

专论与综述 Review

植物中与光敏色素相互作用的因子 PIFs

赵晓玲*

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

Phytochrome Interacting Factors (PIFs) in Plant

ZHAO Xiao-Ling*

Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China

摘要: 文章简要介绍了目前已知的植物中与植物光敏色素相互作用的一类 bHLH 家族因子即 PIFs 因子的结构、功能的研究进展。

关键词: 光敏色素; PIFs; bHLH

光敏色素(phytochrome, Phy)是在植物中研究得较为清楚的光受体之一, 作为一类红光/远红光受体, 广泛地存在于蓝细菌、低等和高等植物体内(Hughes 等 1997)。它是一种可溶性色素蛋白, 在植物体内以 2 种较稳定的状态存在: 红光吸收型 Pr 和远红光吸收型 Pfr。2 种光吸收型在红光和远红光照射下可以相互逆转。通常认为 Pfr 是生理活化型 Phy, 而 Pr 是非生理活化型 Phy, 但也有报道认为 Pr 参与了拟南芥种子萌发和向地性反应的调节及去黄化等多种生理反应(孙大业等 2001)。Pr 转变为 Pfr 可以看作是一些光诱导反应如种子萌发的开关, 但是对于某些光敏色素介导的植物反应如避阴反应常常是根据 Pr:Pfr 的转化率而逐步响应的(Quail 2002; Schepens 等 2004)。

在拟南芥中光敏色素家族主要有 5 个成员, *phyA*、*phyB*、*phyC*、*phyD* 和 *phyE*, 这 5 个基因都是单拷贝存在的; 用图位克隆(map based clone)和全基因组检索的方法显示, 在水稻第 3 染色体上存在着 *phyA*、*phyB* 和 *phyC* 基因, 且都为单拷贝, 但在水稻中缺失 *phyD* 和 *phyE*。在这些光敏色素中起着主要作用的是 *phyA* 和 *phyB*, *phyA* 负责吸收远红光, 通过对它的突变体 *fhy1*、*fhy3*、*spal* 的研究发现, *phyA* 促进植物开花, *phyA* 过量表达后, 不论在长日照还是短日照情况下的拟南芥都出现早花的性状, 而且还出现植株矮化、下胚轴伸长被抑制、叶片颜色变深、顶端优势减弱等表型; *phyB* 主要吸收红光, 研究它的突变体 *pef2*、*pef3*、*red1*

发现, *phyB* 主要抑制植物开花, *phyB* 过量表达后, 不论在长日照还是短日照情况下拟南芥都出现晚花的性状, 而且还出现幼苗矮化、下胚轴异常伸长的表型(刘明等 2005); 一般认为 *phyC*、*phyD* 和 *phyE* 是通过 *phyB* 起作用的, 因为在拟南芥中 *phyC*、*phyD* 和 *phyE* 的单突变都没有观察到任何表型, 但与 *phyB* 的双突变体却加重了 *phyB* 的突变表型(Franklin 等 2004)。

光敏色素在黑暗的情况下存在于细胞质中, 捕获光后定位到细胞核中。虽然细胞核外的 PHYB 也可能有功能, 但对于信号传导来说 PHYB 的核定位是必需的(Nagatani 2004)。被定位到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(Tepperman 等 2006)。因此人们一直致力于想弄清楚这些光敏色素是怎样介导广泛的光反应的。最近的研究表明, 光敏色素信号是通过光敏色素相互作用因子(phytochrome interacting factor, PIFs)与光敏色素的活化形式直接相互作用开始的。现已发现的 PIFs 因子主要属于 bHLH (basic helix-loop-helix) 家族里的一个亚家族成员(Jiao 等 2007)。了解这些 PIFs 因子可能有助于人们理解植物光信号的途径。本文主要对一些已知的 PIFs 因子的特性及其研究进展作简略的介绍。

收稿 2009-03-31 修定 2009-04-29

资助 国家高技术研究发展计划(“863”计划)(2006AA10A102)。

* E-mail: xlzhao@sibs.ac.cn; Tel: 021-54924078

1 PIFs 因子的结构特征

PIFs 因子或称 PILs 因子(phytochrome interacting factor-like)的主要特性就是能和光敏色素的 Pfr 形式相互作用。通过序列比对,人们发现这些 PIFs 因子的 N 端有一个相对保守的 APB 结构域(active phytochrome-binding domain), 又称为 PIL 结构域(phytochrome interacting factor-like domain)(Khanna 等 2004)。APB domain 是 PIFs 因子与 PHYB 的 Pfr 形式相结合所必需的, 采用位点突变的方法发现 APB domain 中有 4 个非常保守的氨基酸(EL×××GQ)。有报道认为拟南芥 bHLH023 蛋白的 APB domain 区中保守氨基酸 G 自发突变成 S 后即失去与 PHYB 结合的能力, 因此推测 APB domain 中的这 4 个保守氨基酸对其与 PHYB 的结合是非常重要的。但体外免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, co-IP)的实验发现一些 bHLH 蛋白如 bHLH056、bHLH072、bHLH016、bHLH127 等具有 4 个保守氨基酸的类似 APB domain, 却并不能检测出与 PHYB 的结合, 其原因可能是这些蛋白与 PHYB 只有微弱的结合, 在体外实验中没有检测出来; 或者 APB domain 中的其它序列以及附近的序列对与 PHYB 的结合也起作用, 而在这些蛋白中却缺失这些因子(Khanna 等 2004)。在水稻的 OsPILs 因子中也存在着类似的称为 PIL 的结构域, 这个结构可能也负责了与 PHYB 的相互作用(Nakamura 等 2007)。目前已知的 PIFs 因子在体外的 co-IP 实验中只发现 PIF1 和 PIF3 这两个因子能够与 PHYA 相互作用, PIF1 与 PHYA 的相互作用能力比 PIF3 强。同样通过序列比对和定点突变的方法发现在 PIF3 中存在着类似于 APB 的 APA 结构, 这个 domain 是 PIF3 与 PHYA 相互作用所必需的, 而且在体内可能还参与 PIF3 的降解。在 PIF1 因子中也存在着 APA domain, 但这种 domain 并不是 PIF1 与 PHYA 相互作用所必需的(Huq 等 2004)。而且已经有报道认为 PHYA 可以与 PKS1 及 NDPK2 蛋白相互作用, 但这些蛋白与 PIFs 蛋白之间没有任何的同源性, 也没有发现任何的保守结构, 因此推测 APA domain 可能比 APB domain 具有更大的多样性(Al-Sady 等 2006)。

PIFs/PILs 因子除了与 PHY 相互作用的 APB domain 和 APA domain 外, 还共同具有 bHLH domain, 因此认为 PIFs/PILs 因子属于 bHLH 蛋白家族。bHLH domain 由两部分组成, 即大约 15 个氨基酸的

DNA 结合区和大约 60 个氨基酸的螺旋-环-螺旋结构区。已有报道认为拟南芥有 162 个 bHLH 蛋白因子(Bailey 等 2003), 水稻有 167 个(Li 等 2006), 它们可分为六大类(赵晓玲 2009), 迄今已知与光敏色素有关的 bHLH 因子在进化上都属于同一个亚家族。bHLH 因子的 DNA 结合区可以与靶基因启动子区的顺式调控元件相结合, 结合的顺式元件主要是 E-box (5'-CANNTG-3')。PIF1、PIF3、PIF4 结合的是一个 E-box 的亚类又叫 G-box (5'-CACGTG-3')(Huq 等 2004)。在动物的 bHLH 因子研究中曾发现 G-box 附近序列的多样性也参与了 bHLH 因子结合的特异性(Massari 和 Murre 2000)。通过螺旋-环-螺旋结构, bHLH 因子可以形成同源二聚体, 也可以与其它蛋白形成异源二聚体, 从而增加这些调控蛋白的多样性。例如 PIF3 之间可以形成同源二聚体, 也可以和 PIF4 形成异源二聚体, 而且 PIF3-PIF3 同源二聚体和 PIF3-PIF4 异源二聚体都可以与 G-box DNA 序列结合(Toledo-Ortiz 等 2003)。除此之外, PIF3 还可以与非典型的 bHLH 因子 HFR1 形成异源二聚体, 在远红光和蓝光信号通路中起正调控作用(Duek 和 Fankhauser 2003), 但对这些异源二聚体的具体功能还不很清楚。

2 PIFs 因子的鉴定及其功能

2.1 PIF3 因子 PIF3 是第一个被发现的 PIFs 家族成员, 最初是在用 PHYB 的 C 端做诱饵的酵母双杂交实验中发现的(Ni 等 1998)。随后进一步的体外 co-IP 实验证明, PIF3 不但可以和拟南芥的 PHYA 和 PHYB 的 C 端相互作用, 还可以和水稻的 PHYA 和 PHYB 的 C 端相互作用。PIF3 只能和 PHYA、PHYB 的活化形式 Pfr 相互作用, 而且与 Pfr 形式的 PHYB 的 N 端的相互作用比对 C 端的强, 但 N 端与 C 端对它们相互作用的特异性都起作用(Ni 等 1999; Zhu 等 2000)。PIF3 与 PHYB 的相互作用主要是通过 APB domain 实现的, 至于 PIF3 与 PHYA 的相互作用区迄今不是特别的清楚, 只知道也存在着类似的 APA domain (Huq 等 2004)。PIF3 是能与光敏色素直接相互作用的信号因子, 通过与被光活化的光敏色素相互作用将光信号传导下去。

有研究发现, PIF3 的 mRNA 积累是不受光调控的, 但它的蛋白是受光调控的。这个蛋白在黑暗中比较稳定, 在光照下很不稳定, 在红光条件下的半衰期大约只有 10~15 min (Park 等 2004)。进一

步的研究发现,在PHYA和PHYB介导的光信号通路中的PIF3蛋白主要是通过26S蛋白酶介导,并快速地被多聚泛素化,随后被降解。光敏色素的信号调控主要是通过降解它的下游因子实现的,其中一个关键因子就是COP1。COP1具有E3泛素(ubiquitin)连接酶的活性,为主要的形态建成抑制因子,它通过结合光形态建成响应基因的转录激活因子并促使其降解而起作用。在黑暗中COP1位于核内,是光形态建成反应的抑制因子,但见光反应后又重新定位于细胞核外,从而减低对光形态建成反应的抑制(周波和李玉花2006;伊锐和柴友荣2008),这些研究表明,COP1负调控参与光敏色素信号通路中有关的蛋白质的降解,但Bauer等(2004)研究发现,在黑暗中COP1正调控了PIF3的积累。在黑暗中PIF3的积累是COP1调节PIF3的抑制因子降解的结果。这一抑制因子可能是PIF3基因自身表达的抑制因子,也可能是控制PIF3降解的因子。但COP1作用于控制PIF3降解的因子似乎更具有说服力,因为它与光诱导的COP1的核内排出是一致的。光下COP1的核外转移促使核内不依赖于COP1的PIF3因子发生降解,而黑暗中COP1的核内定位则促使PIF3对COP1的积累。

PIF3的功能主要是控制植物的形态表型以及参与光反应过程中的一些生化途径。采用T-DNA插入技术分离到许多独立突变株*pif3*,在连续红光的情况下,这些突变株表现为相对短的下胚轴和相对伸展的子叶。因此推测在红光下的光形态建成中PIF3主要起负调控的作用。由于*pif3*植株中的叶绿素和花青素的积累都发生缺陷,因此又有人认为PIF3基因在叶绿素的积累和光诱导的花青素积累中主要起正调控的作用(Monte等2004)。

2.2 PIF1/PIL5 因子 PIF1因子是通过序列比对发现的PIFs家族成员。它和PIF3类似,不但可以与PHYB相互作用,而且还可以与PHYA相互作用,不过与PHYA的相互作用强度不如PIF3。

PIF1因子功能的研究主要是通过*pif1*突变体发现的。*pif1*突变体的可见表型主要表现在3个方面:首先突变体的种子萌发受到抑制;其次是在远红光和黑暗条件相互交替时,*pif1*突变体表现出轻微的短下胚轴表型,在黑暗情况下突变体的下胚轴的向重力比野生型有所减弱(Oh等2004);再者,*pif1*突变体的幼苗表现出受光自由基损伤的症状,

即使黑暗中生长的黄花苗转移到光照条件下,突变株的叶片也不能转绿,最终是整个植株死亡,而且在黑暗中生长的时间越久,这种症状越严重。检测发现,在突变株中原叶绿素的含量比野生型的增加了4~6倍,推测这种症状的出现可能是由于突变株中过量的原叶绿素导致的(Huq等2004)。从这些表型推测,PIF1的功能可能是抑制GA的合成基因,或活化GA的降解基因,从而导致种子中具有生物活性的GA含量降低,最终导致种子萌发受阻;同时可以认为,PIF1的功能是非常广泛的,不但参与光诱导的种子萌发以及光诱导的抑制下胚轴伸长、黑暗中下胚轴的向地性,还负调控叶绿素的生物合成。

2.3 PIF4、PIF5/PIL6、PIF6/PIL2 因子 人们采用遗传学和反向遗传学的方法又发现了一些其它的PIFs因子,如PIF4(Huq和Quail2002)、PIF5、PIF6(Khanna等2004)。迄今发现的PIF4、PIF5和PIF6因子只能与PHYB相互作用,PIF6与PHYB的相互作用强于PIF4和PIF5。PIF4可以与PIF3形成异源二聚体。

PIF4、PIF5和PIF6因子的mRNA和蛋白的表达都受24h生理节律控制,在体外都可以与生理震荡器成分TOC1相互作用(Fujimori等2004)。在*pif5*和*pif3*的突变体中都没有观察到与节律有关的表型变化,因此这类PIF因子与TOC1相互作用的意义迄今还不很清楚(Yamashino等2003)。

PIF4的功能主要是负调控PHYB介导的抑制下胚轴伸长的过程(Huq2002)。在连续的红光条件下,*pif4/srl2*突变体比野生型的有更加短的下胚轴和更加伸展的子叶,*pif5*突变体的表型与*pif4*也相似,对红光超敏感。在远红光和黑暗的条件下,*pif4*和*pif5*突变体都没有可见的表型(Fujimori等2004)。PIF6的生物学功能还不很清楚。比较一致的看法是认为它的主要生物学功能是负调控光诱导的光形态建成的发育。

2.4 PIL1 因子 避荫反应一般包括植物的快速增高和提前开花结籽,长期以来人们一直致力于确定避荫反应与光感受之间的关系。Salter等(2003)发现,生理节律调控这些与光有关的避荫反应,最明显的是在黄昏时段,这一时段有许多基因表达的变化,其中PIL1基因的表达变化最迅速。在白天/黑夜周期交替的条件下,去黄化(de-etiolation)的拟南芥幼

苗,不管在黑夜还是白昼, *PIL1* 基因的表达量都非常低,但是若在进入黑夜前进行短暂的远红光处理, *PIL1* 的表达会发生极大的变化,远红光处理 1 h 的表达量可以上升 30 倍左右,但远红光处理 8 h 后的转录水平却只上升 6 倍,暗示在黑暗条件下可能存在一些相对稳定的 Pfr 因子,这种因素抑制 *PIL1* 的表达。以一些光敏色素突变体 *phyB*、*phyD*、*phyE* 研究的结果表明, *PIL1* 对远红光的反应主要是通过 PHYB 介导的途径起作用的,同时 PHYD、PHYE 都有累积效应。远红光诱导 *pil1* 突变体的结果表明,下胚轴生长调控 *PIL1* 是远红光处理下的避荫反应所必需的。

APRR1/TOC1 是拟南芥的一个关键生物钟节律成分,其机制一直都不是很清楚。虽然 Makino 等(2002)采用酵母双杂交实验发现 APRR1 能够与某些 bHLH 因子如 PIF3 和 PIL1 相互作用,但 Yamashino 等(2003)利用 2 个相对独立的 T-DNA 插入突变体 *pil1-1* 和 *pil1-2* 研究 *PIL1* 基因的功能,发现在两个突变体中与生理节律有关的表型,如开花时间和早期光形态建成对红光的敏感性都没有发生明显的变化;一些与生理节律有关的基因如 *CCA1*、*LHY* 和 *APRR9* 的表达也没有发生明显的变化,由此推测 *PIL1* 蛋白在生理节律调控过程中起的作用可能不是通过与 APRR1 直接相互作用而发生的。

2.5 PIF7 因子 用生物信息学方法对已知的 PIFs 因子做进化树时发现, PIFs 因子都属于 bHLH 的一个亚家族,于是有人很自然对这个亚家族中一些功能未知的成员是否也是 PIFs 因子进行推测。最近, Peter 实验室发现,这个家族中的 bHLH072 既含有 APB domain,也有核定位信号。bHLH072 能特异地和 PHYB 的 Pfr 形式相互作用,但不能和 PHYA、PHYC、PHYD 和 PHYE 相互作用,他们把它命名为 PIF7 因子。PIF7 与 PHYB 相互作用的强度比 PIF3 大约低 85%;与 PIF3 相似,在光照条件下, PIF7 也能快速从细胞质转移到细胞核内与 PHYB 共定位,但是, PIF7 与 PIF3 最大的区别是在这个转移过程中并不伴随着可以检测的光诱导的磷酸化现象,或者是没有发现 PIF7 的降解过程,即 PIF7 蛋白在光照条件下是稳定的,因此推测 PIF7 与 PHYB 相互作用的结果和 PIF3 是不一样的。同时还发现,在红光下 PIF7 参与苗的去黄化反应,起弱的负调控

作用。在红光下生长 4 周左右的幼苗中能检测到低的 *PIF7* 的 mRNA 表达,但是在黑暗和远红光下生长的幼苗中则检测不到 *PIF7* 的表达。*pif7* 突变体对红光不敏感, *pif4* 和 *pif3* 突变体对红光也不敏感,而且 *pif4* 比 *pif7* 严重, *pif7* 比 *pif3* 严重。但研究这些三突变体和双突变体时发现,这些 PIFs 因子在对红光的分子形态建成中有叠加效应(Leivar 等 2008)。

2.6 HFR1 因子 HFR1 是一个与 PIFs 家族相关的因子。虽然 HFR1 除了有一个 bHLH domain 以外,还有一个类似于 APB 的 domain,但迄今还缺少 HFR1 与光敏色素相互作用的证据。最初研究 *HFR1* 基因是由于发现在远红光下突变体 *hfr1* 比野生型表现出相对长的下胚轴,即突变体 *hfr1* 对远红光不敏感。Fairchild 等(2000)用 T-DNA 标签法克隆 *HFR1* 基因时发现 HFR1 在转录水平和蛋白水平都受光调控。它的 mRNA 表达在远红光下比红光下多约 30 倍。在黑暗中它的蛋白是不稳定的,但在光照条件下却稳定(Duek 和 Fankhauser 2003)。在黑暗中 HFR1 蛋白的降解是通过 COP1 介导的泛素化途径进行的,而在光照条件下稳定的原因是通过 CKII 介导的磷酸化,抑制 HFR1 蛋白的降解(Park 等 2008)。虽然现有的实验尚不能证明 HFR1 与 PHYA 和 PHYB 的直接相互作用,但体外的酵母双杂交实验的结果表明 HFR1 与 PIF3 形成的异源二聚体可以与 PHY 相互作用。Duek 和 Fankhauser (2003)还发现,在蓝光下生长的 *hfr1* 突变体有减少去黄化的反应,如下胚轴的生长、子叶的伸展以及激素的积累等。而且在蓝光下 *HFR1* 的 mRNA 与在远红光下的同样有很高的表达量。迄今认为, HFR1 是作为蓝光受体 CRY1 的正调控因子参与蓝光信号通路的,这暗示 HFR1 有可能成为 PHYA 和 CRY1 两个信号通路的整合因子(Duek 和 Fankhauser 2003)。

2.7 水稻中的 PIFs 因子 双子叶植物拟南芥中的 PIFs 因子都属于 bHLH 家族的一个亚家族,在进化上是相对保守的。为了寻找与拟南芥相似的 *PIL* 同源基因, Nakamura 等(2007)对水稻的多个数据库进行了分析,最终他们发现水稻中也存在着这样一类基因,命名为 *OsPIL11*~*OsPIL16*,这 6 个基因的编码蛋白都存在着 *PIL* 结构域,与 PIF3 有很高的同源性。*OsPIL11*、*OsPIL12* 和 *OsPIL13* 蛋白在体外都可以与 *OsPRR1* (拟南芥生物节律因子 TOC1

的同源蛋白)相互作用。*OsPIL13*的表达受生理节律控制。水稻黄化苗转移到光照条件下时其*OsPIL15*的表达被下调,即受光负调控。水稻的*OsPIL11~OsPIL15*在拟南芥中过量表达时,其转基因植株苗在早期光形态建成中都表现出长的下胚轴的非正常表型。根据这些结果可以推测,这些*OsPILs*因子的功能可能类似于*AtPILs*(Nakamura等2007)。

3 PIFs因子在光形态建成和光信号途径中的作用

从一些*pif*突变体的研究来看,不同的PIF蛋白在光形态建成的多个方面起不同的作用,在大多数情况下起负调控的作用。但也有一些*pif*突变体没有可以观察到的表型变化,这可能是由于基因功能的冗余造成,如*pif1*和*pif3*的双突变体在黑暗中能观察到强烈受抑制的向地性,而任何一个单突变体在同样的条件下都没有这个表型。PIF1、PIF3和PIF4是光敏色素的负调控因子,抑制植株胚轴的伸长和子叶的扩展,但正调控花青素的积累(Huq和Quail 2002; Kim等2003),而PIF1的调控机制还不很清楚,但有人认为它是通过依赖光敏色素的降解实现PIF3下调的。因此有人认为可能是这些负调控因子通过抑制光敏色素途径而促进光形态建成的。有研究表明,PIF1、PIF3、PIF4和PIF5蛋白接收光信号后快速降解,但有一些蛋白水解酶抑制剂可以阻止这些PIFs因子的降解,表明PIFs因子的降解可能是通过泛素/26S蛋白水解酶途径进行的。后来的研究又发现,在光照/黑暗循环的条件下PIF1、PIF3、PIF4和PIF5蛋白在黑暗中能重新积累。PIF1和PIF3蛋白在红光条件下的半衰期只有10~15 min,于是推测这些因子的功能可能是在由黑暗转入光照条件下的瞬间起作用,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,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。

PIFs因子能直接结合到潜在的靶基因启动子区,也能够与活化形式的光敏色素相互作用,因此认为PIFs因子是研究光调控基因表达机制的很好突破口。有研究表明,PIF3转录因子能够结合到拟南芥的生理节律钟因子LHY和CCA1的启动子区,而LHY和CCA1蛋白被认为是可以通过结合到TOC1的启动子上而负调节TOC1的表达,同时

PIF3也可以与TOC1蛋白相互结合,最终促使PIF3参与拟南芥的生理节律过程,但其中的分子机制还不很清楚(Alabadi等2001; Viczian等2005)。在黑暗情况下PIFs因子能活化靶基因的表达,而光照诱导的PIFs因子降解可以减少这些靶基因的表达。今后这方面的研究应该是确定PIFs因子是怎样参与光调控的基因表达的。

4 结语

PIFs因子参与光敏色素的信号通路已经越来越受到人们的关注。虽然PIFs因子在光敏色素信号通路中的中心位置已为大部分人所接受,但PIFs因子研究中仍有许多亟待解决的问题,如新的PIFs因子的鉴定,PIFs因子在光照条件下的降解机制,不同PIFs因子的不同表达模式在光敏色素信号通路中的作用,PIFs因子的靶基因的鉴定等。目前对光敏色素传导光信号的机制已有了一定的认识,但这一认识还有待于进一步深化,相信,随着这些因子的鉴定、活性和表达研究的进展,人们对光敏色素传导光信号机制的了解将更加深入。

参考文献

- 刘明,赵琦,王小菁,赵玉锦,童哲(2005).植物的光受体及其调控机制的研究.生物学通报,40(5):10~12
- 孙大业,郭艳林,马力耕,崔素娟(2001).细胞信号转导.第3版.北京:科学出版社,247
- 伊锐,柴友荣(2008).植物蛋白负调控因子.植物生理学通讯,44(1):159~168
- 赵晓玲(2009).螺旋-环-螺旋蛋白家族的分类和功能研究.细胞生物学杂志,31(2):1~7
- 周波,李玉花(2006).植物的光敏色素和光信号传导.植物生理学通讯,42(1):134~140
- Alabadi D, Oyama T, Yanovsky MJ, Harmon FG, Mas P, Kay SA(2001). Reciprocal regulation between *TOC1* and *LHY/CCA1* within the *Arabidopsis* circadian clock. *Science*, 293: 880~883
- Al-Sady B, Ni W, Kircher S, Schafer E, Quail PH (2006). Photoactivated phytochrome induces rapid PIF3 phosphorylation prior to proteasome-mediated degradation. *Mol Cell*, 23: 439~446
- Bailey PC, Martin C, Toledo-Ortiz G, Quail PH, Huq E, Heim MA, Jakoby M, Werber M, Weissshaar B (2003). Update on the basic helix-loop-helix transcription factor gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 15 (11): 2497~2502
- Bauer D, Viczian A, Kircher S, Nobis T, Nitschke R, Kunkel T, Panigrahi KC, Adam E, Fejes E, Schafer E et al (2004). Constitutive photomorphogenesis 1 and multiple photoreceptors control degradation of phytochrome interacting factor 3, a transcription factor required for light signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 1433~1445
- Duek PD, Fankhauser C (2003). HFR1, a putative bHLH transcrip-

- tion factor, mediates both phytochrome A and cryptochrome signaling. *Plant J*, 34: 827~836
- Fairchild CD, Schumaker MA, Quail PH (2000). HFR1 encodes an atypical bHLH protein that acts in phytochrome a signal transduction. *Genes Dev*, 14: 2377~2391
- Franklin KA, Whitelam GC (2004). Light signals, phytochromes and cross-talk with other environmental cues. *J Exp Bot*, 55: 271~276
- Fujimori T, Yamashino T, Kato T, Mizuno T (2004). Circadian-controlled basic/helix-loop-helix factor, PIL6, implicated in light-signal transduction in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 45: 1078~1086
- Hughes J, Lamparter T, Mittmann F (1997). A prokaryotic phytochrome. *Nature*, 386 (6626): 663
- Huq E, Al-Sady B, Hudson M, Kim C, Apel K, Quail PH (2004). Phytochrome-interacting factor 1 is a critical bHLH regulator of chlorophyll biosynthesis. *Science*, 305: 1937~1941
- Huq E, Quail PH (2002). PIF4, a phytochrome-interacting bHLH factor, functions as a negative regulator. *EMBO J*, 21 (10): 2441~2450
- Jiao Y, Lau OS, Deng XW (2007). Light-regulated transcriptional networks in higher plants. *Nat Rev Genet*, 8: 217~230
- Khanna R, Huq E, Kikis EA, Al-Sady B, Lanzatella C, Quail PH (2004). A novel molecular recognition motif necessary for targeting photoactivated phytochrome signaling to specific basic helix-loop-helix transcription factors. *Plant Cell*, 16: 3033~3044
- Kim J, Yi H, Choi G, Shin B, Song PS, Choi G (2003). Functional characterization of phytochrome interacting factor 3 in phytochrome-mediated light signal transduction. *Plant Cell*, 15: 2399~2407
- Leivar P, Monte E, Al-Sady B, Carle C, Storer A, Alonso JM, Ecker JR, Quail PH (2008). The *Arabidopsis* phytochrome-interacting factor PIF7, together with PIF3 and PIF4, regulates responses to prolonged red light by modulating phyB levels. *Plant Cell*, 20: 337~352
- Li XX, Duan XP, Jiang HX, Sun YJ, Tang YP, Yuan Z, Guo JK, Liang WQ, Chen L, Yin JY et al (2006). Genome-wide analysis of basic/helix-loop-helix transcription factor family in rice and *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 141: 1167~1184
- Makino S, Matsushika A, Kojima M, Yamashino T, Mizuno T (2002). The APRR1/TOC1 quintet implicated in circadian rhythms of *Arabidopsis thaliana*: I. Characterization with APRR1-overexpressing plants. *Plant Cell Physiol*, 43 (1): 58~69
- Massari ME, Murre C (2000). Helix-loop-helix proteins: regulators of transcription in eucaryotic organisms. *Mol Cell Biol*, 20: 429~440
- Monte E, Tepperman JM, Al-Sady B, Kaczorowski KA, Alonso JM, Ecker JR, Li X, Zhang Y, Quail PH (2004). The phytochrome-interacting transcription factor, PIF3, acts early, selectively, and positively in light-induced chloroplast development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 16091~16098
- Nagatani A (2004). Light-regulated nuclear localization of phytochromes. *Curr Opin Plant Biol*, 7: 708~711
- Nakamura Y, Kato T, Yamashino T, Murakami M, Mizuno T (2007). Characterization of a set of phytochrome-interacting factor-like Bhlh proteins in *Oryza sativa*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 71: 1183~1191
- Ni M, Tepperman JM, Quail PH (1998). PIF3, a phytochrome-interacting factor necessary for normal photoinduced signal transduction, is a novel basic helix-loop-helix protein. *Cell*, 95: 657~667
- Ni M, Tepperman JM, Quail PH (1999). Binding of phytochrome B to its nuclear signaling partner PIF3 is reversibly induced by light. *Nature*, 400: 781~784
- Oh E, Kim J, Park E, Kim JI, Kang C, Choi G (2004). PIL5, a phytochrome-interacting basic helix-loop-helix protein, is a key negative regulator of seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 16: 3045~3058
- Park E, Kim J, Lee Y, Shin J, Oh E, Chung WI, Liu JR, Choi G (2004). Degradation of phytochrome interacting factor 3 in phytochrome-mediated light signaling. *Plant Cell Physiol*, 45: 968~997
- Park HJ, Ding L, Dai M, Lin R, Wan H (2008). Multisite phosphorylation of *Arabidopsis* HFR1 by casein kinase II and a plausible role in regulating its degradation rate. *J Biol Chem*, 283 (34): 23264~23273
- Quail PH (2002). Phytochrome photosensory signalling networks. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 3: 85~93
- Salter MG, Franklin KA, Whitelam GC (2003). Gating of the rapid shade-avoidance response by the circadian clock in plants. *Nature*, 426: 680~683
- Schepens I, Duek P, Fankhauser C (2004). Phytochrome-mediated light signalling in *Arabidopsis*. *Curr Opin Plant Biol*, 7 (5): 564~569
- Tepperman JM, Hwang YS, Quail PH (2006). PhyA dominates in transduction of red-light signals to rapidly-responding genes at the initiation of *Arabidopsis* seedling de-etiolation. *Plant J*, 48: 728~742
- Toledo-Ortiz G, Huq E, Quail PH (2003). The *Arabidopsis* basic/helix-loop-helix transcription factor family. *Plant Cell*, 15: 1749~1770
- Viczian A, Kircher S, Fejes E, Millar AJ, Schafer E, Kozma-Bognar L, Nagy F (2005). Functional characterization of phytochrome interacting factor 3 for the *Arabidopsis thaliana* circadian clockwork. *Plant Cell Physiol*, 46: 1591~1602
- Yamashino T, Matsushika A, Fujimori T, Sato S, Kato T, Tabata S, Mizuno T (2003). A link between circadian-controlled bHLH factors and the APRR1/TOC1 quintet in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 44: 619~629
- Zhu Y, Tepperman JM, Fairchild CD, Quail PH (2000). Phytochrome B binds with greater apparent affinity than phytochrome A to the basic helix-loop-helix factor PIF3 in a reaction requiring the PAS domain of PIF3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 (24): 13419~13424