化作用主要改变开花抑制基因 *FLC* 染色质结构, 使其处于关闭状态, 以解除对植物开花的抑制。改变 *FLC* 染色质结构抑制 *FLC* 表达表现在对 *FLC* 染色质一系列的修饰, 主要包括组蛋白乙酰化和 H3K4 三甲基化水平的降低; H3K9、H3K27 的二甲基化和三甲基化与 H4R3 的二甲基化水平的升高。

VIN3(*vernalization insensitive 3*) 编码含有 PHD 结构域的蛋白, 其表达受长时间低温处理的诱导, 参与 H3K9、H3K14 的去乙酰化修饰^[35]。*VRN1*

(*vernalization*) 编码一种植物特有的DNA结合蛋白^[36]。*VRN2*(*vernalization 2*) 编码与果蝇*S(U)12*同源的多聚comb蛋白^[37]。*VRN1*与*VRN2*是组成型表达,不受低温的诱导,但参与*FLC*的后生性抑制。春化处理使*FLC*的第一个内含子和启动子区H3K9和H3K27二甲基化水平增加。其中*VRN1*参与H3K9的二甲基化修饰,*VRN2*参与H3K9和H3K27的二甲基化修饰^[35]。在拟南芥中还存在着一些与*VIN3*同源的基因:*VIL1*(*VIN3-like1*,又名*VRN5*)、*VIL2*(*VEL1*)、*VIL3*(*VEL2*)和*VIL4*(*VEL3*),它们都参与对*FLC*的表达调控。其中*VIL1*在春化作用过程中与*VIN3*形成一个异源二聚体参与春化介导的对*FLC*染色质的去乙酰化和H3K9、H3K27的三甲基化修饰^[38,39]。*VIL3*的表达受长时间低温的诱导,它可能在叶中与*VIL1*形成异二聚体参与春化介导的对*FLC*的后生性抑制。自主途径基因*AtPRMT5*也参与*FLC*的后生性沉默和春化作用介导的*FLC*组蛋白修饰^[15,16]。

*VRN2*与Polycomb-group(Pc-G)蛋白组成一个类PRC2蛋白复合体(PCR2-like complex)参与春化过程中对*FLC*的后生性抑制。在果蝇和动物中,PCR2复合体是一种甲基转移酶,通过H3K27的三甲基化保持Pc-G蛋白对目标蛋白的抑制。从经春化处理的拟南芥中分离到了一个包括PCR2复合体、*VIN3*、*VIL1*以及*VIL2*的大复合体(PHD-PCR2复合体),这说明PCR2复合体还与*VIN3*及其相关蛋白*VIL1*一起组成一个大蛋白复合体,参与抑制*FLC*的表达^[42]。保持*FLC*表达水平的后生性抑制还需要类异染色质蛋白1 LHP1(like heterochromatin protein1)/TFL2(*terminal flower 2*)。春化处理之后,LHP1在*FLC*染色质上富集,LHP1结合到H3K27三甲基化了的组蛋白上保持对*FLC*的抑制^[41]。

春化作用可以提高*FLC*染色质H3K9、H3K27的二甲基化水平,同时与H3K9、H3K27三甲基化也有着密切的关系。在未经春化处理的植物中,*FLC*的染色质存在一定水平的H3K27三甲基化。春化处理之后,在转录起始和翻译起始位点之间,H3K27三甲基化水平增加;*FLC*的第一个内含子和启动子区的H3K27三甲基化都没有明显的增加,但是在这一区域H3K9和H3K27二甲基化的水平却都有增加。当低温处理后的植物处在22℃条件下,H3K27三甲基化的区域向*FLC*的启动子区和第一个内含子、编码区延伸,*FLC*的第一个内含子上H3K27三甲基化水平最高^[8]。虽然PCR2复合体和*VIL1*与

H3K27三甲基化的增加都有着密切关系,但是最近研究表明,春化处理之后回到常温(22℃)下,H3K27三甲基化水平增高,向*FLC*基因其他区域的延伸可能与*VIL1*有直接的关系^[42],因为在春化处理前后一直到回到常温,*FLC*染色质上结合的*VRN2*都没有明显的变化,然而在这一过程中*FLC*染色质上结合的*VIL1*有着与H3K27三甲基化水平一致的变化。在*vrn2*和*vin3*突变体中,H3K27三甲基化水平增加的幅度都会降低,这说明H3K27三甲基化水平的这一变化与PCR2复合体和*VIN3*也有着密切的关系。

根据最新植物春化作用的研究结果和以前提出的春化作用机理及*FLC*表达调控模型^[8,9,35],对植物春化作用的分子模型进行补充和完善(图2)。

在秋季,*FLC*染色质的转录活性需要FRI、PAF1和SWR1复合体的参与。SWR1复合体使*FLC*的启动子和基因中插入了H2A.Z,从而使核小体变成一个具有能够结合特异调控蛋白的独特尾部的核小体变异体,这一独特结构有利于其他促进*FLC*转录的调控蛋白的结合。PAF1复合体(与EFS相互作用)和SWR1复合体使*FLC*染色质H3乙酰化、H3K4三甲基化(还包括H3K36二甲基化)。这些修饰使*FLC*染色质处于活化状态,易于转录的起始。FRI复合体通过SUF4结合到*FLC*的启动区,激活*FLC*的表达。这些复合体使*FLC* mRNA处于一个高水平,从而阻止植物在春天到来之前开花。它们随着植物生长发育,自主途径基因表达量不断增高。通过染色质修饰和转录后调控抑制*FLC*的表达,使植物到达一定的年龄后正常开花。

经过冬天长时间低温处理,春化作用活化基因*VIN3*被诱导表达,*VIN3*、*VIL1*及*VIL2*与PCR2复合体形成的PHD-PCR2大复合体,通过对*FLC*染色质进行H3K9、H3K14去乙酰化、H3K9、H3K27二甲基化以及转录起始和翻译起始位点之间H3K27三甲基化等组蛋白修饰(还包括PRMT5介导的H4R3二甲基化),导致*FLC*染色质空间结构发生改变,使得PAF1等促进*FLC*表达的蛋白复合体不能识别并作用于*FLC*染色质,从而实现了对*FLC*转录的抑制。

当春天来到,恢复到温和生长条件时,*VIN3*不再表达,PCR2复合体、*VRN1*、*VIL1*(可能还包括*VIL2*)和LHP1一起保持对*FLC*的抑制。*VIL1*形成的复合体使*FLC*染色质H3K27三甲基化范围扩大,为LHP1提供了更多的结合位点。LHP1结合到H3K27三甲基化了的组蛋白上,保持对*FLC*的抑

制。从而解除 *FLC* 对植物开花促进基因的抑制, 使植物开花。

2.6 影响 *FLC* 表达的其他基因 在拟南芥中, 还存在着其他一些影响 *FLC* 表达的基因。*HOS1* 是春化作用的负调控因子, 对于 *FLC* 的高水平表达是必需的^[43]。定位在染色体 V 距 *FLC* 14cM 的位置的 *ART1* (*AERIAL ROSETTE 1*), 通过独立于其他途径的方式激活 *FLC* 的表达^[44]。水杨酸途径基因 *SIZ1* 通过抑制自主途径基因 *FLD* 促进 *FLC* 的表达从而抑制开花^[45]。*BRI1* (*Brassinosteroid-insensitive 1*) 通过增强 *FLC* 染色质 H3 的乙酰化促进 *FLC* 的表达^[46]。TALE 同源基因 *ATH1* (*Arabidopsis thaliana homeobox 1*) 可以促进 *FLC* 的表达^[47]。在植物中, 环指蛋白 *SINAT5* 是 E3 泛素蛋白连接酶, 具有自我泛素化和底物泛素化活性。*SINAT5* 与 *FLC* 共定位在核小体中, 其锌指模序直接作用于 *FLC* 的 MADS-box 区, 把 *FLC* 作为其泛素连接酶活性的底物, 参与 *FLC* 的泛素降解途径^[48]。*ABH1* (*ABA hypersensitive 1*) 编码核 mRNA 帽结合蛋白的大亚基, *ABH1* 通过影响 *FLC* 第一个外显子的剪切促进 *FLC* 的表达^[49, 50]。

3 天然早花突变体

在自然界中尤其在温度较为温和的地区存在着许多天然早花突变体, 这些地方的植物在一年中往往有多个开花时期。这些天然早花突变体能够不经春化作用便提前开花。*FRI* 和 *FLC* 是决定拟南芥开花时间的关键因素, 它们共同决定植物的冬性和春化响应特性。对拟南芥的天然早花突变体的研究表明, 大多数天然早花突变体的 *FLC* 表达较弱或者不表达。这说明天然早花突变体的分子机理与 *FLC* 的表达调控有着密切的关系。

在拟南芥中, *FRI* 是天然早花突变体的主要突变位点, *Columbia* (*Col*) 和 *Landsberg erecta* (*Ler*) 生态型拟南芥都是早花突变体, 它们具有隐性的 *FRI* 基因。*FRI* 基因由 3 个外显子和 2 个内含子组成。*Col* 与晚花型的冬性拟南芥的 *H51* 比较, 其第一个外显子尾部有 16bp 的缺失, 这改变了它第二个外显子以后的开放阅读框 (ORF)。*Ler* 与 *H51* 相比, 在起始密码子附近有一个 376bp 缺失同时伴随 31bp 插入, 打乱了 ORF 的起始, 移动了推断的起始密码子^[30]。在拟南芥中还分离了许多其他类型的有关 *FRI* 的天然突变体 (表 1)。

Ler 型的缺失是最常见的一种 *FRI* 无功能的突变, 其次是 *Col* 型缺失。*FRI* 的氨基酸序列在拟南

表 1 有关 *FRI* 的天然早花突变体

生态型	突变位点	突变形式	参考文献
<i>Col</i>	第一个外显子	16bp 缺失	[30]
<i>Ler</i>	起始密码子附近	376bp 缺失伴随 31bp 插入	[30]
<i>J-1</i>	基因的 5' 端	多处插入和缺失	[55]
<i>Cvi</i>	第一个外显子	单个核苷酸的改变	[56]
<i>Ri-0</i>	同上	同上	
<i>Or-0</i>	第二个外显子	一个核苷酸的缺失	[54]
<i>Ang-1</i>	第三个外显子	一个核苷酸的插入	[55]
<i>Pog-</i>	第三个外显子	38bp 的插入	[55]
<i>An-1</i>	第三个外显子	99bp 缺失伴随 31bp 插入	[55]

芥中呈现多态性, 大多数位点的改变并不影响其功能。*FRI* 的氨基酸多态性主要表现在第一个外显子的高度变异。对蛋白序列计算分析表明, *FRI* 第一外显子表达的螺旋中 6—7 个氨基酸的变化才会影响其螺旋结构。*FRI* 的无意义突变主要发生在基因的 5' 端、两个内含子以及最后两个外显子区域, 在第一个外显子中很少有无意义突变^[51, 52]。

FLC 具有 7 个外显子和 6 个内含子, *FLC* 染色质结构对 *FLC* 的表达调控起着重要的作用, 尤其第一个内含子更为重要, 很多基因是通过这一区域来调控 *FLC* 的表达^[53]。因此与 *FLC* 有关的天然突变主要是 *FLC* 功能缺失突变体和 *FLC* 第 1 个内含子插入引起的突变体。*Van-0* 突变体中 *FLC* 的第 6 个外显子发生核苷酸置换, 开放阅读框在第 158 位提前终止。转录出一个包含 MADS-box、I-box 和 K-box, 但是缺少后面 39 个氨基酸的蛋白, 这一蛋白是没有功能的 *FLC*^[54]。*Cen-0* 和 *Cal-0* 突变体是由于 mRNA 剪接位点的改变, 从而导致移码突变。*Ler* 生态型不但具有无效等位基因 *FRI*, 其 *FLC* 基因第一个内含子还有 1.2kb 的插入, 这一插入是 *FLC* 表达量变弱从而早花的原因^[56]。还有很多这一类型的早花突变体, 如 *Da(1)-12* (4.2 kb)、*Bd-0* (4kb) 等, 它们可能都是因为 *FLC* 第一个内含子的插入引起的早花突变^[55]。

4 展望

自从 2004 年 Sung 和 Amasino^[35] 鉴定春化作用关键基因 *VIN3*, 提出春化作用机理的分子模型, 人们已经对 *FLC* 的表达调控和拟南芥春化作用的分子机制有了一定的认识。目前已经证明 *FRI* 与 *FRI* 依赖途径基因通过形成复合体参与促进 *FLC* 的表达。对天然早花突变体的研究表明, 虽然完整的 *FRI* 蛋白对保持其功能是必需的, 但同时 *FRI* 的氨基酸序

列又具有多态性, 这为认识 FRI 这一没有包含任何已知功能区域的蛋白的功能提供了帮助。FRI 复合体、PAF1 复合体、SWR1 复合体成员分别通过形成复合体参与调控 *FLC* 的表达, 这些复合体之间也存在着相互作用^[30]。对这些复合体之间复杂的关系和可能存在的与各复合体有关的作用因子还需要进一步的研究。

现在已经清楚了受低温诱导的 *VIN3* 激活 *FLC* 表达的途径, 但是对 *VIN3* 的表达调控还知之甚少。低温促使什么基因或者物质诱导了 *VIN3* 的表达? 直接感受低温的物质或者基因是什么? 在 22°C 下, 组成型表达的 *VIN3* 并不能抑制 *FLC* 的表达^[35], *VIN3* 只能在低温下行使功能。从感受低温到诱导 *VIN3* 等春化作用基因表达, 其中可能存在的信号转导途径还需要进一步的研究。

在 22°C 条件下, *FLC* 启动子区和第一个内含子区的 H3K27 三甲基化水平增加, 这一变化与 *VIL1* 有着非常密切的关系。在春化过程中, PRC2 复合体可以与 *VIN3*、*VIL1* 以及 *VIL2* 形成一个大复合体 (PHD-PRC2 复合体), 这一大复合体已经从经春化处理的拟南芥中分离出来^[44]。最近的研究推测, 春化处理前, *FLC* 染色质低水平的甲基化可能与 PRC2 复合体有关。春化处理后, *VIL1*、*VIN3* 和 *VIL2* 结合到 *FLC* 染色质转录起始和翻译起始位点之间一段区域上(可能还包括第一个外显子周围的一些区域)的 PRC2 复合体上, 使这一区域的 H3K27 三甲基化水平增加。春化处理之后回到常温, *VIN3* 不再表达, *VIL1* 更大范围的结合到其他区域的 PRC2 复合体上, 使 H3K27 三甲基化水平增加的范围在 *FLC* 染色质上延伸^[42]。*VIL1* 的表达与春化作用没有明显的关系^[38, 39], *VIL1* 与 *FLC* 染色质上不同区域的 PRC2 复合体结合的识别机制还需要进一步的研究。在这一过程中 *VIN3* 是否就是识别机制的“导向蛋白”? 因为在有 *VIN3* 时, *VIL1* 只结合到 *FLC* 的起始密码子附近的 PRC2 复合体上; 没有 *VIN3* 时, PHD-PRC2 复合体介导的 H3K27 三甲基化修饰为 *VIL1* 结合到其他区域的 PRC2 复合体上提供了条件。或者存在其他的“导向蛋白”及其他的作用机制, 另外 *VIL2* 在其中的作用也需要进一步的研究。

自主途径基因 *AtPRMT5* 催化精氨酸二甲基化, 其表达不受春化作用影响。但是春化作用之后 *FLC* 染色质精氨酸二甲基化水平增加, 其原因可能是 *AtPRMT5* 活性的增加或者抑制 H4R3sme2 活性的降

低^[15, 16]。这一可能存在的受春化作用诱导、可以增加 *AtPRMT5* 活性的蛋白或者受春化作用抑制、可以抑制 *AtPRMT5* 活性的蛋白也许需要进一步的证实。

在 *FLC* 的表达调控中, 其第一个内含子起着重要的作用, 第一个内含子内的片段插入引起 *FLC* 的表达变弱从而导致早花。推测这一长片段的插入可能影响了 *FLC* 的染色质结构, 使转录不能顺利进行。在 *abh1* 突变体中, 第一个内含子没有被有效的剪切, 从而导致 *FLC* 表达变弱^[49]。*FLC* 第一个内含子的插入引起的早花是否也与内含子的剪切有关? *FLC* 第一个内含子的插入影响了这一区域的结构, 使 ABH1 等 mRNA 剪接蛋白不能识别并作用于这一区域。使带有第一个内含子的剪接产物积累, 而成熟的 mRNA 变少。所以, *FLC* 第一个内含子在 *FLC* 的表达调控中的作用以及天然早花突变体的分子机理还需要进一步的研究。

虽然人们对 *FLC* 的表达调控及拟南芥春化作用的分子机制的认识不断深入。但是要完全阐明这种复杂的调控机制, 仍然需要通过多种途径进一步了解这些与 *FLC* 表达调控相关的基因功能及 *FLC* 本身的基因结构在其表达调控中的作用。

[参 考 文 献]

- [1] Boss PK, Bastow RM, Mylne JS, et al. Multiple pathways in the decision to flower: enabling, promoting, and resetting. *Plant Cell*, 2004, 16 Suppl: S18-31
- [2] Suarez LP, Wheatley K, Robson F, et al. *CONSTANS* mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature*, 2001, 410(6832): 1116-20
- [3] Samach A, Onouchi H, Gold SE, et al. Distinct roles of *CONSTANS* target genes in reproductive development of *Arabidopsis*. *Science*, 2000, 288(5471): 1613-6
- [4] Michaels SD, Amasino RM. *FLOWERING LOCUS C* encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering. *Plant Cell*, 1999, 11(5): 949-56
- [5] Scortecci K, Michaels SD, Amasino RM. Genetic interactions between *FLM* and other flowering-time genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 2003, 52(5): 915-22
- [6] Helliwell CA, Wood CC, Robertson M, et al. The *Arabidopsis* *FLC* protein interacts directly *in vivo* with *SOC1* and *FT* chromatin and is a part of a high-molecular-weight protein complex. *Plant J*, 2006, 46(2): 183-92
- [7] Corbesier L, Vincent C, Jang S, et al. *Arabidopsis* signaling in floral induction of FT protein movement contributes to long-distance. *Science*, 2007, 316(5827): 1030-3
- [8] Finnegan EJ, Dennis ES. Vernalization-induced trimethylation of histone H3 lysine 27 at *FLC* is not maintained in mitotically quiescent cells. *Curr Biol*, 2007, 17(22): 1978-83

- [9] Schmitz RJ, Amasino RM. Vernalization: a model for investigating epigenetics and eukaryotic gene regulation in plants. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1769(5-6): 269-75
- [10] Liu F, Quesada V, Crevillén P, et al. The *Arabidopsis* RNA-binding protein FCA requires a lysine-specific demethylase 1 homolog to downregulate *FLC*. *Mol Cell*, 2007, 28(3): 398-407
- [11] Ausin I, Alonso-Blanco C, Jarillo JA, et al. Regulation of flowering time by FVE, a retinoblastoma associated protein. *Nat Genet*, 2004, 36(2): 162-6
- [12] Krichevsky A, Gutgarts H, Kozlovsky SV, et al. C2H2 zinc finger-SET histone methyltransferase is a plant-specific chromatin modifier. *Dev Biol*, 2007, 303(1): 259-69
- [13] Jiang DH, Yang WN, He YH, et al. *Arabidopsis* relatives of the human lysine-specific demethylase 1 repress the expression of *FWA* and *FLOWERING LOCUS C* and thus promote the floral transition. *Plant Cell*, 2007, 19(10): 2975-87
- [14] Deng WW, Liu CY, Pei YX, et al. Involvement of the histone acetyltransferase ATHAC1 in the regulation of flowering time via repression of *FLOWERING LOCUS C* in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 143(4): 1660-8
- [15] Schmitz RJ, Sung S, Amasino RM. Histone arginine methylation is required for vernalization-induced epigenetic silencing of *FLC* in winter-annual *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(2): 411-6
- [16] Wang X, Zhang Y, Ma QB, et al. SKB1-mediated symmetric dimethylation of histone H4R3 controls flowering time in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 2007, 26(7): 1934-41
- [17] Simpson GG, Dijkwel PP, Quesada V, et al. FY is an RNA 3'-end-processing factor that interacts with FCA to control the *Arabidopsis* floral transition. *Cell*, 2003, 113(6): 777-87
- [18] Marquardt S, Boss PK, Hadfield J, et al. Additional targets of the *Arabidopsis* autonomous pathway members, FCA and FY. *J Exp Bot*, 2006, 57(13): 3379-86
- [19] Xing DH, Zhao HW, Xu RQ, et al. *Arabidopsis* PCFS4, a homologue of yeast polyadenylation factor Pcf11p, regulates FCA alternative processing and promotes flowering time. *Plant J*, 2008, 54(5): 899-910
- [20] Wang CX, Tian Q, Hou ZL, et al. The *Arabidopsis thaliana* *ATPRP39-1* gene, encoding a tetratricopeptide repeat protein with similarity to the yeast pre-mRNA processing protein PRP39, affects flowering time. *Plant Cell Rep*, 2007, 26(8): 1357-66
- [21] Streitner C, Danisman S, Wehrle F, et al. The small glycine-rich RNA-binding protein AtGRP7 promotes floral transition in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2008, 56(2): 239-50
- [22] He Y, Doyle MR, Amasino RM. PAF1-complex-mediated histone methylation of *FLOWERING LOCUS C* chromatin is required for the vernalization-responsive, winter-annual habit in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 2004, 18(22): 2774-84
- [23] Zhang H, van Nocker S. The *VERNALIZATION INDEPENDENCE 4* gene encodes a novel regulator of *FLOWERING LOCUS C*. *Plant J*, 2002, 31(5): 663-73
- [24] Rondo'n AG, Gallardo M, García-Rubio M, et al. Molecular evidence indicating that the yeast PAF complex is required for transcription elongation. *EMBO Rep*, 2004, 5(1): 47-53
- [25] Kim SY, He Y, Jacob Y, et al. Establishment of the vernalization-responsive, winter-annual habit in *Arabidopsis* requires a putative histone H3 methyltransferase. *Plant Cell*, 2005, 17(12): 3301-10
- [26] Noh YS, Amasino RM. *PIEL*, an *ISWI* family gene, is required for *FLC* activation and floral repression in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2003, 15(7): 1671-82
- [27] Choi K, Park C, Lee J, et al. *Arabidopsis* homologs of components of the SWR1 complex regulates flowering and plant development. *Development*, 2007, 134(10): 1931-41
- [28] March-Diaz R, Garcia-Domingues M, Flencio FJ, et al. SEF, a new protein required for flowering repression in *Arabidopsis*. Interacts with PIEL and ARP6. *Plant Physiol*, 2007, 143(2): 893-901
- [29] Deal RB, Topp CN, McKinney EC, et al. Repression of flowering in *Arabidopsis* requires activation of *FLOWERING LOCUS C* expression by the histone variant H2A. *Z. Plant Cell*, 2007, 19(1): 74-83
- [30] Johanson U, West J, Dean C. Molecular analysis of *FRIGIDA*, a major determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time. *Science*, 2000, 290(5490): 344-7
- [31] Kim S, Choi, Park KC, et al. *SUPPRESSOR OF FRIGIDA4*, encoding a C2H2-type zinc finger protein. Represses flowering by transcriptional activation of *Arabidopsis* *FLOWERING LOCUS C*. *Plant Cell*, 2006, 18(11): 2985-98
- [32] Schmitz RJ, Hong L, Michaels S, et al. *FRIGIDA ESSENTIAL 1* interacts genetically with *FRIGIDA* and *FRIGIDA LIKE 1* to promote the winter-annual habit of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 2005, 132(24): 5471-8
- [33] Schläppi MR. *FRIGIDA LIKE 2* is a functional allele in *Landsberg erecta* and compensates for a nonsense allele of *FRIGIDA LIKE 1*. *Plant Physiol*, 2006, 142(4): 1728-38
- [34] Andersson CR, Helliwell CA, Bagnall DJ, et al. The *FLX* gene of *Arabidopsis* is required for FRI-dependent activation of *FLC* expression. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49(2): 191-200
- [35] Sung S, Amasino RM. Vernalization in *Arabidopsis thaliana* is mediated by the PHD finger protein VIN3. *Nature*, 2004, 427(6970): 159-64
- [36] Levy YY, Mesnage S, Mylne JS, et al. Multiple roles of *Arabidopsis* VRN1 in vernalization and flowering time control. *Science*, 2002, 297(5579): 243-6
- [37] Gendall AR, Levy YY, Wilson A, et al. The *VERNALIZATION 2* gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in *Arabidopsis*. *Cell*, 2001, 107(4): 525-35
- [38] Greb T, Mylne JS, Crevillén P, et al. The PHD finger protein VRN5 functions in the epigenetic silencing of *Arabidopsis* *FLC*. *Curr Biol*, 2007, 17(1): 73-8
- [39] Sung S, Schmitz RJ, Amasino RM. A PHD finger protein involved in both the vernalization and photoperiod pathways in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 2006, 20(23): 3244-8
- [40] Wood CC, Robertson M, Tanner G, et al. The *Arabidopsis thaliana* vernalization response requires a polycomb-like protein complex that also includes *VERNALIZATION INSENSITIVE 3*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(39): 14631-6
- [41] Zhang X, Germann S, Blus BJ, et al. The *Arabidopsis* LHP1 protein colocalizes with histone H3 Lys27 trimethylation.

- Nat Struct Mol Biol, 2007, 14(9): 869-71
- [42] De LFC, Crevillen P, Jones AM. A PHD-polycomb repressive complex 2 triggers the epigenetic silencing of *FLC* during vernalization. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(44): 16831-6
- [43] Lee H, Xiong L, Gong Z, et al. The *Arabidopsis* *HOS1* gene negatively regulates cold signal transduction and encodes a RING finger protein that displays cold-regulated nucleocytoplasmic partitioning. Genes Dev, 2001, 15(7): 912-24
- [44] Poduska B, Humphrey T, Redweik A, et al. The synergistic activation of *FLOWERING LOCUS C* by *FRIGIDA* and a new flowering gene *AERIAL ROSETTE1* underlies a novel morphology in *Arabidopsis*. Genetics, 2003, 163(4): 1457-65
- [45] Jin JB, Jin YH. The SUMO E3 ligase, AtSIZ1, regulates flowering by controlling a salicylic acid-mediated floral promotion pathway and through affects on *FLC* chromatin structure. Plant J, 2008, 53(3): 530-40
- [46] Domagalska MA, Schomburg FM, Amasino RM, et al. Attenuation of brassinosteroid signaling enhances *FLC* expression and delays flowering. Development, 2007, 134(15): 2841-50
- [47] Marcel P, Bas R, Marco B, et al. The *Arabidopsis* TALE homeobox gene *ATH1* controls floral competency through positive regulation of *FLC*. Plant J, 2007, 52(5): 899-913
- [48] Park BS, Sang WG, Yeu SY, et al. Post-translational regulation of *FLC* is mediated by an E3 ubiquitin ligase activity of *SINAT5* in *Arabidopsis*. Plant Sci, 2007, 173(2): 269-75
- [49] Bezerra IC, Michaels SD, Schomburg FM, et al. Lesions in the mRNA cap-binding gene *ABA HYPERSENSITIVE 1* suppress *FRIGIDA*-mediated delayed flowering in *Arabidopsis*. Plant J, 2004, 40(1): 112-9
- [50] Kuhn JM, Breton G, Schroeder JI. mRNA metabolism of flowering-time regulators in wild-type *Arabidopsis* revealed by a nuclear cap binding protein mutant, *abh1*. Plant J, 2007, 50(6): 1049-62
- [51] Stinchcombe JR, Weig C, Ungerer M, et al. A latitudinal cline in flowering time in *Arabidopsis thaliana* modulated by the flowering time gene *FRIGIDA*. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(13): 4712-7
- [52] Corre VL, Roux F, Reboud X. DNA polymorphism at the *FRIGIDA* gene in *Arabidopsis thaliana*: extensive nonsynonymous variation is consistent with local selection for flowering time. Mol Biol Evol, 2002, 19(8): 1261-71
- [53] Sheldon CC, Conn AB, Dennis ES, et al. Different regulatory regions are required for the vernalization-induced repression of *FLOWERING LOCUS C* and for the epigenetic maintenance of repression. Plant Cell, 2002, 14(10): 2527-37
- [54] Werner JD, Borevitz JO, Uhlenhaut NH, et al. *FRIGIDA*-independent variation in flowering time of natural *Arabidopsis thaliana* accessions. Genetics, 2005, 170(3): 1197-207
- [55] Lempe J, Balasubramanian S, Sureshkumar S, et al. Diversity of flowering responses in wild *Arabidopsis thaliana* strains. PLoS Genet, 2005, 1(1): 109-18
- [56] Michaels SD, He Y, Scortecci KC, et al. Attenuation of *FLOWERING LOCUS C* activity as a mechanism for the evolution of summer-annual flowering behavior in *Arabidopsis*. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(17): 10102-7