

高等植物开花时程的调控与光受体^{*}

I. 开花时程的基因与光受体调控

邵宏波

(中国科学院 广西植物研究所, 中国广西 桂林 541006)

摘要: 系统评述了高等植物开花时程的调控与植物光受体的联系. 重点说明了控制开花时程的遗传途径以及光周期途径的有关基因的研究进展. 影响高等植物开花的最重要的因子之一便是光周期, 光周期对高等植物开花的调控是通过相关基因间的相互作用来实现的, 这些基因包括参与花启动发育控制基因, 昼夜节律时间钟调控基因及光受体信号转导基因. 近5年左右的时间通过对拟南芥及其一系列突变体的研究为我们展示了这一热门领域的广阔的前景.

关键词: 植物光受体; 拟南芥; 开花时程; 光周期; 开花时程基因及表达

中图分类号: Q943.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7847(2001)S0-0149-04

The Regulation and Control of Flowering Time and Photoreceptors in Higher Plants

I. The Regulation and Control of Genes and Photoreceptors in the Flowering Time

SHAO Hong-bo

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and Academia Sinica, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: One of the most important factors influencing the flowering of higher plants is photoperiod, which is controlled by photoreceptors. The photoperiodic regulation of higher plant flowers is realized by the interaction of the genes, including developmentally controlling flower-beginning genes, circadian clock controlling genes and photoreceptor signal transducting genes. The regulation and control of the genes and photoreceptors in the flower course of higher plants are reviewed.

Key words: photoreceptors; *Arabidopsis*; flowering time; photoperiod; flowering time genes and expression

(*Life Science Research*, 2001, 5(Suppl): 149~152)

影响高等植物开花时程最重要的环境因子之一便是光的日照长度, 即光周期(Photoperiod), 它最初是由 Garner 和 Allard 在上世纪的 20 年代发现的. 在短日条件下加速开花的高等植物称为 SD 植物而在长日条件下加速开花的高等植物称为

LD 植物. LD 植物通常在晚春或早夏(当日照长度变长)时开花并在适宜季节产生种子. SD 植物常在秋天(当光周期变短)开花并在冷的冬天来临之前完成其生殖过程. 高等植物开花时程与所依赖的环境条件如光周期的同步化(Synchronization)也

* 收稿日期: 2000-12-23; 修回日期: 2001-08-23

基金项目: 中国科学院广西植物研究所科研启动经费和吉林省科委科研基金资助项目

作者简介: 邵宏波(1964-), 男, 广西植物研究所副教授, 理学硕士, 国际有性植物繁殖研究会(ISPRRA)会员, 从事植物生物技术及分子生物学研究. 已在相关领域发表学术论文 120 余篇, 独立出版专著一部.

增加了其远缘杂交和遗传重组的机会. 高等植物开花的光周期调控是由参与花启动的发育控制, 昼夜节律时间钟(Circadian clock) 调控及光受体信号转导的基因间相互作用完成的^[1~14]. 最近有关兼性 LD 植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) 的分子遗传学研究已经导致了在鉴定有关于开花时程(flowering time) 及昼夜节律时间钟功能的分子成份及遗传学途径方面取得了长足进展^[5~20]. 本文主要讨论有关植物光受体(Plant photoreceptors), 光敏素(phytochromes) 及隐色素(cryptochromes) 以及它们在调控高等植物开花时程方面所取得的最新进展.

1 高等植物开花时程的调控

1.1 高等植物开花时程调控的遗传学途径

高等植物花的形成是由其顶端分生组织从营养生长命运向成花命运转变而启动的. 控制成花启动时程的机制在拟南芥中通过鉴定较野生型开花早或晚的突变而得到了广泛的研究^[10,20]. 这些突变称为开花时程突变, 而其相应的基因称为开花时程基因. 另外, 在植物发育中具有其它作用的许多基因如光感应性, 激素代谢, 信号转导及花分生组织特化等位基因也在调节开花时程方面起作用, 因而有时也称为开花时程基因. 在对这些突变的表型及遗传显性上位分析基础上, Koornneef 等和邵宏波等把开花时程基因分成几个信号转导途径, 它们抑制或促进花启动过程. 这些信号途径将其发育或环境信号进行转移以便调节控制其分生组织形成的成花分生组织同一性基因(Floral meristem identity genes) 的表达^[6~8,11].

1.2 高等植物光周期途径调控的基因

调节开花时程的主要信号转导途径之一被称为 LD 促进途径(LD promotion pathway) 或者称为光周期途径, 它能够把光及光周期时程信号传递到开花起始过程中^[10,11]. 在此途径中的基因突变减少了植物对光周期的反应性. 作为兼性 LD 植物的拟南芥, 它在 LD 条件下开花要比生长在 SD 下的早一些. 与 LD 途径相关基因的错误表达也可能延迟生长在 LD 条件下拟南芥植物的开花, 但是却不能改变生长在 SD 下拟南芥植物的开花时程, 这便导致了对光周期敏感性的降低. 这些基因如 Co(CONSTANS), phyA(phytochrome A), cry2(cryptochrome2) 及 GI(GI. GANTEA) 的突变均属此种类型^[1,9,20]. 基因 CCA1(Cicadian clock

associated1) 及 IHY(late elongated hypocotyl) 的表达升高也能产生光周期下降的晚期开花现象^[20]. 另外, 在 LD 及 SD 下开花均比野生型早的突变体也能具有对光周期下降的敏感性. 早期开花基因如 phyB, phyD, phyE, elf3(early flowering 3) 及 pef(phytochrome early flowering) 的突变均属于本类型^[16,17,19~20]. 我们常认为某一晚期开花突变与其正常促进花突体是指其相应的基因产物就是花启动的阻遏物. 无疑, 目前分离到的与此光周期途径相关的许多基因均为光受体或相关于昼夜节律时间钟的蛋白质编码^[11,12].

2 高等植物的光受体

高等植物基本的光受体是红光/远红光受体即光敏素, 及蓝光/紫外光 A 受体即隐色素^[12]. 蓝光(波长大约在 400~ 500 nm) 和红光(波长大约在 600~ 700 nm) 是高等植物最有效吸收和利用的两个太阳辐射波谱. 因而, 由光敏素和隐色素所调节的植物发育能使植物尽可能完善其发育过程并与能量及代谢资源的可利用性相一致.

2.1 光敏色素(phytochrome)

光敏色素就是光敏色素蛋白, 它以两上光相互转换同分异构形式(photo-interconvertible isomeric form) 而存在, 即红光吸收形式(Pr) 和远红光吸收形式(Pfr) ^[18,20]. 拟南芥有 5 种光敏素基因, phyA, phyB, phyC, phyD 和 phyE, 它依次编码着 phyA 到 phyE 的脱辅基蛋白(apoprotein) ^[1,4,9,12~15]. 目前已经分离和研究了 4 个拟南芥光敏素基因的突变. 在不同的光条件(光量, 光质及光时) 下, 不同光敏素调节着不同的光反应或者相似的光反应. 拿下胚轴伸长得到很好鉴定的光抑制作为例子, phyA 突变体在远红光下其下胚轴抑制作用减弱, 而在红光下却不减弱. 相反, phyB 突变体在红光下丧失了抑制下胚轴伸长的能力, 但是在远红光下却没有丧失, 这说明尽管 phyA 和 phyB 均介导下胚轴伸长的光抑制作用, 但是 phyA 功能主要在远红光区域, 而 phyB 却主要在红光区^[12,13].

2.2 隐形色素(cryptochrome)

隐形色素是与 DNA 光裂解酶(DNA photolyases) 具有相似的氨基酸顺序的黄素蛋白质(flavo-proteins), 该 DNA 光裂解酶催化蓝光/UV- A 光依赖的 DNA 修复反应. 隐形色素没有 DNA 光裂合酶活性; 它们通常含有一个 G 端结构域, 此结构域具有与光裂合酶很小的序列同源性, 而且它们

显示出了高等植物中蓝光/紫外光-A受体的特征。拟南芥至少有两个隐色素基因, cry1和cry2,与光敏素的情况相类似。对影响光依赖的下胚轴抑制的拟南芥隐色素突变而进行的遗传学研究对我们认识隐色素起到了关键性的作用。具有伸长下胚轴在蓝光下的拟南芥突变体 hy4 的分离使得研究者们首次克隆了第一个隐色素基因^[18]。

后来称之为 cry1 的 HY4 基因编码一个相关于黄素生色团(flavin chromophore, FAD)的蛋白质,它吸收蓝光/紫外-A光,这正是前述所认为的植物蓝光/紫外光-A受体。拟南芥第二个隐色素 cry2 的克隆是通过 cry1cDNA 作为杂交探针而获得的。cry2 和 cry1 的氨基酸序列有 50% 是相同的,但大多数其序列相似性集中在其 N-端光裂解酶相似的结构域中,而其 G-端结构域却是相当不同。有趣的是, cry2 蛋白在暴露蓝光下的黄化幼苗中降解很快,这使我们想到了 phyA 的红光诱导的降解^[16]。目前仍不清楚该光诱导的 phyA 和 cry2 蛋白水解所起的具体功能,但是对于 cry2 至今还没有关于蛋白质表达水平日变化的报导^[14]。

在观察过表达 cry2 的转基因植物对蓝光是超敏感的基础上, Guo 等和 Lin 等设计了相应的遗传分析实验以寻找在蓝光下表现出长下胚轴的附加拟南芥突变体。令人惊讶的是,由此分析获得的 cry2 突变体表现出在开花时程方面比下胚轴抑制方面更加显著的正常性,并且结果证明是对 fha 具有等位基因作用, fha 基因是一个最初由 Koornneef 等鉴定的光周期敏感降低的晚期开花突变^[8, 11, 20]。

自从拟南芥 CRY5 的分离以来,隐色素基因不仅从其它植物和藻类中得到了分离,而且包括果蝇、鼠及人类在内的动物中也分离到了隐色素基因。对小鼠和果蝇隐色素的研究表明这些蛋白质在动物昼夜节律时间钟的功能及调控方面起重要作用^[11~15]。

3 高等植物光受体的作用机制

高等植物光受体如何传递及将光信号变成可以影响细胞过程的信号?光受体信号转导的早期步骤如何?植物光受体可以通过光依赖的酶活性而将光信号传递到其它分子上,或者也可通过改变其构象以及因而与信号相关分子进行相互作用来达到光受体传递光信号的目的。至少对光敏素来说,信号转导的早期步骤包括两种类型反应:光

敏素是蛋白激酶(protein kinase)并且能以光依赖的方式与其信号转导蛋白质相互作用^[5, 8, 11, 19]。

3.1 高等植物光敏素激酶和光敏素调控激酶

首次提出植物光敏素是蛋白激酶的设想是在 14 年之前^[1],然而直到最近有关其争论才停止。就目前已有的证据表明,该光敏素激酶的设想已逐渐得到了普遍接受^[1, 4~8]。

从这 10 多年争议中提出了一个关键性的问题,即对开花植物中关于光信号转导的光敏素激酶真正底物的鉴定工作。两篇最近的报告还直接地提出了这个问题。对于光敏素激酶底物的一个争论结果证明是新发现的隐色素^[1]。有报告表明隐色素能与离体的 phyA 相互作用,而且在酵母双杂种分析(yeast two-hybrid assay)中重组体 cry1 能够被重组的燕麦 phyA 蛋白进行体外磷酸化。而且,由 phyA 导致的 cry1 的离体磷酸化在红光或蓝光下均比在黑暗下更加有效^[1, 8, 9]。cry1 的磷酸化也以红光依赖及远红光可逆的方式存在于活体中,这又进一步表明了光敏素的参与。然而, cry1 的光敏素依赖磷酸化的生理意义至今不清楚^[1]。

光敏素激酶的另一可能底物就是 PKS1 (phytochrome kinase substrate)^[1]。通过使用拟南芥 PHYAG-端结构域从酵母双杂种筛选中分离到了编码 PKS1 的基因“bai”。PKS1 能够被重组的燕麦 phyA 在体外磷酸化。虽然 PKS1 与 phyA 的 Pr 和 Pfr 形式均能结合,但是 Pfr 在活体中是以红光依赖的方式被磷酸化的^[14, 18]。研究者还观察到过表达 phyB 的转基因植物中 PKS1 受到了过磷酸化,这说明 phyB 参与了活体的 PKS1 磷酸化^[20]。PKS1 在 phyB 的信号传导中起到了负作用,其原因在于过表达 PKS1 的转基因植物表现出的表现型相似于 phyB 突变体的表现型:即过表达 PKS1 的转基因植物在红光下具有伸长的下胚轴,但是在蓝光或远红光下不具有上述特征^[19]。

光敏素也可以调节其它蛋白激酶的活性。例如,最近鉴定的与 phyA 相互作用的蛋白核苷酸二磷酸激酶 2 (nucleotide diphosphate kinase2, NDPK2)可能就是这样的酶。在离体结合分析的研究中发现 phyA 的 Pfr 形式能够比 Pr 形式结合 NDPK2 要大 3 到 4 倍左右。Pfr 与 NDPK2 的结合增加了离体 NDPK2 酶分析中该激酶的底物亲和性。定位于胞液和细胞核中的 NDPK2 可能在光敏素信号转导中发挥正调节作用^[19]。含由 T-DNA 插入而干扰的 NDPK2 基因的拟南芥突变体表现出对红光和远

红光在子叶开度及变绿方面的敏感性降低^[18]。

3.2 高等植物光受体进入细胞核中与核蛋白质作用

光受体在细胞中发挥作用的部位在哪里? 光敏素和隐色素均为可溶性蛋白质, 而且目前已经清楚两种类型的植物光受体均能够以组成型方式或者以光依赖方式进入细胞核. 应用融合蛋白分析方法已经对光敏素及隐色素的胞内定位进行了研究. 在这些研究中, 编码光受体和标记酶如 β -葡萄糖苷酶(β -glucuronidase)或绿荧光素蛋白这样融合蛋白的转基因在植物中得到了表达, 而且其光受体的细胞定位便可通过观察可见的标记酶位置得到鉴定. 这些研究说明了 phyA 和 phyB 在黑暗中大都存在于胞液中, 而在光下主要转移到了细胞核内^[12, 15]. 虽然隐色素转运方面的光调控资料至今未见报导, 但是我们认为拟南芥 cry1 和 cry2 均为核蛋白质^[1, 4~8].

差异细胞核分级分离技术通常用来寻找真核生物中的受体分子^[1, 9, 17]. 在没有配体(基)情况下, 受体能够与胞液蛋白结合并因而保持在胞液中. 同配体的相互作用可诱导受体向其细胞核的转移. 植物光受体也可以进行相似的运动. 例如, 已经表明 PKS1 可以在非诱导条件下如黑暗中发挥光敏素的胞液保留蛋白(Cytosolic retention protein)的作用^[16]. 光诱导了光敏素的细胞核区域化. 一旦进入细胞核中, 光受体便与其它核蛋白相互作用从而影响了光调节的基因表达^[2~5, 13, 15, 20].

最近, 已经鉴定了两个光敏素信号的核蛋白质 SPA1 和 PIF3. SPA1 基因是通过 spa1(phyA-105 的阻遏物)突变位置的克隆而得到的鉴定, 其 spa1 突变是以 phyA 突变等位基因特异的阻遏物形式被分离的^[17]. SPA1 是一个核蛋白, 具有 WD 重复, 螺旋-螺旋结构域以及一个蛋白质激酶结构域^[17, 18]. spa1 突变体植物表现对光具有显著的下胚轴抑制作用, 这说明 SPA1 是 phyA 的一个负调控因子. 该 SPA1 的表达在光下通过光敏素作用是正调控的, 这也表明对光敏素信号转导可能存在于一个反馈调节机制^[1, 2].

编码另一个光敏素信号核蛋白的基因是 PIF3 (phytochrome interacting factor). 它在酵母双杂种分析中与 phyBG-端结构域相互作用基础上而得到了分离^[17]. PIF3 含有一个 PAS 蛋白与蛋白相互作用的结构域以及一个基本的螺旋-环-螺旋(bHLH)结构域, 此结构域在与光调节基因的启动

子相互作用中可能发挥重要作用. PIF3 与光敏素间的离体相互作用是依赖红光的: PIF3 与 Pfr 形式可进行强的相互作用, 但是与拟南芥 phyB 的 Pr 形式却只有微弱的相互作用. 与 SPA1 相反的是, PIF3 的表达在光下是负调节的^[16, 18]. 由于 PIF3 反义转基因植物表现出对反应具有降低的下胚轴抑制作用, 所以 PIF3 是光敏素功能的一个正调节因子. 与这些观点一致的是, 光敏素的核区域化及与象 PIF3 这样的核蛋白结合均可能是产生基因表达调控的信号转导的一部分, PIF3 反义转基因植物对于不同的光调节基因表达来讲均表现出下降的光反应性^[15, 18, 20].

有趣的是, 虽然迄今为止研究过的所有拟南芥光受体均表明在光调节的下胚轴抑制及启动中具有重要作用, 但是所描述的错误表达光敏素信号基因的大多数突变或转基因植物, 除了 PIF3 以外, 均没有报道过开花时程方面的改变^[13, 14]. 由于这些光敏素信号因子中有些与光敏素结合, 所以有理由认为存在着两个分离的导致两条不同发育反应的信号转导途径^[18]. 然而与光周期途径相关的某些开花时程基因(如 ELF3, CCA1, LHY, COPI 和 DET1)在下胚轴抑制和开花时程方面均有功能^[12]. 虽然本文常用“途径”这个术语, 但是上述这些观察仍不能被包括光受体在内的线性信号转导模型而得到满意的解释^[1, 14, 18].

参考文献 (References):

- [1] LIN C. Photoreceptors and Regulation of Flowering [J]. Plant Physiol, 2000, 123(1): 17-21.
- [2] 邵宏波. 分子生物学发展前沿与展望 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1993, 77-109.
- [3] 邵宏波, 初立业. 基因表达调控中的核因子作用 [J]. 生物化学与生物物理进展, 1994, 21(2): 122-125.
- [4] 邵宏波, 初立业. 高等植物离体花芽和花器官的分化 [J]. 广西植物, 1993, 13(30): 81-97.
- [5] 白素兰, 谢中稳, 刘永胜, 等. 植物的成花逆转 [J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(3): 252-257.
- [6] GOLDBERG R B. From cot curves to genomics. How gene cloning established new concepts in plant biology [J]. Plant Physiol, 2001, 125(1): 4-8.
- [7] MEYEROWITZ E M. Prehistory and history of Arabidopsis research [J]. Plant Physiol, 2001, 125(1): 15-19.
- [8] GOLDEN S S, STRAYER C. Time for plants. Progress in plant chronobiology [J]. Plant Physiol, 2001, 125(1): 68-101.
- [9] 历彩虹, 邵宏波. 高等植物花器官特异的基因表达 [J]. 北方园艺, 1999, 3: 18-22.

(下转第 169 页)

- mation of plant cells[J]. *Theor Appl Genet*, 1992, 84: 560- 566.
- [7] SERIK O, AINURI I, MURAT K, *et al.* Silicon carbide fiber-mediated DNA delivery into cells of wheat (*Triticum aestivum* L.) mature embryos[J]. *Plant Cell Rep*, 1996, 16(3/4): 133- 136.
- [8] 吴丽芳, 李红, 冯慧云, 等. 用低能氦离子束介导将水稻几丁质酶基因导入小麦[J]. *科学通报*, 2000, 45(21): 2316- 2321.
- [9] HIEI Y, OHTA S, KOMARIT, *et al.* Efficient transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA[J]. *The Plant J*, 1994, 6: 271- 282.
- [10] 董延瑜, 洪亚辉, 等. 外源 DNA 导入技术在植物分子生物学育种上的应用研究[J]. *湖南农学院学报*, 1994, 20(6): 513- 521.

(上接第 152 页)

- [10] 许智宏. 中国植物学会六十五周年年会学术报告及论文摘要汇编[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998. 1- 11.
- [11] KOORNNEEF M, ALONSO-BLANCO C, PETERS A J M, *et al.* Genetic control of flowering time in *Arabidopsis*[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, 49: 343- 370.
- [12] LIN C, YANG H, GUO H, *et al.* Enhancement of blue light sensitivity of *Arabidopsis* seedlings by a blue light receptor cryptochrome 2[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 2686- 2690.
- [13] LIN C, AHMAD M, CASHMORE A R. *Arabidopsis* cryptochrome is soluble protein mediating blue light-dependent regulation of plant growth and development[J]. *Plant J*, 1996, 10: 893- 902.
- [14] LEVY Y Y, DEAN C. The transition to flowering[J]. *Plant Cell*, 1998, 10: 1973- 1990.
- [15] AHMAD M, JARILLO J A, SMIRNOVA O, *et al.* The CRY1 blue light photoreceptors of *Arabidopsis* interact with phytochrome A *in vitro*[J]. *Mol Cell*, 1998, 1: 939- 948.
- [16] DUNLAP J C. Molecular bases for circadian clocks[J]. *Cell*, 1999, 96: 271- 290.
- [17] GUO H, YANG H, MOCKLER TC, *et al.* Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors[J]. *Science*, 1998, 279: 1360- 1363.
- [18] HUGHES J. Prokaryotes and Phytochrome[J]. *Plant Physiol*, 1999, 121: 1059- 1068.
- [19] SMITH H. Phytochromes: tripping the light fantastic[J]. *Nature*, 1999, 400: 710- 713.
- [20] SOMERS D E. The physiology and molecular bases of the plant circadian clock[J]. *Plant Physiol*, 1999, 121: 9- 20.