

## 细胞分裂素参与植物维管系统发育的信号转导研究进展

韩惠宾, 张国华, 王国栋\*

陕西师范大学生命科学学院, 药用资源与天然药物化学教育部重点实验室, 西安710062

**摘要:** 细胞分裂素是一类重要的植物激素, 广泛参与植物生长发育调控。在过去数十年, 使用生物化学、遗传学和基因组学方法, 以模式植物拟南芥为研究对象, 细胞分裂素调控植物维管系统发育方面取得了显著进步。研究表明, 细胞分裂素通过调控细胞分裂和分化而在维管系统发育中起重要作用。本文在对细胞分裂素信号转导简要评述的基础上, 着重讨论细胞分裂素调控和影响维管形成层细胞增殖和木质部分化的分子机制, 并对细胞分裂素影响树木次生维管组织发育等重要科学问题进行了展望。

**关键词:** 细胞分裂素; 信号转导; 维管形成层; 木质部

## Progress on Cytokinin Signaling in Plant Vascular Development

HAN Hui-Bin, ZHANG Guo-Hua, WANG Guo-Dong\*

College of Life Sciences, Shaanxi Normal University; Key Laboratory of Ministry of Education for Medicinal Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry, Xi'an 710062, China

**Abstract:** Cytokinin is an important plant hormone, which regulates numerous plant growth and developmental processes. Over the past decades, remarkable progress has been made to improve our understanding on the cytokinin signaling in plant vascular development through biochemical, genetic, and genomic approaches in *Arabidopsis thaliana*. It has been shown that cytokinin plays a vital role in the development of plant vasculature by regulating cell division and cell differentiation. We reviewed briefly here cytokinin signal transduction mechanism, with an emphasis on cytokinin signaling pathway in regulating and influencing the division of vascular cambial cells and differentiation of (proto-)xylem. Furthermore, the perspective of the role of cytokinin in regulating the secondary vascular development was discussed.

**Key words:** cytokinin; signal transduction; vascular cambium; (proto-)xylem

维管系统又称维管组织系统, 包括植物体内所有的维管组织。维管组织是由形成层、木质部和韧皮部组成, 可以为植物的生长提供水分和营养物质以及机械支撑(宋东亮等2010; Furuta等2014)。维管系统的发育起始于原分生组织细胞的增殖和分化, 原分生组织首先形成初生分生组织, 初生分生组织由原表皮层, 基本分生组织和原形成层组成。原形成层细胞通过增殖和分化形成由形成层、初生木质部和初生韧皮部组成的初生维管系统, 在此基础上裸子植物和大部分双子叶植物以及少数蕨类和单子叶植物由于维管形成层的活动会进一步形成由次生木质部和次生韧皮部组成的次生维管系统。

细胞分裂素(cytokinins)是一类重要的植物生长调节激素, 广泛调控植物生长发育过程。植物组织中富含多种细胞分裂素, 这给最初研究细胞分裂素在维管发育中的作用带来了很大的困难

(Aloni等2006)。随着生物化学、遗传学和基因组学的不断发展以及转基因植株在植物研究中的应用, 人们对于细胞分裂素在维管发育中的作用机理才开始取得突破性进展(Hwang等2012; Milhinhos和Miguel 2013)。细胞分裂素的信号转导机制是其发挥生理作用的分子基础, 本文在简要介绍细胞分裂素信号转导的基础上, 着重讨论细胞分裂素调控和影响维管形成层发育和原生木质部分化的分子机制。

### 1 细胞分裂素的信号转导机制

植物体内细胞分裂素的信号转导机制是由二元组分系统介导的磷酸化接力过程。二元组分系

收稿 2015-05-22 修定 2015-06-16

资助 国家自然科学基金(31200902和31271575)和中央高校基本科研业务费特别支持项目(GK201103005)。

\* 通讯作者(E-mail: guodong\_wang@snnu.edu.cn; Tel: 029-85310583)。

统是某些原核生物如细菌和一些真核生物感知各种环境刺激并对其作出反应的过程, 通常由感受环境刺激的膜定位的感应激酶和直接调控靶基因转录的反应调节因子组成(Cheung和Hendrickson 2010; Schaller等2011; Kieber等2014)。

### 1.1 细胞分裂素受体

拟南芥中目前发现有3个组氨酸激酶(Arabidopsis histidine kinases, AHKs)为细胞分裂素的受体, 分别为AHK2、AHK3和AHK4 (又名CRE1或WOL1) (Heyl和Schmülling 2003; Kakimoto 2003; Hwang和Sakakibara 2006; Kieber等2014)。它们都具有位于质膜外信号输入区和位于胞质的信号输出区及组氨酸激酶区(Inoue等2001; Ueguchi等2001; Yamada等2001; Suzuki等2001), 并且胞外区均具有结合细胞分裂素的CHASE结构域(cyclases/histidine associated sensory extracellular domain) (Anantharaman和Aravind 2001; Pas等2004; Heyl等2007)。CHASE结构域结合具有生物活性的细胞分裂素后, 其激酶区中组氨酸发生自磷酸化, 并将磷酸基团由激酶区组氨酸残基转移至信号接收区天冬氨酸残基上, 进而传递至胞质中的磷酸转运蛋白(Arabidopsis histidine-phosphotransfer proteins, AHPs)上并将其激活。

### 1.2 磷酸转移蛋白—AHP

拟南芥基因组编码5类磷酸转移蛋白(AHP1~AHP5), 它们含有发挥功能的保守组氨酸磷酸化位点; 另外基因组还编码一个缺乏组氨酸磷酸化位点的假磷酸转移蛋白(APHP1/AHP6) (Suzuki等2000; Schaller等2008)。在细胞分裂素信号转导中, AHPs将定位于内质网膜的细胞分裂素受体上的磷酸信号转移到定位于细胞核的A型或B型反应调节因子(Arabidopsis response regulators, ARR)上。研究表明, AHPs的表达不受自身磷酸化状态和细胞分裂素信号的诱导, 其在细胞溶质和细胞核中的分配率始终保持一种动态平衡(Punwani等2010; Punwani和Kieber 2010)。功能缺失突变体分析表明AHP1、AHP2、AHP3和AHP5为细胞分裂素信号正调节因子且它们之间存在功能冗余性; AHP4对细胞分裂素信号不敏感, 但在有些情况下作为细胞分裂素信号的负调控因子发挥作用(Hutchison等2006)。AHP6由于缺乏组氨酸磷酸化位点, 因此

不具有磷酸转移蛋白功能。酵母杂交及体外实验表明, AHP6是磷酸信号转移的抑制因子, 不仅抑制磷酸基团从AHKs的组氨酸残基转移到天冬氨酸残基, 还能抑制AHP1到ARR1的磷酸传递(Bishopp等2011)。

### 1.3 反应调节因子

目前在拟南芥基因组中共发现了10个A型和11个B型ARR基因。A型ARRs根据氨基酸序列的高度相似性可以分为5对(D'Agostino等2000; Schaller 2008), 反映了部分A型ARRs基因源于进化的复制(Vision等2001; Zhang等2001); 而过表达不同的A型ARRs基因, 即使是演化史上关系非常近的基因例如ARR3和ARR4, 植株也会出现不同的表型(Ren等2009)。A型ARRs只具有信号接收域而不具有用于转录调节的信号输出域, 因此其在细胞分裂素信号转导中起负调控作用。B型ARRs基因可分为3个亚家族: 亚家族I包含7个成员(ARR1、ARR2、ARR10、ARR11、ARR12、ARR14和ARR18); 亚家族II包含2个成员(ARR13和ARR21); 亚家族III也包含2个成员(ARR19和ARR20) (Mason等2004; Schaller等2008)。B型ARRs都具有一个保守的信号接收域和一个大的C端延伸结构域, 在C端延伸结构域中有保守的GARP域, B型ARRs可以通过GARP域直接和靶基因结合并激活其转录(Mason等2005)。

综上所述细胞分裂素的信号转导机制是: 细胞分裂素与受体AHKs结合, 并使其磷酸化, 然后将磷酸基团转移至胞质中的磷酸转移蛋白AHPs家族, 磷酸化的AHPs进入细胞核将磷酸基团转移给反应调节因子ARRs, A型ARRs负调节细胞分裂素信号, B型ARRs激活靶基因转录进而调节细胞分裂素下游反应, 并且B型ARRs可以激活A型ARRs基因的转录, A型ARRs作为细胞分裂素的负调控因子可以抑制B型ARRs的活性, 从而形成一个负反馈调节环调控细胞分裂素信号。

## 2 细胞分裂素调控维管形成层发育

磷酸腺苷异戊烯基转移酶(adenosine phosphate-isopentenyltransferases, IPTs)是细胞分裂素生物合成第一步的催化酶, 也是限速酶。IPTs多基因功能缺失突变体(*ipt1, 3, 5, 7*)中根和茎中的维管形成层完全丧失, 但外源施加细胞分裂素可以使根

和茎中的维管形成层恢复, 而且有剂量效应, 暗示细胞分裂素能促进维管形成层细胞的增殖(Matsumoto-Kitano等2008)。拟南芥基因组中发现9个*IPT*类似基因(*AtIPT1~AtIPT9*)。当*ipt1,3,5,7*四突变体的芽被嫁接到野生型的根上, 芽中形成层的活性及反式玉米素型细胞分裂素的水平恢复; 类似的, 将野生型植株的芽嫁接到*ipt1,3,5,7*四突变体植株的根上, 根中形成层的活性也恢复正常, 这表明芽及根中合成大量细胞分裂素来促进整个植物形成层的发育, 同时也表明细胞分裂素能以一种功能相关的方式输送至芽或根中(Kieber和Schaller 2014)。

核苷化(核苷酸化)的细胞分裂素可以通过两条途径转换成具有生物活性的自由态细胞分裂素, 近来越来越多的实验结果表明核苷化(核苷酸化)的细胞分裂素主要通过LONELY GUY (LOG)酶直接转换成具有生物活性的自由态细胞分裂素(Kieber和Schaller 2014), 而受生长素调控的bHLH (basic Helix-Loop-Helix)转录因子是维管组织发育的重要调控因子(De Rybel等2013)。近期研究发现bHLH转录因子可以调控*LOG*基因的表达而调控细胞分裂素信号影响维管组织发育(De Rybel等2014; Ohashi-Ito等2014)。LONESOME HIGHWAY (LHW)、TARGET OF MONOPTEROS5 (TMO5)及其同源基因TMO5-LIKE1 (T5L1)属于bHLH转录因子家族且可形成异源二聚体。LHW-TMO5通过促进根维管组织*LOG4*的转录来调控细胞分裂素的合成, 进而促进原形成层细胞的增殖(De Rybel等2014); 与之类似, LHW-T5L1通过促进根维管组织中*LOG3*和*LOG4*的转录来调控细胞分裂素的合成, 进而促进原形成层细胞的增殖, 同时促进*AHP6*的表达抑制细胞分裂素的信号而维持木质部前体细胞停留在不分裂阶段, 表明LHW-T5L1信号通路将木质部前体细胞作为信号中心, 通过调控细胞分裂素信号而促进原形成层特异细胞的增殖(Ohashi-Ito等2014)。

组氨酸激酶CKII (CYTOKININ INDEPENDENT1)缺乏与细胞分裂素结合的CHASE域, 当过表达*CKII*时能以不依赖细胞分裂素的方式促进细胞增殖(Kakimoto 1996)。*ahk2 ahk3*双突变体中过表达*CKII*可以部分恢复形成层细胞增殖减弱的情

况, 并且降低*CKII*表达会使*ahk2 ahk3*双突变体中形成层细胞增殖更加缓慢, 表明CKII可能参与细胞分裂素的信号途径并且调控形成层细胞的增殖(Hejátko等2009)。

在杨树形成层中, 表达细胞分裂素分解代谢基因*CKX2*导致细胞分裂素浓度降低和植物径向生长减弱(Nieminen等2008)。在拟南芥中, 细胞分裂素生物合成的异戊烯基转移酶基因的T-DNA插入四重突变体被发现不能形成形成层, 并且茎和根的径向生长减弱(Matsumoto-Kitano等2008)。另外, 拟南芥芽中组氨酸激酶CKII, AHK2和AHK3通过调控形成层细胞增殖和(或)维持形成层细胞特性而调控维管发育(Hejátko等2009)。以上这些研究都表明细胞分裂素是形成层发育的重要调控因子, 其信号转导机制在植物初生生长中发挥重要作用, 它加速形成层细胞的增殖且促进植物的次生长(Matsumoto-Kitano等2008; Nieminen等2008)。

### 3 细胞分裂素抑制木质部的形成

近期研究发现CRE1/WOL/AHK4是具有两种不同功能的磷酸激酶, 功能依赖于与其结合的细胞分裂素浓度水平(Mähönen等2006)。细胞分裂素浓度高时, CRE1/WOL/AHK4主要行使磷酸化功能; 细胞分裂素浓度低时, CRE1/WOL/AHK4主要行使去磷酸化功能。在根的发育过程中CRE1/WOL/AHK4是这个家族中最活跃的成员, 在*wol*突变体中, 细胞分裂素和受体的结合受到了极大的阻碍, 不仅导致根原形成层细胞特异性分化为原生木质部, 还导致根中缺少韧皮部和后生木质部(Mähönen等2000; Dettmer等2009)。*cre1 ahk2 ahk3*三突变体、*arr1 arr10 arr12*三突变体、*ahp1,2,3,4,5*五突变体都可表现出类似于*wol*突变体的表型, 这些突变体中维管系统仅由唯一的原生木质部构成(Higuchi等2004; Nishimura等2004; Hutchison等2006; Yokoyama等2007; Argyros等2008), 表明细胞分裂素除了抑制原生木质部的形成之外, 对其它维管组织形成也是必需的。

细胞分裂素氧化酶(cytokinin oxidase/dehydrogenase, CKX)首先是在玉米中发现的, 能特异的降解细胞分裂素类异戊二烯侧链的不饱和键, 拟南芥中有7种细胞分裂素氧化酶(CKX1~CKX7), 具有不同的亚细胞定位和底物专一性。CKX7是唯一

在胞质定位的细胞分裂素氧化酶, *CKX7*过表达植株中, 由于*CKX7*的表达量升高导致细胞分裂素浓度下降使*CRE1/WOL/AHK4*主要行使去磷酸化功能而负调控细胞分裂素信号通路, 最终植株表现出类似*wol*突变体的表型(Köllmer等2014)。

研究表明*wol*突变体的表型能被*AHP6*功能缺失突变体抑制。细胞分裂素负调控原生木质部的形成, 而*AHP6*负调控细胞分裂素的信号, 表明*AHP6*对原生木质部的形成起正调控作用(图1); 另一方面, 细胞分裂素的信号负调控*AHP6*表达的区域, 因此提出了一种假说: 认为在早期胚胎发育中细胞系增殖和分化的平衡调控维管系统发育(Mähönen等2006)。根中的生长素诱导*AHP6*的表达, 此为生长素下调细胞分裂素敏感性的一种机制(Bishopp等2011), 与胚根中生长素诱导A型*ARRs*的机理相似。在基底细胞系中, 生长素通过直接激活A型*ARRs*基因*ARR7*和*ARR15*来拮抗细胞分裂素信号的输出, 从而抑制细胞分裂素信号(Müller和Sheen 2008)。

细胞分裂素和生长素在调控木质部发育中具有相互作用(图1), *AHP6*介导细胞分裂素和生长素形成反馈调节环(Bishopp等2011)。拟南芥根维管系统中, 分化为原生木质部的细胞具有高的生长素和低的细胞分裂素信号, 而原形成层细胞中则具有高的细胞分裂素和低的生长素信号。一个相互抑制的机制被提出: 原形成层细胞中高的细胞分裂素信号促进*PINs*表达和*PIN*蛋白的横向定位, 这种依赖于细胞分裂素的*PIN*活动迫使来自原形成层细胞中的生长素横向流向分生组织细胞, 这些分生组织细胞将分化为原生木质部, 而增加的生长素信号又能促进*AHP6*的转录, 反过来抑制细胞分裂素的信号(图1) (Bishopp等2011)。原生木质部的正常形成依赖细胞分裂素负反馈调节环, 在此反馈调节中*AHP6*发挥关键作用, *AHP6*使*ARR15*局限在根的维管组织中表达, 形成一种空间特异的方式下调细胞分裂素的信号促使原生木质部的形成(Mähönen等2006)。细胞分裂素也调控发育中的维管组织中*PIN*蛋白的水平, 表明生长素和细胞分裂素的相互调节在维管系统发育中发挥重要作用(Bishopp等2011)。在拟南芥根的分生组织中, 一方面, B型*ARRs* (*ARR1*和*ARR12*)抑制*SHY2/IAA3*表

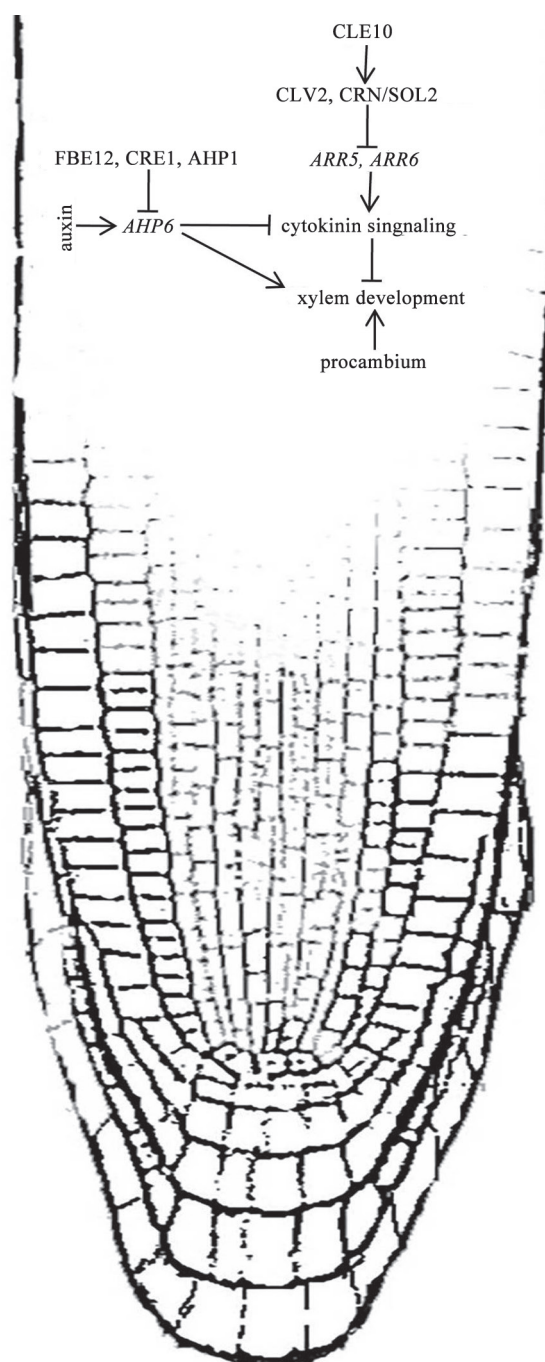


图1 细胞分裂素参与调控维管发育模式图  
Fig.1 A schematic illustration of cytokinin regulating vascular development  
参考Delay等(2013)一文。

达, 另一方面*SHY2/IAA3*抑制*PIN*表达而且反馈抑制细胞分裂素生物合成基因表达, 生长素也抑制*SHY2/IAA3*的表达(Dello Ioio等2008; Ruzicka等2009; Jones等2010)。

*FUMONISIN B1-RESISTANT* (eIF5A)作为一个高度保守的管家基因家族在植物的生长发育中起着关键作用,拟南芥基因组中包含3个*eIF5A*基因, *eIF5A-1*、*eIF5A-2*和*eIF5A-3*; *eIF5A-2*也被称作*FUMONISIN B1-RESISTANT12* (*FBR12*), 研究发现*FBR12*在细胞分裂素介导的根原生木质部发育中具有调控作用, 因为*fbr12*突变体原生木质部发育有缺陷, 表现出类似于*wol*突变体的表型。进一步研究表明*FBR12*和*CRE1*及*AHP1*形成蛋白复合体, *FBR12*通过稳定*FBR12-AHP1*复合物来加强磷酸化作用且负调控*AHP6*、*ARR15*和*ARR16*的表达以此正调控细胞分裂素信号进而抑制木质部的形成(图1), 而细胞分裂素则促进*FBR12*从*CRE1-AHP1-FBR12*复合体中释放(Ren等2013)。

移动的GRAS家族转录因子SHORT-ROOT (SHR)在调控维管组织发育中具有重要作用(Yu等2010; Gardiner等2011)。细胞分裂素水平在*shr*突变体中升高且SHR直接调节在原生木质部中表达的CKX7活性, SHR使细胞处于低细胞分裂素状态进而促进木质部形成。另外, 当SHR被破坏或者外源使用细胞分裂素时, 细胞中低的细胞分裂素状态被打破, 结果高水平的细胞分裂素抑制木质部的形成, 因此SHR通过调节细胞分裂素的体内平衡来调控维管系统发育(Cui等2011)。

CLE (CLAVATA3/endosperm surrounding region-related)多肽家族中的CLE10多肽通过和受体CLV2或CRN/SOL2结合抑制*ARR5*和*ARR6*的表达从而激活细胞分裂素信号抑制根原生木质部的形成(图1), *arr5*和*arr6*单突变体中初生根和侧根中原生木质部形成不受影响, 但在*arr5 arr6*双突变体的侧根中原生木质部的形成表现出缺陷。根维管发育过程中, *ARR10*和*ARR12*是关键转录因子, 在*arr10 arr12*突变体中, 细胞分裂素不能抑制原生木质部的分化, 而且CLE10多肽处理*arr10 arr12*突变体后也不能抑制原生木质部的形成, 表明*ARR10*和*ARR12*在CLE多肽介导的木质部分化中是必需的(Hirakawa等2011; Kondo等2011; Kondo等2014)。

CLE10多肽与受体CLV2、CRN/SOL2结合, 抑制*ARR5*和*ARR6*的表达而激活细胞分裂素信号, 抑制根初生木质部的发育; 生长素促进*AHP6*的表达, *AHP6*抑制细胞分裂素信号而促进初生木质部

的发育; *FBR12*和*CRE1*及*AHP1*形成蛋白复合体, 负调控*AHP6*的表达并正调控细胞分裂素信号, 进而抑制木质部的形成。根的示意图来自Delay等。

#### 4 结语——问题与展望

综上所述, 近年来人们对细胞分裂素的信号转导机制已有了深入的了解, 对细胞分裂素参与调控维管系统发育的分子机制有了长足的进展。但目前仍有一些重要的问题亟待解决。例如, 细胞分裂素的信号转导是其发挥作用的分子基础, 细胞分裂素通过激活靶基因的转录调控维管系统的发育, 如何鉴定这些靶基因及其下游元件? 目前已经初步了解在维管系统发育中细胞分裂素和生长素及CLE多肽存在相互作用, 但具体互作机制仍有待于进一步研究; 是否还存在着其它未知关键基因也参与了细胞分裂素信号途径并且调控维管组织发育? 它们的作用机制又是什么? 以上这些问题的解答, 不但可以丰富人们对细胞分裂素调节维管系统发育的认识, 也将有助于对细胞分裂素的分子作用机制有更深入的了解。目前有关维管系统发育的研究大多以模式植物拟南芥为实验材料, 对木本植物维管系统发育的分子机制还知之甚少, 主要是因为林木世代周期长, 形体大, 维管系统的发育远比拟南芥复杂。相信随着遗传学研究的不断深入, 丰富的突变体资源, 以及功能基因组学和生物信息学的广泛应用, 这些问题将会逐一得到解答, 并为调控次生维管系统的发育奠定基础, 最终实现改良林木材性的目标。

#### 参考文献

- 宋东亮, 沈君辉, 李来庚(2010). 植物维管系统形成的调节机制. 植物生理学通讯, 46 (5): 411~422
- Aloni R, Aloni E, Langhans M, Ullrich CI (2006). Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. Ann Bot, 97: 883~893
- Anantharaman V, Aravind L (2001). The CHASE domain: a predicted ligand-binding module in plant cytokinin receptors and other eukaryotic and bacterial receptors. Trends Biochem Sci, 26: 579~582
- Argyros RD, Mathews DE, Chiang YH, Palmer CM, Thibault DM, Etheridge N, Argyros DA, Mason MG, Kieber JJ, Schaller GE (2008). Type B response regulators of *Arabidopsis* play key roles in cytokinin signaling and plant development. Plant Cell, 20: 2102~2116
- Bishopp A, Help H, El-Showk S, Weijers D, Scheres B, Friml J, Ben-

- ková E, Mähönen A, Helariutta Y (2011). A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots. *Curr Biol*, 21: 917~926
- Cheung J, Hendrickson WA (2010). Sensor domains of two component regulator systems. *Curr Opin Microbiol*, 13 (2): 116~123
- Cui H, Hao Y, Kovtun M, Stolz V, Deng XW, Sakakibara H, Kojima M (2011). Genome-wide direct target analysis reveals a role for SHORT-ROOT in root vascular patterning through cytokinin homeostasis. *Plant Physiol*, 157: 1221~1231
- D'Agostino IB, Deruère J, Kieber JJ (2000). Characterization of the response of the *Arabidopsis* response regulator gene family to cytokinin. *Plant Physiol*, 124 (4): 1706~1717
- De Rybel B, Möller B, Yoshida S, Grabowicz I, Barbier de Reuille P, Boeren S, Smith RS, Borst JW, Weijers D (2013). A bHLH complex controls embryonic vascular tissues establishment and indeterminate growth in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 24 (4): 426~437
- De Rybel B, Adibi M, Breda AS, Wendrich JR, Smit ME, Novák O, Yamaguchi N, Yoshida S, Van Isterdael G, Palovaara J et al (2014). Integration of growth and patterning during vascular tissue formation *Arabidopsis*. *Science*, 345 (1255215): 1~8
- Delay C, Imin N, Djordjevic MA (2013). Regulation of *Arabidopsis* root development by small signaling peptides. *Front Plant Sci*, 4: 352
- Dello Ioio R, Nakamura K, Moubayidin L, Perilli S, Taniguchi M, Morita MT, Aoyama T, Costantino P, Sabatini S (2008). A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristems. *Science*, 322 (5906): 1380~1384
- Furuta KM, Hellmann E, Helariutta Y (2014). Molecular control of cell specification and cell differentiation during procambial development. *Plant Biol*, 65:607~638
- Gardiner J, Donner TJ, Scarpella E (2011). Simultaneous activation of *SHR* and *ATHB8* expression defines switch to preprocambial cell state in *Arabidopsis* leaf development. *Dev Dyn*, 240 (1): 261~270
- Hejátko J, Ryu H, Kim GT, Dobesová R, Choi S, Choi SM, Soucek P, Horák J, Pekárová B, Palme K, et al (2009). The histidine kinases CYTOKININ-INDEPENDENT1 and ARABIDOPSIS HISTIDINE KINASE2 and 3 regulate vascular tissue development in *Arabidopsis* shoots. *Plant Cell*, 21: 2008~2021
- Helariutta Y, Fukaki H, Wysocka-Diller J, Nakajima K, Jung J, Sena G, Hauser MT, Benfey PN (2000). The SHORT-ROOT gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling. *Cell*, 101: 555~567
- Heyl A, Schmülling T (2003). Cytokinin signal perception and transduction. *Curr Opin Plant Biol*, 6: 480~488
- Heyl A, Wulfetange K, Pils B, Nielsen N, Romanov GA, Schmülling T (2007). Evolutionary proteomics identifies amino acids essential for ligand-binding of the cytokinin receptor CHASE domain. *BMC Evol Biol*, 7: 62
- Higuchi M, Pischke MS, Mähönen AP, Miyawaki K, Hashimoto Y, Seki M, Kobayashi M, Shinozaki K, Kato T, Tabata S et al (2004). In planta functions of the *Arabidopsis* cytokinin receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 8821~8826
- Hirakawa Y, Kondo Y, Fukuda H (2011). Establishment and maintenance of vascular cell communities through local signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 14: 17~23
- Hutchison CE, Li J, Argueso C, Gonzalez M, Lee E, Lewis MW, Maxwell BB, Perdue TD, Schaller GE, Alonso JM et al (2006). The *Arabidopsis* histidine phosphotransfer proteins are redundant positive regulators of cytokinin signaling. *Plant Cell*, 18: 3073~3087
- Hwang I, Sakakibara H (2006). Cytokinin biosynthesis and perception. *Physiol Plantarum*, 126: 528~538
- Inoue T, Higuchi M, Hashimoto Y, Seki M, Kobayashi M, Kato T, Tabata S, Shinozaki K, Kakimoto T (2001). Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from *Arabidopsis*. *Nature*, 409 (6823): 1060~1063
- Jones B, Gunneras SA, Petersson SV, Tarkowski P, Graham N, May S, Dolezal K, Sandberg G, Ljung K (2010). Cytokinin regulation of auxin synthesis in *Arabidopsis* involves a homeostatic feedback loop regulated via auxin and cytokinin signal transduction. *Plant Cell*, 22: 2956~2969
- Kakimoto T (1996). CKI1, a histidine kinase homolog implicated in cytokinin signal transduction. *Science*, 274 (5289): 982~985
- Kakimoto T (2003). Perception and signal transduction of cytokinins. *Annu Rev Plant Biol*, 54: 605~627
- Kieber JJ, Schaller GE (2014). Cytokinins. *The Arabidopsis Book*, e0168. doi: 10.1199/tab.0168
- Köllmer I, Novák O, Strnad M, Schmülling T, Werner T (2014). Overexpression of the cytosolic cytokinin oxidase/dehydrogenase (CKX7) from *Arabidopsis* causes specific changes in root growth and xylem differentiation. *Plant J*, 78: 359~371
- Kondo Y, Hirakawa Y, Kieber JJ, Fukuda H (2011). CLE peptides can negatively regulate protoxylem vessel formation via cytokinin signaling. *Plant Cell Physiol*, 52 (1): 37~48
- Kondo Y, Tamaki T, Fukuda H (2014). Regulation of xylem cell fate. *Front Plant Sci*, 5: 315
- Mähönen AP, Bishopp A, Higuchi M, Nieminen KM, Kinoshita K, Törmäkangas K, Ikeda Y, Oka A, Kakimoto T, Helariutta Y (2006). Cytokinin signaling and its inhibitor AHP6 regulate cell fate during vascular development. *Science*, 311: 94~98
- Mähönen AP, Bonke M, Kauppinen L, Riikonon M, Benfey P, Helariutta Y (2000). A novel two-component hybrid molecule regulates vascular morphogenesis of the *Arabidopsis* root. *Genes Dev*, 14: 2938~2943
- Mähönen AP, Higuchi M, Törmäkangas K, Miyawaki K, Pischke MS, Sussman MR, Helariutta Y, Kakimoto T (2006). Cytokinins regulate a bidirectional phosphorelay network in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 16: 1116~1122
- Mason MG, Li J, Mathews DE, Kieber JJ, Schaller GE (2004). Type-B response regulators display overlapping but distinct expression patterns in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 135 (2): 927~937
- Mason MG, Mathews DE, Argyros DA, Maxwell BB, Kieber JJ, Alonso JM, Ecker JR, Schaller GE (2005). Multiple type-B response regulators mediate cytokinin signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17: 3007~3018
- Matsumoto-Kitano M, Kusumoto T, Tarkowski P, Kinoshita-Tsujimura K, Václavíková K, Miyawaki K, Kakimoto T (2008). Cyto-

- kinins are central regulators of cambial activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 20027~20031
- Milhinhos A, Miguel CM (2013). Hormone interactions in xylem development: a matter of signals. *Plant Cell Rep*, 32: 867~883
- Müller B, Sheen J (2008). Cytokinin and auxin interaction in root stem-cell specification during early embryogenesis. *Nature*, 453 (7198): 1094~1097
- Nakajima K, Sena G, Nawy T, Benfey PN (2001). Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning. *Nature*, 413 (6853): 307~311
- Nieminen K, Immanen J, Laxell M, Kauppinen L, Tarkowski P, Dolezal K, Tähtiharju S, Elo A, Decourteix M, Ljung K et al (2008). Cytokinin signaling regulates cambial development in poplar. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 20032~20037
- Nishimura C, Ohashi Y, Sato S, Kato T, Tabata S, Ueguchi C (2004). Histidine kinase homologs that act as cytokinin receptors possess overlapping functions in the regulation of shoot and root growth in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 1365~1377
- Ohashi-Ito K, Saegusa M, Iwamoto K, Oda Y, Katayama H, Kojima M, Sakakibara H, Fukuda H (2014). A bHLH complex activates vascular cell division via cytokinin action in root apical meristem. *Curr Biol*, 24: 2053~2058
- Pas J, von Grothuss M, Wyrwicz LS, Rychlewski L, Barciszewski J (2004). Structure prediction, evolution and ligand interaction of CHASE domain. *FEBS Lett*, 576: 287~290
- Punwani JA, Hutchison CE, Schaller GE, Kieber JJ (2010). The sub-cellular distribution of the *Arabidopsis* histidine phosphotransfer proteins is independent of cytokinin signaling. *Plant J*, 62: 473~482
- Punwani JA, Kieber JJ (2010). Localization of the *Arabidopsis* histidine phosphotransfer proteins is independent of cytokinin. *Plant Signal Behav*, 5: 896~898
- Ren B, Chen QG, Hong SL, Zhao WM, Feng J, Feng HZ, Zuo JR (2013). The *Arabidopsis* eukaryotic translation initiation factor eIF5A-2 regulates root protoxylem development by modulating cytokinin signaling. *Plant Cell*, 25: 3841~3857
- Ren B, Liang Y, Deng Y, Chen QG, Zhang J, Yang XH, Zuo JR (2009). Genome-wide comparative analysis of type-A *Arabidopsis* response regulator genes by overexpression studies reveals their diverse roles and regulatory mechanisms in cytokinin signaling. *Cell Res*, 19: 1178~1190
- Ruzicka K, Simásková M, Duclercq J, Petrásek J, Zazimalová E, Simon S, Friml J, Van Montagu MCE, Benková E (2009). Cytokinin regulates root meristems activity via modulation of the polar auxin transport. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106:4284~4289
- Schaller GE, Kieber JJ, Shiu SH (2008). Two-component signaling elements and histidyl-aspartyl phosphorelays. *The Arabidopsis Book*, e0112. doi: 10.1199/tab.0112
- Schaller GE, Shiu SH, Armitage JP (2011). Two-component systems and their co-option for eukaryotic signal transduction. *Curr Biol*, 21: R320~R330
- Suzuki T, Miwa K, Ishikawa K, Ishikawa K, Yamada H, Aiba H, Mizuno T (2001). The *Arabidopsis* sensor His-kinase, AHK4, can respond to cytokinins. *Plant Cell Physiol*, 42 (2): 107~113
- Suzuki T, Zakurai K, Imamura A, Nakamura A, Ueguchi C, Mizuno T (2000). Compilation and characterization of histidine-containing phosphotransmitters implicated in His-to-Asp phosphorelay in plants: AHP signal transducers of *Arabidopsis thaliana*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 64 (11): 2482~2485
- Ueguchi C, Koizumi H, Suzuki T, Mizuno T (2001). Novel family of sensor histidine kinase genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 42 (2): 231~235
- Ueguchi C, Sato S, Kato T, Tabata S (2001). The *AHK4* gene involved in the cytokinin-signaling pathway as a direct receptor molecule in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 42 (7): 751~755
- Vision TJ, Brown DG, Tanksley SD (2001). The origins of genomic duplications in *Arabidopsis*. *Science*, 290 (5499): 2114~2117
- Yamada H, Suzuki T, Terada K, Takei K, Ishikawa K, Miwa K, Yamashino T, Mizuno T (2001). The *Arabidopsis* AHK4 histidine kinase is a cytokinin-binding receptor that transduces cytokinin signals across the membrane. *Plant Cell Physiol*, 42 (9): 1017~1023
- Yokoyama A, Yamashino T, Amano Y, Tajima Y, Imamura A, Sakakibara H, Mizuno T (2007). Type-B ARR transcription factors, ARR10 and ARR12, are implicated in cytokinin-mediated regulation of protoxylem differentiation in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 48 (1): 84~96
- Yu NI, Lee SA, Lee MH, Heo JO, Chang KS, Lim J (2010). Characterization of SHORT-ROOT function in the *Arabidopsis* root vascular system. *Mol Cells*, 30 (2): 113~119
- Zhang L, Gaut BS, Vision TJ (2001). Gene duplication and evolution. *Science*, 293 (5535): 1551