

拟南芥中光信号系统中关键基因 *CRY1*、*CRY2* 和 *COP1* 启动子的表达模式分析

汤淼, 杨洪全*

上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240

摘要: 通过构建表达光信号系统关键基因 *CRY1*、*CRY2* 和 *COP1* 启动子与 *GUS* 融合基因的拟南芥转基因植株, 并对转基因植株进行 *GUS* 组织化学染色的结果表明, *CRY1*、*CRY2* 和 *COP1* 的表达模式不受光条件的调控, 并且在各器官有广泛的表达。分别分析 *CRY1* 基因启动子在 *cop1* 突变体以及 *COP1* 基因启动子在 *cry1* 突变体遗传背景中表达模式的结果表明, *CRY1* 和 *COP1* 在转录水平上不存在明显的相互调控关系。

关键词: 隐花色素; *COP1*; *GUS* 染色; 表达模式; 拟南芥

Analysis of Expression Patterns of *CRY1*, *CRY2* and *COP1* Promoters in *Arabidopsis thaliana*

TANG Miao, YANG Hong-Quan*

School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China

Abstract: Based on *GUS* histological staining results, we demonstrated that the expression of three key genes in light signalling pathway, namely *CRY1*, *CRY2* and *COP1*, were not regulated by light conditions in *Arabidopsis thaliana*. We also showed that *CRY1*, *CRY2* and *COP1* were extensively expressed in all organs of grown plants. By analysing the expression pattern of *CRY1* in *cop1* mutant, and *COP1* in *cry1* mutant, we concluded that these two genes may not regulate each other at the transcriptional level.

Key words: cryptochromes; *COP1*; *GUS* histological staining; expression pattern; *Arabidopsis thaliana*

拟南芥蓝光受体隐花色素(cryptochrome, CRY)主要包括 *CRY1* 和 *CRY2*, 它们在光信号调控植物的一些生理功能过程中起关键作用, 这包括抑制下胚轴的伸长、促进花色素苷的积累和子叶展开(Ahmad 和 Cashmore 1993; Ahmad 等 1995; Lin 等 1995, 1998; Jenkins 1997)、调节开花时间(Bagnall 等 1996; Guo 等 1998; Mockler 等 2003; Liu 等 2008)、调控气孔开放(Mao 等 2005)、气孔发育(Kang 等 2009)以及生物节律性等(Mas 2005)。已有的 CRY 家族蛋白结构的研究表明, CRY 蛋白包括一个和光裂解酶(photolyase)同源性很高的 N 端结构域(cryptochrome N-terminal domain, CNT) (Sancar 2004), 以及同源性较低的 C 端延伸区(cryptochrome C-terminal domain, CCT)。CCT 为 CRY 的信号传导功能区(Yang 等 2000), 而 CNT 在蓝光下能够形成同源二聚体并由此激活 CCT 的功能(Sang 等 2005; Yu 等 2007)。CRY1 和 CRY2 均可定位于核内, 但它们之间有差异。CRY2 无论在光下或黑暗

条件下均在细胞核内(Kleiner 等 1999), 而 CRY1 在细胞核和细胞质中都有定位(Yang 等 2000)。

CRY 的许多功能是通过与其他光受体共同作用实现的, 包括红光/远红光受体光敏色素(phytochrome, PHY)和蓝光受体向光素(phototropin, PHOT), 而且往往涉及到下游的一些关键信号因子, 其中 *COP1* 是光形态建成负调控因子。*COP1* 因其突变体 *cop1* 在黑暗下具有组成型光形态建成表型(constitutive photomorphogenic)而得名。*COP1* 在黑暗条件下定位于细胞核, 而光照条件下定位于细胞质(von Arnim 和 Deng 1994)。定位于细胞核的 *COP1* 具有 E3 泛素连接酶的活性, 能够促进某些光

收稿 2009-12-29 修定 2010-03-08

资助 国家自然科学基金(30830012)、中国科技部基金(2006AA10A102)和国家转基因作物专项基金(2009ZX08009-081B)。

* 通讯作者(E-mail: hqyang@sjtu.edu.cn; Tel: 021-34206005)。

形态建成正向调控转录因子如 HY5 的泛素化而降解, 从而对光形态建成起负调控作用(Wang 等 2001)。有研究表明, COP1 作为 CRY 的下游因子, 能够通过与 CCT1 和 CCT2 相互作用, 起传递光信号的作用, 并可能影响 CRY1 在细胞内的定位(Wang 等 2001; Yang 等 2001)。另外, COP1 还可作为 PHY、PHOT 等光受体的下游因子, 在调节气孔开放和开花时间中均起到关键的作用(Yi 和 Deng 2005; Kang 等 2009)。

综上所述, CRY1 的活性、存在形式和亚细胞定位均受光的调控, CRY 和 COP1 的相互作用及 COP1 的细胞定位也受光的调控。另外在蛋白质水平上, CRY1 稳定性不受光照强度调控(Ahmad 等 1998), 而 CRY2 蛋白在蓝光下不稳定, 会迅速降解(Lin 等 1998)。但到目前为止, 关于 *CRY1*、*CRY2* 和 *COP1* 基因在不同的光照条件下以及在不同组织器官中的表达模式还没有见到详细的研究报道。为此, 本文将光信号系统关键基因 *CRY1*、*CRY2* 和 *COP1* 启动子与 *GUS* 融合的植物表达载体分别导入拟南芥, 获得转基因植株, 并对在白光(即全色光)与黑暗条件下分别培养的转基因植株进行 GUS 组织化学染色, 探讨 *CRY1*、*CRY2* 和 *COP1* 3 个基因启动子在拟南芥中的表达模式。由于 CRY1 和 COP1 蛋白的相互作用也暗示二者在基因转录水平上可能存在相互调控, 本文通过分别分析 *CRY1* 基因在 *cop1* 突变体以及 *COP1* 基因在 *cry1* 突变体遗传背景中的表达模式, 研究二者在基因的转录水平上是否存在相互调控。

材料与amp;方法

拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)哥伦比亚生态型(Col-0)以及 *CRY1* 突变体 *cry1-104* (Bruggemann 等 1996)、*COP1* 突变体 *cop1-4* (Deng 等 1992) 种子由本实验室保存。

启动子分析载体 pCAMBIA1300-*CRY1pro-GUS*、pCAMBIA1300-*CRY2pro-GUS* 和 pCAMBIA1300-*COP1pro-GUS* 由本实验室构建并通过农杆菌转化方法得到相应的 *CRY1::GUS*、*CRY2::GUS* 与 *COP1::GUS* 转基因植株(Kang 等 2009)。利用转基因植株的潮霉素抗性进行筛选, 在第 3 代每种转基因植株分别得到 3 个纯合株系,

选取 *CRY1::GUS-2-4*、*CRY2::GUS-2-3* 与 *COP1::GUS-2-1* 3 个纯合株系用来进行 GUS 染色。

转基因植株 *cry1-104 COP1::GUS* 由 *COP1::GUS-2-1* 和突变体 *cry1-104* 杂交得到, 进行杂交实验后, 杂交二代的幼苗再用潮霉素抗性筛选, 在杂交三代中得到纯合株系 *cry1-104 COP1::GUS-2-1-6* 进行染色实验。采用同样的方法得到 *cop1-4* 突变体背景下的 *CRY1::GUS* 转基因植株并选取纯合株系 *cop1-4|CRY1::GUS-2-4-3* 进行染色实验。

拟南芥幼苗采用无菌培养, 将种子用 20% 漂水加 1~2 滴 Tween-20, 灭菌 15 min, 灭菌后的种子在超净台上用无菌水冲洗 4 次, 铺种于 MS 固体培养基(含 2% 蔗糖、0.8% 琼脂)上。在 4 °C 冰箱中放置 3 d 后, 分别放置在白光或黑暗下生长, 6~7 d 后(白光下幼苗长出第 1 对真叶)进行 GUS 染色实验或种植入土中。植物生长的相对湿度为 45%, 恒温温度 21 °C。白光光照强度约为 140 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光周期为全日照。

GUS 染色时, 将需进行 GUS 染色分析的植物材料浸没于 GUS 染液中(100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液、50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 高铁氰化钾、50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 亚铁氰化钾、10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA、5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ X-Gluc 和 0.1% Triton), 真空抽气 15 min, 以去除材料内部的气体。抽气后的材料置于 GUS 染液中于 37 °C 恒温下处理约 5 h。对于含有叶绿素的幼苗和组织, 染色后用不同梯度(35%、70% 和 95%)乙醇作脱色处理至材料中的原有色素全部脱去, 或颜色不再改变为止, 最后对材料进行观察和拍照。

结果与amp;讨论

1 *CRY1*、*CRY2* 和 *COP1* 基因的表达模式不受光照条件的调控

光照和黑暗处理的 *CRY1::GUS* 幼苗经 GUS 染色处理后, 在黑暗处理下生长 7 d 的黄化苗中, *CRY1::GUS* 在子叶中有强而均匀的表达(图 1-A), 下胚轴和根中 *CRY1::GUS* 的活性明显比子叶中弱, 而且表达主要集中在维管束中(图 1-B、C)。而根尖的古斯染色呈阴性(图 1-D), 说明 *CRY1* 在根尖不表达或表达量极小。*CRY2::GUS* 在子叶中的表达模式与 *CRY1::GUS* 基本上一致(图 1-I), 但染色更深, 说明其表达量更高; 下胚轴和根部 *CRY2::GUS*

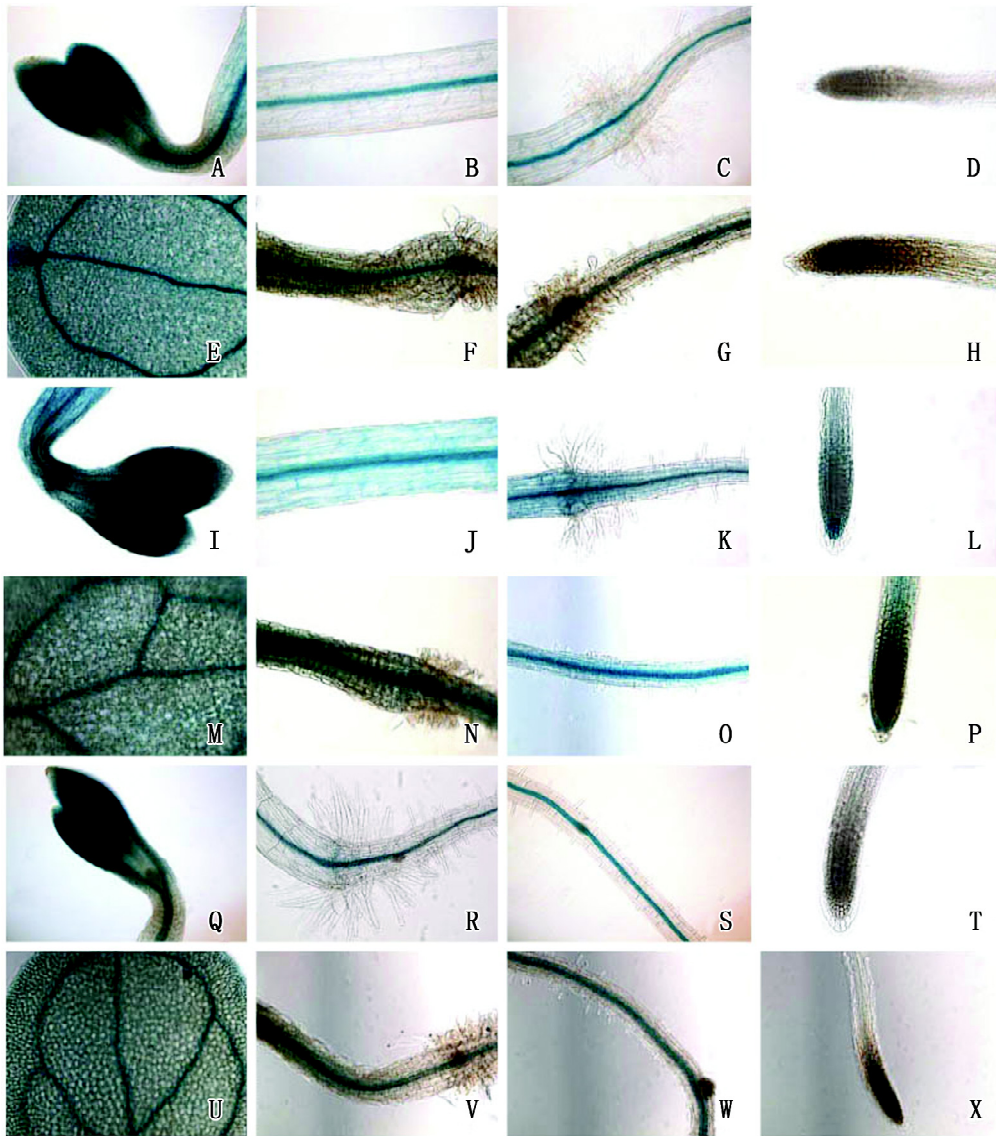


图1 *CRY1::GUS*、*CRY2::GUS*与*COPI1::GUS*转基因植株幼苗不同部位的GUS染色

Fig.1 GUS staining results of different parts in *CRY1::GUS*, *CRY2::GUS* and *COPI1::GUS* transgenic seedlings

A: 黑暗处理的 *CRY1::GUS* 幼苗子叶; B: 黑暗处理的 *CRY1::GUS* 幼苗下胚轴; C: 黑暗处理的 *CRY1::GUS* 幼苗根部成熟区; D: 黑暗处理的 *CRY1::GUS* 幼苗根尖; E: 白光处理的 *CRY1::GUS* 幼苗子叶; F: 白光处理的 *CRY1::GUS* 幼苗下胚轴; G: 白光处理的 *CRY1::GUS* 幼苗根部成熟区; H: 白光处理的 *CRY1::GUS* 幼苗根尖; I: 黑暗处理的 *CRY2::GUS* 幼苗子叶; J: 黑暗处理的 *CRY2::GUS* 幼苗下胚轴; K: 黑暗处理的 *CRY2::GUS* 幼苗根部成熟区; L: 黑暗处理的 *CRY2::GUS* 幼苗根尖; M: 白光处理的 *CRY2::GUS* 幼苗子叶; N: 白光处理的 *CRY2::GUS* 幼苗下胚轴; O: 白光处理的 *CRY2::GUS* 幼苗根部成熟区; P: 白光处理的 *CRY2::GUS* 幼苗根尖; Q: 黑暗处理的 *COPI1::GUS* 幼苗子叶; R: 黑暗处理的 *COPI1::GUS* 幼苗下胚轴及根部; S: 黑暗处理的 *COPI1::GUS* 幼苗根部成熟区; T: 黑暗处理的 *COPI1::GUS* 幼苗根尖; U: 白光处理的 *COPI1::GUS* 幼苗子叶; V: 白光处理的 *COPI1::GUS* 幼苗下胚轴; W: 白光处理的 *COPI1::GUS* 幼苗根部成熟区; X: 白光处理的 *COPI1::GUS* 幼苗根尖。

的表达在维管束中最强, 而皮层部分的细胞也可见到染色反应(图 1-J、K)。总体而言, *CRY2::GUS* 的表达由上至下也呈减弱趋势, 但在根尖分生区的局部表达较强(图 1-L)。*COPI1::GUS* 的表达模式

与 *CRY1::GUS* 完全一致, 染色反应出现在子叶(图 1-Q)及下胚轴和根部的维管束(图 1-R、S)中, 而根尖中的 *COPI* 表达极少或不表达(图 1-T)。

在白光处理下生长 7 d 的幼苗中, *CRY1::GUS*

在子叶中广泛表达,其中以叶脉中的活性最高(图1-E),表明叶脉中 $CRY1$ 表达量最高;而在下胚轴及根部, $CRY1::GUS$ 的染色反应比叶片中弱并主要集中于维管束中(图1-F、G),根尖中GUS染色呈阴性(图1-H); $CRY2::GUS$ 在子叶中的表达模式与 $CRY1::GUS$ 相同(图1-M),在下胚轴和根部的表达主要集中在维管束中,但部分皮层细胞也有明显的染色反应(图1-N、O),根尖中可以见到较强的表达(图1-P); $COPI::GUS$ 与 $CRY1::GUS$ 有同样的表达模式,染色反应广泛出现于子叶中并且在叶脉中最强(图1-U),在下胚轴和根部的表达集中于维管束中(图1-V、W),根尖处没有任何染色反应(图1-X)。

上述结果表明, $CRY1$ 、 $CRY2$ 和 $COPI$ 在下胚轴和根部的表达模式与表达强度均不受光的调控,在子叶中的表达模式也不受光照条件的影响。已有研究表明,光照与黑暗条件下的拟南芥幼苗中 $CRY1$ 蛋白含量相似(Lin等1996),而 $CRY1$ 的蛋白含量不受光照条件的影响(Ahmad等1998),据此可以认为, $CRY1$ 基因在启动转录的水平上很可能也不受光照条件的影响,本文结果也证实了这一推论。由于黄化苗的子叶细胞较小而且密度大,因此相对于白光下幼苗的子叶而言,GUS染色显示的颜色更深,至于二者的表达量是否存在细微差异,尚待精确的定量实验加以验证。

值得注意的是,相对于 $CRY1$ 和 $COPI$, $CRY2$ 有更为广泛的表达(如下胚轴和根部皮层细胞,图1-K、O),特别是根尖中的 $CRY2$ 有较高的表达水平。Toth等(2001)用 $CRY1$ 和 $CRY2$ 的启动子与荧光报告蛋白融合进行的研究表明, $CRY2$ 在根中表达,但检测不到 $CRY1$ 在根部的表达。而Canamero等(2006)的研究表明, $CRY1$ 和 $CRY2$ 蛋白均在根中表达,并由此推测根中的 $CRY1$ 和 $CRY2$ 都能够转录,但 $CRY1$ 的表达水平明显低于 $CRY2$,从而导致上述试验中荧光蛋白信号无法检测,本文从启动子的表达水平证实了此种推论。此外还有研究报道,在 $cry2$ 突变体中用 $CRY2$ 自身启动子启动表达的 $CRY2$ -GFP融合蛋白在子叶、下胚轴和根部广泛表达,但在根尖处没有检测到荧光信号(Endo等2007),由于 $CRY2$ 蛋白在光下的不稳定性,因此认为这种结果的不一致可能与光介导的 $CRY2$ 基因表达的转录后调控有关。

2 $CRY1$ 、 $CRY2$ 和 $COPI$ 基因在野生型拟南芥植株的叶片和花器官中广泛表达

除了 $CRY1$ 、 $CRY2$ 和 $COPI$ 基因在幼苗各部位的表达以外,本文又对相应成体植株不同时期的叶片以及盛花期的花器官进行GUS染色的结果表明,在土壤中生长7d(从种子吸涨算起14d,下同)的 $CRY1::GUS$ 植株中,染色反应在幼嫩叶片的叶脉和叶肉细胞均非常明显;而在成熟叶片中, $CRY1::GUS$ 的表达主要集中于叶脉中(图2-A)。 $CRY2::GUS$ (图2-E)与 $COPI::GUS$ (图2-I)的表达模式与 $CRY1::GUS$ 一致。为避免GUS染色中可能出现的不均匀而导致的偏差过大,我们又取土壤中生长7d植株的成熟叶片单独进行染色的结果显示, $CRY1::GUS$ (图2-C)、 $CRY2::GUS$ (图2-G)与 $COPI::GUS$ (图2-K)均在叶脉及部分叶肉细胞中表达,其中以 $CRY2::GUS$ 的表达为最显著。

土壤中生长10d(从种子吸涨算起17d,下同)的植株经完全相同的染色处理后的结果显示,无论是 $CRY1::GUS$ (图2-B)、 $CRY2::GUS$ (图2-F)还是 $COPI::GUS$ (图2-J)均广泛表达于幼嫩叶片与成熟叶片中,其中 $CRY2::GUS$ 在成熟叶片中的表达尤为明显。

转基因植株花器官进行染色后, $CRY1::GUS$ (图2-D)、 $CRY2::GUS$ (图2-H)与 $COPI::GUS$ (图2-L)显示出相同的表达模式。萼片各部分均有明显的染色反应,另外表达还集中在花丝和柱头附近区域,花瓣染色反应呈阴性。

总之, $CRY1$ 、 $CRY2$ 和 $COPI$ 三个基因在幼苗及成体植株的各个器官中均有广泛表达。这表明3个基因对植物的发育都有作用。其中 $CRY1$ 和 $CRY2$ 蛋白在叶片、花、茎和根等不同器官中均能检测到(Lin等1996,1998),但基因在这些部位中表达模式的详细研究尚缺少报道。本文在基因转录启动水平上揭示了其表达的广泛性,并发现 $CRY1$ 、 $CRY2$ 和 $COPI$ 的基因表达存在普遍的重叠,这种表达重叠可能与 CRY 和 $COPI$ 在蛋白水平上的相互作用有一定的关系(Yang等2001)。

叶片是植物接受光信号的主要器官,蓝光受体 $CRY1$ 和 $CRY2$ 在叶片中的广泛表达有利于提高植物对蓝光信号的感受程度,而其他一些光受体基因如 $PHYA$ 和 $PHYB$ 也显示出类似的表达模式(Somers

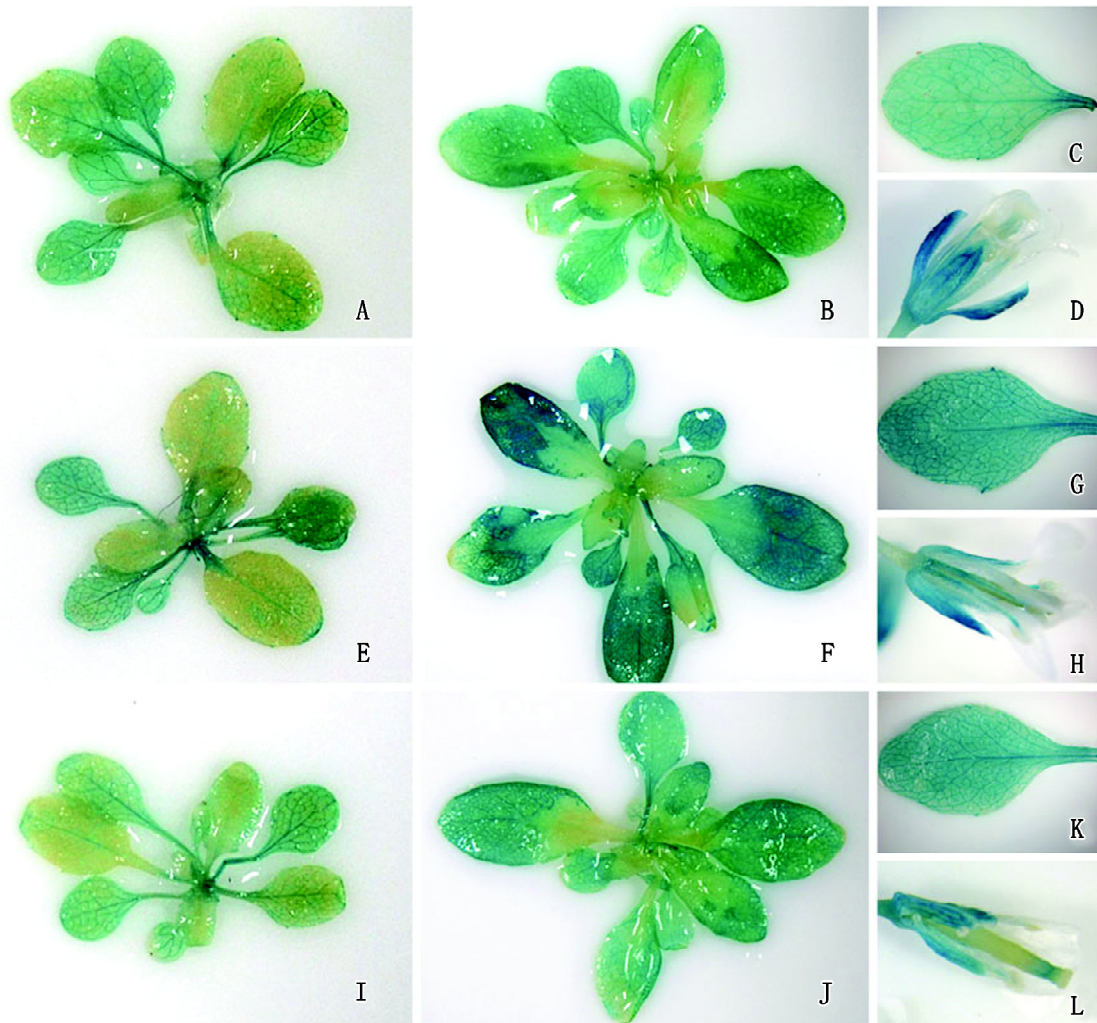


图2 *CRY1::GUS*、*CRY2::GUS*与*COPI::GUS*转基因植株叶片和花器官的染色

Fig.2 GUS staining results of leaves and flowers of *CRY1::GUS*、*CRY2::GUS* and *COPI::GUS* transgenic plants

A: 在土壤中生长期7 d的*CRY1::GUS*植株地上部分; B: 在土壤中生长期10 d的*CRY1::GUS*植株地上部分; C: 在土壤中生长期7 d的*CRY1::GUS*植株成熟叶片; D: *CRY1::GUS*植株的花器官; E: 在土壤中生长期7 d的*CRY2::GUS*植株地上部分; F: 在土壤中生长期10 d的*CRY2::GUS*植株地上部分; G: 在土壤中生长期7 d的*CRY2::GUS*植株成熟叶片; H: *CRY2::GUS*植株的花器官; I: 在土壤中生长期7 d的*COPI::GUS*植株地上部分; J: 在土壤中生长期10 d的*COPI::GUS*植株地上部分; K: 在土壤中生长期7 d的*COPI::GUS*植株成熟叶片; L: *COPI::GUS*植株的花器官。

和 Quail 1995)。叶片中的这些光受体的信号传导和相互作用参与控制许多生理过程,如查尔酮合成酶基因的表达(Wade等2001)和开花时间的调控(Liu等2008)。

尽管*CRY1*、*CRY2*和*COPI*在开花期间的调节中都有作用,但这种调节主要与叶片对光信号的感受有关(Kobayashi和Weigel2007),而且在*cry1*、*cry2*和*cop1-4*等突变体中,花器官均能正常发育并产生可育的后代。至于*CRY*和*COPI*在花器官中

表达的意义,尚待进一步阐明。

*COPI*作为一种E3泛素连接酶,参与许多光信号关键因子的泛素化降解过程并对植物发育有至关重要的作用(Moon等2004)。而本文结果中*COPI*在幼苗和成体植株中的广泛表达也可以反映出*COPI*在植物各个生长时期和各个发育过程中的作用。

3 拟南芥*CRY1*与*COPI*基因在转录水平上缺少明显的相互调控作用

*cry1-104 COPI::GUS*转基因植株白光下生长

7d的幼苗进行GUS染色,结果显示,*COPI::GUS*在子叶中广泛表达,叶脉中的表达尤为显著(图3-A、B),下胚轴和根部的表达集中在维管束中(图3-C、D),根尖处染色反应呈阴性(图3-E)。这一结果与其在野生型背景下的表达模式结果一致(前面的结果和图1)。

将幼苗移栽到土壤中,7d后取其地上部分整体染色的结果显示,染色反应仅见于幼嫩叶片中(包括叶脉和叶肉细胞)以及成熟叶片的叶脉(图3-F);分离成熟的叶片进行单独染色后可以看到*COPI::GUS*在叶脉及部分叶肉细胞中均有表达(图3-H)。在土壤中生长10d后的植株,其染色结果与7d时的基本一致(图3-G)。盛花期花器官的染色反应出现在萼片、花丝及临近柱头的区域(图3-I)。这些

结果均与*COPI::GUS*在野生型背景下的表达模式一致(前面的结果及图2)。

总之,从比较*COPI*在野生型和*cryI*突变体背景下的表达模式中可以见到,*COPI*基因在转录水平上的表达模式不受*CRYI*调控。至于*CRYI*是否会对特定部位*COPI*转录水平的高低有较弱的调控作用,尚待精确的定量实验加以分析。

为了验证作为下游基因的*COPI*在转录水平是否对*CRYI*存在反馈调控,本文还对白光条件下生长7d的*cop1-4 CRYI::GUS*转基因幼苗进行了GUS染色,结果显示*CRYI::GUS*的表达集中在子叶(图4-A)以及下胚轴和根部的维管束(图4-B、C)中,而在根尖处表达量极少或不表达(图4-D)。这种表达模式与*CRYI::GUS*在野生型中的表达模式

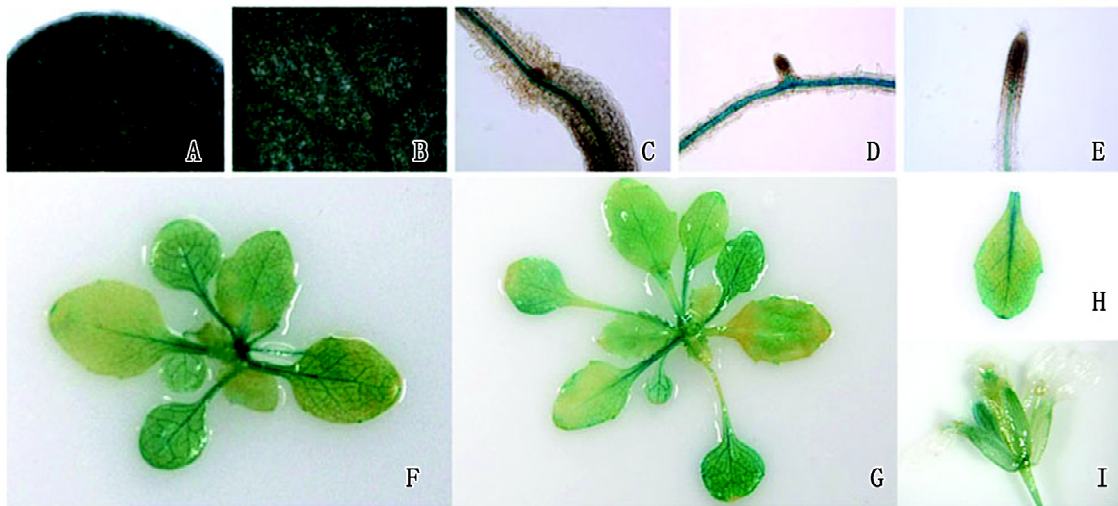


图3 *cryI-104 COPI::GUS*转基因植株的染色

Fig.3 GUS staining results of *cryI-104 COPI::GUS* transgenic plants

A: 幼苗子叶边缘部分; B: 幼苗子叶中央部分; C: 幼苗下胚轴; D: 幼苗根部; E: 幼苗根尖; F: 在土壤中生长7d的植株地上部分; H: 在土壤中生长7d的植株的成熟叶片; G: 在土壤中生长10d植株地上部分; I: 盛花期花器官。

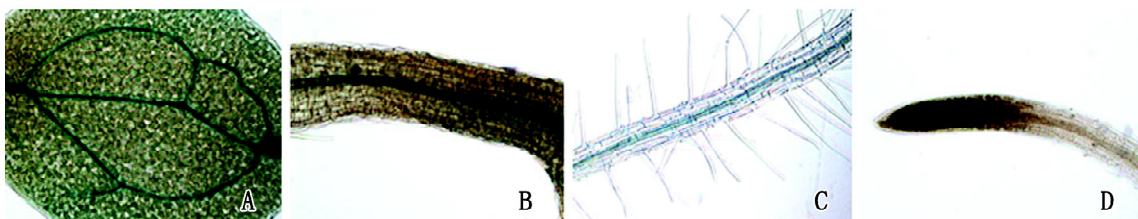


图4 *cop1-4 CRYI::GUS*转基因植株的染色结果

Fig.4 GUS staining results of *cop1-4 CRYI::GUS* transgenic plants

A: 子叶; B: 下胚轴; C: 根部成熟区; D: 根尖。

相同(前面的结果及图1)。然而本文采用的 *cop1-4* 突变体为 *COP1* 功能弱化突变体(完全丧失 *COP1* 功能的突变体在幼苗期死亡)(Stacey等2000), 这种残存的 *COP1* 功能会不会对本文结果产生干扰, 尚无法确定, 但可以肯定的是, *COP1* 对于幼苗中 *CRY1* 在转录水平上的表达模式没有明显的反馈调控作用。

参考文献

- Ahmad M, Cashmore AR (1993). HY4 gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. *Nature*, 366: 162~166
- Ahmad M, Jarillo JA, Cashmore AR (1998). Chimeric proteins between cry1 and cry2 *Arabidopsis* blue light photoreceptors indicate overlapping functions and varying protein stability. *Plant Cell*, 10: 197~207
- Ahmad M, Lin C, Cashmore AR (1995). Mutations throughout an *Arabidopsis* blue-light photoreceptor impair blue-light-responsive anthocyanin accumulation and inhibition of hypocotyl elongation. *Plant J*, 8: 653~658
- Bagnall DJ, King RW, Hangarter RP (1996). Blue-light promotion of flowering is absent in *hy4* mutants of *Arabidopsis*. *Planta*, 200: 278~280
- Bruggemann E, Handwerger K, Essex C, Storz G (1996). Analysis of fast neutron-generated mutants at the *Arabidopsis thaliana* HY4 locus. *Plant J*, 10: 755~760
- Canamero RC, Bakrim N, Bouly JP, Garay A, Dudkin EE, Habricot Y, Ahmad M (2006). Cryptochrome photoreceptors cry1 and cry2 antagonistically regulate primary root elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 224: 995~1003
- Deng XW, Matsui M, Wei N, Wagner D, Chu AM, Feldmann KA, Quail PH (1992). *COP1*, an *Arabidopsis* regulatory gene, encodes a protein with both a zinc-binding motif and a G beta homologous domain. *Cell*, 71: 791~801
- Endo M, Mochizuki N, Suzuki T, Nagatani A (2007). CRYPTOCHROME2 in vascular bundles regulates flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 84~93
- Guo H, Yang H, Mockler TC, Lin C (1998). Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science*, 279: 1360~1363
- Jenkins GI (1997). UV and blue light signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 20: 773~778
- Kang CY, Lian HL, Wang FF, Huang JR, Yang HQ (2009). Cryptochromes, phytochromes, and COP1 regulate light-controlled stomatal development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21: 2624~2641
- Kleiner O, Kircher S, Harter K, Batschauer A (1999). Nuclear localization of the *Arabidopsis* blue light receptor cryptochrome 2. *Plant J*, 19: 289~296
- Kobayashi Y, Weigel D (2007). Move on up, it's time for change—mobile signals controlling photoperiod-dependent flowering. *Gene Dev*, 21: 2371~2384
- Lin C, Ahmad M, Cashmore AR (1996). *Arabidopsis* cryptochrome 1 is a soluble protein mediating blue light-dependent regulation of plant growth and development. *Plant J*, 10: 893~902
- Lin C, Robertson DE, Ahmad M, Raibekas AA, Jorns MS, Dutton PL, Cashmore AR (1995). Association of flavin adenine dinucleotide with the *Arabidopsis* blue light receptor CRY1. *Science*, 269: 968~970
- Lin C, Yang H, Guo H, Mockler T, Chen J, Cashmore AR (1998). Enhancement of blue-light sensitivity of *Arabidopsis* seedlings by a blue light receptor cryptochrome 2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 2686~2690
- Liu LJ, Zhang YC, Li QH, Sang Y, Mao J, Lian HL, Wang L, Yang HQ (2008). COP1-mediated ubiquitination of CONSTANS is implicated in cryptochrome regulation of flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20: 292~306
- Mao J, Zhang YC, Sang Y, Li QH, Yang HQ (2005). From The Cover: a role for *Arabidopsis* cryptochromes and COP1 in the regulation of stomatal opening. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 12270~12275
- Mas P (2005). Circadian clock signaling in *Arabidopsis thaliana*: from gene expression to physiology and development. *Int J Dev Biol*, 49: 491~500
- Mockler T, Yang H, Yu X, Parikh D, Cheng YC, Dolan S, Lin C (2003). Regulation of photoperiodic flowering by *Arabidopsis* photoreceptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 2140~2145
- Moon J, Parry G, Estelle M (2004). The ubiquitin-proteasome pathway and plant development. *Plant Cell*, 16: 3181~3195
- Sancar A (2004). Photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors. *Adv Protein Chem*, 69: 73~100
- Sang Y, Li QH, Rubio V, Zhang YC, Mao J, Deng XW, Yang HQ (2005). N-terminal domain-mediated homodimerization is required for photoreceptor activity of *Arabidopsis* CRYPTOCHROME 1. *Plant Cell*, 17: 1569~1584
- Somers DE, Quail PH (1995). Temporal and spatial expression patterns of *PHYA* and *PHYB* genes in *Arabidopsis*. *Plant J*, 7: 413~427
- Stacey MG, Kopp OR, Kim TH, von Arnim AG (2000). Modular domain structure of *Arabidopsis* COP1. reconstitution of activity by fragment complementation and mutational analysis of a nuclear localization signal in planta. *Plant Physiol*, 124: 979~990
- Toth R, Kevei E, Hall A, Millar AJ, Nagy F, Kozma-Bognar L (2001). Circadian clock-regulated expression of phytochrome and cryptochrome genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 127: 1607~1616
- von Arnim AG, Deng XW (1994). Light inactivation of *Arabidopsis* photomorphogenic repressor COP1 involves a cell-specific regulation of its nucleocytoplasmic partitioning. *Cell*, 79: 1035~1045
- Wade HK, Bibikova TN, Valentine WJ, Jenkins GI (2001). Interactions within a network of phytochrome, cryptochrome and UV-B phototransduction pathways regulate chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis* leaf tissue. *Plant J*,

- 25: 675~685
- Wang H, Ma LG, Li JM, Zhao HY, Deng XW (2001). Direct interaction of *Arabidopsis* cryptochromes with COP1 in light control development. *Science*, 294: 154~158
- Yang HQ, Tang RH, Cashmore AR (2001). The signaling mechanism of *Arabidopsis* CRY1 involves direct interaction with COP1. *Plant Cell*, 13: 2573~2587
- Yang HQ, Wu YJ, Tang RH, Liu D, Liu Y, Cashmore AR (2000). The C termini of *Arabidopsis* cryptochromes mediate a constitutive light response. *Cell*, 103: 815~827
- Yi C, Deng XW (2005). COP1 - from plant photomorphogenesis to mammalian tumorigenesis. *Trends Cell Biol*, 15: 618~625
- Yu X, Shalitin D, Liu X, Maymon M, Klejnot J, Yang H, Lopez J, Zhao X, Bendehakkalu KT, Lin C (2007). Derepression of the NC80 motif is critical for the photoactivation of *Arabidopsis* CRY2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 7289~7294