

DOI: 10.13376/j.cblls/20160184

文章编号: 1004-0374(2016)12-1418-05

· 发现的历程 ·



以蓝光依赖的方式和转录因子 PIF4 直接相互作用, 通过抑制 PIF4 的转录活性, 从而调控下游基因表达和植物在高温下的下胚轴伸长。通过表达谱的分析发现, 蓝光和环境温度可以共同调控两个功能未知的新基因 *COR27*、*COR28* 的转录, *COR27*、*COR28* 通过影响生物节律从而调控拟南芥的开花起始以及对冷冻胁迫的抗性。

编者按: 随着地球的周期性自转, 地球上绝大部分生物都处在昼夜交替的环境之中。光照和环境温度作为两种重要的环境信号对生物体的生长发育具有至关重要的作用。光照不仅仅是植物进行光合作用的能量来源, 同时也是调控植物生长发育的重要环境信号。光照和环境温度可以共同调控模式生物拟南芥的下胚轴伸长、开花起始等一系列生理过程, 但是这两种环境因子如何协同调控拟南芥的生长发育却有待深入研究。中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所刘宏涛课题组的研究发现, 拟南芥蓝光受体 CRY1 可以

蓝光和环境温度调控拟南芥生长发育的机制研究

马定邦

(中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 上海 200032)

在众多的环境因子中, 光和环境温度对植物的生长发育具有至关重要的作用。光不仅仅是植物光合作用的能量来源, 同时也是调控植物发育的重要环境信号。植物通过不同的光受体来感受不同波长的光。植物的生长同时也受到了环境温度的严格调控, 适宜的环境温度是植物正常生长发育所必需的。由于地球的自转, 地球上的绝大部分生物都生活在 24 小时周期变换的环境条件中。生物钟是从单细胞生物到植物、动物中都保守存在的适应机制, 而光和温度是生物钟的重要输入信号。生物体内源生物钟可以随着外界环境变化而协调内源的多种生理过程, 从而使生物体具有更好的适应性^[1]。

1 植物隐花素调控拟南芥下胚轴伸长和开花起始

植物通过不同的光受体感受不同波长的光, 包括吸收红光、远红光的光受体 phyA-E^[2], 吸收蓝光的受体 CRY1、CRY2^[3-4], 具有 LOV 结构域、吸收蓝光的 F-Box 蛋白 ZTL、LKP2、FKF1^[5-7] 家族, 以及吸收蓝光并调控植物向光性等生理过程的向光素

PHOT1 和 PHOT2^[8]。此外, 植物还可以利用 UVR8 感受环境中的 UV 信号^[9]。

隐花素 CRY 是一类类似光裂解酶的蓝光受体, 最早在拟南芥中通过遗传筛选蓝光不敏感突变体而被发现^[3-4]。随后的研究表明, 隐花素在进化中非常保守, 从细菌、植物、昆虫到动物和人都广泛存在。在拟南芥中主要有两种隐花素, 即 CRY1 和 CRY2, 主要功能是抑制下胚轴伸长和促进开花起始^[10]。除此之外, 隐花素还介导了一系列的光响应, 包括生物节律、气孔的开闭、保卫细胞的发育、向性生长、根的生长、细菌与病毒病原体应答、非生物胁迫响应、细胞循环、程序性细胞死亡、顶端优势、果实与胚珠的发育、种子休眠以及磁场感应^[11-15]。

第一个与 CRY2 以蓝光依赖方式结合的转录因子 CIB1 在 2008 年通过蓝光下的酵母双杂交筛选获得^[16]。在酵母中, CIB1 与 CRY2 的结合是蓝光特

收稿日期: 2016-10-24

通信作者: E-mail: madingbang@sibs.ac.cn

异的, 相互作用的强度依赖于蓝光强度, 且依赖于生色团 FAD。蓝光激活的 CIB1 可以直接结合下游开花素基因 *FT* 启动子上的 E-BOX 区域, 通过促进 *FT* 的表达, 从而诱导植物的开花起始 (图 1)。CIB1 作为一个 bHLH 的转录因子, 在拟南芥中具有很高的冗余性。研究表明, 至少有 3 个 CIB1 同源基因能够与 CIB1 或 CRY2 相互作用, 包括 CIB2、CIB4 和 CIB5, 而其中一些能与 CIB1 形成异源二聚体, 共同影响 CRY2 对下游基因表达的调控^[17]。蓝光可以稳定 CIB1 蛋白, 但是这个过程并不依赖于 CRY2。后期的研究表明, 拟南芥体内另外两种蓝光受体 ZTL 和 LKP2 可以稳定 CIB1, 这些结果也表明在进化上独立的两类蓝光受体可以通过不同的途径调控同一个转录因子的功能^[18]。

COP1 是一个 E3 泛素化连接酶, 在植物光形态建成、花青素积累等过程中具有重要作用^[19]。功能缺失突变体 *cop1* 呈现出持续性光形态建成表型, 即在黑暗下表现出短的下胚轴、张开的子叶、增加的花青素含量以及光诱导基因的错误表达。SPA 也是一类可以抑制光形态建成的蛋白^[20]。SPA1 能够与 COP1 直接相互作用, 进而促进 COP1 对 HY5、HFR1、CO 等的泛素化^[21-23]。

研究表明, 隐花素可以通过与蛋白质复合体 SPA1/COP1 相互作用而传递蓝光信号, CRY 与 COP1 的相互作用是不依赖于蓝光的, 但 CRY 与 SPA1 的相互作用是蓝光特异的^[23-25]。虽然 CRY1

和 CRY2 具有很高的同源性, 但是它们与 SPA1/COP1 的相互作用机制却并不相同。在酵母和拟南芥中 CRY1-SPA1 的相互作用抑制 SPA1-COP1 复合体的形成, CRY2-SPA1 的相互作用在酵母中则加强了 CRY2-COP1 的相互作用。

2 环境温度调控拟南芥下胚轴伸长和开花起始

在 2008 年, Keara Fanklin 实验室首次发现 PIF4 是植物响应环境温度的关键因子。PIF4 最初是从对红光超敏感的突变体筛选中获得的。PIF4 可以抑制植物的光形态建成^[26]。在高温下, *pif4* 突变体的下胚轴伸长和叶柄的伸长都受到明显的抑制。*PIF4* 的转录会受到温度的诱导^[27], 同时 PIF4 在高温下也会更加稳定^[28], 这与 PIF4 在温和高温条件下的功能是一致的。进一步的研究表明, PIF4 可以直接结合到色氨酸依赖的生长素合成途径中关键酶基因 *TAA1*、*YUCCA8* 以及 *CYP79B2* 的启动子上, 通过调控这些关键酶基因的表达从而促进生长素的合成^[27, 29]。在色氨酸依赖的生长素合成途径中, *TAA1* 和 *YUCCA8* 的催化功能是生长素合成的限速步骤^[30-31]。生长在高环境温度条件下也会导致拟南芥提前开花, 升高温度可以补偿短日照造成的拟南芥晚花表型, 而这一过程也受到了 PIF4 的调控。短日照条件下, 当温度升高时, H2A.Z 从 *FT* 的染色质上去加载, 此时被温度诱导的 PIF4 可以更多地结合到 *FT* 的启动子上, 通过促进 *FT* 的表达, 从而促进开花^[32]。

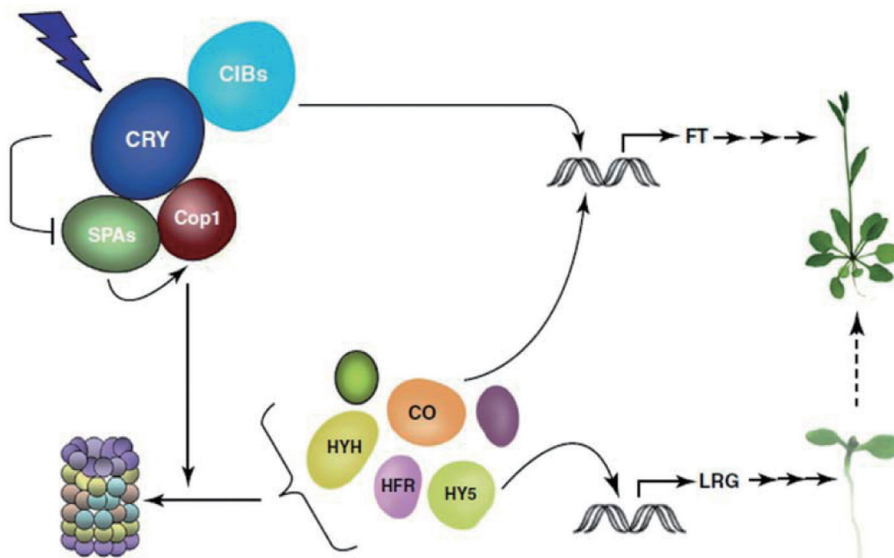


图1 植物隐花素的信号转导^[9]

3 植物内源生物钟

为了适应环境的周期变化,从微生物到植物、果蝇、动物和人都进化出了一套生物钟系统。不同物种的生物钟具有非常相似的分子机制,即转录水平上的正负反馈调节,同时偶联转录后调控、翻译后调控等复杂模式。在功能上,生物钟可以分为三部分:(1)输入系统,用以感受外界的环境变化,如光照和温度等;(2)中央振荡器,在生物体内维持稳定的生物节律;(3)输出系统,可以调控多种下游的生理代谢过程。

植物生物钟由多个正负反馈环路组成。CCA1、LHY 是两个 MYB 家族的转录因子,它们可以通过直接结合到另外一个生物钟核心基因 *TOC1* 启动子的 EE 基序上从而抑制 *TOC1* 的表达^[33-35]。结合全基因组水平的转录分析以及 ChIP-SEQ 技术的应用,发现 *TOC1* 是一个转录抑制因子,可以抑制大部分生物钟核心基因的表达。*TOC1* 同时还可以抑制 EC 复合体蛋白的转录^[36-37]。EC 复合体由三个关键蛋白组成:ELF3、ELF4 以及转录因子 LUX。ELF3 可以作为桥梁分别与 LUX 和 ELF4 结合从而形成三个蛋白的复合体。EC 复合体在傍晚积累最多,并且通过 LUX 结合到 *PIF4*、*PIF5* 基因的启动子上,通过调控 *PIF4*、*PIF5* 的转录进而调控植物的生长发育^[38]。CCA1、LHY 也可以促进另外两个 *TOC1* 同源蛋白 PRR7、PRR9 的表达,而 PRR7、PRR9 则可抑制 *CCA1*、*LHY* 的表达^[39]。

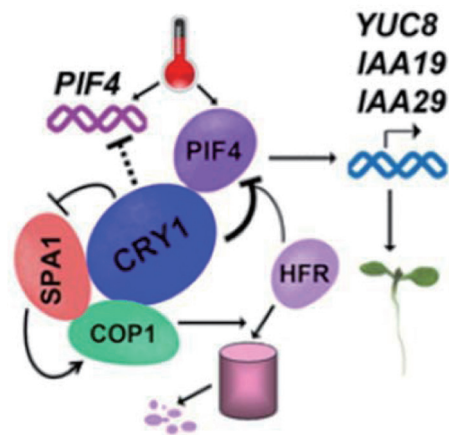
4 隐花素和转录因子 PIF4 结合抑制植物在高温下下胚轴伸长

拟南芥蓝光受体 CRY2 可以与转录因子 CIB1 以蓝光依赖的方式结合,促进 *FT* 的表达进而影响光周期诱导的开花起始^[16]。本课题组研究发现,CRY1 可以和转录因子 PIF4 以蓝光依赖的方式直接相互作用,并且调控 PIF4 下游靶基因的表达和高温促进的下胚轴伸长。之前的研究表明,CRY2 和 ZTL 作为进化上独立的两个蓝光受体都可以调控转录因子 CIB1 的功能^[18]。CRY2 在蓝光下和 CIB1 相互作用并且激活 CIB1 的转录激活功能,ZTL 则介导了蓝光对 CIB1 蛋白稳定性的调控。CIB1 是 CRY2 和 ZTL 共同调控的关键蛋白。PIF4 可以和 phyB、CRY1 直接相互作用,不同的光受体可以利用相同的信号分子调控植物发育。之前也有研究指出,phyA 可以和 CRY1 互作,phyB 可以和 CRY2

互作,说明不同的光信号可能在多种层面上相互作用^[40-41]。

通过本课题组的研究也证明,CRY1 可以和 PIF4 形成复合体并结合到 PIF4 下游靶基因的启动子上,CRY1 通过抑制 PIF4 的转录活性调控下游基因表达从而使植物获得更好的适应性(图2)^[42]。PIF4 是红光、远红光信号通路中的关键转录因子,同时在介导植物对环境温度的响应过程中也具有重要作用。拟南芥中感受 UV 信号的受体 UVR8 可以通过未知的机制抑制 PIF4、PIF5 的蛋白稳定性从而调控植物的避荫性反应^[43]。PIF4 可以和 BR 信号转导通路中的关键转录因子 BZR1 直接相互作用,PIF4-BZR1 能够共同结合到下游基因的启动子上从而调控下游基因表达^[44]。BR 信号通路中 BIN2 可以直接磷酸化 PIF4 并且促进 PIF4 的降解^[45]。结合之前的研究结果,GA 信号通路中关键蛋白 DELLA 可以和 PIF4 直接相互作用,并且抑制 PIF4 对下游靶基因的结合能力,最新的研究结果也表明 DELLA 可调控 PIF3 的蛋白稳定性,所以 PIF4 或者其他 PIF4 同源蛋白在 GA 的信号转导过程中也具有重要的生物学功能^[46-47]。

红光、蓝光、UV 以及环境温度可以影响 PIF4 的生物学功能,同时内源的 GA、BR、生长素等激素信号都受到 PIF4 的调控,这些结果充分说明 PIF4 是植物外界环境信号和内源激素信号整合过程中的关键蛋白。

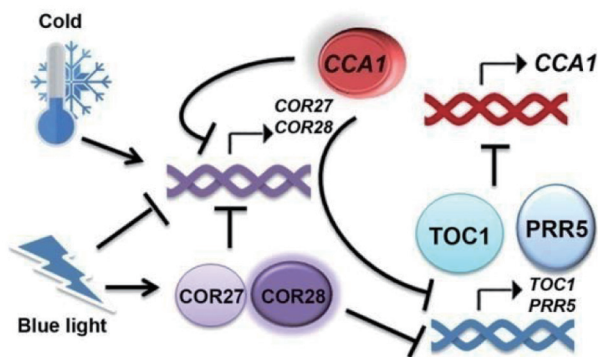


CRY1和PIF4以蓝光依赖的方式结合,通过抑制PIF4的转录活性从而调控下游基因表达,CRY1也可以通过抑制COP1对HFR1的降解从而调控PIF4的功能^[42]。

图2 CRY1抑制高温下下胚轴伸长的分子模型

5 蓝光和温度调控的COR27和COR28调控拟南芥生物节律

为了寻找受蓝光和环境温度共同调控的新基因, 本课题组分析了已有的表达谱数据, 同时结合荧光定量 PCR 方法验证, 结果发现 *COR27* 和 *COR28* 的转录受蓝光抑制以及低温诱导。蓝光也可以稳定 *COR27* 和 *COR28*。*COR27* 和 *COR28* 是生物钟中央振荡器关键蛋白 CCA1、LHY 的靶基因, CCA1 可以直接结合到 *COR27* 和 *COR28* 的启动子上抑制二者的转录。*COR27* 和 *COR28* 不仅仅受生物钟调控, 同时它们也可以调节生物节律。这些结果说明 *COR27* 和 *COR28* 是介导光和温度调控生物钟的关键基因 (图 3)^[48]。



*COR27*和*COR28*的转录受蓝光抑制和低温诱导。*COR27*和*COR28*是CCA1的直接靶基因, *COR27*和*COR28*通过抑制 PRR5、TOC1的表达从而调控拟南芥生物钟周期^[48]。

图3 *COR27*和*COR28*调控拟南芥生物钟的分子模型

生物钟是生物在进化过程中所产生的保守机制, 可以使生物获得更大的适应性。对于植物而言, 开花起始以及抗冷冻胁迫都是生物钟重要的输出信号。*COR27* 和 *COR28* 可以功能冗余地调控拟南芥的开花起始和植物对冷冻胁迫的抗性, 二者可能通过生物钟从而精细调控开花起始和抗冷胁迫之间的平衡。

致谢: 由衷感谢我的导师刘宏涛研究员对我的悉心指导和帮助, 感谢李旭副研究员以及加州大学洛杉矶分校的 Sheen X. Lu 的合作。感谢科技部以及中科院等单位的经费支持。

[参 考 文 献]

[1] Greenham K, McClung CR. Integrating circadian

dynamics with physiological processes in plants. *Nat Rev Genet*, 2015, 16: 598-610

- [2] Hershey HP, Barker RF, Idler KB, et al. Analysis of cloned cDNA and genomic sequences for phytochrome: complete amino acid sequences for two gene products expressed in etiolated *Avena*. *Nucleic Acids Res*, 1985, 13: 8543-59
- [3] Ahmad M, Cashmore AR. *HY4* gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. *Nature*, 1993, 366: 162-6
- [4] Guo H, Yang H, Mockler TC, et al. Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science*, 1998, 279: 1360-3
- [5] Kiyosue T, Wada M. LKP1 (LOV kelch protein 1): a factor involved in the regulation of flowering time in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2000, 23: 807-15
- [6] Somers DE, Schultz TF, Milnamow M, et al. *ZEITLUPE* encodes a novel clock-associated PAS protein from *Arabidopsis*. *Cell*, 2000, 101: 319-29
- [7] Nelson DC, Lasswell J, Rogg LE, et al. *FKF1*, a clock-controlled gene that regulates the transition to flowering in *Arabidopsis*. *Cell*, 2000, 101: 331-40
- [8] Briggs WR, Beck CF, Cashmore AR, et al. The phototropin family of photoreceptors. *Plant Cell*, 2001, 13: 993-7
- [9] Rizzini L, Favory JJ, Cloix C, et al. Perception of UV-B by the *Arabidopsis* UVR8 protein. *Science*, 2011, 332: 103-6
- [10] Liu H, Liu B, Zhao C, et al. The action mechanisms of plant cryptochromes. *Trends Plant Sci*, 2011, 16: 684-91
- [11] Somers DE, Devlin PF, Kay SA. Phytochromes and cryptochromes in the entrainment of the *Arabidopsis* circadian clock. *Science*, 1998, 282: 1488-90
- [12] Mao J, Zhang YC, Sang Y, et al. A role for *Arabidopsis* cryptochromes and COP1 in the regulation of stomatal opening. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 12270-5
- [13] Ahmad M, Jarillo JA, Smirnova O, et al. Cryptochrome blue-light photoreceptors of *Arabidopsis* implicated in phototropism. *Nature*, 1998, 392: 720-3
- [14] Canamero RC, Bakrim N, Bouly JP, et al. Cryptochrome photoreceptors cry1 and cry2 antagonistically regulate primary root elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 2006, 224: 995-1003
- [15] Wu L, Yang HQ. CRYPTOCHROME 1 is implicated in promoting R protein-mediated plant resistance to *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2010, 3: 539-48
- [16] Liu H, Yu X, Li K, et al. Photoexcited CRY2 interacts with CIB1 to regulate transcription and floral initiation in *Arabidopsis*. *Science*, 2008, 322: 1535-9
- [17] Liu Y, Li X, Li K, et al. Multiple bHLH proteins form heterodimers to mediate CRY2-dependent regulation of flowering-time in *Arabidopsis*. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003861
- [18] Liu H, Wang Q, Liu Y, et al. *Arabidopsis* CRY2 and ZTL mediate blue-light regulation of the transcription factor CIB1 by distinct mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 17582-7

- [19] Deng XW, Matsui M, Wei N, et al. *COP1*, an *Arabidopsis* regulatory gene, encodes a protein with both a zinc-binding motif and a G_β homologous domain. *Cell*, 1992, 71: 791-801
- [20] Hoecker U, Tepperman JM, Quail PH. SPA1, a WD-repeat protein specific to phytochrome A signal transduction. *Science*, 1999, 284: 496-9
- [21] Saijo Y, Sullivan JA, Wang H, et al. The COP1-SPA1 interaction defines a critical step in phytochrome A-mediated regulation of HY5 activity. *Genes Dev*, 2003, 17: 2642-7
- [22] Seo HS, Yang JY, Ishikawa M, et al. LAF1 ubiquitination by COP1 controls photomorphogenesis and is stimulated by SPA1. *Nature*, 2003, 423: 995-9
- [23] Zuo Z, Liu H, Liu B, et al. Blue light-dependent interaction of CRY2 with SPA1 regulates COP1 activity and floral initiation in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2011, 21: 841-7
- [24] Lian HL, He SB, Zhang YC, et al. Blue-light-dependent interaction of cryptochrome 1 with SPA1 defines a dynamic signaling mechanism. *Genes Dev*, 2011, 25: 1023-8
- [25] Liu B, Zuo Z, Liu H, et al. *Arabidopsis* cryptochrome 1 interacts with SPA1 to suppress COP1 activity in response to blue light. *Genes Dev*, 2011, 25: 1029-34
- [26] Huq E, Quail PH. PIF4, a phytochrome-interacting bHLH factor, functions as a negative regulator of phytochrome B signaling in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 2002, 21: 2441-50
- [27] Sun J, Qi L, Li Y, et al. PIF4-mediated activation of YUCCA8 expression integrates temperature into the auxin pathway in regulating *Arabidopsis* hypocotyl growth. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1002594
- [28] Seaton DD, Smith RW, Song YH, et al. Linked circadian outputs control elongation growth and flowering in response to photoperiod and temperature. *Mol Syst Biol*, 2015, 11: 776
- [29] Franklin KA, Lee SH, Patel D, et al. Phytochrome-interacting factor 4 (PIF4) regulates auxin biosynthesis at high temperature. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 20231-5
- [30] Zhao Y, Christensen SK, Fankhauser C, et al. A role for flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science*, 2001, 291: 306-9
- [31] Tao Y, Ferrer JL, Ljung K, et al. Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell*, 2008, 133: 164-76
- [32] Kumar SV, Lucyshyn D, Jaeger KE, et al. Transcription factor PIF4 controls the thermosensory activation of flowering. *Nature*, 2012, 484: 242-5
- [33] Wang ZY, Tobin EM. Constitutive expression of the CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1) gene disrupts circadian rhythms and suppresses its own expression. *Cell*, 1998, 93: 1207-17
- [34] Wang ZY, Kenigsbuch D, Sun L, et al. A Myb-related transcription factor is involved in the phytochrome regulation of an *Arabidopsis* *Lhcb* gene. *Plant Cell*, 1997, 9: 491-507
- [35] Alabadi D, Oyama T, Yanovsky MJ, et al. Reciprocal regulation between TOC1 and LHY/CCA1 within the *Arabidopsis* circadian clock. *Science*, 2001, 293: 880-3
- [36] Huang W, Perez-Garcia P, Pokhilko A, et al. Mapping the core of the *Arabidopsis* circadian clock defines the network structure of the oscillator. *Science*, 2012, 336: 75-9
- [37] Gendron JM, Pruneda-Paz JL, Doherty CJ, et al. *Arabidopsis* circadian clock protein, TOC1, is a DNA-binding transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 3167-72
- [38] Nusinow DA, Helfer A, Hamilton EE, et al. The ELF4-ELF3-LUX complex links the circadian clock to diurnal control of hypocotyl growth. *Nature*, 2011, 475: 398-402
- [39] Farre EM, Harmer SL, Harmon FG, et al. Overlapping and distinct roles of PRR7 and PRR9 in the *Arabidopsis* circadian clock. *Curr Biol*, 2005, 15: 47-54
- [40] Ahmad M, Jarillo JA, Smirnova O, et al. The CRY1 blue light photoreceptor of *Arabidopsis* interacts with phytochrome A *in vitro*. *Mol Cell*, 1998, 1: 939-48
- [41] Mas P, Devlin PF, Panda S, et al. Functional interaction of phytochrome B and cryptochrome 2. *Nature*, 2000, 408: 207-11
- [42] Ma D, Li X, Guo Y, et al. Cryptochrome 1 interacts with PIF4 to regulate high temperature-mediated hypocotyl elongation in response to blue light. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 224-9
- [43] Hayes S, Velanis CN, Jenkins GI, et al. UV-B detected by the UVR8 photoreceptor antagonizes auxin signaling and plant shade avoidance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 11894-9
- [44] Oh E, Zhu JY, Wang ZY. Interaction between BZR1 and PIF4 integrates brassinosteroid and environmental responses. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 802-9
- [45] Bernardo-Garcia S, de Lucas M, Martinez C, et al. BR-dependent phosphorylation modulates PIF4 transcriptional activity and shapes diurnal hypocotyl growth. *Genes Dev*, 2014, 28: 1681-94
- [46] de Lucas M, Daviere JM, Rodriguez-Falcon M, et al. A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation. *Nature*, 2008, 451: 480-4
- [47] Li K, Yu R, Fan LM, et al. DELLA-mediated PIF degradation contributes to coordination of light and gibberellin signalling in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 2016, 7: 11868
- [48] Li X, Ma D, Lu SX, et al. Blue light- and low temperature-regulated COR27 and COR28 play roles in the *Arabidopsis* circadian clock. *Plant Cell*, 2016 [Epub ahead of print]