

不同光敏色素分子的特异感光性 Q 945.43

王伟, 崔红

(厦门大学生物学系, 福建厦门 361005)

摘要: 简要综述两种光敏色素 (PhyA、PhyB) 的分子特性、感光性及作用模式等方面的研究进展。光敏色素是一种调节植物中许多光反应的色素蛋白复合体。不同光敏色素分子具有特异的感光性。PhyA 负责‘甚低辐照反应’和远红光‘高辐照反应’; 而 PhyB 则调节‘低辐照反应’及红光‘高辐照反应’。另外, 讨论了 PhyA 和 PhyB 在光周期感受中的作用。

关键词: 光敏色素; 感光性; 光调节; 生长发育。植物, 光周期

中图分类号: Q945.43 **文献标识码:** A

Specific photoperception of different phytochrome molecules

WANG Wei, CUI Hong

(Department of Biology, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Recent advances in elucidating the properties, photoperception and action models of two phytochrome molecules (PhyA and PhyB) were briefly described. Phytochrome is a chromoprotein that regulates many light responses in plants. Individual phytochromes have specific photoperception functions. PhyA is responsible for a ‘very low fluence response’ and far-red-light ‘high irradiance response’, whereas PhyB is necessary for a ‘low fluence response’ and red-light ‘high irradiance response’. The roles of PhyA and PhyB in photoperiodic photoperception were discussed, too.

Key words: Phytochrome; photoperception; light regulation; growth and development

光对植物的生长发育具有重要的调节作用。植物通过监测光波长、辐照度 (fluence) 的变化调节其生长、繁殖, 以适应不断变化的环境条件。其中涉及的主要的光受体包括: 光敏色素 (phytochrome)、蓝光受体、UV-A 受体和 UV-B 受体^[1]。光敏色素是 Butler 等在 1959 年发现的参与红光(R)-远红光(FR)可逆反应的光受体^[2], 迄今对其性质了解的最清楚。在植物生活周期中, 从种子萌发、幼苗发育、营养生长, 直到开花控制, 光敏色素均起着关键性作用^[1]。根据光照处理的辐照度和时间安排, 依赖光敏色素的反应分为两大类: 诱导反应 (induction response) 和高辐照反应 (high

收稿日期: 1999-04-07

作者简介: 王伟 (1965-), 男, 博士, 从事植物生理及分子生物学、发育生物学研究。

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 39800087) 资助项目

irradiance response, HIR)^[3]。前者可进一步分为: 低辐照反应 (low fluence response, LFR) 和甚低辐照反应 (very low fluence reaction, VLFR)。VLFR 可被辐照度低至 0.1 nmol m^{-2} 的光照引发, 而 LFR 需要的辐照度则大于 $1 \mu \text{ mol m}^{-2}$, 提高了 4 个数量级。HIR 被延长或连续照射引起, 需要几小时光照、辐照度超过 10 mmol m^{-2} 。尽管长期以来对 VLFR 和 HIR 是否由光敏色素的作用所致一直存在疑问, 但近年来利用拟南芥光敏色素缺失突变体的实验表明, 它们确实受光敏色素的介导^[4]。

由于研究手段和认识的局限性, 过去认为 VLFR、LFR 和 HIR 均是由一种类型的光敏色素调节的, 事实上, 高等植物中存在至少两种类型的光敏色素, 它们有着不同的感光性及生理功能^[5,6]。目前的一些专论^[7,8]对光敏色素感光性尚涉及不多。因此, 本文对光敏色素研究领域的‘热点’问题之一: 不同光敏色素的感光性、作用模式以及特异感光性决定的生理功能简要综述。

1 光敏色素的分子特性

近年来光谱学、免疫化学和分子生物学的研究表明, 高等植物中存在至少二种光敏色素类型, 即光敏色素 I 和 II。I 型是人们原来所熟悉的, 主要存在于黄化组织中的光敏色素, 它在黑暗中合成, 在光下迅速降解; II 型则是光稳定的, 呈组成性合成, 主要存在于绿色组织中^[5]。它们的主要特性见表 1。

进一步研究证明, 被子植物中光敏色素基因是以多基因家族形式存在的^[9,10]。目前对 *PHYA* 基因的结构、表达调控的研究最深入, 编码产物 (PhyA) 为光不稳定的, 这样 PhyA 就是主要的光敏色素 I。其他的光敏色素基因 (*PHYB*~*PHYE*) 编码的光敏色素 (如 PhyB、PhyC) 则具有 II 型的特性, PhyB 是主要的光敏色素 II^[5]。实际上, PhyA、PhyB 同时存在于植物幼嫩细胞中, 只不过表达强度不同, 例如光下生长幼苗的绿色叶片中也存在低水平的 PhyA^[11,12], 它们的吸收光谱也相似, 在顺序吸收 R、FR 后, 均可在 Pr (R 吸收型) 和 Pfr (FR 吸收型) 间相互转变^[5,6]。光敏色素的感光性正是基于这种独特的光致互变的能力。一般认为 Pfr 具有生理活性, 它引起广泛的分子、细胞及发育反应^[7,8]。

2 光敏色素的感光特性

2.1 诱导反应 迄今, 没有一种技术可用于离体测定每种光敏色素的比活性, 只能通过活体分析其活性。由于两种光敏色素在任何植物组织中均表达, 实际上, 活体测定也很难进行^[5,8,11]。过去报道的一些“个别光敏色素的效应”可能是至少两种光敏色素共同作用的结果。因此, 研究每种光敏色素诱导反应的重要前提是, 确定一种实验系统, 其中只有单一的光敏色素起作用, 并可以被检测。

这方面的较好例子是种子萌发的光诱导, 在拟南芥休眠种子吸胀后, PhyB 是光可逆调节种子萌发的首要的光敏色素; 即使 PhyA、PhyC、PhyD 或 PhyE 存在 (以 Pfr 形式), 它们均不能诱导种子萌发^[13]。有意思的是, 暗吸胀 48 h 后, 野生型种子在辐照度非常低的光下仍能萌发 (VLFR), 这是因为长期使种子暗吸胀会导致很多 PhyA 积累; 相反, *PHYA* 突变体的种子则不呈现这种对光高度敏感的反应, 暗示 PhyA 可能是介导 VLFR 的光受体, PhyB 并不干涉该系统中 PhyA 的作用 (反之亦然)。利用拟南芥野生型、*PHYA* 和 *PHYB* 无效突变体的上述系统首次确定了 PhyA、PhyB 专

表 1 光敏色素 I 和 II 的主要特性

Table 1 The main properties of phytochrome I and II

特性 Property	I	II
分光光度特性		
吸收光谱	光可逆	光可逆
Pfr 稳定性	光不稳定	光稳定
Pfr 暗分解	快速	很慢
Pfr 转变为 Pr	快速	体外诱导
生化特性		
脱辅基蛋白质的生物合成	黑暗中	组成性
亚基	同二聚体	未知
生色团	Phytochromobilin	未知
遗传特性		
基因家族	<i>PHYA</i>	<i>PHYB</i>

—诱导种子萌发的作用光谱^[14]。在光照很弱 ($1\sim 1\,000\text{ nmol m}^{-2}$)、但光谱范围很宽 ($300\sim 700\text{ nm}$) 的 PhyA 诱导的种子萌发过程中, 未观察到光可逆现象, 并且, PhyA 的作用光谱与提纯 PhyA 的 Pr 形式 (PhyA_r) 的吸收光谱非常吻合, 说明 PhyA_r 对光的吸收是 VLFR 的主要模式。这种 PhyA 专一的诱导反应是植物中最光敏的反应之一。

相反, PhyB 诱导休眠种子在 $10\sim 1\,000\ \mu\text{mol m}^{-2}$ 的 R ($550\sim 690\text{ nm}$) 照射下萌发, 且该过程光可逆, 可被辐照度相近的 FR ($700\sim 800\text{ nm}$) 所阻止^[14]。PhyB 反应的作用光谱与 1952 年 Borthwick 等^[2] 报道的 R、FR 对莴苣种子萌发可逆效应的光谱很相象, 说明 PhyB 是负责 R/FR 可逆的 LFR 的主要光受体。因此, 尽管离体光谱特性非常相似, 但 PhyA 和 PhyB 的光感知特性却相当不同。

2.2 高辐照反应 这种光敏色素反应在连续辐照下呈最大效应, 与波长、辐照度、曝光时间等密切相关^[4]。对于大多数双子叶植物黄化苗, 连续 FR 处理对伸长生长造成强烈抑制, 并常伴随花色素苷合成增加, 反应程度严格地依赖辐照度, 该反应称为 FR-HIR。在白光下 2~3 d 后, 随着幼苗去黄化过程的进行, 连续 R、FR 的相对效应明显地变化, 从连续 FR 对伸长生长具有最大抑制作用转变为连续 R 具有最大效应。显然, 这种 R-HIR 是与 FR-HIR 不同的反应模式^[4,14]。通常以双子叶植物 (如拟南芥、番茄) 黄化苗下胚轴伸长作为研究 HIR 的实验系统。

最初发现拟南芥 *hy3* 突变体和黄瓜 *lh* 突变体在感受连续 R 后, 与正常植株相比有着伸长的下胚轴, 进一步分析表明, 它们缺乏 PhyB, 但具有正常的 PhyA、PhyC (可能也包括 PhyD、PhyE) 水平。序列测定证实 *hy3* 的位点就是 PhyB 的结构基因, 说明 PhyB 控制这种 R-HIR^[16]。相反, PhyA 则调节 FR-HIR, 在黄化苗中表现为下胚轴伸长的被抑制和子叶伸展的增强^[6]。严重缺乏光活化 PhyA 的拟南芥 *hy1*, *hy2*, *hy6*, *hy8* 突变体和番茄 *au* 突变体, 对连续 FR 不敏感, 下胚轴明显伸长。另外, PhyA 超表达的转基因植株完全去黄化后, 仍有 FR-HIR 效应, 而 PhyB 超表达的植株则没有。更有说服力的是, 在选择性缺乏 PhyA 的 *hy8* 中发现, *hy8* 的基因座就是 PhyA 的结构基因^[17]。这些结果充分地说明 PhyA 具有调节 FR-HIR 的性质。

3 光敏色素作用模式

3.1 结构或构型假说 突变发生 (mutagenesis) 确定了活体中光敏色素调节活性所必需的序列位于多肽链两端的 110 个残基内。位于 N-端的结合生色团的 53~616 残基内的一个亚结构域似乎携带着与下游信号中间体的作用位点。结构域交换 (domain swapping) 实验^[6] 说明, PhyA 的 N-端结构域与 PhyB 的 C-端结构域融合后, 该嵌合体就完全具有感受连续 FR 的能力。相反, PhyA 的 C-端结构域则不能把感受连续 FR 的能力传给 PhyB 的 N-端结构域。缺乏分析也表明, PhyA N-端的 52 个残基对其感知连续 FR 的能力是不可缺少的, C-端结构域可能携带着光敏色素行使调节功能所必需的决定因子, 且 PhyA、PhyB 的决定子可能是相同的。Quail 等^[6] 因此提出 HIR 感光性的一种模式: PhyA、PhyB 感光性主要取决于生色团所在的 N-端结构域, 其序列差异决定了它们对连续 FR、R 的特异光感受特性; PhyA、PhyB 作用的主要生化机制可能是相同的。

生化和生物物理实验说明, 提纯的 PhyA、PhyB 均形成二聚体; 它们在活体内也以二聚体形式存在。基于这些资料, Furuya 等^[3] 提出光诱导反应作用模式的构型假说: 光可逆的 VLFR 是 PhyA 作用的结果, 很可能 PhyA 结合成异二聚体 PhyA_rPhyA_r, 诱导反应; LFR 源于 PhyB 的作用, PhyB 信号只有在同二聚体 PhyB_rPhyB_r 时是‘开启’的, 在 PhyB_rPhyB_r 时是‘关闭’的; 而异二聚体则不能开启或关闭 PhyB 信号。由于异二聚体具有构型不稳定性, 易发生暗逆转, 同二聚体则较

稳定,因此,该假说可以说明 PhyA、PhyB 介导反应的敏感性的极端差异,依赖 PhyA 反应的非光逆转性,以及 PhyB 介导反应的的光可逆性。

3.2 组织(空间)特异性表达 关于光敏色素作用的多样性除可以部分地用个别成员的特异感光性(表2)解释外, Furuya^[5]曾提出一个颇吸引人的假说,即不同的光敏色素在不同部位(器官、细胞甚至亚细胞水平)起作用,从而控制不同的反应。不久前, Nagatani^[11]重申了上述观点,然而,迄今支持该假说的直接证据并不多。

最近, Okamoto 等^[18]利用原位杂交发现, *Adiantum*(铁线蕨)幼叶中光敏色素(PHY1)的表达具有空间特异性,在叶柄远轴端的细胞中占优势地表达。该结果或许能够解释光敏色素阻止远轴端细胞伸长的作用,即在 *Adiantum* 叶柄远轴端细胞中光敏色素的合成使这些细胞的生长减缓,于是远、近轴端细胞呈现差速生长。类似地,水稻中胚轴细胞伸长受抑制是由于光敏色素降低了对赤霉素的敏感性。目前对其他光敏色素(如 PhyB)在活体中的分布尚无系统的资料。鉴于 PhyA、PhyB 往往参与调节同一种生理现象,如种子萌发、下胚轴伸长、开花诱导等,它们在植株内表现类似的分布并不奇怪。但是,不同光敏色素的差异分布可能表现在尚未分析到的更精细的水平(如亚细胞水平)上^[11]。

4 光周期反应

在光周期反应中,至少涉及 LFR(R/FR可逆)和 HIR 两种类型的光敏色素作用^[4]。早期的生理实验揭示,有两种 Pfr 稳定性不同的光敏色素库参与光周期诱导开花。用短日植物(SDP)藜进行的经典实验可以充分地说明这一点。那么, Pfr 稳定性不同的 PhyA、PhyB 是否对应于光周期诱导中需要的两种光敏色素库呢?

尽管上述问题尚未阐明,但目前普遍认为, PhyB 参与需要稳定 Pfr 的反应^[8,19]。SDP 的光周期诱导与存在功能性的 PhyB 密切相关, PhyB 可能通过经典的 R/FR 可逆的 LFR 感受短日(SD)信号^[4,5]。高粱 *ma3^R* 突变体对光周期不敏感,开花比野生型显著提前,后来发现在调节高粱开花的光周期反应敏感性的6个基因中,有一个基因(*ma3*)就是编码 PhyB 的^[20]。

至少在长日植物(LDP)中, PhyA 在光周期感受的作用已为人们注意。与野生型或 *PHYB* 突变体相比,生长在 SD 下的拟南芥 *PHYA* 突变体感知夜间中断(1h白光)的能力明显减弱。类似地,在 SD 下, *PHYA* 突变体也不能感知低辐照 FR 或白光的延长光期(8h日光+8h低辐照度白炽光),于是开花时间比野生型显著推迟,说明 PhyA 可能是感受延长光照信号所必需的^[16,21]。这与在其他 LDP 中的研究结果非常吻合。对光下生长小麦 PhyA 动力学变化的研究也说明, PhyA 和小麦的光周期诱导开花有关^[22]。另外,两种同基因型大麦品种对光周期、FR 敏感性的不同与 PhyA 含量的差异有关。因此,至少 LDP 光周期感受机制的一部分是由 PhyA 介导的,并具有 HIR 的特征。

关于 PhyA 在 SDP 光周期诱导中的作用仍未阐明。最近,我们在光敏核不育水稻中的研究说明, PhyA 在暗期中的显著增加可能是诱导育性转变的光周期反应所必需的^[12,23]。

5 结束语

自从发现光敏色素多基因家族存在以来,不同光敏色素分子的特异感光性及其生理功能一直是该

表2 光敏色素在幼苗不同发育阶段的作用

Table 2 The effects of phytochromes on different development stages of seedling

发育阶段	功能性光敏色素	现象
休眠种子	PhyB	暗萌发
吸胀种子	PhyA, PhyB	光诱导萌发
幼苗(暗中生长)	PhyA, PhyB	去黄化
	PhyA, PhyB	<i>cab</i> 基因表达
幼苗(光下生长)	PhyB, PhyD	茎伸长
生殖	PhyB, PhyD(?)	光周期诱导开花

研究领域的‘热点’问题, 并取得了实质性的进展。然而, 对光信号的感受只是光敏色素信号链的第一步反应, 目前仍有许多问题或细节不清楚。例如, PhyA、PhyB 的生物物理、生物化学性质是否相同(似), 直接接受光敏色素信号(Pfr)的中间体的性质, 植株内复杂的光信号传递网络的调节与协作等, 在未来一段时期内, 对 PhyA、PhyB 感光性机制的深入研究仍是该领域的重点之一。另外, 其他光敏色素分子(如在拟南芥发育后期起作用的 PhyD, 见表 2)的感光性也值得重视。

作者感谢中国科学院植物研究所童哲教授审阅本文, 并提出宝贵意见。

参考文献:

- (1) Kendrick R E, Kronenberg G H M eds. *Photomorphogenesis in Plants* (2nd edn) [M]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994
- (2) Butler W L, Hendricks S B, Siegelman H W *et al.* Detection, assay, and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1959, 45: 1703~1708
- (3) Furuya M, Schafer E. Photoperception and signalling of induction reactions by different phytochromes. [J]. *Trend Plant Sci*, 1996, 1 (9): 301~307
- (4) Smith H. Physiological and ecological function within the phytochrome family [J]. *Annu Rev Plant Physiol plant Mol Biol* 1995, 46: 289~315
- (5) Furuya M. Phytochromes: their molecular species, gene families, and functions [J]. *Annu Rev plant Physiol Plant Mol Biol*, 1993, 44: 617~645
- (6) Quail P H, Margaret T B, Parks B M *et al.* Phytochromes: photosensory perception and signal transduction [J]. *Science*, 1995, 268 (5211): 675~680
- (7) 顾雪松, 陈章良, 朱玉贤. 光敏色素与光调控 [J]. *植物学报*, 1997, 39 (7): 675~681
- (8) 童 哲. 光敏色素的作用及其分子基础 [A]. 见: 余叔文主编. *植物生理学与分子生物学*. 北京: 北京出版社, 1992. 270~287
- (9) Sharrock R A, Quail P H. Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family [J]. *Genes Dev*, 1989, 3: 1745~1757
- (10) Clack T, Mathews S and Sharrock R A. Five genes encode the phytochrome apoprotein family in *Arabidopsis*: the sequences and expression of PHYD and PHYE. [J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 25: 413~427
- (11) Nangatani A. Spatial distribution of phytochrome [J]. *J Plant Research*, 1997, 110 (1097): 123~130
- (12) 王 伟, 洪 宇, 童 哲等. 光周期对光敏核不育水稻光敏色素A含量及其mRNA丰度的影响 [J]. *植物学报*, 1997, 39 (10) 914~921
- (13) Shinomura T, Nagatani A, Elich T D *et al.* The induction of seed germination in *Arabidopsis thaliana* is regulated principally by phytochrome B and secondarily by phytochrome A [J]. *Plant Physiol*, 1994, 104 (2): 363~371
- (14) Shinomura T, Nagatani A, Hanzawa H *et al.* Action spectra for phytochrome A- and B-specific photoinduction of seed germination in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93 (15): 8129~8133
- (15) Mancinelli AN L. The physiology of phytochrome action [A]. In: Kendrick R E, Kronenberg G H M Eds. *Photomorphogenesis in Plants* (2nd edn). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994, 211~270
- (16) Reed J W, Nagatani A, Elich T D *et al.* Phytochrome A and phytochrome B have overlapping but distinct functions in *Arabidopsis* development [J]. *Plant Physiol*, 1994, 104 (4): 1139~1149
- (17) Dehesh K, Franci C, Parks B M *et al.* *Arabidopsis hy8* locus encodes phytochrome A [J]. *Plant Cell*, 1993, 5 (9): 1081~1088
- (18) Okamoto H, Silveerthorn J, Wada M. Spatial patterns of phytochrome expression in young leaf of the fern *Adiantum capillus-veneris* [J]. *Plant Cell Physiol*, 1997, 38 (12): 1397~1402
- (19) Vince-Prue D. The duration of light and photoperiodic responses [A]. In: Kendrick R E, Kronenberg G H M Eds. *Photomorphogenesis in Plants* (2nd edn). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994, 447
- (20) Childs K L, Cordonnier-Pratt M, Pratt L H *et al.* Genetic regulation of development in sorghum bicor. VII. *nu3^h* flowering mutant lacks a phytochrome that predominates in green tissue [J]. *Plant Physiol*, 1992, 99 (2): 765~770
- (21) Bagnall D J, King R W, Whitelam G C *et al.* Flowering responses to altered expression of phytochrome in mutants and transgenic lines of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh [J]. *Plant Physiol*, 1995, 108 (4): 1495~1503
- (22) Carr-Smith H D, Johnson C B, Plumpton C *et al.* The kinetics of type 1 phytochrome in green, light-grown wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Planta*, 1994, 194 (1): 136~142
- (23) Wang Wei (王 伟). Effect of end-of-day far-red exposures on fertility alteration and flowering in photoperiod-sensitive genic male-sterile rice [J]. *J Plant Research*, 1998, 111 (1103): 467~469