

# 螺旋-环-螺旋蛋白家族的分类和功能

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)

**摘要** 含有螺旋-环-螺旋结构域的蛋白质是一类超家族蛋白, 从细菌到哺乳动物中都广泛存在, 且有较高的保守性。根据螺旋-环-螺旋蛋白的 DNA 结合能力、一些保守区的出现与否以及 E-box 等顺式因子的结合特性等, 可以把这个家族分成六类。螺旋-环-螺旋蛋白主要通过自身形成二聚体或与其他蛋白质形成异源二聚体而发挥其生物学功能。大部分已知的螺旋-环-螺旋蛋白是转录因子, 它们常常通过抑制或活化与生长、分化有关的基因来改变细胞的进程。在动物中对这个家族的研究已经有比较长的历史, 研究表明这个家族的基因与细胞的生长、衰老、肿瘤的发生以及神经发育、果蝇的性别决定等有关; 近期在植物中的研究也表明它们有广泛的功能, 如参与植物抗冻、抗干旱等的应答反应, 以及在根、花药等器官的发育过程中起重要作用等。本文就螺旋-环-螺旋转录因子家族的分类和功能研究进展作简要介绍。

**关键词** 螺旋-环-螺旋蛋白; 转录因子; 生物学功能

许多的研究表明, 从某种意义上说, 绝大多数的生命现象, 如发育、分化、细胞生长、凋亡、应答外界刺激等都是染色体上的万千基因按照严格的预设程序, 分别在特定的发育阶段和组织中有条不紊地表达的结果。而基因在表达过程中会受到不同水平上的调控, 其中转录水平上的调控是基因表达调控中的一个重要环节。

在真核细胞中, 基因的表达是通过转录因子与它启动子上的特异 DNA 序列的复杂相互作用而进行调控的。这些转录因子可以被分成许多个家族, 每一个家族都有一些序列或结构上的共性<sup>[1]</sup>。其中有一个家族具有螺旋-环-螺旋结构, 被称为螺旋-环-螺旋家族。这个家族成员彼此之间可以形成同源或异源二聚体, 它们通过激活或抑制靶基因的转录, 在发育、生长以及对环境胁迫的应答等许多生理过程中起关键的调控作用。虽然也有研究报道一些含螺旋-环-螺旋结构的蛋白质如钙信号通路中的某些蛋白质并不是转录因子<sup>[2]</sup>, 但是在这个家族中绝大多数的蛋白质都是转录因子。

## 1 螺旋-环-螺旋蛋白的发现

这个基因家族的成员之一 myc 蛋白最早是在动物的免疫增强多肽中被发现的, 和许多其他蛋白质一样刚开始也只是推测它可能是转录因子<sup>[3]</sup>。直到 1989 年, Murre 等<sup>[4]</sup>在小鼠 E12 和 E47 蛋白中也发现了与 myc 蛋白相似的一段保守氨基酸序列, 这个氨

基酸序列可以构成一个共同的二级结构: 二个两亲性(疏水性和亲水性)的 $\alpha$ -螺旋, 他们首先把这个结构命名为螺旋-环-螺旋基序(helix-loop-helix motif), 简称为 HLH 基序, 同时确定了 E12 和 E47 为转录因子。虽然螺旋-环-螺旋结构最早是在 myc 蛋白中发现的, 但由是经 Murre 等确定而命名的, 所以普遍认为 Murre 和他的同事们是螺旋-环-螺旋蛋白的最初发现者。此后, 在酵母、线虫、果蝇、哺乳动物以及玉米、水稻、拟南芥等高等植物中螺旋-环-螺旋蛋白的新成员不断被发现。这些蛋白质参与了神经的形成、肌肉的形成、细胞的增殖、组织的分化以及其他重要的生物发育进程。

## 2 螺旋-环-螺旋蛋白的分类

1994 年 Murre 等<sup>[4]</sup>根据蛋白质的组织分布、DNA 结合的特异性以及二聚体形成的可能性, 对螺旋-环-螺旋蛋白家族进行了分类。随着新的螺旋-环-螺旋蛋白的不断发现, 它的分类也在不断得到完善。1997 年 Atchley 等<sup>[5]</sup>根据进化关系并且考虑了 E-box 结合域中的保守氨基酸以及其他区域(domain)的出现与否又把螺旋-环-螺旋蛋白归为四大类(A~D)。2004 年随着新的基因组序列的出现, 一些新

收稿日期: 2008-08-17 接受日期: 2008-12-25

国家高技术研究发展计划(863计划)(No.2006AA10A102)资助项目

\* 通讯作者。Tel: 021-54924078, Fax: 021-54924015, E-mail:

xlzhao@sibs.ac.cn

Table1 Classification of bHLH proteins

Class	Denomination	Characteristic	Examples of classified proteins
I	bHLH	Class I proteins contain bHLH structure, that is the basic domain and the HLH domain. The basic domain generally locates at the N end, composed of 15 basic amino acids, and usually binds to the E-box region (CANNTG) of DNA sequence. HLH is domain mainly composed of hydrophobic amino acids, containing two $\alpha$ -helix and one loop, and is able to form homo- or hetero- dimmers <sup>[6]</sup> . Class I proteins are the most prevalent type of bHLH proteins	PIF3 <sup>[7]</sup> , TDR <sup>[8]</sup>
II	bHLH-ZIP	Usually tracked as bHLH-ZIP, class II proteins contain bHLH structure and a Leu-zipper region, and the basic region binds to the conserved "CACGTG" region. This class of proteins are able of forming homo-dimer, also, they can form hetero-dimer with the same kind of protein or the b-ZIP kind of protein, especially, homo-dimer of class II proteins are able to form quadri-polymer with those of b-ZIP kind proteins	Myc <sup>[4]</sup> , Mad, USF, SREBP
III	bHLH-PAS	Class III proteins contain bHLH structure and the homologous PAS region, the basic region usually binds to the non-typical E-box (NACGTG or NGCGTG) region. PAS region usually lies to the C end of the bHLH domain, contains two tandem PAS A and PAS B domains separated by non-conserved sequence, PAS A and PAS B each contain about 50 amino acids. Besides forming homo- or hetero- dimmers, Class III proteins can bind to PAS proteins or dioxins.	Per, Amt, Sim <sup>[9]</sup>
IV	bHLH-WRPW	Class IV proteins contain a orange domain and a WRPW amino acid sequence to the C end of the bHLH structure. The basic region of this kind of protein preferentially binds to the Ec-box (CACGGC or CACGAC), while the efficiency of E-box binding is low <sup>[10]</sup> . There is a short variable region between the bHLH domain and the orange domain. Function of the orange domain is not clear, probably intervene the specific transcription suppression <sup>[11]</sup> or the formation of dimer <sup>[12]</sup>	Hairy <sup>[10-12]</sup>
V	bHLH-COE	Class V proteins contain a bHLH domain and a COE domain, the COE region might play role in the formation of dimmer and the binding to DNA sequence, although the detailed function is not clear. Conservation degree of protein in this class is relatively low	Coe (Col/Olf-1/EBF) <sup>[13]</sup>
VI	Non-DNA binding HLH	Also called ID proteins (inhibitory differentiation proteins), Class VI proteins do not contain basic region, so that do not bind directly to DNA. Proteins of this class usually form heter-dimer with other protein, and function negatively in gene transcription regulation	Id (Id1~Id4) <sup>[14]</sup> , KID <sup>[15]</sup>

的蛋白质被发现, *Jone*<sup>[16]</sup>又定义了另外两个亚家族 (E 和 F)。据此现在我们可以把螺旋-环-螺旋蛋白分成六大类。

表 1 只是根据一些已知的螺旋-环-螺旋蛋白的结构和特性进行的分类, 随着螺旋-环-螺旋蛋白家族新成员的出现以及对各成员蛋白质结构与功能研究的不断深入, 相信螺旋-环-螺旋蛋白的分类将会更加合理, 类别可能还会有所增加。

### 3 螺旋-环-螺旋蛋白对基因转录的调控机制和生物学功能

大部分已知的螺旋-环-螺旋蛋白是转录因子, 这些蛋白质常常通过抑制或活化与生长、分化有关的基因从而改变细胞的进程, 在许多生理活动中扮演

着重要的角色。下面我们通过一些例子初步了解一下螺旋-环-螺旋蛋白对基因转录的调控机制及其生物学功能。

#### 3.1 动物中的螺旋-环-螺旋蛋白

**3.1.1 bHLH 蛋白参与调控细胞的生长** *Myc* 蛋白最早是在哺乳动物中发现的, 它属于 bHLH-Z 类转录因子。*Myc* 蛋白单独存在时是不稳定的, 它的同源二聚体与 CACGTG (E-box) 顺序的结合能力也比较弱, 但是 *Myc* 蛋白可以与一个非专一性表达的 bHLH-Z 类蛋白 *Max* 形成异源二聚体<sup>[17]</sup>。这个异源二聚体形成后, 不但能稳定 *Myc* 蛋白, 而且能增强其与某些基因启动子区上 E-box 顺序特异性结合的能力, 从而增强或阻遏这些基因的转录, 在细胞增殖和凋亡中起着关键的调控作用。

**3.1.2 bHLH蛋白与果蝇的性别决定有关** 从发育过程来看, 性别发育选择的总开关在于*Sex-lethal (Sxl)*基因的早期启动子(*Sxl-Pe*)的活性。*Sxl*基因的早期启动子位于第一内含子中, 当这一启动子活化时将启动雌性发育途径, 而这一启动子关闭则将启动雄性发育途径, 而且*Sxl*基因具有记忆机制, 一旦启动就会被锁定。

决定*Sxl-Pe*开关的调控系统有三部分组成, 第一部分为位于性染色体上的调节基因, 编码的蛋白质包括*sis-a*、*sis-b*、*sis-c*、*runt*, 充当着感应性染色体剂量的计数器; 第二部分为位于常染色体上的基因编码蛋白如*dpn*, 感受常染色体的剂量; 第三部分为由母体卵细胞质提供的蛋白质*da*和*emc*。其中*sis-b*、*dpn*、*da*、*emc*蛋白都属于螺旋-环-螺旋家族蛋白。在*Sxl-Pe*序列中有两个相邻的不同bHLH蛋白结合位点, 一个是典型的E-box, 另一个是非典型的Ec-box。*Da*蛋白能形成同源二聚体, 对E-box有结合能力但是亲和力不高。*emc*属于缺少碱性区的HLH蛋白, 不会与DNA结合, 但可以与*da*二聚体形成三聚体, 抑制*da*与DNA结合。因此在一般情况下只有少量*da*处于游离状态, 使得*da*不具备足够的亲和力以结合在E-box上, 也就不能激活*Sxl-Pe*。*Sis-b*只在特定的发育时期表达, 与*da*形成异源二聚体的亲和力大于*emc*与*da*的亲和力, 能代替*emc*与*da*形成异源二聚体结合E-box, 从而激活转录。*Dpn*能形成同源二聚体识别非典型的Ec-box顺序, 从而产生空间位阻效应阻碍*sis-b/da*与E-box的结合。

果蝇的性别决定从基因水平上看是由性染色体(X)与常染色体(A)的比值来决定的<sup>[18]</sup>。当性染色体/常染色体等于1/2 (X/2A)时, *dpn*蛋白量大于性染色体编码的*sis-b*, 从而占据Ec-box, 妨碍*sis-b/da*与E-box的结合, 关闭*Sxl-Pe*导致雄性发育; 当性染色体/常染色体等于2/2 (2X/2A)时, *sis-b*的量与*dpn*相当, 而*da*过量, 一份*sis-b*就可以与*da*形成一份异源二聚体, 而*dpn*只能形成一半数量的同源二聚体, 所以*sis-b/da*在竞争中占优势, 其占据E-box从而打开*Sxl-Pe*导致雌性发育。这样bHLH蛋白通过二聚体形成的蛋白与蛋白之间的相互作用以及DNA结合位点的竞争使性染色体/常染色体的剂量信号转化为*Sxl-Pe*的开关信号。

**3.1.3 bHLH蛋白与神经发育有关** 在果蝇的神经系统发生过程中, 参与调控的多个bHLH蛋白包括*da*、AS-C各成员、*emc*、*h*、*E (spl)*各成员等。

这些bHLH蛋白通过彼此之间的相互选择作用, 或者与一些非bHLH蛋白发生相互作用, 共同调控中枢神经及周围神经的分化、发育。*Da*是非专一性表达的bHLH蛋白, 起正调控作用。AS-C各成员是专一性表达的bHLH蛋白, 各自与*da*形成异源二聚体, 能与E-box类顺式元件结合, 起转录激活作用。*emc*、*h*、*E (spl)*各成员是负调控因子, *Emc*不含碱性区, 通过与*da*或AS-C形成异源二聚体, 使其丧失DNA的结合能力, 从而起负调控的作用; *h*和*E (spl)*的负调控机制与性别分化中*Dpn*对*Sxl*基因转录的阻遏相类似。

**3.1.4 HLH蛋白与细胞的衰老有关** 前面讲述HLH蛋白的分类时已介绍有一类不含碱性区的HLH蛋白, 也称ID蛋白(分化抑制蛋白/DNA结合抑制蛋白)。这类蛋白质不具有与特定DNA顺序结合的能力, 不能算作真正的转录因子, 只能算作参与调控的蛋白质。不过近几年的研究表明这一类蛋白质具有广泛的生物学作用如调控细胞命运和细胞定向分化、诱导细胞凋亡等。ID蛋白可以通过与含有碱性区的螺旋-环-螺旋蛋白(bHLH)形成无功能的异源二聚体从而阻遏这些蛋白与DNA的结合。因为大多参与细胞分化的bHLH蛋白都是正调控因子, 所以ID蛋白一般被认为是细胞分化的负调控因子。近年来, *Id*蛋白与细胞衰老的关系已引起广泛关注。哺乳动物细胞含有4种*Id*因子(*Id1~Id4*), *Id*因子通常含有119~199个氨基酸残基, 人的*Id1~Id4*编码基因分别定位于20q1、2p25、1p36和6p22~21号染色体上<sup>[14]</sup>。在乳腺上皮、成纤维、角质、内皮等细胞中都有发现, *Id1*的过度表达可以延迟细胞老化或导致细胞永生, 而且*Id1*和*Id2*蛋白的表达随着细胞衰老呈明显下降的趋势<sup>[19]</sup>。

**3.1.5 HLH蛋白与肿瘤的发生有关** 已经有研究结果表明, *Id*因子可以通过诱导细胞永生影响肿瘤细胞的分化、增殖、凋亡及其血管生成等过程, 在肿瘤发生发展中起重要作用。用原位杂交和免疫组化技术在多种肿瘤(神经胶质瘤、胰腺癌、甲状腺髓质癌、乳腺癌等)中均发现*Id1*有异常高的表达<sup>[20]</sup>。用反义寡核苷酸在神经母细胞瘤、胰腺癌和乳腺癌中抑制*Id*的表达可以降低肿瘤细胞的增殖速度。细胞永生是体外培养细胞恶性转化过程的第一步, 是体内肿瘤发生与发展进程的早期阶段。外源性表达*Id1*可以通过抑制p16<sup>INK4a</sup>/RB和p53途径使细胞永生, 促进细胞不断增殖, 最终形成肿瘤<sup>[21]</sup>。而且*Id1*过度表达还可以通过活化NF- $\kappa$ B的信号途径促进细

胞存活,说明 Id1 可能是 NF- $\kappa$ B 的上游调节因子<sup>[22]</sup>。近期研究还发现, Id1 还可以使扩散的未分化癌细胞逃避免疫监视,从而促进转移性肿瘤的形成<sup>[23]</sup>。这些研究都表明, Id 基因可能属于细胞核癌基因范畴,或至少是肿瘤形成相关因子之一。

**3.1.6 bHLH 蛋白与信号转导有关** Le Provost 等<sup>[24]</sup>在研究芳香烃受体(AhR)时发现它的核转位蛋白(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT)也是 bHLH 转录因子超家族的 PAS 亚家族的成员之一。ARNT 普遍存在于许多动物、植物以及原核生物的信号转导途径中,常常被称为转位分子。但是它并不参与 AhR 到核内的运输过程,而是作为一个核内蛋白存在于细胞核中。在活体内, ARNT 是许多 bHLH-PAS 蛋白共同的专性配偶体<sup>[25]</sup>,可以与芳香烃受体、低氧诱导因子、果蝇 SIM 蛋白等形成异二聚体,从而介导许多信号转导过程,最终参与机体内许多重要的生物过程<sup>[26,27]</sup>。

### 3.2 植物中的螺旋-环-螺旋蛋白

与动物相比,植物中的螺旋-环-螺旋蛋白成员发现的比较少,研究也比较初步,但近来的一些研究显示这类蛋白质在植物中也具有广泛而重要的功能。

**3.2.1 螺旋-环-螺旋蛋白与植物花色素苷的色素形成有关** 在玉米中发现了一类与花色素苷的色素形成有关的 R/B 家族,其也属于螺旋-环-螺旋蛋白家族。其中 R 基因产物 Lc 蛋白是植物中被发现的第一个螺旋-环-螺旋蛋白。R/B 基因的瞬时转染实验证明了 R、B 基因在功能上是平等的,它主要是通过 R/B 基因表达的时空变化来控制分布在植物各组织中的组织特异性的色素形成<sup>[28]</sup>。R/B 基因还可以与另一类转录因子 CI/MYB 家族成员一起参与调节合成花色素苷途径的各结构基因的转录<sup>[29]</sup>。值得注意的是, R、B 蛋白在氨基酸序列上有很高的同源性,但它们的 5' 端非编码区的同源性却很差。B 基因如 *peru*、*I* 的 5' 非编码区决定了它表达的组织特异性<sup>[30]</sup>。

在金鱼草中,花色素的合成也是受一个编码螺旋-环-螺旋蛋白的基因 *del* 控制的。*del* 基因与玉米中的 R 基因产物有很高的同源性<sup>[31]</sup>。

**3.2.2 螺旋-环-螺旋蛋白与植物的光敏反应有关**

最初 Ni 等<sup>[7]</sup>用酵母双杂交的方法从拟南芥中筛选到了一个可与光敏色素蛋白直接相互作用的蛋白质 PIF3。他们通过体内实验表明, PIF3 能够特异性地与光敏色素蛋白 phyA、phyB 的 C 端结合,又通过反义 RNA 实验显示它参与了 phyA 和 phyB 介导的光

信号转导。实验同时还表明 PIF3 是具有 E-box 结合功能的 bHLH 蛋白,定位于核内,是螺旋-环-螺旋超家族的一员。接着 Jaime 等<sup>[32]</sup>发现当光诱导光敏色素由非活性形式转变为活性形式进入核内后,可以与核内的 PIF3 结合, PIF3 又可以与含有 G-box (CACGTG) 的启动子相互作用,诱导下游靶基因的转录。

随着对螺旋-环-螺旋蛋白家族研究的不断深入,现在已经发现在拟南芥、水稻中都存在着许多与光敏反应有关的螺旋-环-螺旋蛋白,比如拟南芥中的 PIF1、PIF5、PIF6、HFR、KID 和水稻中的 OsPIL1-6 等。目前对这些蛋白质都有了一些初步的了解,但是它们具体是怎么联系起来共同调节光敏反应的还不是很清楚,还需要更多的实验证据。

**3.2.3 螺旋-环-螺旋蛋白与植物的根发育有关** 最近有研究报道植物中的螺旋-环-螺旋蛋白也参与了植物根的发育。在拟南芥中, LHW (LONESOME HIGHWAY) 是一个 bHLH 蛋白。研究人员利用 *lhw* 基因的点突变体和 T-DNA 插入突变体发现这个蛋白质参与了植物维管束起始的调控。他们推测这个基因促进了根柱状细胞的产生,间接参与了维持根分生组织的调控网络<sup>[33]</sup>。在西红柿中,人们还发现了与根部对铁吸收有关的 bHLH 蛋白 FER,研究表明 FER 在转录水平上调控了根对铁含量反应的生理和发育调控<sup>[34]</sup>。

**3.2.4 螺旋-环-螺旋蛋白与植物的花药发育有关**

Sorensen 等<sup>[35]</sup>在拟南芥缺失长夹果的 T-DNA 插入突变体库中筛选到了一个由于孢子体退化导致雄性不育的突变体 *ams* (the aborted microspores), 通过实验证明确实是由于 AMS 蛋白的缺失才导致了这种表型的出现。AMS 蛋白是一个 bHLH 转录因子,它只在未开放的花苞中有表达。他们的研究认为 AMS 在花药的绒毡层细胞发育中起着关键性的作用,其参与了小孢子的后期减数分裂的转录调控。接着在 2008 年 Thorstensen 等<sup>[36]</sup>报道了一个与 AMS 相互作用的蛋白质 ASHR3, ASHR3 也只在花药和雄蕊的细丝中表达,他们认为 AMS 能捕捉 ASHR3 到染色体上共同调节与雄蕊发育有关的基因。2006 年张大兵实验室<sup>[8]</sup>利用水稻雄性不育的突变体在水稻中也克隆到了一个与花粉囊的绒毡层细胞发育有关的基因 *TDR*, *TDR* 基因也属于 bHLH 基因家族,主要在花粉囊的绒毡层细胞中表达。从这些研究组的报道可以看出 bHLH 蛋白也参与了植物花药的发育。

**3.2.5 螺旋-环-螺旋蛋白参与植物干旱胁迫的应**

答反应 植物中的螺旋-环-螺旋蛋白还参与了与干旱胁迫有关的应答反应<sup>[37]</sup>。*rd22* 是一个已知的受干旱及 ABA 诱导表达的拟南芥基因。在 *rd22* 基因的启动子区有一段 67 bp 的 DNA 序列。这段 67 bp 序列中含有一段 ACGT 顺序(b-ZIP 蛋白的识别位点)、两段紧邻的 CACATG 顺序(bHLH 蛋白识别位点)以及一段 TGGTTAG 顺序(MYB 类蛋白的识别位点)。其中 *rd22BP1* 是一种 bHLH-ZIP 蛋白,它能够专一性地结合到 *rd22* 基因启动子区的 CACATG 顺序上,从而发挥调控作用。同时有一类 MYB 蛋白 *AtMYB2* 可以结合到 67 bp 序列上的 TGGTTAG 结合位点上。*Rd22BP1* 的表达时期略早于 *rd22* 基因,而且它本身的表达受干旱、ABA 处理的诱导。这个现象提示在干旱胁迫、ABA 诱导下可能先表达了 *rd22BP1* 蛋白,然后 *rd22BP1* 蛋白和 *AtMYB2* 一起调控 *rd22* 基因的表达。这一研究结果告诉我们,在植物中 bHLH 蛋白可能是通过与 MYB 类蛋白一起参与对干旱胁迫的应答反应和对 ABA 诱导表达的调控的。

3.2.6 螺旋-环-螺旋蛋白与植物的抗冻有关 气温的变化不仅影响植物的分布和生长季节,还影响谷物的质量和产量,因此植物也就需要一套自己适应气温变化的机制。科学家们一直想弄清楚的问题是植物在分子水平上是怎样调节适应气温变化的。1994 年 Yamaguchi-Shinozaki 等<sup>[38]</sup>发现在许多寒冷响应基因的启动子区都有一个或多个拷贝的 DRE/CRT 顺式元件,这个顺式元件有个核心序列 CCGAC。到 1997 年 Stockinger 等<sup>[39]</sup>发现一类被称为 CBFs (C-repeat binding factors)家族的转录因子能结合在这个顺式元件的核心序列上,从而激活下游寒冷响应基因的表达,植物在寒冷环境中暴露 15 min 后 CBF 转录因子的表达就开始积累,因此他们推测在正常温度时植物细胞中就已经存在着一个转录因子 ICE (induce of CBF expression)。ICE 能够识别 CBF 的启动子,当植物处在低温条件时它就能诱导 CBF 基因的表达<sup>[40]</sup>。Chinnusamy 等<sup>[41]</sup>利用拟南芥突变体在 2003 年终于克隆到了一个 *ICE1* 基因,这个突变体对寒冷很敏感,突变体中的许多 CBFs 的下游基因都被下调了。进一步的研究发现 *ICE1* 属于 bHLH 转录因子家族,它的表达是组成性的,能特异地与 CBF3 启动子区的 MYC 序列结合,从而调节 CBFs 下游基因的表达<sup>[42]</sup>。

## 4 展望

自从螺旋-环-螺旋蛋白首次被 Murre 鉴定以来,

它在细胞周期、肿瘤发生等各种生命活动中的不同功能不断地被发现,这使得人们对它进行研究的兴趣越来越浓。螺旋-环-螺旋超家族蛋白是由许多不同亚家族蛋白组成的,人类中已知的成员已经超过了 125 个,拟南芥中有 145 个,水稻中有 169 个。随着对螺旋-环-螺旋蛋白家族研究的不断深入,新的家族成员在不断增加。如目前我们实验室利用水稻 T-DNA 插入突变体筛选到了一个晚熟突变体,克隆了一个螺旋-环-螺旋基因,推测该基因可能与水稻的生长发育有关(结果待发表)。众多的螺旋-环-螺旋蛋白家族成员可能是通过 HLH 基序形成各种不同的异源二聚体,为基因表达调控的复杂性与广泛性提供基础。而且螺旋-环-螺旋蛋白也可以与其他家族的转录因子协同作用,一起调控基因的表达,这也增加了调控的复杂性、多样性和精确性。尽管对螺旋-环-螺旋蛋白的结构和功能已经取得一定的了解,但是对于它们如何调控基因的表达,怎样与其他家族的转录调控因子进行协同配合调控基因的表达并不很清楚,而且我们还需要知道这些蛋白质在转录、转录后水平是怎样被调节的。随着对这些问题的解决,我们将对整个基因表达、调控机制有更深入、更全面的理解,而对螺旋-环-螺旋蛋白参与多种生命过程机制的更深入了解也将为人类疾病如癌症的治疗提供机会。

## 参考文献(References)

- [1] Pabo CO, Sauer RT. Transcription factors: Structural families and principles of DNA recognition, *Annu Rev Biochem*, 1992, 61: 1053-1095
- [2] Brownlie P, Ceska T, Lamers M, et al. The crystal structure of an intact human Max-DNA complex: new insights into mechanisms of transcriptional control, *Structure*, 1997, 5(4): 509-520
- [3] Murre C, McCaw PS, Baltimore D. A new DNA binding and dimerization motif in immunoglobulin enhance binding, daughterless, MyoD, and myc proteins, *Cell*, 1989, 56(5): 777-783
- [4] Murre C, Bain G, van Dijk MA, et al. Structure and function of helix-loop-helix proteins, *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1218 (2): 129-135
- [5] Atchley WR, Fitch WM. A natural classification of the basic helix-loop-helix class of transcription factors, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(10): 5172-5176
- [6] Nair SK, Burley SK. Recognizing DNA in the library, *Nature*, 2000, 404(6779): 715, 717-718
- [7] Ni M, Tepperman JM, Quail PH. PIF3, a phytochrome-interacting factor necessary for normal photoinduced signal transduction, is a novel basic helix-loop-helix protein, *Cell*,

- 1998, 95(5): 657-667
- [8] Li N, Zhang DS, Liu HS, *et al.* The rice tapetum degeneration retardation gene is required for tapetum degradation and anther development, *Plant Cell*, 2006, 18(11): 2999-3014
- [9] Zelzer E, Wappner P, Shilo B, *et al.* The PAS domain confers target gene specificity of *Drosophila* bHLH/PAS proteins, *Genes Dev*, 1997, 11(16): 2079-2089
- [10] Fisher A, Caudy M. The function of hairy-related bHLH repressor proteins in cell fate decisions, *Bioessays*, 1998, 20(4): 298-306
- [11] Steidl C, Leimeister C, Klamt B, *et al.* Characterization of the human and mouse HEY1, HEY2, and HEYL genes: cloning, mapping, and mutation screening of a new bHLH gene family, *Genomics*, 2000, 66(2): 195-203
- [12] Davis RL, Turner DL. Vertebrate hairy and Enhancer of split related proteins: transcriptional repressors regulating cellular differentiation and embryonic patterning, *Oncogene*, 2001, 20(58): 8342-8357
- [13] Vervoort M, Crozatier M, Valle D, *et al.* The COE transcription factor Collier is a mediator of short-range Hedgehog-induced patterning of the *Drosophila* wing, *Curr Biol*, 1999, 9(12): 632-639
- [14] Ruzinova MB, Benezra R. Id proteins in development, cell cycle and cancer, *Trends Cell Biol*, 2003, 13(8): 410-418
- [15] Youbong Hyun, Ilha Lee. KIDARI, encoding a non-DNA binding bHLH protein, represses light signal transduction in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Mol Biol*, 2006, 61(1-2): 283-296
- [16] Jones S. An overview of the basic helix-loop-helix proteins, *Genome Biol*, 2004, 5(6): 226
- [17] Blackwood EM, Eisenman RN. Max: a helix-loop-helix zipper protein that forms a sequence-specific DNA-binding complex with Myc, *Science*, 1991, 251(4998): 1211-1217
- [18] Deshpande G, Stukeny J, Schedl P. Scute(sis-b) function in *Drosophila* sex determination, *Mol Cell Biol*, 1995, 15(8): 4430-4440
- [19] Nickoloff BJ, Chaturvedi V, Bacon P, *et al.* Id-1 delays senescence but does not immortalize keratinocytes, *J Biol Chem*, 2000, 275(36): 27501-27504
- [20] Lee KT, Lee YW, Lee JK, *et al.* Overexpression of Id-1 is significantly associated with tumour angiogenesis in human pancreas cancers, *Br J Cancer*, 2004, 90(6): 1198-1203
- [21] Ouyang XS, Wang X, Ling M, *et al.* Id-1 stimulates serum independent prostate cancer cell proliferation through inactivation of P16<sup>INK4a</sup>/pRB pathway, *Carcinogenesis*, 2002, 23(5): 721-725
- [22] Nakayama K, Kanzaki A, Terada K, *et al.* Prognostic value of the Cu-transporting ATPase in ovarian carcinoma patients receiving cisplatin-based chemotherapy, *Clin Cancer Res*, 2004, 10(8): 2804-2811
- [23] Nakayama K, Kanzaki A, Ogawa K, *et al.* Copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) as a cisplatin-based chemoresistance marker in ovarian carcinoma: comparative analysis with expression of MDR1, MRP1, MRP2, LRP and BCRP, *Int J Cancer*, 2002, 101(5): 488-495
- [24] Le Provost F, Riedlinger G, Yim SH, *et al.* The aryl hydrocarbon receptor (AhR) and its nuclear translocator (Arnt) are dispensable for normal mammary gland development but are required for fertility, *Genesis*, 2002, 32(3): 231-239
- [25] Chapman-Smith A, Lutwyche JK, Whitelaw ML. Contribution of the Per/Arnt/Sim (PAS) domains to DNA binding by the basic helix-loop-helix PAS transcriptional regulators, *J Biol Chem*, 2004, 279(7): 5353-5362
- [26] Lees MJ, Whitelaw ML. Multiple roles of ligand in transforming the dioxin receptor to an active basic helix-loop-helix/PAS transcription factor complex with the nuclear protein Arnt, *Mol Cell Biol*, 1999, 19(8): 5811-5822
- [27] Eguchi H, Ikuta T, Tachibana T, *et al.* A nuclear localization signal of human aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator/hypoxia-inducible factor 1 $\beta$  is a novel bipartite type recognized by the two components of nuclear pore-targeting complex, *J Biol Chem*, 1997, 272(28): 17640-17647
- [28] Littlewood T, Evan GI. *Helix-Loop-Helix Transcription Factors*, 3rd ed, New York: Oxford University Press, 1998
- [29] Sainz MB, Grotewold E, Chandler VL. Evidence for direct activation of an anthocyanin promoter by the maize C1 protein and comparison of DNA binding by related Myb domain proteins, *Plant Cell*, 1997, 9(4): 611-625
- [30] Radicella JP, Brown D, Tolar LA, *et al.* Allelic diversity of the maize B regulatory gene: different leader and promoter sequences of two B alleles determine distinct tissue specificities of anthocyanin production, *Genes Dev*, 1992, 6(11): 2152-2164
- [31] Goodrich J, Carpenter R, Coen ES. A common gene regulates pigmentation pattern in diverse plant species, *Cell*, 1992, 68(5): 955-964
- [32] Martínez-García JF, Huq E, Quail PH. Direct targeting of light signals to a promoter element-bound transcription factor, *Science*, 2000, 288(5467): 859-863
- [33] Ohashi-Ito K, Bergmann DC. Regulation of the Arabidopsis root vascular initial population by LONESOME HIGHWAY, *Development*, 2007, 134(16): 2959-2968
- [34] Ling HQ, Bauer P, Berezcky Z, *et al.* The tomato fer gene encoding a bHLH protein controls iron-uptake responses in roots, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(21): 13938-13943
- [35] Sorensen AM, Kröber S, Unte US, *et al.* The Arabidopsis ABORTED MICROSPORES (AMS) gene encodes a MYC class transcription factor, *Plant J*, 2003, 33(2): 413-423
- [36] Thorstensen T, Grini PE, Mercy IS, *et al.* The Arabidopsis SET-domain protein ASHR3 is involved in stamen development and interacts with the bHLH transcription factor ABORTED MICROSPORES (AMS), *Plant Mol Biol*, 2008, 66(1-2): 47-59
- [37] Abe H, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao T, *et al.* Role of Arabidopsis MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression, *Plant Cell*, 1997, 9(10): 1859-1868
- [38] Yamaguchi-Shinozaki K. A novel cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress, *Plant Cell*, 1994, 6(2): 251-264
- [39] Stockinger EJ, Gilmour SJ, Thomashow MF. Arabidopsis thaliana CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcription activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(3): 1035-1040

- [40] Gilmour SJ, Zarka DG, Stockinger EJ. Low temperature regulation of the *Arabidopsis* CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced *COR* gene expression, *Plant J*, 1998, 16(4): 433-442
- [41] Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, *et al.* ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis*, *Genes Dev*, 2003, 17(8): 1043-1054
- [42] Lee BH, Henderson DA, Zhu JK. The *Arabidopsis* cold-responsive transcriptome and its regulation by ICE1, *Plant Cell*, 2005, 17(11): 3155-3175

## Classification and Function of the Basic Helix-loop-helix Protein Class

Xiao-Ling Zhao\*

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

**Abstract** The basic helix-loop-helix-like protein belongs to a protein superfamily, and the most obvious character of this superfamily is the highly conserved helix-loop-helix domain, which exists in organisms from bacteria to mammals. Based on the DNA-binding activity, existence of conserved motifs outside the helix-loop-helix domain and binding speciality of the E-box, helix-loop-helix superfamily was classified into six subfamilies. Proteins in this superfamily function through formation of homodimer or heterodimer between different family members. Most of the proteins in this superfamily are transcription factors, and usually function to change cellular course by depressing or activation genes that is related to growth or differentiation. It has been demonstrated that this kind of proteins is involved in cell growth, cell senescence, cancer develop, nerves development and drosophila sex decision. Recent studies indicated that helix-loop-helix proteins also play important roles in plant, mediating signal transduction in processes such as freezing tolerance, drought tolerance and root development, anther development, etc.. In this paper, we give a brief review of the classification and functions of this protein superfamily.

**Key words** helix-loop-helix protein; transcription factor; biologic function

Received: August 17, 2008 Accepted: December 25, 2008

This work was supported by the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2006AA10A102)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-54924078, Fax: 86-21-54924078, E-mail: xlzhao@sibs.ac.cn