

## 光敏色素互作因子PIFs是整合多种信号调控植物生长发育的核心元件

杨剑飞, 王宇, 杨琳, 李玉花\*

东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨150040

**摘要:** 光敏色素互作因子(PIFs)蛋白家族隶属于bHLH转录因子家族, 参与多种信号转导途径, 调控植物的生长发育进程, 如抑制种子萌发、促进幼苗的暗形态建成和调控开花时间等。作为一个胞内信号调控的重要组分, PIFs广泛参与到由多种植物内源激素如赤霉素、乙烯、生长素、油菜素内酯、脱落酸和外部环境因素如高温、光等所介导的信号网络中。本文从PIFs的结构、参与途径及调控植物发育进程3个方面, 简要介绍近年来国内外对PIFs在信号网络调控方面的最新研究进展。

**关键词:** PIFs; 信号转导; 植物发育

## Phytochrome-Interacting Factors Integrate Multiple Signals to Control Plant Growth and Development

YANG Jian-Fei, WANG Yu, YANG Lin, LI Yu-Hua\*

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract:** Phytochrome-interacting factors (PIFs), which belong to a small subset of basic helix-loop-helix (bHLH) transcriptional factors, play important roles in various signal transduction pathways to control plant growth and development such as repression of seed germination, promotion of seedling skotomorphogenesis and regulation of flowering time through regulated expression of over a thousand genes. Recently, PIFs have been identified to integrate multiple signals for internal plant hormone factors such as gibberellins, ethylene, auxin, brassinosteroid, abscisic acid and for external factors like temperature and light, to regulate the transcriptional network, acting as pivotal components in cellular signal hub. In this paper, the latest advances in research of PIFs' function on signal pathways are reviewed in order to highlight from the aspects of structure, signal transduction and regulation.

**Key words:** PIFs; signal transduction; plant development

高等植物生长发育过程中存在精密的信号转导系统: 一方面, 植物通过受体接收外界环境信号, 调控植物内源信号水平, 整合不同的信号转导途径共同调节植物的生长发育; 另一方面, 植物又能够通过内源激素水平影响环境应答反应途径, 从而形成复杂的信号转导网络。近年来对于植物激素的生物合成与信号转导相关研究取得了较大进展, 已经发现各类激素之间存在错综复杂的相互作用, 但是研究表明这些激素主要通过自身转导途径调控植物幼苗的早期发育(Nemhauser等2006)。光作为一种重要的环境信号, 能够激发植物体内的光受体, 并通过一定的信号传递、放大过程, 最终诱导光响应基因的表达和特定的生理反应(刘明等2005)。不同的信号通过各自的转导途径共同调控植物的生长发育进程, 如种子的萌发、暗形态的建成、光形态的建成、开花时间及

气孔发育等(Casson等2009; de Lucas等2008; Lee等2012; Oh等2012)。最近的研究多集中于揭示环境和激素信号在分子水平上的交叉作用及协同调控, 并且一些相关的信号因子已经被确定在这些途径中起整合作用。其中, 光敏色素互作因子(phytochrome-interacting factors, PIFs)蛋白家族不仅在光及温度介导的环境信号传递中起关键作用, 还参与植物内源信号途径, 如油菜素内酯(brassinosteroid, BR)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、赤霉素(gibberellins, GA)、生长素、乙烯的信号传递, PIFs作为一种重要的信号整合因子参与到不同信

收稿 2014-05-12 修定 2014-07-18

资助 中央高校基本科研业务费专项资金(DL13BAX08)和国家自然科学基金项目(31272200和30730078)。

\* 通讯作者(E-mail: lyhshen@126.com; Tel: 0451-82191733)。

号通路之间协同调控植物的生长发育(Lau和Deng 2010)。

本文着重介绍PIFs在不同信号途径间调控植物发育进程中的核心作用,有助于完善环境信号与植物内源信号之间的交互调控网络,希望能对今后的相关研究起指导作用。

## 1 PIFs家族的结构

PIFs家族蛋白作为一种重要的bHLH (basic helix-loop-helix)类型转录因子,其主要特点是能与光敏色素(phytochrome, PHY)发生相互作用。通过系统进化分析发现PIFs蛋白隶属于bHLH转录因子家族第15亚家族,该家族的成员除PIFs外还包括具有光形态建成功能的HFR1 (long hypocotyl in far-red 1)和PIL1 (phytochrome interacting factor 3-like 1)因子、具有调控种子萌发功能的SPATULA (SPT)和未被鉴定功能的其他5种bHLH蛋白(Leivar和Quail 2011)。PIF3最初通过酵母双杂交方法被确定与PHYB互作,随后的研究发现PIF3还能与具有生理活性的远红光(far red light, FR)吸收型Pfr形式的PHYA结合,调控下游基因的转录。目前已知的PIFs家族成员中只有PIF1和PIF3能够与PHYA发生相互作用,其中PIF1与PHYA的结合能力比PIF3强,而所有的PIFs均能特异地与Pfr形式的PHYB结合(赵晓玲2009)。通过对PIFs家族成员的结构进行分析,人们发现PIFs家族的N-端含有一个相对保守的APB结构域(active phyB-binding domain),是PIFs与PHYB特异性结合必不可少的功能结构域,采取点突变的手段证明APB结构域中的4个氨基酸(EL×××GQ)是主要的相互作用功能域,而其两侧的序列可能也对PHYB的结合起到一定的促进作用(Khanna等2004);在PIF1与PIF3中发现了另外一个类似APB的APA结构域(active phyA-binding domain),这种APA结构对于PIF3 (而不是PIF1)与PHYA的结合是必需的,但不如APB结构保守(Al-Sady等2006; Shen等2008)。PIFs蛋白的C-端具有bHLH家族蛋白共有的bHLH功能域,该功能域含有碱性DNA结合域和螺旋环螺旋(helix-loop-helix, HLH)结构域(图1-A)。其中大部分bHLH家族蛋白的DNA结合区可以与靶基因启动子区的顺式调控元件E-box (5'-CANNTG-3')相结合,在转录水平上调控靶基因的表达,而PIFs家族蛋白主要与

E-box中的G-box (5'-CACGTG-3')和PBE-box (5'-CACATG-3')结合(Zhang等2013)。另外, bHLH功能域中的HLH结构域可以介导PIFs蛋白家族成员之间的相互作用。研究表明, PIF1、PIF3及PIF4不仅可以形成同源二聚体行使功能, PIF3还能够与PIF4或PIF1形成异源二聚体,共同结合靶基因启动子的G-box元件来调节下游基因的转录,而PIF4和PIF5还能分别与HFR1形成异二聚体调控HFR1在避荫性反应中的蛋白水平(Bu等2011; Hao等2012; Hornitschek等2009)(图1-B)。在植物体内, BR途径中的受体蛋白BZR1 (brassinazole-resistant 1)可以与PIF4形成异源二聚体共同调控相关基因的表达促进植物生长;而GA途径中的负调控因子DELLA蛋白可以通过与PIF3及PIF4的DNA结合域相互作用的方式抑制PIF3和PIF4行使转录调控的功能(Feng等2008)。

综上所述, PIFs既可以通过HLH结构域形成同源二聚体,也可以与其他PIFs或含有HLH结构域的蛋白形成异源二聚体,从转录水平调控下游基因表达,而异源二聚体参与调控的模式或许能够解释PIFs家族在不同植物生长发育进程中的功能冗余作用; PIFs蛋白还可以与其他蛋白互作,从蛋白水平调控相应的信号转导途径。这种双重调节决定了PIFs能够整合不同信号通路,具有调控植物生长发育进程的核心作用。

## 2 PIFs参与多种植物体内信号转导途径

### 2.1 PIFs参与光信号转导途径

植物通过光受体接收光信号,改变植物内部应答光反应基因的转录和翻译水平,最终导致植物内源代谢变化,促进光形态建成。而PIFs蛋白作为光信号转导途径中的负调控因子,从不同方面抑制植物早期光形态建成反应,如促进下胚轴伸长、抑制叶绿素和花青素的积累、抑制光合作用基因的活化、促进子叶伸展等(Leivar和Quail 2011)。PIF1、PIF3、PIF4、PIF5、PIF6和PIF7均能够直接与Pfr形式的光敏色素结合,并参与介导光敏色素信号通路中PHYA/B信号下游基因的表达调控(Castillon等2007)。除了PIF7能够在光下稳定存在,其他PIFs受光敏色素激发参与26S蛋白酶体降解途径,其中PIF3与光敏色素的互作对光诱导PIF3的泛素化降解是必不可少的(Al-Sady等

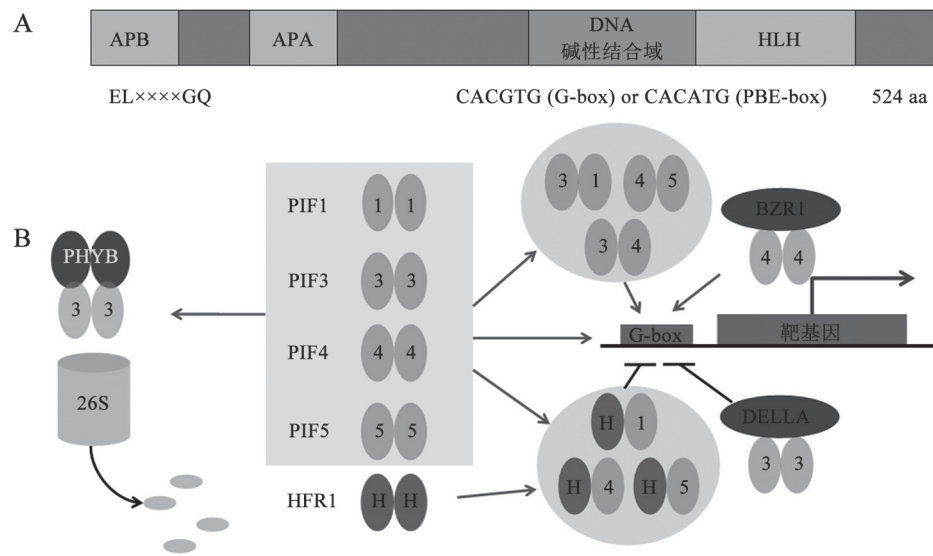


图1 PIF3结构模型(A)及PIFs蛋白参与调控基因表达功能的工作模型(B)

Fig.1 PIF3 domain structure (A) and the working model of PIFs for regulating target gene expression (B)

B中斜箭头表示蛋白复合物对靶基因G-box具有识别功能及蛋白之间能够进行相互作用, T型箭头表示蛋白间形成的复合物不能识别靶基因的G-box元件。

2006)。Park等(2012)通过免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, CoIP)和蛋白的Pull-down实验证明不能诱导PIF3降解的PHYB N-端NGB (NG-GUS-NLS)区域能够抑制PIFs的DNA结合能力; 研究证明PHYB至少通过2种途径抑制PIFs的功能, 包括阻止PIFs与靶基因的结合及降低PIFs的蛋白水平。Leivar等(2008)对获得的*pifq* (*pif1345*)四突变体进行研究发现, 其表型与*cop1*突变体一致, 即在黑暗中也表现出光形态建成的表型, 且*cop1*突变体中PIFs水平下降, 证明植物在暗形态建成阶段除了依靠泛素系统中COP1-SPA复合物对HY5 (long hypocotyl 5)的降解, 还需要PIFs转录因子的调控作用。非典型的bHLH蛋白HFR1和PAR1/2能与PIFs形成异二聚体, 抑制PIFs结合DNA, 而COP1-SPA1可以通过抑制HFR1活性间接增强黑暗中PIFs的稳定性(Bauer等2004; Duek等2004)。最近研究表明, 光敏色素早期信号传递组分HEMERA (HMR)蛋白的缺失影响光敏色素与相应转录因子的互作, 其中, HMR蛋白参与到PIFs的降解过程中, 促进光形态建成。在红光下, *hmr*突变体中PHYA和PIFs的降解均受到抑制, 其幼苗中的PHYA、PIF1和PIF3的含量均比野生型高, 而PHYA的降解对于PHYA行使功能非常重要, 所以*hmr*突变体中PHYA的积

累影响其对PIF1和PIF3的降解, 从而产生伸长的下胚轴(Chen和Chory 2011; Chen等2010)。PIFs在调控下胚轴伸长反应中具有双重作用: 一方面可以通过正常的转录调控调节下胚轴伸长反应, 另一方面可以反馈调节PHYB丰度, 降低PHYB的抑制作用, 从而促进下胚轴伸长(Leivar等2012a)。蓝光下, 光敏色素也能被激发为Pfr形式, 介导PIF1与PIF3的泛素化降解(Bu等2011)。蓝光能够促进植物的向光反应, 而PIF4/PIF5在负调控向光反应时功能冗余。Sun等(2013)最近发现, 蓝光可以促进PIF4/PIF5的积累, 且PIF4/PIF5的表达位于向光素(phototropin, PHOT) PHOT1富集的茎端, 故推测这种现象是植物防止茎弯曲过度而进行的一种反馈调节机制。基因芯片分析发现部分受PIFs调控的基因是关键的色素合成因子, 其中叶绿素合成基因HEMA1、CHLH、GUN4和PORC在*pifq*突变体中的表达水平发生变化: 黑暗条件下, PIF1与能够编码类胡萝卜素生物合成酶基因PSY启动子结合抑制类胡萝卜素的合成; 而光通过激活光敏色素途径诱导PIFs的降解, 促进类胡萝卜素的积累、叶绿素的生物合成及叶绿体的发育。植物的避荫性反应(shade avoidance syndrome, SAS)是由于在遮荫条件下, PHYB由具有生理活性的远红光吸收型

Pfr形式转换为非生理活性的红光吸收型Pr形式, 植物体内Pfr形式的光敏色素水平降低, 影响生长素合成途径及信号传递途径, 促进胚轴伸长、叶柄伸展等反应。Lorrain等(2008)研究发现, *pif45*双突变体及各自的单突变体的SAS反应明显减弱, 同时PIF4和PIF5过表达突变体在红光下表现出类似SAS反应表型, 证明了PIF4和PIF5在绿色植物中能够协同促进SAS反应。随着蓝光的减弱也能发生类似SAS的表型, 这种表型产生的机制与红光不同, 是由蓝光/UV-A受体隐花色素(cryptochrome, CRY)家族中的CRY1介导, 通过对生长素极性运输的调控实现, 而PIF4和PIF5在这一过程中也发挥了关键作用(Keller等2011)。综上所述, 黑暗及遮荫条件下, PIFs通过与靶基因启动子结合, 调控下游基因的表达, 促进植物的暗形态建成; 而在光下, 受光激活形成Pfr构象的光敏色素既可以直接与PIFs直接互作, 调控PIFs蛋白的磷酸化与降解, 也可以通过调控COP1-SPA复合体的活性, 间接影响PIFs蛋白的稳定性, 对PIFs下游的基因进行转录水平的调控; 同时, PIFs也能负调控PHYB蛋白的稳定性, 防止过度的光形态建成反应。

## 2.2 PIFs参与温度信号转导途径

外界温度变化对植物的生长和发育有重大影响, 但目前科学家们对其分子调控通路知之甚少。植物的生长速率和发育速率在12~27 °C之间具有显著的动力学变化, 但并没有明显的胁迫反应。低温条件下, 植物体内的酶活和生化反应受到抑制, 导致植物生长减缓; 高温条件下, 植物表现出一系列适应高温的形态学变化, 例如胚轴伸长和早花反应, 而研究证明这些反应通过共同的调控因子PIF4完成(Proveniers和van Zanten 2013)。目前的研究结果表明, 温度至少通过3种不同的机制调控PIF4因子的活性: 转录调节、翻译后的修饰与染色质亲和性的改变。Koini等(2009)发现, 随着温度逐渐升高(22~28 °C), PIF4的表达量迅速到达较高水平, PIF4蛋白随PIF4转录水平升高而显著积累。PIF4蛋白丰度受光调控, 在FR下保持稳定, 但在白光下与PHYB结合后诱发降解效应。白光下PIF4蛋白的丰度与温度无关, 但在蓝光下随温度降低其稳定性逐渐下降(Foreman等2011)。

近期研究表明, 高温还能够诱导PIF4直接激活FLOWERING LOCUS T (FT)基因的表达, 促进植

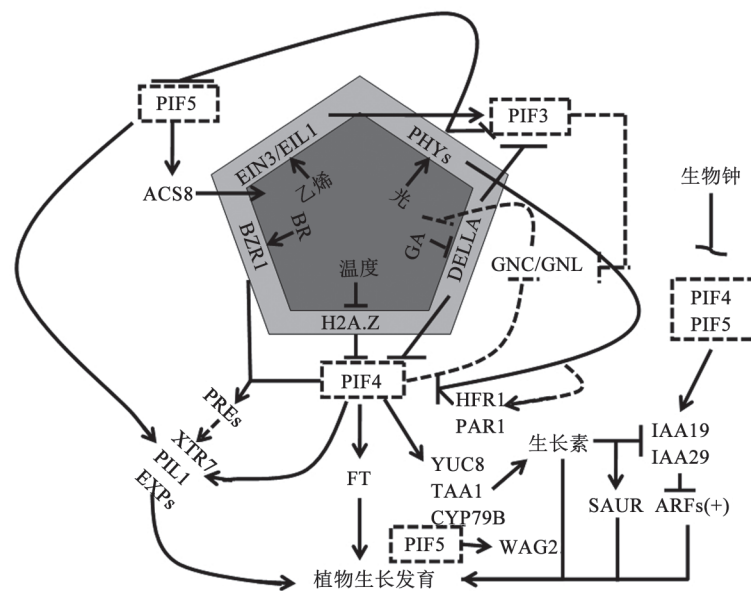


图2 PIFs参与植物体内多信号通路调控植物的生长发育

Fig.2 PIFs involve multiple signals to control plant growth and development

图中箭头表示正调控作用, T型箭头表示负调控作用; 虚线表示两个因子间尚未证实有直接的调控作用; 虚线方框表示PIFs家族成员在植物转录调控网络中所处的位置。

物开花。H2A.Z核小体的构象随温度升高而产生变化,植物在高温下释放H2A.Z核小体是温度调控植物转录组变化的关键步骤(Kumar和Wigge 2010)。温度可以通过调节H2A.Z核小体在*FT*基因启动子上的结合效率,从而间接地调控转录因子PIF4与*FT*基因启动子的结合(Kumar等2012)。在高温下, H2A.Z核小体与染色质的结合效率下降,暴露出*FT*基因启动子上PIF4的结合位点,促进PIF4与*FT*基因启动子结合。进一步研究发现,尽管PIF4表达水平与环境温度(12~27 °C)成正比,但是这种变化不足以使植物在短日下加速开花。然而, 27 °C下PIF4与*FT*基因启动子的结合率是12 °C下的5倍左右,低温下H2A.Z核小体与*FT*基因启动子上PIF4的结合位点紧密结合,随温度升高结合效率下降,所以H2A.Z核小体与*FT*基因启动子结合率的变化可能是高温下PIF4促进*FT*基因表达的关键步骤,而不是通过其表达水平的变化来实现的(Kumar等2012)。

### 2.3 PIFs参与激素信号转导途径

**2.3.1 PIFs参与GA途径** GA是一种能够调节植物生长发育各个环节的植物激素,它能调节包括种子萌发、下胚轴和茎的伸长、叶片的扩展、花粉的形成以及花的发育等诸多生理反应。而PIFs在光信号和GA信号介导许多相同或部分重合的植物生长发育过程中扮演了重要角色。将黑暗中生长的幼苗暴露在光下后,活化的光敏色素可以快速触发对GA生物合成基因(如*GA3ox1*、*GA20ox1*、*GA20ox2*和*GA20ox3*)的抑制并诱导GA代谢基因表达(如*GA2ox1*和*GA2ox2*),从而降低植物体内GA的含量,促进植物的光形态建成。而这些反应包含PIF依赖途径(*GA3ox1*)和非PIF依赖途径(*GA20ox*和*GA2ox*) (Leivar等2009)。这种GA水平的减少导致被GA受体GID1 (GA insensitive dwarf 1)降解的DELLA蛋白丰度增高,而在绿色植物中,DELLA蛋白作为负调控因子调节PIFs蛋白对下游基因的转录活动,DELLA蛋白GAI (GA-INSENSITIVE)和RGA (REPRESSOR OF GAL-3)能够与PIF3及PIF4互作,从而抑制它们结合DNA的能力,间接增强了光敏色素对PIFs降解产生的光反应活动(de Lucas等2008; Feng等2008)。GATA型转录因子GNC (GATA, nitrate-inducible, carbon-metabolism

involved)与GNL (GNC-like/cytokinin-responsive GATA factor 1)是GA信号途径中位于DELLA蛋白和PIFs下游重要的负调控因子。最近研究发现,PIFs能够调控GNC与GNL的转录水平,抑制其活性,从而促进叶片伸展,调控开花时间(Richter等2010)。缺失DELLA蛋白的突变体的开花时间早于野生型,这种开花时间的变化可能通过两种途径:一是突变体中积累的PIFs对下游GATA型转录因子活性的抑制,二是突变体中积累的PIF4直接促进*FT*基因的表达。

在种子萌发过程中,PIF1既可以直接与GA代谢基因作用,降低GA水平,还能够通过SOMNUS (SOM)间接调控GA含量,抑制种子萌发(Lau和Deng 2010)。而在黑暗中生长的幼苗体内GA含量的升高导致定位在核内的DELLA蛋白水平下降,使PIF3和PIF4能够与其靶基因结合,促进幼苗的暗形态建成;在光下,幼苗体内的GA含量维持在较低水平,DELLA蛋白积累并与PIF3和PIF4互作用抑制其活性,同时有活性的光敏色素与PIFs相互作用诱导其泛素化降解,促进光形态建成。

**2.3.2 PIFs参与生长素途径** 生长素能够影响种子萌发、植物细胞的伸长和分裂、植株向地性和向光性反应、主侧根和下胚轴的生长、维管组织的发育及根毛和花器官的形成等,它在植物的早期发育和形态建成过程中均具有重要作用(王家利等2012)。Shi等(2013)对PIF1下游基因进行GO (gene ontology)分析发现,PIF1通过调节细胞壁延伸、细胞分裂和植物激素途径相关的基因表达,抑制植物种子萌发,而这些基因包括生长素运输载体蛋白基因*PIN1*、*PIN2*、*PIN3*、*PIN7*,生长素转运蛋白基因(*AUX1*)以及其他生长素响应基因。昼夜节律中,包括生物钟和光调控等机制通过控制PIF4的丰度来调节植物的生长,在植物中,生物钟对生长素转录活性的调控发生在相同时间范围内,即一天内生长素丰度的内源节律表现出PIF4依赖的模式(Nozue等2007)。

生长素促进胚轴伸长主要依赖生长素受体TIR1/AFB家族介导的信号转导和其抑制因子IAA/AUX家族的降解(Chapman等2012)。研究表明,PIF5是生长素信号途径的调节器,PIF4和PIF5能够共同调节植物对生长素的敏感性,控制胚轴的生

长(Nozue等2011)。PIF4和PIF5调控植物的伸长生长是通过调控编码生长素生物合成基因和信号途径基因的表达来实现的。PIF4可以直接调控生长素合成基因*TAA* (*tryptophan amino transferase of Arabidopsis*)及生长素响应基因*IAA29*, 协调植物在高温下的胚轴伸长反应(Franklin等2011; Koini等2009)。PIF4与PIF5还能直接调节编码生长素生物合成和信号途径相关限速酶*YUCCA* (*YUC*)基因家族的表达, 影响生长素介导的植物生长(Hornitschek等2012; Sun等2012)(图2)。

生长素也参与SAS反应, 且受PIFs调节(Leivar等2012b)。将植物从光下转移到遮荫条件下, 野生型拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中PIF4和PIF5蛋白的丰度迅速升高, 胚轴及叶柄明显伸长; 而*pif4*、*pif5*及双突变体的SAS反应明显减弱。但后续研究表明, 生长素合成基因*TAA1*的表达不受SAS诱导, 所以, PIF4与PIF5不是通过调节*TAA1*基因表达水平引起植物对SAS的响应; 而Hornitschek等(2012)发现YUC家族作用在TAA1下游且其启动子上具有PIF5结合位点, 所以PIF5可能通过与YUC家族共同作用调控SAS反应中生长素相关基因的表达。通过对野生型和*pifq*突变体对SAS反应的转录组学分析发现, 一些含有G-box的生长素响应基因(*IAA2*、*IAA4*、*IAA19*、*IAA29*、*YUC8*)直接通过PIF依赖的途径快速响应SAS反应, 是PIF-PHY信号途径中的靶基因; 而一些不含有G-box的对SAS反应进行早期应答的基因(*SAUR*)被证明对生长素敏感并受PIFs调控, 可能间接参与PIF-PHY信号途径介导的SAS反应(Leivar等2012b)。

**2.3.3 PIFs参与乙烯途径** 乙烯能够促进果实成熟与叶片衰老、诱导不定根的形成, 它还可以抑制茎的伸长生长, 促进根或茎的增粗和形成顶端弯钩的三重反应, 是一种重要的植物内源激素。通过对PIF5过表达株系幼苗表型的观察发现, PIF5能够促进顶端优势和乙烯升高所表现的三重反应, 进一步分析发现, *PIF5ox*幼苗中乙烯合成所需的关键酶ACC合成酶(*ACS4/ACS8*)的丰度升高, 从而使体内乙烯含量增高(Khanna等2007)。之前的研究表明, 乙烯能够在黑暗中抑制胚轴伸长, 在光下促进胚轴伸长(Jan等1997)。Zhong等(2012)发现PIFs家族的4个成员(PIF1、PIF3、PIF4、PIF5)中, 只有

*pif3*突变体在光下对乙烯不敏感, 表型与乙烯信号转导途径中双基因功能缺失突变体*ein3eil1*相似。随后又通过*ein3eil1pif3*三突变体证明乙烯通过促进EIN3 (ethylene-insensitive 3)及EIL1 (EIN3-like 1)与PIF3基因启动子上特异基序EBS (5'-CTCTGC-3')的结合, 激活PIF3基因的表达, 促进光下植物的胚轴伸长反应。

**2.3.4 PIFs参与BR途径** BR是一种能够促进植物生长的植物内源激素, BR缺失或不敏感的突变体表现出种子萌发率降低、植株矮小、开花延迟以及暗环境下表现光形态建成等相关表型, 这与PIFs功能缺失突变体表型相似(商建秀等2013)。由此, 人们推测PIFs可能也参与BR信号途径。Oh等(2012)通过Pull-down实验与烟草中的瞬时双分子荧光互补(bimolecular fluorescence complementation, BiFC)实验证明BR激活的转录因子BZR1在体外或体内均能够与光形态建成负调控因子PIF4特异互作。在植物体内PIF4和BZR1形成异源二聚体共同调控多个基因表达, 促进植物生长。基于转录组学的聚类分析发现, 其中59%受BZR1调控的基因也受到PIF4的调控, 并且大部分基因表达模式一致, 其中受BZR1激活的*SAUR15*、*IAA19*、*PREs*和*ACS5*及受BZR1抑制的*GER1*和*FAD5*基因的表达水平在*pifq*背景下引入*bzr1-ID*突变与野生型背景相比影响更小, 说明PIFs蛋白参与调控BZR1靶基因的转录活性, 且与BZR1有相似的功能(Oh等2012)(图2)。

另外, PIF4还可以与BZR2相互作用, 调节下游基因如*PREs*的表达, 控制细胞伸长(Oh等2012)。有研究表明, 超表达*PRE1*基因和其玉米中同源基因*IL11* (*increased lamina inclination 1*)会增强拟南芥和玉米中BR诱导的细胞伸长反应(Bai等2012a)。在PREs家族成员中, *PRE1*、*PRE5*和*PRE6/KIDARI*是受BZR1-PIF4直接调控的靶基因, 其表达水平受BR、GA和高温诱导及光的抑制(Bai等2012b)。最近, Bai等(2012a)报道一种新的bHLH转录因子HBI1 (homolog of BEE2 interacting with IBH1), 通过突变体分析发现, HBI1在细胞伸长反应中起到正调控作用, 其能够与两种细胞壁松弛蛋白(*expansin 8/10*)的启动子结合并激活其表达。而BZR1-PIF4模型通过调节*PRE1*的蛋白丰度

间接调控HBI1与下游靶基因的结合, 促进细胞伸长反应(Bai等2012a)。

### 3 PIFs在植物生长发育进程中的调控作用

植物生长发育过程受内在遗传信息和外界环境两者共同精密的调控。PIFs蛋白家族成员作为不同信号通路之间的整合因子, 从多方面参与调控植物的生长发育过程, 如种子的萌发、幼苗的暗形态及光形态建成、绿色植物的节律调节、开花反应和气孔的发育等。

#### 3.1 PIFs参与调控种子萌发

种子萌发是植物开始新的生命循环的第一步, 其中光、生长素、GA和ABA信号参与调控种子萌发进程, 而作为信号整合因子的PIFs在此进程中起到了关键的作用。在种子成熟后, 胚停止生长, 并进入休眠状态, 直到出现适宜种子萌发的环境。PIF1因子是基于同源比对获得的PIFs家族成员, 其突变体的种子萌发受到抑制, 幼苗的下胚轴负向重力减弱并表现出受光自由基损伤的症状(赵晓玲2009)。PIF1抑制黑暗中种子的萌发, 一方面通过抑制GA合成关键基因*GA3ox1*和*GA3ox2*的表达, 诱导GA代谢基因*GA2ox*的表达以及增强GA途径中的负调控因子DELLA蛋白的稳定性, 下调种子内GA信号的水平; 另一方面通过促进ABA合成基因*ABA1*、*NCED6*和*NCED9*, 并抑制ABA代谢基因*CYP707A2*, 上调种子内ABA信号水平(Oh等2007)。SOM也被证实参与调控植物体内GA和ABA代谢基因的表达水平而抑制种子的萌发。Kim等(2008)发现PIF1还能够通过调控SOM基因的表达水平间接调控GA和ABA的代谢水平(图3)。

最近的研究表明PHYA与PHYB介导的种子萌发途径不同, 在种子吸胀早期阶段, FR抑制PHYB的活性, 导致ABA从胚乳中合成并释放到胚中, 阻止PHYA依赖的种子萌发。胚乳中的ABA通过调节与PIF1有部分共同靶基因的转录因子ABI5及ABI3的活性阻止PHYA信号。ABI5能够增强PIF1、SOM、GAI、RGA基因的表达, ABI3还能与PIF1相互作用调节SOM基因的表达水平(Lee等2012)。随着FR脉冲时间延长, ABA对PHYA途径的抑制作用逐渐减弱, FR诱导的PHYA途径开启, 胚中GA含量升高, 种子萌发。虽然ABA抑制作用减弱的机制还不清楚, 但这种种子萌发途径不同

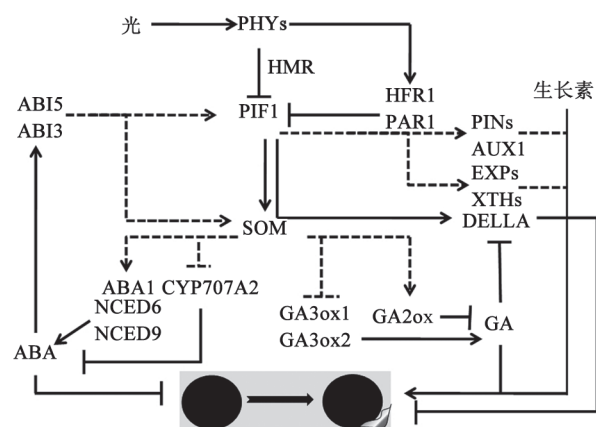


图3 PIF1介导多种信号途径抑制种子萌发

Fig.3 PIF1 integrates multiple internal and external signals to repress germination

参照Lau和Deng (2010)文献修改。黑暗中, PIF1因子一方面通过其下游的靶基因SOM因子调节种子中ABA及GA的水平; 另一方面还能够通过影响生长素信号转导途径, 抑制种子萌发。在光下, 其活性受光及光形态建成正调控因子HFR1等的抑制。虚线表示两个组分尚未证明能够发生直接相互作用。

于PHYB依赖的萌发反应, 因为它发生在胚乳中PHYB失活的情况下(Lee等2012)。而在红光下, 胚乳中的PHYB能够控制胚乳及种皮中ABA的合成和释放, 促进种皮和胚乳破裂及胚中PHYA介导的种子萌发。最近的研究发现, HFR1是PHYB介导种子萌发过程中的正调控因子, 能够与PIF1相互作用, 参与调控包括细胞壁延伸, 细胞分裂及相关激素途径的基因, 促进种子萌发(Shi等2013)。

#### 3.2 PIF3、PIF4和PIF5参与调控植物的早期发育进程

萌发后的幼苗在暗中生长表现出各种黄化特征, 如茎细而长, 顶端呈钩状弯曲, 子叶小且呈黄白色, 即暗形态建成阶段。*pifq*突变体在黑暗中表现出短的下胚轴及打开的子叶等光形态建成表型, 证明PIFs能够促进幼苗暗形态建成。Willige等(2012)发现, PIF5能够直接激活位于GA途径下游的生长素转运蛋白激酶WAG2, 调节生长素的极性运输, 抑制黑暗中幼苗的顶钩打开。黑暗条件下, 幼苗体内的GA含量升高, 导致核内DELLA蛋白丰度下降, 解除DELLA蛋白对PIF3/PIF4的抑制作用, 促进幼苗下胚轴的伸长。与此同时, 光敏色素也处于失活状态, COP1-SPA复合物通过抑制HFR1、

PAR1等能够与PIFs家族互作的因子的活性,进一步增强黑暗中PIFs家族的蛋白水平,促进幼苗的暗形态建成(图2)。

当幼苗处于光照条件下,体内的PIFs与Pfr形式的光敏色素相互作用,导致PIFs泛素化降解,促进植物的光形态建成。*pifq*突变体的基因组表达分析结果表明,其中大部分存在表达差异的基因与光形态建成中植物形态的变化具有很强的相关性,包括光合作用及叶绿体发育的相关基因,多种生长素、GA、细胞分裂素和乙烯等促进植物生长发育的植物激素途径相关基因,及从异养到自养转换相关的代谢基因等,从而进一步证明了PIFs在植物光形态建成中的关键作用(Leivar和Quail 2011)。

### 3.3 PIF3、PIF4和PIF5参与调控植物的晚期发育进程

研究表明,PIFs蛋白并不仅仅参与植物的早期发育,在植物晚期发育过程中也同样起到重要作用,如调节生物钟、激素反应、高温耐受等(Soy等2012)。光周期是影响植物营养生长和成花转换的主要环境决定因素,植物可以通过内部的调控网络识别和测量日照长短,从而对光周期做出反应以调控植物的开花时间和营养器官的发育。拟南芥中,生物钟通过PIF4依赖途径调控植物在昼夜周期及光周期下的生长,包括在短日照(short days, SDs)下的胚轴与叶柄的伸长反应和长日照(long days, LDs)下的开花反应。其中关键的生物钟基因*TOC1 (timing of cab expression 1)*、*PRR5*和*PRR7*被证明能够抑制PIF4/PIF5的转录水平,节律基因*LUX (luxarrhythmo)*可以与PIF4/PIF5基因的启动子结合并召集ELF3/ELF4 (early flowering 3/4)形成转录抑制复合物调节PIF4/PIF5的转录水平。另一种重要的生物钟基因*CCA1 (circadian clock associated 1)*也参与PIF4/PIF5在昼夜活动中转录水平的调控,有证据表明CCA1可以抑制ELF3的转录水平影响转录抑制复合物活性。Soy等(2012)发现PIF3基因的转录水平不受昼夜周期的影响,与PIF4/PIF5的表达模式不同。进一步研究证明,PIF3通过昼夜周期中PHYB依赖的蛋白水平的变化,调节植物的生长发育。而最近研究发现,在LDs下,高温也能通过PIF4依赖的途径促进植物茎及叶柄的伸长。Nomoto等(2012)通过进一步研究发现,*phyB*

突变体在LDs下仍然对高温敏感,其PIF4在黎明的转录水平与野生型变化不大,而在生物钟相关基因缺失突变体*prr9/7/5*及*elf3*中,PIF4在黎明的转录水平不受温度影响,说明高温促进PIF4的表达是受到生物钟调控而不是PHYB。由此推测,在植物体内,PIF4可能通过整合光和温度两种关键的环境信号转导途径,参与生物钟对内源激素信号网络的调控,使植物能够迅速地适应周围的环境并精确调控其发育进程(Nomoto等2012)。

在植物生长发育过程中,植物内源激素的相互作用有利于植物适应多变的外界环境。植物面对高温表现出茎的伸长反应是由体内生长素含量的升高所介导,由生长素生物合成及其信号转导途径共同调控。这种高温诱导的生长素积累的机制还不清楚,而已知高温诱导下胚轴伸长的反应需要PIF4参与。将*pif4*突变体从22 °C转移到28 °C高温条件下不能增加胚轴长度;而野生型植株却表现出明显的胚轴伸长。进一步分析发现,在高温下PIF4调控生长素合成途径中关键基因的表达,其中SAUR (small auxin-up RNA)家族通过PIF4依赖的途径在高温下诱导表达,从而促进胚轴伸长(Brock等2010; Franklin等2011)。BR在光和温度调控植物生长过程中扮演重要的角色,BR突变体(*det2*)在黑暗中表现出光形态建成表型并对阴影及高温环境不敏感。随着BZR1-PIF4相互作用模型的发现,Oh等(2012)也揭示了BR在高温下促进植物生长是由于高温诱导PIF4的积累从而促进BR下游途径中PIF4-BZR1模型靶基因的表达。Bai等(2012b)分析BZR1、PIF4和GA调控的下游基因发现,BZR1和PIF4倾向于形成异源二聚体来调控响应GA的基因;而DELLA蛋白能够分别与PIF3/4和BZR1相互作用抑制它们的转录活性。在光照下只有BZR1与PIF4同时存在的植株才表现出对GA的敏感性,说明GA促进细胞伸长需要BZR1和PIF4同时存在(Bai等2012b)。

## 4 结语

PIFs作为介导不同信号通路的关键组分,调控植物不同阶段的生长发育进程。然而,不同的PIFs在不同信号通路中的作用模式还有待进一步研究。通过对PIFs突变体进行转录组学分析,可直观地发现PIFs能影响哪些信号通路及靶基因的表



达。而PIFs是如何调控启动子区不含其DNA结合元件的基因, 将成为PIFs在不同信号通路中功能研究的热点与难点。对PIFs在植物生长发育过程中作用方式的进一步认识, 有助于完善植物生长发育过程中的调控网络, 也有助于发掘PIFs家族的新功能和新调控网络, 并将为指导利用PIFs调节其他作物(如水稻、小麦、玉米等)的生长发育奠定理论基础。

### 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
- 商建秀, 张胜伟, 孙颖(2013). 油菜素内酯、赤霉素与光共同调控拟南芥的细胞伸长和光形态建成. *生物化学与生物物理进展*, 40 (3): 228~230
- 王家利, 刘冬成, 郭小丽, 张爱民(2012). 生长素合成途径的研究进展. *植物学报*, 47 (3): 292~301
- 赵晓玲(2009). 植物中与光敏色素相互作用的因子PIFs. *植物生理学通讯*, 45 (6): 531~536
- 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 (3): 439~446
- Bai MY, Fan M, Oh E, Wang ZY (2012a). A triple helix-loop-helix/basic helix-loop-helix cascade controls cell elongation downstream of multiple hormonal and environmental signaling pathways in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24 (12): 4917~4929
- Bai MY, Shang JX, Oh E, Fan M, Bai Y, Zentella R, Sun TP, Wang ZY (2012b). Brassinosteroid, gibberellin and phytochrome impinge on a common transcription module in *Arabidopsis*. *Nat Cell Biol*, 14 (8): 810~817
- 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 (6): 1433~1445
- Brock MT, Maloof JN, Weinig C (2010). Genes underlying quantitative variation in ecologically important traits: PIF4 (phytochrome-interacting factor 4) is associated with variation in internode length, flowering time, and fruit set in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Ecol*, 19 (6): 1187~1199
- Bu Q, Castillon A, Chen F, Zhu L, Huq E (2011). Dimerization and blue light regulation of PIF1 interacting bHLH proteins in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 77 (4~5): 501~511
- Casson SA, Franklin KA, Gray JE, Grierson CS, Whitelam GC, Hetherington AM (2009). Phytochrome B and PIF4 regulate stomatal development in response to light quantity. *Curr Biol*, 19 (3): 229~234
- Castillon A, Shen H, Huq E (2007). Phytochrome-interacting factors: central players in phytochrome-mediated light signaling networks. *Trends Plant Sci*, 12 (11): 514~521
- Chapman EJ, Greenham K, Castillejo C, Sartor R, Bialy A, Sun TP, Estelle M (2012). Hypocotyl transcriptome reveals auxin regulation of growth-promoting genes through GA-dependent and -independent pathways. *PLoS One*, 7 (5): e36210
- Chen M, Chory J (2011). Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development. *Trends Cell Biol*, 21 (11): 664~671
- Chen M, Galvao RM, Li M, Burger B, Bugea J, Bolado J, Chory J (2010). *Arabidopsis* HEMERA/pTAC12 initiates photomorphogenesis by phytochromes. *Cell*, 141 (7): 1230~1240
- de Lucas M, Daviere JM, Rodriguez-Falcon M, Pontin M, Iglesias-Pedraz JM, Lorrain S, Fankhauser C, Blazquez MA, Titarenko E, Prat S (2008). A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation. *Nature*, 451 (7177): 480~484
- Duek PD, Elmer MV, van Oosten VR, Fankhauser C (2004). The degradation of HFR1, a putative bHLH class transcription factor involved in light signaling, is regulated by phosphorylation and requires COP1. *Curr Biol*, 14 (24): 2296~2301
- Feng S, Martinez C, Gusmaroli G, Wang Y, Zhou J, Wang F, Chen L, Yu L, Iglesias-Pedraz JM, Kircher S et al (2008). Coordinated regulation of *Arabidopsis thaliana* development by light and gibberellins. *Nature*, 451 (7177): 475~479
- Foreman J, Johansson H, Hornitschek P, Josse EM, Fankhauser C, Halliday KJ (2011). Light receptor action is critical for maintaining plant biomass at warm ambient temperatures. *Plant J*, 65 (3): 441~452
- Franklin KA, Lee SH, Patel D, Kumar SV, Spartz AK, Gu C, Ye S, Yu P, Breen G, Cohen JD et al (2011). Phytochrome-interacting factor 4 (PIF4) regulates auxin biosynthesis at high temperature. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 (50): 20231~20235
- Hao Y, Oh E, Choi G, Liang Z, Wang ZY (2012). Interactions between HLH and bHLH factors modulate light-regulated plant development. *Mol Plant*, 5 (3): 688~697
- Hornitschek P, Kohnen MV, Lorrain S, Rougemont J, Ljung K, Lopez-Vidriero I, Franco-Zorrilla JM, Solano R, Trevisan M, Praderwand S et al (2012). Phytochrome-interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. *Plant J*, 71 (5): 699~711
- Hornitschek P, Lorrain S, Zoete V, Michielin O, Fankhauser C (2009). Inhibition of the shade avoidance response by formation of non-DNA binding bHLH heterodimers. *EMBO J*, 28 (24): 3893~3902
- Jan S, Mira H, Jasmina K, Straeten D (1997). Ethylene can stimulate *Arabidopsis* hypocotyl elongation in the light. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94 (6): 2756~2761
- Keller MM, Jaillais Y, Pedmale UV, Moreno JE, Chory J, Ballare CL (2011). Cryptochrome 1 and phytochrome B control shade-avoidance responses in *Arabidopsis* via partially independent hormonal cascades. *Plant J*, 67 (2): 195~207
- 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 (11): 3033~3044
- Khanna R, Shen Y, Marion CM, Tsuchisaka A, Theologis A, Schafer E, Quail PH (2007). The basic helix-loop-helix transcription factor PIF5 acts on ethylene biosynthesis and phytochrome signaling by distinct mechanisms. *Plant Cell*, 19 (12): 3915~3929

- Kim DH, Yamaguchi S, Lim S, Oh E, Park J, Hanada A, Kamiya Y, Choi G (2008). SOMNUS, a CCCH-type zinc finger protein in *Arabidopsis*, negatively regulates light-dependent seed germination downstream of PIL5. *Plant Cell*, 20 (5): 1260~1277
- Koini MA, Alvey L, Allen T, Tilley CA, Harberd NP, Whitelam GC, Franklin KA (2009). High temperature-mediated adaptations in plant architecture require the bHLH transcription factor PIF4. *Curr Biol*, 19 (5): 408~413
- Kumar SV, Lucyshyn D, Jaeger KE, Alos E, Alvey E, Harberd NP, Wigge PA (2012). Transcription factor PIF4 controls the thermosensory activation of flowering. *Nature*, 484 (7393): 242~245
- Kumar SV, Wigge PA (2010). H2A.Z-containing nucleosomes mediate the thermosensory response in *Arabidopsis*. *Cell*, 140 (1): 136~147
- Lau OS, Deng XW (2010). Plant hormone signaling lightens up: integrators of light and hormones. *Curr Opin Plant Biol*, 13 (5): 571~577
- Lee KP, Piskurewicz U, Tureckova V, Carat S, Chappuis R, Strnad M, Fankhauser C, Lopez-Molina L (2012). Spatially and genetically distinct control of seed germination by phytochromes A and B. *Genes Dev*, 26 (17): 1984~1996
- Leivar P, Monte E, Cohn MM, Quail PH (2012a). Phytochrome signaling in green *Arabidopsis* seedlings: impact assessment of a mutually negative phyB-PIF feedback loop. *Mol Plant*, 5 (3): 734~749
- Leivar P, Monte E, Oka Y, Liu T, Carle C, Castillon A, Huq E, Quail PH (2008). Multiple phytochrome-interacting bHLH transcription factors repress premature seedling photomorphogenesis in darkness. *Curr Biol*, 18 (23): 1815~1823
- Leivar P, Tepperman JM, Monte E, Calderon RH, Liu TL, Quail PH (2009). Definition of early transcriptional circuitry involved in light-induced reversal of PIF-imposed repression of photomorphogenesis in young *Arabidopsis* seedlings. *Plant Cell*, 21 (11): 3535~3553
- Leivar P, Quail PH (2011). PIFs: pivotal components in a cellular signaling hub. *Trends Plant Sci*, 16 (1): 19~28
- Leivar P, Tepperman JM, Cohn MM, Monte E, Al-Sady B, Erickson E, Quail PH (2012b). Dynamic antagonism between phytochromes and PIF family basic helix-loop-helix factors induces selective reciprocal responses to light and shade in a rapidly responsive transcriptional network in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24 (4): 1398~1419
- Lorrain S, Allen T, Duek PD, Whitelam GC, Fankhauser C (2008). Phytochrome-mediated inhibition of shade avoidance involves degradation of growth-promoting bHLH transcription factors. *Plant J*, 53 (2): 312~323
- Nemhauser JL, Hong F, Chory J (2006). Different plant hormones regulate similar processes through largely nonoverlapping transcriptional responses. *Cell*, 126 (3): 467~475
- Nomoto Y, Kubozono S, Miyachi M, Yamashino T, Nakamichi N, Mizuno T (2012). A circadian clock- and PIF4-mediated double coincidence mechanism is implicated in the thermosensitive photoperiodic control of plant architectures in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 53 (11): 1965~1973
- Nozue K, Covington MF, Duek PD, Lorrain S (2007). Rhythmic growth explained by coincidence between internal and external cues. *Nature*, 44 (8): 358~361
- Nozue K, Harmer SL, Maloof JN (2011). Genomic analysis of circadian clock-, light-, and growth-correlated genes reveals phytochrome-interacting factor 5 as a modulator of auxin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 156 (1): 357~372
- Oh E, Yamaguchi S, Hu J, Yusuke J, Jung B, Paik I, Lee HS, Sun TP, Kamiya Y, Choi G (2007). PIL5, a phytochrome-interacting bHLH protein, regulates gibberellin responsiveness by binding directly to the GAI and RGA promoters in *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell*, 19 (4): 1192~1208
- Oh E, Zhu JY, Wang ZY (2012). Interaction between BZR1 and PIF4 integrates brassinosteroid and environmental responses. *Nat Cell Biol*, 14 (8): 802~809
- Park E, Park J, Kim J, Nagatani A, Lagarias JC, Choi G (2012). Phytochrome B inhibits binding of phytochrome-interacting factors to their target promoters. *Plant J*, 72 (4): 537~546
- Proveniers MC, van Zanten M (2013). High temperature acclimation through PIF4 signaling. *Trends Plant Sci*, 18 (2): 59~64
- Richter R, Behringer C, Muller IK, Schwechheimer C (2010). The GATA-type transcription factors GNC and GNL/CGA1 repress gibberellin signaling downstream from DELLA proteins and phytochrome-interacting factors. *Genes Dev*, 24 (18): 2093~2104
- Shen H, Zhu L, Castillon A, Majee M, Downie B, Huq E (2008). Light-induced phosphorylation and degradation of the negative regulator phytochrome-interacting factor 1 from *Arabidopsis* depend upon its direct physical interactions with photoactivated phytochromes. *Plant Cell*, 20 (6): 1586~1602
- Shi H, Zhong S, Mo X, Liu N, Nezames CD, Deng XW (2013). HFR1 sequesters PIF1 to govern the transcriptional network underlying light-initiated seed germination in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25 (10): 3770~3784
- Soy J, Leivar P, Gonzalez-Schain N, Sentandreu M, Prat S, Quail PH, Monte E (2012). Phytochrome-imposed oscillations in PIF3 protein abundance regulate hypocotyl growth under diurnal light/dark conditions in *Arabidopsis*. *Plant J*, 71 (3): 390~401
- Sun J, Qi L, Li Y, Chu J, Li C (2012). PIF4-mediated activation of YUCCA8 expression integrates temperature into the auxin pathway in regulating hypocotyl growth. *PLoS Genet*, 8 (3): e1002594
- Sun J, Qi L, Li Y, Zhai Q, Li C (2013). PIF4 and PIF5 transcription factors link blue light and auxin to regulate the phototropic response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25 (6): 2102~2114
- Willige BC, Ogiso-Tanaka E, Zourelidou M, Schwechheimer C (2012). WAG2 represses apical hook opening downstream from gibberellin and phytochrome-interacting factor 5. *Development*, 139 (21): 4020~4028
- Zhang Y, Mayba O, Pfeiffer A, Shi H, Tepperman J, Quail PH (2013). A quartet of PIF bHLH factors provides a transcriptionally centered signaling hub that regulates seedling morphogenesis through differential expression-patterning of shared target genes in *Arabidopsis*. *PLoS Genet*, 9 (1): e1003244
- Zhong S, Shi H, Xue C, Wang L, Xi Y, Li J, Quail PH, Deng XW, Guo H (2012). A molecular framework of light-controlled phytohormone action in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 22 (16): 1530~1535