

# 植物 HD-Zip 转录因子研究进展

秦永芳 李登弟 李学宝\*

(华中师范大学生命科学学院, 遗传调控与整合生物学湖北省重点实验室, 武汉 430079)

**摘要** 同源异型-亮氨酸拉链(HD-Zip)蛋白是属于同源异型盒蛋白家族中为植物所特有的一类转录因子,它包含一个高度保守的同源异型结构域(HD),HD羧基末端紧密连接着一个亮氨酸拉链(LZ)结构域。通过LZ结构域的相互作用,HD-Zip蛋白以二聚体的形式与靶DNA结合。HD-Zip蛋白在植物发育过程中的作用非常广泛,如维管发育、器官形成、分生组织的维持、逆境应答等。根据该类转录因子结合的特异性DNA序列,编码该类蛋白质的基因结构,包含的其他基序及其功能等四个方面的特征可以将HD-Zip蛋白分为I-IV四个亚类。本文对近年来有关四类HD-Zip转录因子生理功能的研究进展进行了综述。

**关键词** HD-Zip 转录因子; 蛋白质结构; 分类; 功能

同源异型盒(homeobox, HB)蛋白是一类与发育有关的重要转录因子。这类转录因子最重要的特征就是都具有一个由60个(或61个)氨基酸组成的高度保守的结构域——同源异型域(homeodomain, HD)<sup>[1]</sup>。编码同源异型盒蛋白的基因最早在果蝇中被发现,因其突变或异位表达均能引起同源异型突变而得名。随后在其他无脊椎、脊椎动物及植物和真菌中也发现了类似的基因<sup>[2]</sup>。在植物中,同源异型盒蛋白除了HD结构域外,还包含了其他保守结构域。根据植物HB蛋白中HD基序的位置和序列差异,及其两侧序列的同源性和其他保守结构域的不同,植物HB家族可分为以下六类:HD-Zip(homeodomain-leucine-zipper)、KNOX(KNOTTED1-like homeobox)、PHD-Finger(homeodomain-finger)、Bell、WOX(Wuschel-related homeobox)和ZF-HD(zinc finger-homeodomain)。其中同源异型-亮氨酸拉链蛋白(HD-Zip)是近十几年来发现的高等植物中特有的一类转录因子<sup>[3,4]</sup>。

## 1 HD-Zip 结构特征

HD-Zip蛋白包含的HD结构域可以折叠成典型的螺旋-环-螺旋-转角-螺旋的结构,其中第3个 $\alpha$ 螺旋可以嵌入靶DNA的大沟。HD结构域的第3个 $\alpha$ 螺旋、前两个 $\alpha$ 螺旋之间的环和氨基末端可变臂在HD-Zip转录因子特异识别结合靶基因的过程中起重要作用<sup>[4]</sup>。亮氨酸拉链(leucine-zipper, LZ)的特征是每隔7个氨基酸出现一个亮氨酸残基(有时也可被苏氨酸残基替代),一般重复5到6次,其中的亮氨酸残基侧链伸出,整齐地排列在形成 $\alpha$ 螺旋的多肽链的

一侧,两个这样的 $\alpha$ 螺旋依赖亮氨酸残基交错相插即形成一个稳定的拉链状的疏水结构域。HD-Zip蛋白一般通过LZ结构域形成同源或异源二聚体与DNA结合,从而调控靶基因的表达。因此,HD-Zip转录因子中的HD和LZ结构的正确空间排列对于其结合DNA序列的特性是非常重要的<sup>[3,4]</sup>。

## 2 HD-Zip 的结构和分类

根据HD-Zip结合的特异性DNA序列,编码该类蛋白质的基因结构,以及包含的其他基序及其生理功能,HD-Zip转录因子可以分为四个亚类(I, II, III和IV)<sup>[3,4]</sup>。如图1所示。

在拟南芥中,第I亚类的HD-Zip转录因子有17个成员,对CAAT(A/T)ATTG的双重对称DNA序列具有特异结合特性,该DNA序列被命名为HDE1(homeodomain element),亦称为AH1<sup>[3]</sup>。编码HD-Zip I蛋白的基因结构非常保守。除ATHB52/54没有内含子外,拟南芥HD-Zip I基因在HD-LZ结构域的编码区内一般包含一个内含子,插入在LZ结构域的第四个或第五个亮氨酸的密码子之后,而ATHB1基因包含两个内含子,另外一个内含子插入在HD的第一个螺旋的编码区内<sup>[5]</sup>。HD-Zip I蛋白一般由大约300个氨基酸组成,分子量约为35 kDa,HD、LZ结构域位于蛋白质的中间(图1)。其HD结构域序列高度保守,而不同蛋白质的LZ结构域序列差异较大,

收稿日期: 2008-11-25 接受日期: 2009-05-31

国家自然科学基金资助项目(No.30871317)

\* 通讯作者。Tel/Fax: 027-67862443, E-mail: xbli@mail.ccnu.edu.cn

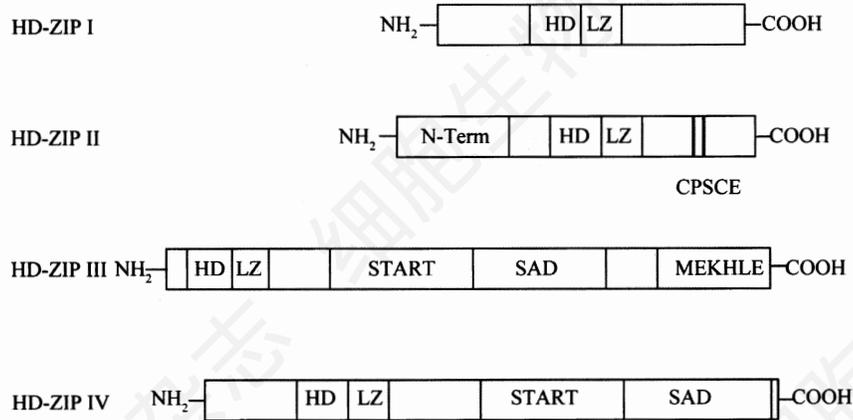


Fig.1 Schematic representation of the structural features of each HD-Zip subfamily<sup>[3]</sup>

N 末端和 C 末端的序列同源性很低<sup>[3]</sup>。

第 II 亚类 HD-Zip 转录因子与 HD-Zip I 具有很高的同源性,对 CAAT(G/C)ATTG 的双重对称 DNA 序列(HDE2 或 AH2)具有特异结合特性<sup>[3]</sup>。在拟南芥中有 9 个 HD-Zip II 基因,与 HD-Zip I 基因的结构不同,它们在 HD-LZ 结构域的编码区内一般包含两个内含子,分别插入在 HD 的第一个和第二个螺旋的编码区内<sup>[3]</sup>。除了高度保守的 HD 和 LZ 结构域外,HD-Zip II 蛋白在 LZ 的下游(即 C 末端)还有一个保守的半胱氨酸-脯氨酸-丝氨酸-半胱氨酸-谷氨酸(CPSCE)结构域(图 1),该结构域与细胞的氧化还原势有关<sup>[6]</sup>。I、II 亚类蛋白的 HD 结构域具有很高的序列同源性,均包含一个高度保守的色氨酸-苯丙氨酸-谷氨酰胺-天冬酰胺-精氨酸-精氨酸(WFQNRR)基序<sup>[7]</sup>,两者识别的靶 DNA 序列仅相差中央的一个核苷酸。这种与特定的 DNA 元件结合的特异性主要由 HD 结构域的第三个螺旋决定,但另外两个螺旋对这种结合也会产生一定的影响。将螺旋 3 中 Arg55 替换成 Ala55,则蛋白质不能与 DNA 结合。HD-Zip II 蛋白螺旋 3 中的 Glu46 和 Thr56 对该类蛋白质特异性识别 DNA 元件中央的 G/C 碱基对是必需的,而在 HD-Zip I 蛋白中,这两个氨基酸残基分别被 Ala46 和 Trp56 替代<sup>[3,7]</sup>。

在结构上,第 III 亚类 HD-Zip 蛋白与 I、II 亚类 HD-Zip 有很大差异,识别的 DNA 序列通常为 GTAAT(G/C)ATTAC。除了 HD-LZ 结构域,HD-Zip III 蛋白还包含一个类固醇敏感的脂质调节蛋白(steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain, START)结构域,START 后连有一个保守的 SAD 结构域(START adjacent domain, SAD);C 末端序列高度保守,含有一个甲硫氨酸-谷氨酸-赖氨酸-组氨酸-亮氨酸-丙氨酸(MEKHLA)结构域<sup>[3]</sup>。另外,在 HD 的螺旋 2 与螺旋 3 之间,螺旋 3 与 LZ 之间都至少插入了 4 个氨基酸。START 结构域约有 200 个氨基酸,它能够结合疏水小分子,如类固醇、磷脂、类胡萝卜素等,该结构在动物体内研究的比较透彻,START 结合胆固醇并将其从线粒体膜外运到膜内<sup>[8]</sup>。MEKHLA 结构域与细菌、绿藻的 MEKHLA 蛋白具有很高的同源性,系统分析表明,MEKHLA 基因可能从蓝细菌或早期的叶绿体转移到核基因组中,然后连接到第 III 亚类 HD-Zip 基因末端,该结构域可能与植物接收光信号调控有关<sup>[9]</sup>。

第 IV 亚类 HD-Zip 蛋白与 HD-Zip III 蛋白结构基本相同,也含有 HD、LZ、START 和 SAD 结构域,但缺少 MEKHLA 结构域,此外其 LZ 结构域中间插入了一个短环结构。该亚类的蛋白质能够与 DNA 序列 CATT (A/T) AATG 特异结合。由于在拟南芥中发现该亚类的成员 GLABRA2,所以该类蛋白质也被称为 HD-GL2 或简称 GL2<sup>[3,10]</sup>。

第 IV 亚类 HD-Zip 蛋白与 HD-Zip III 蛋白结构基本相同,也含有 HD、LZ、START 和 SAD 结构域,但缺少 MEKHLA 结构域,此外其 LZ 结构域中间插入了一个短环结构。该亚类的蛋白质能够与 DNA 序列 CATT (A/T) AATG 特异结合。由于在拟南芥中发现该亚类的成员 GLABRA2,所以该类蛋白质也被称为 HD-GL2 或简称 GL2<sup>[3,10]</sup>。

### 3 HD-Zip 的表达调控及功能

在植物中,HD-Zip 蛋白存在于各个组织/器官中,它们在高等植物的生长、发育、形态建成,以及生物和非生物胁迫等逆境应答中起着重要的调控作用,而且四个亚类的 HD-Zip 蛋白各自具有不同的功能。

#### 3.1 HD-Zip I

HD-Zip I 蛋白主要参与植物对非生物和生物环境因子的逆境应答反应、激素应答、光信号的应答以及器官的发育等过程的调控。在拟南芥中,编码 HD-Zip I 蛋白的基因有 17 个成员。ATHB13 参与蔗

糖信号转导途径的调控。过量表达 *ATHB13* 可以导致子叶和叶片的发育发生异常, 如叶片变窄, 叶柄与叶鞘连接处变得不明显等, 尤其是在含有可代谢蔗糖的培养基中生长时这种变化更加明显<sup>[11]</sup>。 *GmHZ1* 是大豆第 I 亚类 HD-Zip 蛋白, *GmHZ1* 的表达与植株的大豆花叶病毒(soybean mosaic virus, SMV)的抗性有关, 在易感染植株体中 *GmHZ1* 的表达增强, 但在有抗性的植株体内下调, *GmHZ1* 的高效表达对于 SMV 在植株体内的感染起始、积累和转运是必需的。在有抗性的植株体内可能存在一种机制能够降低 *GmHZ1* 的表达从而抑制 SMV 感染的起始。因此, *GmHZ1* 可能是植株在 SMV 感染应答中的转录激活因子<sup>[12]</sup>。 *ATHB6*、*ATHB7* 和 *ATHB12* 的表达受干旱和外源脱落酸(ABA)的影响, 在水分不足或 ABA 处理下其表达会上调, 同时 *ATHB7* 还受盐胁迫和渗透胁迫诱导, 而 *ATHB6* 受渗透胁迫诱导。利用激素突变体进一步研究发现, *ATHB6* 和 *ATHB7* 的表达主要依赖于 ABA 途径在转录水平上调节的, 同时它们在体内的活性还受到丝氨酸/苏氨酸磷酸酶(ABI1 和 ABI2)的调控<sup>[13,14]</sup>。 Himmelbach 等<sup>[15]</sup>通过对 *ATHB6* 的启动子表达进行分析, 发现 *ATHB6* 启动子的活性随着外源 ABA 浓度的升高而上升。但在 ABI1 蛋白缺失的情况下, 表现出对 ABA 不敏感。因此推断: ABA 和 ABI1 均可激活 *ATHB6* 启动子, *ATHB6* 可能是与特异的 ABA 信号通路匹配的主要开关。过量表达研究证实, *ATHB6* 是受 ABA 诱导表达的基因的负调控因子<sup>[14]</sup>。 *CpHB7* 是从一种复苏植物(*Craterostigma plantagineum*)中分离出的一个 HD-Zip I 类转录因子, 与植物器官的早期发育有关, 也受 ABA 调控。 *CpHB7* 作为一个负调控子, 调控 ABA 敏感基因的表达, 当其异位表达时导致植物气孔关闭, 种子在萌发过程中对 ABA 的敏感性降低<sup>[16]</sup>。本实验室最近从陆地棉中鉴定了一个 *GhHB1* 基因, 编码 HD-Zip I 类蛋白。该基因在棉花幼根中优势表达, 而且, 其表达活性也受盐胁迫和激素 ABA 的调控<sup>[17]</sup>。拟南芥中的 *ATHB53* 在根的发育过程中参与生长素/细胞分裂素的信号转导途径, 其表达受生长素诱导但是该诱导又被细胞分裂素抑制<sup>[18]</sup>。 *HAHB4* 是向日葵中的第 I 亚类 HD-Zip 蛋白, 在植物的发育过程中可能参与调控一些抗旱相关基因的表达。在拟南芥中过量表达 *HAHB4* 后, 转基因植株的茎和节间变短, 叶片也变圆, 花絮紧密; 转基因植株抗旱能力增强。对转基因拟南芥中 *HAHB4* 与 *GUS* 嵌合基因的表达进行研究, 发现在特

定的发育阶段, 报告基因的表达受到干旱和 ABA 的诱导<sup>[19]</sup>。

另外, *HAHB4* 参与光合作用相关基因的表达调控, 在黑暗条件下, *HAHB4* 的表达量上升, 但当给予光照后其表达迅即下降, 而且在植物体内过量表达 *HAHB4* 会使一些光合作用相关基因发生下调。如 *HAHB4* 在拟南芥中过量表达时编码叶绿素 a、叶绿素 b 的结合蛋白减少, 从而表现出植株缺少叶绿素的表型<sup>[20]</sup>。 *ATHB1* 是第一个从拟南芥中分离出的 HD-Zip I 类基因, 它主要参与调节叶片细胞分化。 *ATHB1* 在烟草中过量表达, 黑暗条件下培养转基因植株, 发现转基因烟草出现去黄化的现象, 子叶膨胀, 真叶生长发育, 下胚轴生长受到抑制; 在正常条件下生长的转基因植株, 叶片的栅栏薄壁组织的发育受到影响<sup>[21]</sup>。 *ATHB16* 在蓝光信号转导途径中发挥作用并且调控叶肉细胞的膨胀, 在野生型拟南芥的所有器官中均能检测到内源 *ATHB16* mRNA, 莲座叶中最多, 降低 *ATHB16* 的表达水平, 发现转基因植株的叶片变大, 但是形状没有变化, 而且, 转基因植株开花时间滞后。增加 *ATHB16* 的表达水平, 出现相反的现象。因此, 推测 *ATHB16* 可能是拟南芥叶片发育和开花时间的一个负调控子<sup>[22]</sup>。

*VAHOX1* 属于番茄中的第 I 亚类 HD-Zip 基因, 该基因在番茄的萼片中表达并且低温能够诱导其表达发生上调<sup>[23]</sup>。最近在大麦中分离出一个基因 *vrs1*, 该基因与大麦的六棱穗状花序有关, 通过图位克隆在二棱大麦中找到其等位基因 *Vrs1*, 该基因编码 HD-Zip I 类蛋白, 时间和空间特异表达证实, 在二棱大麦中 *Vrs1* 参与侧部小穗的发育, 其表达仅限于发育未成熟的侧部小穗原基中, *Vrs1* 功能缺失突变导致二棱大麦未发育的侧部小穗表现出发育丰满多产的表型<sup>[24]</sup>。

### 3.2 HD-Zip II

HD-Zip II 类基因的表达受光质条件调控, 这类转录因子与植物的器官发育和避荫反应以及激素应答有关。拟南芥第 II 亚类 HD-Zip 蛋白基因中有 9 个成员: *ATHB2/HAT4*, *ATHB4*, *HAT1~HAT3*, *HAT9*, *HAT14*, *HAT17* 和 *HAT22*<sup>[3]</sup>。拟南芥 *ATHB2* 的表达受到远红外光的调控, 并且它的功能与避荫反应有关。 *ATHB2* 是一个反馈调控基因, 它能够识别自己的启动子区域, 在过量表达植株中内源性表达受到抑制。最近, Ciarbelli 等<sup>[25]</sup>用高比例和低比例的红光/远红光(R/FR)以及生长素反应实验证实: *HAT1*、*HAT3*、*ATHB4* 和 *ATHB2* 的表达受光敏色素的控制,

低比例的 R/FR 使 *HAT2* 的表达上调。HAHB10 是向日葵第 II 亚类 HD-Zip 中的一员, 与 *ATHB2* 的结构极其相似, 表达模式也很相似, 都参与光照反应的调节, *HAHB10* 主要是在成熟的光合作用器官中表达, 在黄化幼苗中的表达高于光照条件下的幼苗<sup>[26]</sup>。Steindler 等<sup>[27]</sup>发现 *ATHB2* 的表达水平会影响生长素的信号途径, 抑制维管系统和侧根的形成, 同时抑制子叶伸展, 但能够促进下胚轴的伸长; 降低 *ATHB2* 的表达水平出现相反的表现型。赤霉素(gibberellin, GA)会使 *HAHB10* 的表达发生上调。在拟南芥中过量表达 *HAHB10* 发现转基因植株叶子的形状、颜色, 以及植株生长率、开花时间和生命周期都受到了影响, 用 GA 处理转基因植株之后, 又会恢复原状。这些结果说明 *HAHB10* 参与 GA 的转导途径<sup>[26]</sup>。*HAT2* 是一个植物生长素诱导基因, 该基因过量表达导致植株呈现出下胚轴增长, 子叶偏上性, 叶柄较长和叶片较小, 典型的生长素过量症状; 同时, 这些转基因植株的侧根长度明显缩短, 并且对生长素的敏感度明显降低。上述结果表明, 在生长素介导的器官发生的调控中, *HAT2* 在茎端和根尖组织中起着相反的作用<sup>[28]</sup>。

### 3.3 HD-Zip III

HD-Zip III 类蛋白主要参与顶端分生组织的分化、维管组织形成、生长素的极性运输、胚胎发育以及近轴区域侧部器官的发育等调控过程。拟南芥中此类蛋白质成员较少, 仅有 5 个: *ATHB8*, *REVOLUTA/IFL1/AVB1 (REV)*, *CORONA/ATHB15 (CAN)*, *PHAVOLUTA/ATHB9 (PHB)*, *PHABULOSA/ATHB14 (PHV)*<sup>[3]</sup>。功能缺失突变体的表现型分析说明 HD-Zip III 类蛋白在植物生长发育的过程中起着重叠、拮抗但又明显不同的功能<sup>[29]</sup>。

HD-Zip III 类蛋白是近几年来研究较多的一类转录因子。Prigge 等<sup>[29]</sup>发现在拟南芥的花序茎纵切面这 5 个基因均有表达, 只是 *PHV* 仅在髓细胞中微弱表达; 同时还发现 *phb phv cna athb8* 四突变体的表现型在叶片长度和茎高度方面都比 *phb phv can* 三突变体的略小, 说明在调控植株高度方面这几个基因功能相近。*PHB*、*PHV*、*REV* 和 *ATHB15* 调控茎顶端分生组织的分化和侧部器官的极性, *PHB* 和 *PHV* 的亲缘关系最近, 二者的功能也非常类似, 在胚胎发育后期茎顶端分生组织和花分生组织的起始、侧部器官的表达和分生组织大小的调控都需要 *PHB* 和 *PHV* 的参与。遗传分析表明, *REV*、*PHB* 和 *PHV* 在胚胎发生过程中的顶端左右对称和芽顶端分生组织的建立两

个过程中起着关键性的作用, 并且这 3 个基因有重叠的功能。同时 *REV* 还是侧生分生组织、花分生组织和不定枝形成的必需调控基因之一。在 *rev* 突变体中叶片、干细胞、维管束等的发育以及生长素的运输都发生了异常<sup>[29,30]</sup>。*rev* 显性功能获得突变植株茎中维管束呈辐射状, 木质部包围韧皮部, *phb phv cna* 功能缺失突变植株的维管表现型与上述 *rev* 显性功能获得突变植株的相似, 说明 *REV* 与 *PHB*、*PHV* 和 *CAN* 在调控维管发育过程中具有相反的功能<sup>[29,31]</sup>。*ATHB8* 主要在维管形成区域表达, 在维管分生组织中作为一种促进分化的转录因子发挥作用, 过量表达会导致木质素过多积累<sup>[33]</sup>。*ATHB15* 在侧生分生组织、花分生组织和髓细胞中均有表达, 在维管组织中的表达相对较高。在白杨的维管形成层和未成熟的次生木质部 *ATHB8*、*ATHB15* 和 *PHV* 均有表达, 表明这 3 个基因在次生维管的发育过程中起调控作用<sup>[32]</sup>。鱼尾菊中的 HD-Zip III 亚类基因 *ZeHB10~ZeHB12* 转录产物主要积累在原始形成层和未成熟的木质部细胞。*ZeHB12* 参与木薄壁细胞的特化过程, 调控木质部的形成。*ZeHB12* 过量表达会导致木薄壁细胞中木质素单体合成相关基因的表达上调。*ZeHB11* 参与侧生分生组织的形成, *ZeHB11* 过量表达会使植株侧部花序增多。*ZeHB10* 在木质素前体细胞中表达, 过量表达植株的维管束中管状分子增多, 说明 *ZeHB10* 参与调控木质素前体细胞中管状分子的形成<sup>[33]</sup>。*OSHB1~OSHB5* 是水稻 HD-Zip III 类转录因子, 与拟南芥中的 HD-Zip III 类转录因子具有很高的同源性, 其功能也极其相似, 也是在茎顶端分生组织区域特异表达, 调控叶原基的极性, 木质部维管束的形成, 叶片边缘的形态建成等。此外, 水稻中的 HD-Zip III 类转录因子依赖生长素调控叶片的起始。*OSHB1~OSHB4* 在茎顶端分生组织、叶原基的近轴细胞中、叶片边缘和维管组织的木质部组织中表达, 但是 *OSHB5* 仅在维管束的韧皮部表达<sup>[34]</sup>。

最近研究发现, *KANADI* 或 HD-Zip III 类基因的表达减弱会严重影响拟南芥的胚胎发生过程, HD-Zip III 类基因活性丧失后, 拟南芥的两侧对称结构也随之消失, 而 *KANADI* 基因过量表达可以削弱上述表现型, 说明在胚胎形成的过程中 *KANADI* 和 HD-Zip III 这两类基因存在拮抗作用<sup>[35]</sup>。另外, Pinon 等<sup>[36]</sup>研究发现 *PIGGYBACK (PGY)* 基因通过 HD-Zip III-*KANADI* 的相互作用调控叶片的发育。*PGY* 编码细胞质中的核糖体蛋白大亚基; *ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1)*

调控叶片的背腹性,属于MYB转录因子家族的成员。*asl pgy*双突变体的叶片近轴端出现十分明显的不规则突起,*REV*突变使上述表型增强,但是*KANADI*基因突变却能抑制上述表型。

另一项研究发现一种小亮氨酸拉链(little zipper, ZPR)类蛋白,这类蛋白质的LZ结构与HD-Zip III蛋白中的LZ结构相似。在拟南芥中ZPR过量表达导致的植株表型和HD-Zip III类转录因子表达下调的表型相似。深入研究发现,ZPR3可以通过LZ基序竞争性地与HD-Zip III类转录因子结合形成没有功能的异型二聚体来抑制HD-Zip III类转录因子的转录激活能力,从而反馈调控HD-Zip III类转录因子的活性<sup>[37,38]</sup>。

### 3.4 HD-Zip IV

HD-Zip IV类蛋白在植物的生长发育过程中参与根的发育和上皮细胞的分化,同时调节花色素苷的积累和毛状体的形成等。另外,生理条件可以改变HD-Zip IV类蛋白结合DNA的活性,如氧化还原势可改变这类蛋白质在植物体内的结合活性。

基因表达和启动子活性分析发现,所有的HD-Zip IV类基因都在植物器官的外层细胞特异表达。*GLABRA2/ATHB10*、*ATML1*和*PDF2*是最早研究的第IV亚类HD-Zip蛋白,它们调控外皮层中细胞的特异基因表达;*ATML1*和*PDF2*主要在发育着的胚胎的表皮原和茎顶端分生组织的外层表达。*atml1 pdf2*双突变体萌发后植株的叶片似乎没有表皮<sup>[39]</sup>。*HDG1/2/5/7/11/12*的启动子均在叶表皮中优势表达,值得注意的是*HDG2/5/9*在胚囊的合点表达并且抑制三个反足细胞的表达,受精后*HDG2/5/8*在胚乳中表达。*HDG*启动子在胚囊中指导特定类型细胞的基因功能表达为遗传控制胚囊形成和研究受精过程中不同细胞的功能提供了有利工具<sup>[10]</sup>。与野生型植株相比,*HDG11*过量表达植株的根系更发达,根的长度增长,侧根增多,叶片气孔密度减少,植株体内的ABA和脯氨酸含量增多,过氧化物歧化酶活性也增高,具有较高的抗氧化能力<sup>[40]</sup>。

*ANL2*影响叶表皮下层和表皮细胞中花青素苷的积累,该基因突变导致花青素苷减少,根表皮和皮层之间的细胞增多<sup>[41]</sup>。*HDG11*基因突变植株会出现叶表皮毛分歧增多的表型,这种现象在*hdg11 hdg12*双突变体中增强,因此说明这两个基因抑制表皮毛的过长生长。但是*hdg12*单突变体中没有上述表型,说明*HDG12*在调控表皮毛生长过程中起辅助作用,*HDG11*是*HDG12*的上位基因。*GL2*基因调

控根毛的特化和表皮毛的生长,*gl2*单突变表现根毛增多,无表皮毛的现象。在*gl2 hdg11*和*gl2 hdg12*双突变体中均有这种表型,说明*GL2*是*HDG11*和*HDG12*的上位基因<sup>[10]</sup>。最近,从二倍体棉花中分离出来两个HD-Zip IV类基因*GaHOX1*和*GaHOX2*,分析表明*GaHOX1*在棉花发育早期阶段在纤维细胞中优势表达,说明该基因可能参与棉纤维发育的调控;*GaHOX2*在纤维和胚珠组织中均有表达,包括珠被的内层和外层。*GaHOX1*在*GL2*启动子的控制下会使拟南芥*gl2-2*突变体的毛状体重新发育。另一方面,*GaHOX1*在花椰菜花叶病毒(Cauliflower mosaic virus, CaMV) 35S启动子的控制下,在野生型拟南芥中抑制毛状体的发育,如同*GL2*的异位表达。这表明在调控植物的毛状体的发育过程中*GaHOX1*和*GL2*具有相同的功能<sup>[42]</sup>。

## 4 HD-Zip 蛋白的进化

已经从多种植物中分离鉴定了HD-Zip蛋白,包括单子叶和双子叶植物、C3和C4植物。很多被鉴定的HD-Zip蛋白已经被深入研究,它们的结构和功能与模式植物中的HD-Zip蛋白存在很多相似之处。

HD-Zip类基因的不同亚类的数目因植物种类的不同而异,但是这些来自有完整基因组序列植物的基因没有明显差别。这些基因具有相同的内含子/外显子分布、氨基酸序列和表达模式。HD-Zip I亚类中每一个基因的异位表达都会产生不同的表型<sup>[5]</sup>。系统发生分析显示,无论单子叶还是双子叶植物,HD-Zip I类基因的进化速率都比HD-Zip II类基因的快。HD-Zip III类基因在维管植物出现之前已经发生分歧,这些基因的功能演化与种子植物适应性的进化密切相关。HD-Zip III类基因起初在苔藓类植物的单倍代的生长区域表达,这类基因的原始功能不包含器官的极性调控、分枝、分生组织的调控和维管组织的发育,随着植物的进化和对环境的适应,HD-Zip III类基因的功能也随之多样化,在陆生植物中参与植物生长的关键调控:维管组织和根的发育,侧生分支,顶端生长和次生长等多个方面<sup>[43]</sup>。系统发生分布状态和生理功能研究证实:随着生命的演化过程,原始的HD-Zip III类基因不断被修饰和多样化,所编码的HD-Zip III类蛋白的功能也随之多样化。拟南芥中多数的HD-Zip IV类基因形成平行进化同源基因对,通过与其他植物种的比较,这类基因当中有些基因的拷贝在裸子植物和被子植物分离之前已经出现。

EST数据库中记载的多数HD-Zip IV类基因在苔藓和维管植物分离之前就已经存在,通过对苔藓中这类基因的遗传分析,对于阐明每个基因的作用和功能有重要意义,并有助于检测它们在生物的进化过程中是否保留相似的功能<sup>[10]</sup>。

## 5 展望

近年来,对植物HD-Zip转录因子的研究已经取得了较大的进展。不仅在模式植物拟南芥中的研究比较深入,从其他植物中也分离得到了大量的HD-Zip基因并对它们的表达和功能作了详细的研究。HD-Zip转录因子的结构及其生理功能等的研究,为人们最终揭示植物发育和细胞分化的基因调控机制提供了线索。但是,还有必要进一步对调控HD-Zip类基因表达的外源因素和内源的上游信号、受其控制的下游功能基因及其参与的信号转导途径等方面进行深入研究。这些将有助于全面了解植物HD-Zip转录因子功能和活性的调节机制,对揭示植物的发育机制具有广泛和深远的影响。

## 参考文献(References)

- [1] Johannesson N, Wang Y, Engström P. DNA-binding and dimerization preferences of *Arabidopsis* homeodomain-leucine zipper transcription factors *in vitro*, *Plant Mol Biol*, 2001, 45(1): 63-73
- [2] 魏文辉, 宋运淳, 覃 瑞. 植物同源异型基因及同源异型盒基因的研究进展, *生物化学与生物物理进展*, 2000, 27(2): 136-139
- [3] Ariel FD, Manavella PA, Dezar CA, *et al.* The true story of the HD-Zip family, *Trends Plant Sci*, 2007, 12(9): 419-426
- [4] Chan RL, Gago GM, Palena CM, *et al.* Homeoboxes in plant development, *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1442(1): 1-19
- [5] Henriksson E, Olsson ASB, Johannesson H, *et al.* Homeodomain leucine zipper class I genes in *Arabidopsis*. Expression patterns and phylogenetic relationships, *Plant Physiol*, 2005, 139(1): 509-518
- [6] Tron AE, Bertoncini CW, Chan RL, *et al.* Redox regulation of plant homeodomain transcription factors, *J Biol Chem*, 2002, 277(38): 34800-34807
- [7] 沈文飏. 植物 HD-Zip 转录因子, *生命的化学*, 2003, 23(5): 387-389
- [8] Romanowski MJ, Soccio RE, Breslow JL, *et al.* Crystal structure of the *Mus musculus* cholesterol-regulated START protein 4 (StarD4) containing a StAR-related lipid transfer domain, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(10): 6949-6954
- [9] Mukherjee K, Bürglin TR. MEKHLA, a novel domain with similarity to PAS domains, is fused to plant homeodomain-leucine zipper III proteins, *Plant Physiol*, 2006, 140(4): 1142-1150
- [10] Nakamura M, Katsumata H, Abe M, *et al.* Characterization of the class IV homeodomain-leucine zipper gene family in *Arabidopsis*, *Plant Physiol*, 2006, 141(4): 1363-1375
- [11] Hanson J, Johannesson H, Engström P. Sugar-dependent alterations in cotyledon and leaf development in transgenic plants expressing the HDZip gene *ATHB13*, *Plant Mol Biol*, 2001, 45(3): 247-262
- [12] Wang YJ, Li YD, Luo GZ, *et al.* Cloning and characterization of an HDZip I gene *GmHZ1* from soybean, *Planta*, 2005, 221(6): 831-843
- [13] Söderman E, Mattsson J, Engström P. The *Arabidopsis* homeobox gene *ATHB-7* is induced by water deficit and by abscisic acid, *Plant J*, 1996, 10(2): 375-381
- [14] Söderman E, Hjellström M, Fahleson J, *et al.* The HD-Zip gene *ATHB6* in *Arabidopsis* is expressed in developing leaves, roots and carpels and up-regulated by water deficit conditions, *Plant Mol Biol*, 1999, 40(6): 1073-1083
- [15] Himmelbach A, Hoffmann T, Leube M, *et al.* Homeodomain protein *ATHB6* is a target of the protein phosphatase *ABI1* and regulates hormone responses in *Arabidopsis*, *EMBO J*, 2002, 21(12): 3029-3038
- [16] Deng X, Phillips J, Bräutigam A, *et al.* A homeodomain leucine zipper gene from *Craterostigma plantagineum* regulates abscisic acid responsive gene expression and physiological responses, *Plant Mol Biol*, 2006, 61(3): 469-489
- [17] Ni Y, Wang X, Li D, *et al.* Novel cotton homeobox gene and its expression profiling in root development and in response to stresses and phytohormones, *Acta Biochim Biophys Sin*, 2008, 40(1): 78-84
- [18] Son O, Cho HY, Kim MR, *et al.* Induction of a homeodomain-leucine zipper gene by auxin is inhibited by cytokinin in *Arabidopsis* roots, *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 326(1): 203-209
- [19] Dezar CA, Gago GM, Gonzalez DH, *et al.* *Hahb-4*, a sunflower homeobox-leucine zipper gene, is a developmental regulator and confers drought tolerance to *Arabidopsis thaliana* plants, *Transgenic Res*, 2005, 14(4): 429-440
- [20] Manavella PA, Dezar CA, Ariel FD, *et al.* The sunflower HD-Zip transcription factor *HAHB4* is up-regulated in darkness, reducing the transcription of photosynthesis-related genes, *J Exp Bot*, 2008, 59(11): 3143-3155
- [21] Aoyama T, Dong CH, Wu Y, *et al.* Ectopic expression of the *Arabidopsis* transcriptional activator *Athb-I* alters leaf cell fate in tobacco, *Plant Cell*, 1995, 7(11): 1773-1785
- [22] Wang Y, Henriksson E, Söderman E, *et al.* The *Arabidopsis* homeobox gene, *ATHB16*, regulates leaf development and the sensitivity to photoperiod in *Arabidopsis*, *Dev Biol*, 2003, 264(1): 228-239
- [23] Bartley GE, Ishida BK. Ethylene-sensitive and insensitive regulation of transcription factor expression during *in vitro* tomato sepal ripening, *J Exp Bot*, 2007, 58(8): 2043-2051
- [24] Komatsuda T, Pourkheirandish M, He C, *et al.* Six-rowed barley originated from a mutation in a homeodomain-leucine zipper I-class homeobox gene, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(4): 1424-1429
- [25] Ciarbelli AR, Ciolfi A, Salvucci S, *et al.* The *Arabidopsis* homeodomain-leucine zipper II gene family: diversity and redundancy, *Plant Mol Biol*, 2008, 68(4-5): 465-478

- [26] Rueda EC, Dezar CA, Gonzalez DH, *et al.* *Habb-10*, a sunflower homeobox-leucine zipper gene, is regulated by light quality and quantity, and promotes early flowering when expressed in *Arabidopsis*, *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(12): 1954-1963
- [27] Steindler C, Matteucci A, Sessa G, *et al.* Shade avoidance responses are mediated by the ATHB-2 HD-zip protein, a negative regulator of gene expression, *Development*, 1999, 126(19): 4235-4245
- [28] Sawa S, Ohgishi M, Goda H, *et al.* The *HAT2* gene, a member of the HD-Zip gene family, isolated as an auxin inducible gene by DNA microarray screening, affects auxin response in *Arabidopsis*, *Plant J*, 2002, 32(6): 1011-1022
- [29] Prigge MJ, Otsuga D, Alonso JM, *et al.* Class III homeodomain-leucine zipper gene family members have overlapping, antagonistic, and distinct roles in *Arabidopsis* development, *Plant Cell*, 2005, 17(1): 61-76
- [30] Otsuga D, DeGuzman B, Prigge MJ, *et al.* *REVOLUTA* regulates meristem initiation at lateral positions, *Plant J*, 2001, 25(2): 223-236
- [31] Zhong R, Ye ZH. Amphivasal vascular bundle 1, a gain-of-function mutation of the *IFLI/REV* gene, is associated with alterations in the polarity of leaves, stems and carpels, *Plant Cell Physiol*, 2004, 45(4): 369-385
- [32] Baima S, Possenti M, Matteucci A, *et al.* The *Arabidopsis* ATHB-8 HD-zip protein acts as a differentiation-promoting transcription factor of the vascular meristems, *Plant Physiol*, 2001, 126(2): 643-655
- [33] Ohashi-Ito K, Kubo M, Demura T, *et al.* Class III homeodomain leucine-zipper proteins regulate xylem cell differentiation, *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(10): 1646-1656
- [34] Itoh J, Hibara K, Sato Y, *et al.* Developmental role and auxin responsiveness of class III HD-Zip gene family members in rice, *Plant Physiol*, 2008, 147(4): 1960-1975
- [35] Izhaki A, Bowman JL. KANADI and class III HD-Zip gene families regulate embryo patterning and modulate auxin flow during embryogenesis in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 2007, 19(2): 495-508
- [36] Pinon V, Etchells JP, Rossignol P, *et al.* Three *PIGGYBACK* genes that specifically influence leaf patterning encode ribosomal proteins, *Development*, 2008, 135(7): 1315-1324
- [37] Wenkel S, Emery J, Hou BH, *et al.* A feedback regulatory module formed by *LITTLE ZIPPER* and *HD-ZIPIII* genes, *Plant Cell*, 2007, 19(11): 3379-3390
- [38] Kim YS, Kim SG, Lee M, *et al.* HD-ZIP III activity is modulated by competitive inhibitors via a feedback loop in *Arabidopsis* shoot apical meristem development, *Plant Cell*, 2008, 20(4): 920-933
- [39] Abe M, Katsumata H, Komeda Y, *et al.* Regulation of shoot epidermal cell differentiation by a pair of homeodomain proteins in *Arabidopsis*, *Development*, 2003, 130(4): 635-643
- [40] Yu H, Chen X, Hong YY, *et al.* Activated expression of an *Arabidopsis* HD-START protein confers drought tolerance with improved root system and reduced stomatal density, *Plant Cell*, 2008, 20(4): 1134-1151
- [41] Kubo H, Peeters AJ, Aarts MG, *et al.* *ANTHOCYANINLESS2*, a homeobox gene affecting anthocyanin distribution and root development in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 1999, 11(7): 1217-1226
- [42] Guan XY, Li QJ, Shan CM, *et al.* The HD-Zip IV gene *GaHOX1* from cotton is a functional homologue of the *Arabidopsis* *GLABRA2*, *Physiol Plant*, 2008, 134(1): 174-182
- [43] Sakakibara K, Nishiyama T, Kato M, *et al.* Isolation of homeodomain-leucine zipper genes from the moss *Physcomitrella patens* and the evolution of homeodomain-leucine zipper genes in land plants, *Mol Biol Evol*, 2001, 18(4): 491-502

## Progress in HD-Zip Transcription Factors of Plant

Yong-Fang Qin, Deng-Di Li, Xue-Bao Li \*

(Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology, College of Life Sciences, Huazhong Normal University, Wuhan 430079, China)

**Abstract** Homeodomain-leucine zipper (HD-Zip) proteins, which display the singular combination of a highly conserved homeodomain and a leucine zipper acting as a dimerization motif, are transcription factors unique to plants. They are involved in a large number of processes (such as vascular development, organ formation, meristem maintenance, stress response, etc) in plants. Based on their four distinguishing characteristics (DNA-binding specificities, gene structures, additional conserved motifs and functions), HD-Zip family can be divided into four subfamilies. In this review, recent progress in studying the function of HD-zip proteins was summarized.

**Key words** HD-Zip transcriptional factor; protein structure; classification; functions

Received: November 25, 2008 Accepted: May 31, 2009

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30871317)

\*Corresponding author. Tel: 86-27-67862443, Fax: 86-27-67862443, E-mail: xbli@mail.ccnu.edu.cn