

植物 bHLH 转录因子的结构特点及其生物学功能

张全琪^{1,2}, 朱家红¹, 倪燕妹^{1,2}, 张治礼^{1,3*}

(1. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 农业部热带作物生物技术重点开放实验室, 海口 571101;

2. 广东农垦热带作物科学研究所, 广东 茂名 525140; 3. 海南省农业科学院, 海口 571100)

摘要: bHLH(basic/helix-loop-helix)转录因子在真核生物的生长发育过程中起着重要的调控作用, 它们组成了转录因子中的一个大家族。bHLH 转录因子不仅普遍参与了植物的生长发育, 包括毛状体的发生、光形态建成和光信号转导, 而且在植物响应逆境胁迫和次生代谢方面也具有重要作用。对植物 bHLH 转录因子的结构特点及其生物学功能进行综述。

关键词: 转录因子; bHLH; 结构功能; 表达调控

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2011) 01-0084-07

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2011.01.013

The Structure and Function of Plant bHLH Transcription Factors

ZHANG Quan-qi^{1,2}, ZHU Jia-hong¹, NI Yan-mei^{1,2}, ZHANG Zhi-li^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Tropical Crop Biotechnology, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Biosciences and Biotechnology,

Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 2. Guangdong State Farms Tropical Crop Research

Institute, Maoming 525140, China; 3. Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: The basic/helix-loop-helix (bHLH) transcription factors play important roles in various developmental processes of eukaryotes. They constitute a superfamily of transcription factors that have been well characterized in mammalian systems, in which considerable structural, functional, and phylogenetic analyses have been performed. The family has been not only implicated in plant growth and developmental processes, including formation of trichome, photomorphogenesis and light signal transduction, but also involved in stress responses and secondary metabolism. The progress of the basic structure and biological function of plant bHLH transcription factors was reviewed.

Key words: Transcription factor; bHLH; Structure and function; Expression regulation

植物在长期进化过程中, 为适应和抵御各种生物和非生物胁迫, 形成了一整套复杂而有效的适应性机制, 其中, 基因表达的转录调节在植物应答过程中起着十分重要的作用。转录因子是植物中最重要的一类调节因子, 近年来, 已从高等植物中分离出大量与生物、非生物胁迫相关的转录因子, 它们广泛参与调控与干旱、高盐、高温、低温、激素和病原反应等相关基因的表达。根据基因组序列推断, 仅拟南芥基因组中至少含有 1553 个编码转录

因子的基因, 约占其估计基因总数的 5.9%^[1]。转录因子的数量之大、种类之多, 表明高等植物基因转录调控的复杂性, 同时也表明转录因子研究的重要性。

含碱性/螺旋-环-螺旋结构 (basic/helix-loop-helix, bHLH) 的转录因子广泛存在于生物中, 是真核生物中一类含有众多成员的重要转录因子。自 Murre 等 1989 年从小鼠中首次鉴定出 bHLH 转录因子的 DNA 结合域及其二聚化区域, 迄今已有不

收稿日期: 2010-04-23

接受日期: 2010-08-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(30760917); 中央级公益性科研院所业务费专项基金项目(ITBBZD0716) 资助

作者简介: 张全琪(1982~), 男, 硕士, 主要从事植物生理与分子生物学研究, email: quanqizhang@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, email: zzlcatas@hotmail.com

同植物的 500 多条 bHLH 序列得到鉴定,仅拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 和水稻 (*Oryza sativa*) 基因组就分别有 158 和 173 个 bHLH 基因^[2]。动物 bHLH 转录因子大多与组织分化有关^[3],而植物 bHLH 转录因子在生长发育、胁迫应答和次生代谢过程中均发挥重要的生理功能^[4]。本文对植物 bHLH 转录因子的结构特点及其生物学功能进行综述,为深入研究其生物学功能提供科学参考。

1 bHLH 转录因子的结构特点

bHLH 是植物中广泛存在的一类重要转录因子,其结构域约有 60 个氨基酸,包含两个功能不同的区域——碱性区域、螺旋-环-螺旋(HLH)区域(图 1)。碱性区域位于 bHLH 结构域的 N 端与 HLH 基序相邻,由大约 15 个氨基酸组成,其中包括 6 个共有氨基酸残基,该区域主要与 DNA 结合有关^[5];HLH 区域位于 bHLH 结构域的 C 端,其中含有既亲水又亲脂 α -螺旋,两个 α -螺旋之间被不同长度的连接区(环)分开,形成螺旋-环-螺旋结构^[6]。同一个 bHLH 转录因子的两个 α 螺旋或不同 bHLH 转录因子 α -螺旋之间可以相互作用,形成同源或异源二聚体,从而与靶基因启动子的不同部位相结合,对基因的转录发挥调控作用^[7]。Li 等对水稻中的 bHLH 转录因子的研究表明,167 个 OsbHLH 蛋白中的 141 个含有碱性区域,具有与 DNA 结合的功能,而另外的 26 个 HLH 蛋白缺失碱性区域,没有与 DNA 结合的能力,这些 HLH 蛋白通过与 bHLH 蛋白结合形成异源二聚体,对基因的表达起负调控作用^[8]。

bHLH 转录因子碱性区域中的某些氨基酸能特异性识别靶基因启动子区域中的 E-box (5'-CANNTG-3')并与之结合,从而调控靶基因的表达。

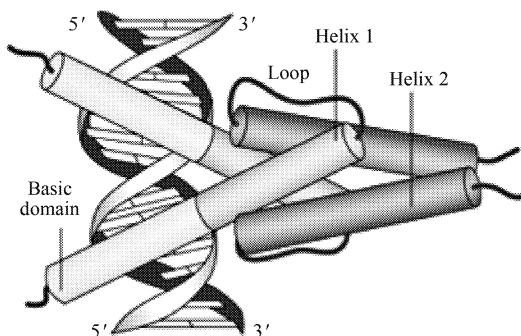


图 1 bHLH 基序及其目标 DNA 复合体^[7]

Fig. 1 Complex formed between bHLH motif and its target DNA^[7]

由于 E-box 中间两个核苷酸是可变的,使得 E-box 有多种不同的形式,其中最为常见的是 G-box (5'-CACGTG-3')。1999 年 Atchley 等报道,E-box 外侧的其它核苷酸对 bHLH 转录因子与其靶基因启动子的特异性结合起到重要作用^[5]。动物的研究也表明 G-box 附近序列的多样性也参与了 bHLH 因子结合的特异性^[9]。

2 bHLH 转录因子的分类

1997 年 Atchley 和 Fitch 根据 bHLH 的碱性 DNA 结合模式,将动物 bHLH 转录因子分为 A、B、C、D、E、F 六个组^[9]。A 组 bHLH 转录因子可与 E-box (5'-CACGTG-3')相结合,主要调控神经细胞、肌细胞生成以及中胚层的形成,其成员包括 ASCa、ASCb、MyoD、Twist、Delilah、Atonal 和 Acheate-Scute 等;B 组成员有 SREBP、Max、Mlx 和 USF 等,SREBP 主要调控固醇代谢、脂肪细胞形成,Max 参与细胞的增殖与分化,Mlx 和 USF 分别调控葡萄糖响应基因和端粒酶基因的表达,它们均能与 G-box (5'-CACGTG-3')结合^[10];C 组除 bHLH 基序外,其 C 端还有 1 个 PAS 结构域,能和 NACGTG 或 NGCGTG 等不同于 E-box 的序列结合,参与调控个体生理节律和毒物代谢^[11],其成员有 Bmal、Arnt 和 Sim;D 组由 HLH 组成,缺失碱性区域,能与其它 bHLH 转录因子结合形成无活性的异源二聚体,从而阻碍 bHLH 转录因子与 DNA 结合^[12]。E 组 bHLH 的碱性区域富含脯氨酸或甘氨酸,如 Hairy、Hey、deadpan 和 E (spl),它们可优先与靶基因启动子中的 CACGNA 基序结合,Hey 能对动物神经细胞生成、器官发生以及体节形成等起到调控作用,而 E (spl) 主要与胚胎分节和成虫刚毛图式有关^[13-14]。F 组由 COE-bHLH 蛋白组成,COE 结构域在形成二聚体和与 DNA 结合中发挥重要作用,主要参与调控头部发育、嗅觉神经元生成和 B 细胞发育^[15]。

与动物相比,植物 bHLH 转录因子的研究相对滞后。1989 年 Ludwig 首次报道从玉米 (*Zea mays*) 分离得到 1 个与花青素合成相关的含有 bHLH 基序的蛋白 LC^[16]。到目前为止,用基因组和生物信息分析,拟南芥和水稻中分别分离鉴定了 158 和 173 个 bHLH 转录因子^[2],其他植物中也鉴定出 bHLH 基因。对基因序列的系统发生进行分析,结果表明,植物 bHLH 基因序列与动物的 B 组成员有共同祖先,Buck 等的研究表明,拟南芥的 147 个

bHLH 成员中有 104 个属于 B 组^[17]; Heim 等的研究也表明, 植物 bHLH 大多数属于 B 组^[4]。由于植物与动物 bHLH 转录因子的结构与功能存在差异, 两者的系统发生也是相互独立的, 因此植物 bHLH 转录因子的分类与动物的不同。再者, 与动物相比, 只有少数植物 bHLH 蛋白的功能得到解析, 且主要局限于水稻和拟南芥等模式植物, 所以目前各个家族还没有相应的名称。Buck 等将植物中目前发现的 295 个 bHLH 基因分为 15 个进化支^[17], 而 Heim

等将拟南芥的 133 个基因分为 12 个主要组^[4]; Toledo-Ortiz 等将拟南芥的 147 个 bHLH 基因分为 21 个家族^[18]; 而 Li 等则根据系统发生、内含子/外显子结构和蛋白构型将水稻的 167 个 bHLH 基因分为 22 个家族, 而将水稻与拟南芥的所有 bHLH 基因分成了 25 个家族, 根据 bHLH 结构域 N 端序列特征将水稻和拟南芥 bHLH 基因分成 4 个小组^[8] (图 2)。

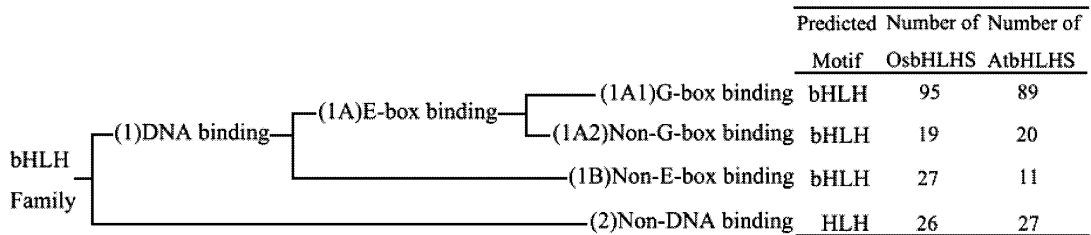


图 2 水稻和拟南芥 bHLH 转录因子 bHLH 结构域 DNA 结合特性预测^[8]

Fig. 2 Predicted DNA-binding characteristics of the bHLH domain of OsbHLH and AtbHLH proteins^[8]

3 植物 bHLH 转录因子的生物学功能

转录因子在植物的生长发育及其对外界环境的反应中起重要作用。bHLH 转录因子作为植物转录因子最大的家族之一, 在高等植物不同组织中广泛存在, 并参与众多代谢过程的调控, 在植物生长发育、胁迫应答和植物次生代谢中起重要作用, 但其具体的调控机制尚不太清楚。

3.1 bHLH 与植物的生长发育和形态建成

3.1.1 参与调控表皮毛和根毛的发育

表皮毛和根毛的发育是受转录调控复合体 (MYB-bHLH-WD40) 控制, 由转录调控因子 GL1/WER (GLABROUS1/WEREWOLF)、GL3/EGL3 (GLABRA3/ENHANCER of GLABRA3) 和 TTG1 (TRANSPARENT TESTA GLABRA1) 构成^{7[19-20]}。GL3 位于拟南芥第 5 号染色体, 编码 1 种 bHLH 蛋白, 表皮毛的正常特化和形态发生都需要 GL3 的作用^[21]。酵母双杂交实验证明, GL1 和 GL3 及 TTG1 和 GL3 有互作效应, GL3 充当 TTG1 和 GL1 之间的桥梁, 说明正常表皮毛的发育启动需要 GL1-GL3-TTG1 复合体的调控^[22]。而在根毛的发育过程中, WER 和另一个 MYB 类转录因子 CPC (CAPRICE) 之间存在竞争机制, 在成熟表皮细胞的 N 位置, WER 是 CPC 的正向调节因子; 在成熟表皮细胞的 H 位置上, CPC 是 WER 的负向调节因子, 它们与共同的 bHLH 互作, 调控 HD-ZIP IV 类转录

因子基因 *GL2* (*GLABLA2*) 的表达, 从而调控植物表皮毛以及非根毛细胞的发育^[23]。此外, MYB-bHLH-WD40 复合体还参与调控金鱼草 (*Antirrhinum majus*) 花瓣表皮圆锥形细胞的形成、拟南芥下胚轴上气孔的发育及矮牵牛 (*Petunia hybrida*) 和玉米花青素的合成^[24-25]。

3.1.2 参与调控光形态建成和光信号转导

bHLH 转录因子调控光形态建成主要是通过调控光敏色素来实现的, 光敏色素在黑暗下存在于细胞质中, 捕获光后定位到细胞核中。细胞核中的光敏色素能诱导一系列依赖光敏色素的基因的表达^[26]。光敏色素信号是以光敏色素互作因子 (phytochrome-interacting factors, PIFs) 与光敏色素的活化形式的直接相互作用开始的。Jiao 等报道 PIFs 因子主要属于 bHLH 家族^[27]。不同的 PIF 蛋白在光形态建成中的作用不同, 多数情况下起负调控的作用。1998 年 Ni 等利用酵母双杂交技术, 以 phyB 的 C 端区域为探针, 从拟南芥 cDNA 文库中分离出第 1 个 bHLH 类 PIF 因子——PIF3, 它通过与活化的光敏色素结合, 参与光调节基因 *CCA1* 和 *LHY* 的表达调控^[28]。Monte 等采用 T-DNA 插入技术分离到许多独立突变株 *pif3*, 在连续红光下, *pif3* 突变株有短的下胚轴和伸展的子叶^[29], 且 *pif3* 植株中的叶绿素和花青素的积累都发生缺陷, 因此推测红光下 PIF3 在光形态建成中主要起负调控作用, 而在叶绿素和花青素积累中主要起正调控的作用。

pdf1 突变体的种子萌发受到抑制,而且在远红光和黑暗相互交替时,*pdf1* 突变体表现出轻微的短下胚轴表型,黑暗下突变体的下胚轴的向地性比野生型减弱^[30],其幼苗出现受光自由基损伤的症状,即使黑暗中生长的黄化苗转移到光照下,突变株的叶片也不能转绿,植株最终死亡。因此推测,PIF1 可能是通过抑制 GA 的合成基因,或活化 GA 的降解基因,从而降低种子中具有生物活性的 GA 含量,最终导致种子萌发受阻。PIF1 不但参与光诱导的种子萌发和抑制下胚轴伸长、黑暗中下胚轴的向地性,还负调控叶绿素的生物合成。PIF4 和 PIF5 蛋白的循环表达可能调控拟南芥幼苗在光照/黑暗循环时的生理节律表达。由此看来,bHLH 类 PIFs 因子可能是植物整个生命周期中光形态发育的调控因子。

3.1.3 参与调控植物生殖器官的发育

植物生殖器官的发育是一个非常复杂、由多基因协调控制的过程。植物中多种转录因子参与了生殖器官的发育过程,bHLH 类转录因子与 MADS、AP2 和 bZIP 等转录因子一样,被证明在植物生殖器官的发育过程中发挥着重要的作用。Youichi 等利用 T-DNA 激活标签法鉴定出拟南芥中的 *RGE1* 基因,*RGE1* 基因在小苗、根、莲座叶、花芽和花中均没有表达,但 *RGE1* 在鱼雷型胚发育的早期开始表达并逐渐增强,在成熟种子的表达量达到最高^[31]。*rge1* 突变体的结实率低且种子干瘪、种皮皱缩,说明 *RGE1* 在种子发育过程中起重要的作用。Zhang 等研究了拟南芥雄性不育植株,雄性不育基因 *DYT1* 控制绒毡层的分化和发育,其突变体由于绒毡层在小孢子发生减数分裂后发生严重空泡化并且延迟降解,小孢子母细胞在减数分裂后发生退化并降解,最终不能形成花粉而导致不育,说明 *DYT1* 在控制绒毡层发育和功能中起到重要作用^[32]。

研究表明,ALC (ALCATRAZ)、AMS (ABORTED MICROSPORES)和 SPT (SPATULA)也是拟南芥中与雄性不育相关的 4 个 bHLH 转录因子,其中 *ALC* 与长角果开裂和雌蕊发育有关^[33];*AMS* 则是 *DYT1* 调控的下游基因,与花粉发育相关^[34];*SPT* 除与心皮发育有关外,在花药散开处、珠柄脱落区、角果开裂区都有 *SPT* 基因的表达,推测其还能与 HEC (HECATE) 形成异源二聚体参与雌蕊发育^[35]。Doebly 等利用转座子标签法从玉米中分离得到 1

个 bHLH 转录因子 *Tb1*,其编码基因主要影响叶腋中芽的生长发育,其野生型植株的侧枝带有停止发育的芽或是正在形成的雌花,而突变株侧枝上的初生茎成倍增长,末端产生穗状的雄花^[36]。这暗示 *tb1* 基因具有抑制侧枝生长和雄花形成的功能;而金鱼草中的 *cyc* 与 *dich* 基因同样对花的发育有很大作用,金鱼草的唇形花,两侧对称但沿背腹轴花瓣形状显著不同。*cyc* 单基因突变产生半辐射状的花,原腹部的花瓣移到侧旁,原侧瓣移到背部;*dich* 单基因的突变只影响背部花瓣的形状,而当 *cyc* 和 *dich* 基因同时突变时则产生辐射对称的花。这说明 *cyc* 与 *dich* 基因在花的发育过程中起作用,但作用的部位不同^[37]。

3.2 bHLH 与植物的抗逆性

高等植物应答胁迫的调控通常被认为是发生在基因的转录水平,涉及到一系列的转录因子及相应基因,植物转录因子可调控植物感受干旱、高盐、低温、激素和病原等信号相关基因的表达,在植物抗逆反应中发挥重要作用。bHLH 类转录因子与 bZIP、WRKY、AP2/EREBP 和 MYB 等转录因子一样,参与了胁迫应答并发挥着重要作用。Kiribuchi 等报道外源 JA 诱导水稻 bHLH 类转录因子 *RERJ1* 基因在营养生长期的叶片、叶鞘和根中表达,而伤害和干旱胁迫下 *RERJ1* 基因在叶片中上调表达^[38]。王玉军等证明 *Os bHLH1* 基因过量表达能明显提高转基因植株的耐低温能力^[39]。磷饥饿可诱导水稻中参与耐低磷的 bHLH 类转录因子 *OsPTF1* 基因的表达,磷饥饿时,该基因在侧根和根的韧皮部被诱导表达,但在表皮细胞中不表达,而在叶中则是组成型表达^[40]。同样,在 *OsIRO2* 基因过表达的水稻植株中,植物含 Fe 细胞 phytoalexins (MAs) 数量明显高于野生型,缺铁胁迫下水稻 *OsIRO2* 基因被诱导,促进对 Fe 的吸收^[41]。Zhou 等从野生稻中分离得到 1 个新的 bHLH 转录因子 *OrbHLH2*,该基因的过表达植株对盐和渗透胁迫的耐受力提高,而 *DREB1A/CBF3*、*RD29A*、*COR15A* 和 *KIN1* 等胁迫相关的基因上调表达,表明其与植物的盐胁迫和干旱胁迫应答相关^[42]。拟南芥 *rd22* 基因主要受干旱胁迫和 ABA 的诱导,它的启动子区域存在 MYC 和 MYB 识别位点,AtMYC2 (rd22BP1) 和 AtMYB2 通过与 MYC 和 MYB 识别位点的特异结合来调节基因的表达,Abc 等对 AtMYC2 和 AtMYB2 过表达的转基因植株的研究表明,过表达

植株对 ABA 更敏感,转基因植株中除受 ABA 诱导的 *rd22* 和 *AtADH1* 表达量增加外,还有多个受 ABA 诱导的基因上调表达。相反,*AtMYC2* 基因的 DS 插入突变体对 ABA 的敏感度下降,并且 *rd22* 和 *AtADH1* 表达受抑制,这暗示 *AtMYC2* 和 *AtMYB2* 在干旱胁迫下对 ABA 诱导的基因起重要的调控作用^[43]。ICE (inducer of CBF expression) 是 *CBFs* 基因上游的一类 MYC 型 bHLH 转录因子,通过与 *CBFs* 基因启动子中的 MYC 识别序列特异结合调控 *CBFs* 及其下游基因的表达,从而参与胁迫应答的调控。Chinnusamy 等^[44] 的研究表明,ICE1 (*AtbHLH16*) 在拟南芥的冷害胁迫中起重要的调控作用,*CBF1*、*CBF2* 和 *CBF3* 的启动子序列中各有 1、1 和 5 个 MYC 识别位点(CANNTG),当发生冷害胁迫时,ICE1 识别并与 *CBF1/2/3* 启动子中的 CANNTG 结合,启动 *CBFs* 基因的表达。拟南芥 *ice1* 突变株的 *CBF3* 表达受抑制,且 *CBFs* 下游基因的表达量明显减少,对低温的耐受能力明显低于野生型。在转基因植株中,ICE1 过表达明显提高了植株的耐寒性,其激活需要低温信号。Li 等报道 *OsbHLH001* 和 *OsbHLH002* 与 ICE1 (*AtbHLH16*) 的亲缘关系最近^[6],但它们与 ICE1 是否具有类似的功能还需进一步研究。

3.3 bHLH 与植物的次生代谢

bHLH 转录因子除了广泛参与植物的生长发育和胁迫应答外,在植物次生物质代谢和花色苷生物合成等方面也发挥着十分重要的调节作用。*R* 基因的产物 Lc 参与调控植物多个组织花青素的合成,是首个报道具有 bHLH 结构域的转录因子,对花青素合成的时间、分布和数量具有决定性作用^[16]。而与 *R* 基因同属 1 个基因家族的 *Sn* 同时参与花青素和单宁酸的合成过程,Consonni 等的研究表明 *Sn* 基因在中胚轴、叶基和果皮中的色素生成过程起决定作用。在转基因百脉根 (*Lotus corniculatus*) 中,*Sn* 表达后花色苷含量增加,且局限于叶脉、叶基和叶柄组织,但这种作用不太显著;同时,单宁酸含量则明显增加,且也是组织特异的,这说明花色苷和单宁酸生物合成可能具有相同的调控机制^[45]。1992 年,Goodrich 从金鱼草中克隆的 *Delila* 基因(*Del*)编码的蛋白与玉米 *R* 基因家族产物具有类似的螺旋-环-螺旋结构域^[46],现已证实,*Del* 基因的转录表达与花色苷的沉积密切相关。因为 *Del* 基因能调控花色苷生物合成的基

因表达,并且在花瓣和雄蕊等部位表达强烈,在花萼和子房等部位表达较弱,而在叶、茎、苞片等部位未见表达。拟南芥 *BEE1* (brassinosteroid enhanced expression 1)、*BEE2* 和 *BEE3* 基因编码的氨基酸序列极其相似,均是 bHLH 转录因子,芸苔素 (Brassinolide) 处理 30 min 即可诱导这 3 个基因的高效表达,而生长素、细胞分裂素和乙烯对 *BEEs* 的表达也有促进作用,这暗示 *BEEs* 可能参与植物生长发育的多个信号途径^[47]。

此外,bHLH 转录因子在植物茉莉酸信号转导途径中也起重要的调控作用,通过启动一系列相关基因的表达导致产生茉莉酸诱导的生理效应。在已鉴定的 bHLH 基因中,有相当一部分都能够对茉莉酸信号做出响应,如 *AtMYC2*、*JAMYC2*、*JAMYC10* 等^[48]。我们利用 RACE 技术从巴西橡胶树 (*Hevea brasiliensis*) 中分离出 1 个新的 bHLH 转录因子基因,命名为 *HbbHLH1* (*H. brasiliensis* basic/helix-loop-helix),GenBank 登录号为 FJ839963,该基因的表达受外源茉莉酸的诱导(未公开数据)。通过 GenomeWalking 方法从巴西橡胶树叶片基因组 DNA 中克隆获得 *HbbHLH1* 转录起始位点上游的调控序列,*HbHLH1* 启动子区域存在 2 个茉莉酸响应元件^[49]。胶乳是在巴西橡胶树乳管中合成、具有重要防御功能的次生代谢产物。Hao 等的研究表明,外源 JA 可诱导橡胶树乳管的分化^[50]。因此,我们推测 bHLH 转录因子在茉莉酸诱导橡胶树乳管分化和促进胶乳生物合成过程中起重要的调控作用。

4 展望

与动物相比,植物 bHLH 转录因子的研究起步较晚,但已取得了不少成就。研究表明 bHLH 转录因子参与调节植物的多种生长与发育过程,目前对该类转录因子的研究还主要局限于拟南芥和水稻等模式植物,主要集中在 bHLH 转录因子的基因克隆、结构鉴定、表达及其相关功能分析等阶段。由于 bHLH 转录因子功能的多样性与复杂性,全面认识和理解 bHLH 转录因子家族还有待于进一步研究,如具体的上、下游结合因子、生理功能、交互作用等,揭开其在植物生长发育、花色苷合成以及外界刺激下的调控机制及信号转导。随着转座子插入突变、T-DNA 插入突变和 RNA 干扰等方法的发展以及水稻、拟南芥和一些重要经济作物基因组测序的完成,bHLH 转录因子所参与的生物学功能将

会进一步得到拓宽,其所介导植物应答反应过程也会逐渐阐明。

参考文献

- [1] Huang Z J(黄泽军), Huang R F(黄荣峰), Huang D F(黄大昉). Functional analysis of plant transcription factors [J]. J Agri Biotechn(农业生物技术学报), 2002, 10: 295-300.(in Chinese)
- [2] Pires N, Dolan L. Origin and diversification of basic-helix-loop-helix proteins in plants [J]. Mol Biol Evol, 2010, 27(4): 862-874.
- [3] Massari M E, Murre C. Helix-loop-helix proteins: Regulators of transcription in eucaryotic organisms [J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(2): 429-440.
- [4] Heim M A, Jakoby M, Werber M, et al. The basic helix-loop-helix transcription factor family in plants: A genome-wide study of protein structure and functional diversity [J]. Mol Biol Evol, 2003, 20(5): 735-747.
- [5] Atchley W R, Terhalle W, Dress A. Positional dependence, cliques, and predictive motifs in the bHLH protein domain [J]. J Mol Evol, 1999, 48: 501-516.
- [6] Nair S K, Burley S K. Recognizing DNA in the library [J]. Nature, 2000, 404: 715-717.
- [7] Ma P, Rould M, Weintraub H, et al. Crystal structure of MyoD bHLH domain-DNA complex: Perspectives on DNA recognition and implications for transcriptional activation [J]. Cell, 1994, 77: 451-459.
- [8] Li X X, Duan X P, Jiang H X, et al. Genome-wide analysis of basic/helix-loop-helix transcription factor family in rice and *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2006, 141(4): 1167-1184.
- [9] Atchley W R, Fitch W M. A natural classification of the basic helix-loop-helix class of transcription factors [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 5172-5176.
- [10] Yokoyama C, Wang X, Briggs M R, et al. SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene [J]. Cell, 1993, 75(1): 187-197.
- [11] Katzenberg D, Young T, Lin L, et al. A human period gene (*HPER1*) polymorphism is not associated with diurnal preference in normal adults [J]. Psychiatr Genet, 1999, 9(2): 107-109.
- [12] Ellis H M. Embryonic expression and function of the *Drosophila* helix-loop-helix gene, extramacrochaetae [J]. Mech Dev, 1994, 47(1): 65-72.
- [13] Leimeister C, Externbrink A, Klamt B, et al. *Hey* genes: A novel subfamily of hairy and enhancer of split related genes specifically expressed during mouse embryogenesis [J]. Mech Dev, 1999, 85(1/2): 173-177.
- [14] Maier D, Marte B M, Schafer W, et al. *Drosophila* evolution challenges postulated redundancy in the *E(spl)* gene complex [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(12): 5464-5468.
- [15] Crozatier M, Valle D, Dubois L, et al. Collier, a novel regulator of *Drosophila* head development, is expressed in a single mitotic domain [J]. Curr Biol, 1996, 6: 707-718.
- [16] Albert N W, Lewis D H, Zhang H B, et al. Light-induced vegetative anthocyanin pigmentation in petunia [J]. J Exp Bot, 2009, 60(7): 2191-2202.
- [17] Buck M J, Atchley W R. Phylogenetic analysis of plant basic helix-loop-helix proteins [J]. J Mol Evol, 2003, 56: 742-750.
- [18] Toledo-Ortiz G, Huq E, Quail P H. The *Arabidopsis* basic/helix-loop-helix transcription factor family [J]. Plant Cell, 2003, 15(8): 1749-1770.
- [19] Zhao M Z, Morohashi K, Hatlestad G, et al. The TTG1-bHLH-MYB complex controls trichome cell fate and patterning through direct targeting of regulatory loci [J]. Development, 2008, 135: 1991-1999.
- [20] Pu L, Suo J F, Xue Y B. Molecular control of plant trichome development [J]. Acta Gen Sin, 2003, 30: 1078-1084.
- [21] Morohashi K, Zhao M Z, Yang M L, et al. Participation of the *Arabidopsis* bHLH factor GL3 in trichome initiation regulatory events [J]. Plant Physiol, 2007, 145: 736-746.
- [22] Szymanski D B, Lloyd A M, Marks M D. Progress in the molecular genetic analysis of trichome initiation and morphogenesis in *Arabidopsis* [J]. Trends Plant Sci, 2000, 5: 214-219.
- [23] Schiefelbein J. Cell-fate specification in the epidermis: A common patterning mechanism in the root and shoot [J]. Curr Opin Plant Biol, 2003, 6: 74-78.
- [24] Glover B J, Perez-Rodriguez M, Martin C. Development of several epidermal cell types can be specified by the same MYB-related plant transcription factor [J]. Development, 1998, 125: 3497-3508.
- [25] Quattrocchio F, Wing J F, van der Woude K, et al. Analysis of bHLH and MYB domain proteins: Species-specific regulatory differences are caused by divergent evolution of target anthocyanin genes [J]. Plant J, 1998, 13: 475-488.
- [26] Tepperman J M, Hwang Y S, Quail P H. PhyA dominates in transduction of red-light signals to rapidly-responding genes at the initiation of *Arabidopsis* seedling de-etiolation [J]. Plant J, 2006, 48: 728-742.
- [27] Jiao Y, Lau O S, Deng X W. Light-regulated transcriptional networks in higher plants [J]. Nat Rev Genet, 2007, 8: 217-230.
- [28] Ni M, Tepperman J M, Quail P H. PIF3, a phytochrome-interacting factor necessary for normal photoinduced signal transduction, is a novel basic helix-loop-helix protein [J]. Cell, 1998, 95: 657-667.
- [29] Monte E, Tepperman J M, Al-Sady B, et al. The phytochrome-interacting transcription factor, PIF3, acts early, selectively, and positively in light-induced chloroplast development [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 16091-16098.
- [30] Oh E, Kim J, Park E, et al. PIL5, a phytochrome-interacting basic helix-loop-helix protein, is a key negative regulator of seed germination in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell, 2004, 16: 3045-3058.
- [31] Kondou Y, Nakazawa M, Kawashima M, et al. RGE1, a new bHLH protein, expresses in endosperm to control embryo growth [J]. Plant Physiol, 2008, 147: 1924-1935.
- [32] Zhang W, Sun Y J, Timofejeva L, et al. Regulation of *Arabidopsis*

- tapetum development and function by *DYSFUNCTIONAL TAPETUM1 (DYT1)* encoding a putative bHLH transcription factor [J]. *Development*, 2006, 133: 3085–3095.
- [33] Rajani S, Sundaresan V. The *Arabidopsis myc/bHLH* gene *ALCATRAZ* enables cell separation in fruit dehiscence [J]. *Curr Biol*, 2001, 11(24): 1914–1922.
- [34] Xu J, Yang C Y, Yuan Z, et al. The *ABORTED MICROSPORES* regulatory network is required for postmeiotic male reproductive development in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell*, 2010, 22: 91–107.
- [35] Michael G, Yasmin B, Edwin R L, et al. Regulation of tissue-specific expression of *SPATULA*, a *bHLH* gene involved in carpel development, seedling germination, and lateral organ growth in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2010, 61(5): 1495–1508.
- [36] Doebley J, Stec A, Hubbard L. The evolution of apical dominance in maize [J]. *Nature*, 1997, 386: 485–488.
- [37] Luo D, Carpenter R, Copsey L, et al. Control of organ asymmetry in flowers of *Antirrhinum* [J]. *Cell*, 1999, 99(4): 367–376.
- [38] Kiribuchi K, Jikumaru Y, Kaku H, et al. Involvement of the basic helix-loop-helix transcription factor *RERJ1* in wounding and drought stress responses in rice plants [J]. *Biosci Biotechn Biochem*, 2005, 69(5): 1042–1044.
- [39] Wang Y J(王玉军), Hao Y J(郝宇钧), Dai J X(戴继勋), et al. Improved tolerance of *Os bHLH1* transgenic *Arabidopsis* to low temperature stress [J]. *High Techn Lett(高技术通讯)*, 2004, 14(4): 35–38. (in Chinese)
- [40] Yi K K, Wu Z C, Zhou J, et al. *OsPTF1*, a novel transcription factor involved in tolerance to phosphate starvation in rice [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138: 2087–2096.
- [41] Ogo Y, Itai R N, Nakanishi H, et al. Isolation and characterization of *IRO2*, a novel iron-regulated bHLH transcription factor in graminaceous plants [J]. *J Exp Bot*, 2006, 57(11): 2867–78.
- [42] Zhou J, Li F, Wang J L, et al. Basic helix-loop-helix transcription factor from wild rice (*OrbHLH2*) improves tolerance to salt- and osmotic stress in *Arabidopsis* [J]. *J Plant Physiol*, 2009, 166(12): 1296–306.
- [43] Abe H, Urao T, Ito T, et al. *Arabidopsis AtMYC2 (bHLH)* and *AtMYB2 (MYB)* function as transcriptional activators in abscisic acid signaling [J]. *Plant Cell*, 2003, 15: 63–78.
- [44] Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, et al. *ICE1*: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Genes Dev*, 2003, 17: 1043–1054.
- [45] Robbins M P, Paolucci F, Hughes J W, et al. *Sn*, a maize bHLH gene, modulates anthocyanin and condensed tannin pathways in *Lotus corniculatus* [J]. *J Exp Bot*, 2003, 54(381): 239–248.
- [46] Goodrich J, Carpenter R, Coen E S. A common regulator of pigmentation pattern in diverse plant species [J]. *Cell*, 1992, 68: 955–964.
- [47] Friedrichsen D M, Nemhauser J, Muramitsu T, et al. Three redundant brassinosteroid early response genes encode putative bHLH transcription factors required for normal growth [J]. *Genetics*, 2002, 162(3): 1445–1456.
- [48] Boter M, Rivero O R, Abdeen A, et al. Conserved MYC transcription factors play a key role in jasmonate signaling both in tomato and *Arabidopsis* [J]. *Genes Dev*, 2004, 18: 1577–1591.
- [49] Zhang Q Q(张全琪), Zhu J H(朱家红), Cai Y B(蔡元保), et al. Cloning and sequence analysis of *HbbHLH1* promoter from *Hevea brasiliensis* [J]. *Mol Plant Breed(分子植物育种)*, 2009, 7(3): 531–536. (in Chinese)
- [50] Hao B Z, Wu J L. Laticifer differentiation in *Hevea brasiliensis*: induction by exogenous jasmonic acid and linolenic acid [J]. *Ann Bot*, 2000, 85: 37–43.