

综述 ·

植物冷驯化相关信号机制

夏金婵, 吕 强, 郭梅芳, 何奕昆*

(首都师范大学生命科学学院, 北京 100037)

摘要 植物经过非致死温度的处理可以获得更强的抗冷能力叫做冷驯化, 主要包括寒驯化和冻驯化。在冷驯化过程中, 质膜首先感受冷信号, 调节胞质中 IP_3 的含量, 诱导胞质 Ca^{2+} 浓度的升高, 从而激活 *CBF* 基因的表达。至今已经克隆了大量的冷调控基因, 组成了复杂的信号传导网络, 其中 *ICE1*-*CBF*-*COR* 通路在植物的冷驯化过程中起到重要的作用。*ICE1* 基因编码一个 MYB 类型的碱性螺旋-环-螺旋(bHLH)转录因子, 在上游调节 *CBF* 和其它转录因子的表达, 提高抗冷性。*HOS1* 蛋白通过泛素化介导的蛋白降解负调控 *ICE1*, 另外, *CBF* 还通过转录的自我调控保持恰当的表达水平。基因的分析研究证明, RNA 修饰和核质转运在植物的抗冷过程中也具有重要作用。在不依赖于 *CBF* 的途径中, 转录因子 *HOS9* 和 *HOS10* 在调节抗冷有关基因的表达和提高抗冷能力方面具有至关重要的作用。

关键词 植物; 冷驯化; *CBF*/*DREB*; 转录因子

中图分类号 Q78

Cold Acclimation of Higher Plants

XIA Jin-Chan, LÜ Qiang, GUO Mei-Fang, HE Yi-Kun*

(College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100037, China)

Abstract Cold acclimation, including cool acclimation and freezing acclimation, is a process through which certain plants increase their freezing tolerance after being exposed to chilling temperature. Plant cells can sense cold stress at the cell membrane, then increase cytosolic Ca^{2+} and trigger the expression of *CBFs* during cold acclimation. Many of the *CBF* genes have been identified and isolated. They participate in a complex regulatory network, among which the *ICE1*-*CBF*-*COR* takes an important role in the signal transduction regulatory processes. *ICE1* encodes a MYC-type basic helix-loop-helix transcription factor and is able to activate the expression of *CBFs* and other regulon by binding to MYC cis-element to its promoter upon cold stress. Protein ubiquitination in cold stress response is also known to regulate the expression of *CBF* upstream regulon. Ubiquitinated *ICE1* by *HOS1* is targeted for proteosomal degradation. *HOS9* and *HOS10* play important roles in the regulation of cold-responsive genes by a *CBF*-independent pathway. The expression levels of *CBFs* are self-regulated for their optimized transcription. Moreover, genetic analyses have revealed that the RNA processing and the nucleocytoplasmic transport of *CBFs* played crucial roles in the responses of plants to cold stress.

Key words plant; cold acclimation; *CBF*/*DREB*; transcription factor

低温是植物经常遭受的一种逆境胁迫。它限制作物的产量, 影响植物的自然分布。剖析植物对低温的应答机制、提高其抗低温能力在农业生产上有重要意义。为了适应和抵抗低温胁迫, 植物在长期进化过程中形成了“冷驯化”(cold acclimation) 应答保护机制: 植物经过非致死温度的处理可以获得更强的抗冷能力叫做冷驯化。冷驯化又可细分为寒驯化(cold acclimation), 喜温植物在中度低温 10~12 环

收稿日期: 2007-09-18; 接受日期: 2007-12-12

国家自然科学基金资助(NO. 30328003)和北京市教委科技发展计划面上项目(NO. 2007CB948200)

*联系人 Tel: 010-68902375; E-mail: yhe@mail.cnu.edu.cn

Received: September 18, 2007; Accepted: December 12, 2007

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30328003) and General Program for Science and Technology Commission Foundation of Beijing (No. 2007CB948200)

*Corresponding author Tel: 010-68902375;

E-mail: yhe@mail.cnu.edu.cn

境中的冷驯化)和冻驯化(freezing acclimation,植物在0℃以上环境中的冷驯化)。目前,通过各种筛选和克隆的方法已得到一系列与冷驯化信号途径相关的基因。例如: *CBF*, *COR*, *KIN*, *LTI* 或 *RD* 基因。对这些基因的分选和功能分析为我们绘出了植物冷驯化信号通路的大致轮廓。

1 第二信使 Ca^{2+}

在脱落酸(abscisic acid, ABA)非依赖冷驯化信号传导过程中,细胞首先通过膜的流动性和蛋白构象的变化感受冷信号,并且激活 Ca^{2+} 通道,诱导胞质 Ca^{2+} 的瞬时增加,上调冷驯化信号途径中 *CBF* 和 *COR* 基因的表达^[1,2]。拟南芥中与冷、ABA 信号有关的 *fry1* 基因编码多磷酸肌醇 1-磷酸,可使 1,4,5-三磷酸肌醇(IP_3)脱磷酸,负调控细胞中 IP_3 的水平。在冷或 ABA 胁迫下 *fry1* 突变体中积累较多的 IP_3 ,并且持续保持较高水平的 IP_3 含量,因此比野生型中更加强烈地诱导 *COR* 基因(*RD29A*, *KIN1*, *COR15A*, *COR47A* 和 *ADH*)的表达,而野生型中 IP_3 含量的升高是瞬间的^[3]。*hos2* 突变体是由 *FRY1* 蛋白的单个氨基酸被置换所生成的,在冷胁迫下突变体中 *COR* 基因的表达显著高于野生型,而对 ABA 没有反应^[4]。而且,拟南芥的 *Cax1* (calcium exchanger 1)突变体的液泡上缺少 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ 反向运输,从而导致 *CBF* 和 *COR* 基因的高表达提高抗冷能力^[5]。这些结果暗示,在冷信号传导过程中, IP_3 作为重要的信号分子介导细胞内钙库储存的 Ca^{2+} 释放到胞质,从而调控 *CBF* 和 *COR* 基因的表达。

冷驯化可以诱导 ROS(例如 H_2O_2) 的产生。ROS 可能影响 Ca^{2+} 信号,激活有丝分裂原激活的蛋白激酶(MAPK)和氧化反应转录因子。*FRO1* 基因编码线粒体中电子传递链复合物 1(NADH 脱氢酶)的 Fe-S 亚单位(非生物胁迫下一个可能的 ROS 的产生位点)。因此, *fro1* 突变体中累积了较多的 ROS,在没有冷的胁迫下 *fro1* 突变体中高水平的 ROS 激活 Ca^{2+} 信号,使细胞对冷诱导的钙信号不敏感,导致 *COR* 基因的下调,降低冷驯化^[6]。在 ABA 依赖的冷驯化信号传导过程中,ABA 作为第二信使传导冷信号在 *los5* 突变体中部分的得到证明。在冷处理下, *los5* (ABA 合成缺陷)降低了 *COR* 基因的诱导表达水平,所以不能抵抗低温^[7]。

植物冷驯化的信号传导网络如 Fig. 1 所示^[8]。

Table 1 Abbreviations of genes related to cold acclimation and others

Abbreviations	
Genes related to cold acclimation	
<i>AZF2</i>	<i>Arabidopsis</i> zinc-finger 2
<i>CBFs</i>	C-repeat (CRT)-binding factors
<i>COR</i>	Cold-regulated
<i>DREB</i>	Dehydration response element-binding
<i>ESK1</i>	ESKIMO1
<i>FRY</i>	FIERY, inositol polyphosphate 1-phosphatase
<i>FRO1</i>	FROSTBITE1
<i>HOS</i>	High expression of osmotically responsive genes
<i>ICE1</i>	Inducer of CBF expression 1
<i>IP3</i>	Inositol-1,4,5-triphosphate
<i>KIN</i>	Cold-induced
<i>LTI</i>	Low-temperature-induced
<i>LOS</i>	Low expression of osmotically responsive genes
<i>MAPK</i>	Mitogen-activated protein kinase
<i>RD</i>	Responsive to dehydration
<i>STZ</i>	Salt-tolerance zinc finger
<i>SCOF1</i>	Soybean cold-inducible zinc finger protein
<i>SGBF1</i>	Soybean GBox-binding factor 1
Others	
<i>ABA</i>	Abscisic acid
<i>bZIP</i>	Basic-leucine zipper
<i>bHLH</i>	Basic helix-loop-helix
<i>C2H2</i>	Cysteine-2 and histidine-2
<i>EP2</i>	A cis-element originally identified in 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase gene promoter
<i>MYB</i>	Myeloblastosis
<i>MYC</i>	Myelocytomatosis

2 CBF 调控的信号通路 with 表达的自我调控

研究发现,冷驯化过程同时涉及依赖 ABA 和非依赖 ABA 的信号传导过程^[9~11],但依赖 ABA 的具体调控机制尚未阐明。在非依赖 ABA 的信号转导途径中, *CBF/DREB* 脱水响应元件结合因子类基因是近年来植物冷驯化研究方面的突破性进展。该类基因受冷的诱导表达,属 AP2/EREBP 转录因子家族,有保守的 AP2/EREBP 结构域^[12,13],该结构域由约 58 个氨基酸组成,能与 *DRE/CRT* DNA 调节元件相互作用,调节启动子区域含该顺式作用元件的基因的表达,主要在低温和短日照下启动表达,使细胞表现出抗冷能力^[14,15]。超表达 *CBF1* 和 *CBF3* 能强烈诱导 *COR* 基因表达,提高植物对冷胁迫的耐受能力。

ICE1 基因编码 1 个 MYB 类型的碱性螺旋-环-螺旋(bHLH)转录因子,为组成性表达并定位在核

解.在 *hos1* 缺失突变体中 *CBF* 基因过量表达,说明 *HOS1* 可能是 *CBF* 基因上游的负调解物. *HOS1* 与 *ICE1* 相互作用证明, *HOS1* 通过催化 *ICE1* 蛋白的水解来负调节 *ICE1* 靶基因的表达^[20]. 在冷的胁迫下泛素化或许也调节蛋白的合成. 拟南芥中 1 个受冷热上调的 F-box 蛋白 *AtFBP7* (*At1g21760*) 是温度胁迫下蛋白合成所必需的^[21]. 但其作用机制还不太清楚. 在 *ICE1*-*CBF*-*COR* 途径中,除了未知的受体、 Ca^{2+} 、 IP_3 等, Ca^{2+} 受体、 Ca^{2+} 依赖的蛋白激酶和有丝分裂原蛋白激酶(例如: *MAPKK2*、*MAPK4* 和 *MAPK6*) 级联反应也参与其中^[22~24].

冷驯化通过上调和下调许多基因的表达调整植物的生长代谢^[25]. 因此,通过反馈抑制保持恰当的冷诱导蛋白水平是必须的. 1 个 C2H2 锌指结构蛋白和 1 个双链的 RNA 结合蛋白已被证明是冷信号传导途径中的负调控因子. 在拟南芥中受冷、ABA、干旱和盐胁迫诱导的 C2H2 锌指蛋白 *AZF2* 和盐耐受锌指蛋白 *ZAT10* (*STZ*) 的启动子区含有 DRE、MYB 和 MYC 识别位点^[26]. 所以,这些基因的表达受到与这些顺式作用元件结合的转录因子的调控. *CBF3* 的超表达能增强 *ZAT10* (*STZ*) 的表达^[27]. 相反,在 *ice1* 突变体中, *CBF3* 的缺失降低了 *AZF2* 和 *ZAT10* (*STZ*) 的表达^[16],所以, *ICE1* 诱导 *CBF3* 的表达或许可能通过 *DRE* 顺式作用元件正调控 *AZF2* 和 *ZAT10* (*STZ*) 的表达. *ZAT10* (*STZ*) 基因的诱导在 *los2* 突变体中是强烈持久的,而在野生型中是快速瞬时的,因此, *LOS2* 是 *ZAT10* (*STZ*) 的负调节因子^[28]. 另外, *ZAT10* (*STZ*) 可以通过与 *RD29A* 启动子区 - 554 到 - 522 的 *STZ* 识别位点 (ACTAGTGAN13TCTAGTAAAG) 结合抑制 *RD29A* 的表达^[28]. 所以, *los2* 突变体中 *COR* 基因的表达受到调控. 凝胶移位分析表明, *AZF2* 和 *ZAT10* (*STZ*) 能与 EP2 序列(与负调节因子结合的顺式作用元件)中的 A(G/C)T 顺式作用元件特异结合. 因此,对含有 EP2 序列的基因表达起抑制作用. 超表达 *CBF* 的转基因植株中诱导 *STZ* 的高表达, *STZ* 抑制一些参与光合和碳代谢的基因,抑制转基因植物的生长^[26]. *CBF* 诱导的锌指蛋白可反馈抑制 *CBF* 的表达^[29]. 另外, *frj2* 突变体对冷超敏感,在冷和 ABA 的处理下,强烈诱导 *CBF* 和 *COR* 基因的表达,这说明 *FRY2* 也是 *CBF* 和 *COR* 基因的负调控因子^[30]. 基因分析证明, *FRY2* RNA 聚合酶的 C 端磷酸酶是通过 RNA 聚合酶的去磷酸化控制转录和 mRNA 的延伸,从而调控 *COR* 基因的表达^[30,31]. 但是, *frj2* 突变体对冷的

敏感性说明 *FRY2* 或许正调控抗冷性的某些基因. 锌指蛋白 *ZAT12* 编码 1 个转录抑制因子,它的超表达能够阻遏冷诱导 *CBF* 基因的表达,对 *CBF* 冷驯化途径起负调控作用^[32].

在冷信号传导过程中, *CBF* 蛋白的自身反馈调节也具有重要的作用. 拟南芥 *los1* 突变体缺失转录延伸因子 2,影响蛋白的合成,不能通过 *CBF* 蛋白抑制 *CBF* 基因的表达. 因此,在冷的胁迫下强烈诱导 *CBF* 基因的表达,而低水平的诱导 *COR* 基因的表达^[33]. 与野生型相比, *CBF2* 突变体中 *CBF1* 和 *CBF3* 的表达量升高,表现出更强的冷冻抵抗能力,说明 *CBF2* 蛋白在冷驯化过程中调节 *CBF1* 和 *CBF3* 的表达^[34]. 而 *CBF2* 的表达水平可能通过 *CBF3* 来调节,因为在 *ice1* 突变体中, *CBF3* 的表达受到抑制的同时, *CBF2* 的表达升高^[16]. 但对 *CBF* 基因在自身相互调节和在冷驯化中的作用仍需要进一步分析研究. 拟南芥 *sf76* (*sensitive to freezing 6*) 突变体在低温条件下, *CBF1*、*CBF2*、*CBF3* 表达水平与野生型相比并未下降,而下游靶基因 *COR* 的表达却显著减少,推测 *SFR6* 可能调控 *CBF* 蛋白对 *COR* 基因的转录激活能力或 *COR* 基因转录后调节^[35].

利用 Affymetrix 拟南芥 24K 芯片发现,在受冷诱导的 514 个基因中,302 个基因上调,212 个下调^[29,36]. 在 *CBF2* 超表达植株中,85 个基因上调,8 个基因下调. 所以,除了 *CBF* 外,还有其他的转录因子在冷驯化过程中起作用. 但是,在 25 个显著上调的基因中,21 个是受 *CBF2* 异位表达调控的,而且, *ZAT12* 调节因子比 *CBF* 转录因子调控的基因少得多. 这些结果表明,冷诱导大量基因的表达,其中 *CBF* 信号传导途径起着重要的作用. 对去春化的基因表达研究发现,212 个基因上调,320 个基因下调,因此在冷驯化中,主要是诱导基因上调,而不是下调^[37]. 值得注意的是,冷胁迫还可以诱导 2 个 AP2 类蛋白 *RAP2.1* 和 *RAP2.6* 的表达^[12], *RAP2.1* 的启动子区含有 CRT/DRE 元件,所以, *CBF* 的异位表达强烈诱导 *RAP2.1* 的表达,可能是 *CBF* 转录因子的靶基因^[36].

3 不依赖于 CBF 的调节因子

在依赖 ABA 的信号传导途径中,调节基因表达的转录因子属于 bZIP (ABRE 结合因子或 AREB)、MYC 或 MYB 家族. 在拟南芥中克隆了 1 个受冷和 ABA 诱导的 bZIP 基因,其下游基因还不清楚,但是

发现了一个激活 bZIP 转录因子的 C2H2 类型的锌指蛋白,通过 ABRE 元件调节 *COR* 基因的表达。在拟南芥中过表达大豆中的 1 个冷诱导的锌指蛋白 SCOF1 能够诱导 *COR* 基因的表达,提高抗冷性。大豆中的 1 个冷诱导的 bZIP 转录因子 SCBF1 (G-box 结合因子),在冷驯化中依赖 ABA 诱导 *COR* 基因的表达。SCOF1 能提高 SCBF1 的 DNA 结合活性^[38]。最近,在拟南芥中通过正向遗传学鉴定了 2 个转录因子 HOS9 和 HOS10,参与抗冷过程^[39,40]。HOS9 和 HOS10 分别编码 1 个推测的同源转录因子和 R2R3 类型的 MYB 类转录因子,转录不受冷的诱导,基因的缺失突变体降低本底和获得性的抗冷能力。与野生型相比,在 *hos9* 和 *hos10* 突变体中,尽管 CBF 的表达没有改变,但是对冷的胁迫敏感,因此, HOS9 和 HOS10 在调节冷驯化的过程中是不依赖于 CBF 的,并起重要的作用^[39]。1 个未知功能的蛋白 ESKI 的突变导致对冷的抵抗,但影响的基因与 CBF 转录因子不同^[41]。同样,转录调节因子 ADA2 的突变也增强抗冷能力,但不是 *COR* 基因的变化所引起的^[42]。

4 RNA 的修饰和核质转运在冷胁迫中的重要作用

在冷驯化过程中,基因的诱导和组成性表达的转录都需要加工、运输到细胞质保持一种适合翻译的构型。RNA 可被折叠成二级结构从而影响它的功能。低温加剧了这种干扰。在细菌中,与核酸结合的冷激蛋白(CSP)在低温的条件下积累,作为一种转录增强子降低 RNA 二级结构的稳定性,并且抑制转录的终止^[43]。在冷的胁迫下植物中一些含有 CSP 结构域的蛋白上调,也可能是作为 RNA 伴侣调节翻译^[44,45]。RZ1a 是拟南芥中的一个锌指结构、甘氨酸含量丰富的 RNA 结合蛋白,在冷的胁迫下上调。基因分析证明它在抗冷方面具有作用^[46]。

另外一类 RNA 伴侣, RNA 解旋酶,也参与 RNA 的代谢。在蓝细菌中,参与冷胁迫过程的一个 DEAD-box RNA 解旋酶可能通过 5' 非翻译区伸展 RNA 的二级结构^[47]。在植物中有一大类 DEAD-box RNA 解旋酶。在拟南芥中其中的一个 DEAD-box RNA 解旋酶 LOS4 在植物的抗冷反应中起重要的作用^[48],参与 RNA 有效的从核转运到胞质^[49]。拟南芥中的核蛋白 AtNUP160 (*Arabidopsis* nucleoporin) 控制 RNA 的运输,在抗冷过程中是至关重要的^[50]。因为 *los4* 和 *atnup160* 突变体没有生长和发育上的缺陷,在其他非生物胁迫下也没有明显的变化,所以 LOS4 和

AtNUP160 蛋白只有在冷的胁迫下才会影响 RNA 的核质转运。有趣的是两个突变体中都影响 CBF 基因的表达。

5 研究展望

对植物冷驯化过程的研究已经成为目前科学研究的热门领域。植物细胞或许通过膜的流动性或结构的变化感受冷信号,但到目前为止具体的机制还不清晰;冷胁迫诱导过氧化氢的产生,过氧化氢通过 MAPK 信号级联反应传递冷信号,可 MAPK 信号途径如何与转录调节因子发生作用,调节冷诱导基因的表达还不知道;在 CBF 不依赖的信号途径中,一个未知功能的蛋白 ESKI 的突变导致对冷的抵抗,但是影响的基因与 CBF 转录因子不同,同样,转录调节因子 ADA2 的突变也增强抗冷能力,但不是 *COR* 基因的变化,2 个转录因子 HOS9 和 HOS10 也参与植物的抗冷反应,他们的上下游基因都还不是十分清楚,这些都还需要进一步的研究。另一方面通过转化冷驯化过程中的关键基因,在很大程度上改善了植物的抗冷能力。但是植物对冷的耐受能力是有微效多基因控制的数量性状^[51],单个基因的转入根本不能全面提高植物的抗冷能力。因此通过正向和反向遗传学的方法和生物化学的方法、或许建立和应用一种全新的研究方法研究冷驯化的精细网络信号转导过程迫在眉睫,从而利用相应的基因改良作物的抗冷能力。

参考文献 (References)

- [1] Orvar B L, Sangwan V, Omann F, et al. Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity [J]. Plant J, 2000, 23(6):785-794
- [2] Sangwan V, Foulds I, Singh J, et al. Cold-activation of Brassica napus BN115 promoter is mediated by structural changes in membranes and cytoskeleton, and requires Ca^{2+} influx[J]. Plant J, 2001, 27(1):1-12
- [3] Xiong L, Lee B-H, Ishitani M, et al. FIER1 encoding an inositol polyphosphate 1-phosphatase is a negative regulator of abscisic acid and stress signaling in *Arabidopsis* [J]. Genes Dev, 2001, 15(15):1971-1984
- [4] Xiong L, Lee H, Huang R, et al. A single amino acid substitution in the *Arabidopsis* FIER1/HOS2 protein confers cold signaling specificity and lithium tolerance[J]. Plant J, 2004, 40(4):536-545
- [5] Catala R, Santos E, Alonso J M, et al. Mutations in the Ca^{2+}/H^{+} transporter CAX1 increase CBF/DREB1 expression and the cold-acclimation response in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2003, 15(12):2940-2951
- [6] Lee B-H, Lee H, Xiong L, et al. A mitochondrial complex I defect

- impairs cold-regulated nuclear gene expression [J]. *Plant Cell*, 2002, **14**(6):1235-1251
- [7] Xiong L, Ishitani M, Lee H, *et al.* The *Arabidopsis* LOS5/ABA3 locus encodes a molybdenum cofactor sulfurase and modulates cold stress- and osmotic stress- responsive gene expression[J]. *Plant Cell*, 2001, **13**(9):2063-2083
- [8] Yang T W, Zhang L J, Zhang T G, *et al.* Transcriptional regulation network of cold-responsive genes in higher plants [J]. *Plant Sci*, 2005, **169**(6):987-995
- [9] Gilmour S J, Thomashow M F. Cold acclimation and cold-regulated gene expression in ABA mutants of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 1991, **17**(6):1233-1240
- [10] Nordin K, Vahala T, Palva E T. Differential expression of two related, low-temperature-induced genes in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh [J]. *Plant Mol Biol*, 1993, **21**(4):641-653
- [11] Ishitani M, Xiong L, Stevenson B, *et al.* Genetic analysis of osmotic and cold stress signal transduction in *Arabidopsis*: interactions and convergence of abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways [J]. *Plant Cell*, 1997, **9**(11):1935-1949
- [12] Okumuro J K, Caster B, Villarroel R, *et al.* The AP2 domain of APETALA2 defines a large new family of DNA binding proteins in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(13):7076-7081
- [13] Jaglo KR, Kleff S, Amundsen K L, *et al.* Components of the *Arabidopsis* C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species [J]. *Plant Physiol*, 2001, **127**(3):910-917
- [14] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, *et al.* Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain, separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low temperature- responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 1998, **10**(8):1391-1406
- [15] Stockinger E J, Gilmour S J, Thomashow M F. *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 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(3):1035-1040
- [16] Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, *et al.* ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Genes Dev*, 2003, **17**(8):1043-1054
- [17] Agarwal M, Hao Y, Kapoor A, *et al.* A R2R3 type MYB transcription factor is involved in the cold regulation of *CBF* genes and in acquired freezing tolerance [J]. *J Biol Chem*, 2006, **281**(49):37636-37645
- [18] Zarka D G, Vogel J T, Cook D, *et al.* Cold induction of *Arabidopsis* *CBF* genes involves multiple ICE (inducer of *CBF* expression) promoter elements and a cold-regulatory circuit that is desensitized by low temperature [J]. *Plant Physiol*, 2003, **133**(2):910-918
- [19] Van Buskirk HA, Thomashow MF. *Arabidopsis* transcription factors regulating cold acclimation [J]. *Physiol Plant*, 2006, **126**(1):72-80
- [20] Dong C H, Agarwal M, Zhang Y, *et al.* The negative regulator of plant cold responses, HOS1, is a RING E3 ligase that mediates the ubiquitination and degradation of ICE1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(21):8281-8286
- [21] Calderon-Villalobos L I, Nill C, Marocco K, *et al.* The evolutionarily conserved *Arabidopsis thaliana* F-box protein AtFBP7 is required for efficient translation during temperature stress [J]. *Gene*, 2007, **392**(1-2):106-116
- [22] Teige M, Scheikl E, Eulgem T, *et al.* The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis* [J]. *Mol Cell*, 2004, **15**(1):141-152
- [23] Chinnusamy V, Zhu J H, Zhu J K. Gene regulation during cold acclimation in plants [J]. *Physiol Plant*, 2006, **126**(1):52-61
- [24] Zhu J, Dong C H, Zhu J K. Interplay between cold-responsive gene regulation, metabolism and RNA processing during plant cold acclimation [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2007, **10**(3):290-295
- [25] Kreps J A, Wu Y, Chang H S, *et al.* Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress [J]. *Plant Physiol*, 2002, **130**(4):2129-2141
- [26] Sakamoto H, Maruyama K, Sakuma Y, *et al.* *Arabidopsis* Cys2/His2-type zinc-finger proteins function as transcription repressors under drought, cold and high-salinity stress conditions [J]. *Plant Physiol*, 2004, **136**(1):2734-2746
- [27] Maruyama K, Sakuma Y, Kasuga M, *et al.* Identification of cold-inducible downstream genes of the *Arabidopsis* DREB1A/CBF3 transcriptional factor using two microarray systems [J]. *Plant J*, 2004, **38**(6):982-993
- [28] Lee H, Guo Y, Ohta M, *et al.* LOS2, a genetic locus required for cold responsive transcription encodes a bi-functional enolase [J]. *EMBO J*, 2002, **21**(11):2692-2702
- [29] Vogel J T, Zarka D G, Van Buskirk H A, *et al.* Roles of the CBF2 and ZAT12 transcription factors in configuring the low temperature transcriptome of *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2005, **41**(2):195-211
- [30] Xiong L, Lee H, Ishitani M, *et al.* Repression of stress-responsive genes by FIERY2, a novel transcriptional regulator in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(16):10899-10904
- [31] Koiwa H, Barb A W, Xiong L, *et al.* C-terminal domain phosphatase-like family members (AtCPLs) differentially regulate *Arabidopsis thaliana* abiotic stress signaling, growth, and development [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(16):10893-10898
- [32] Hiratsu K, Ohta M, Matsui K, *et al.* The SUPERMAN protein is an active repressor whose carboxy-terminal repression domain is required for the development of normal flowers [J]. *FEBS Lett*, 2002, **514**(2-3):351-354
- [33] Guo Y, Xiong L, Ishitani M, *et al.* An *Arabidopsis* mutation in translation elongation factor 2 causes superinduction of *CBF/DREB1* transcription factor genes but blocks the induction of their downstream targets under low temperatures [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(11):7786-7791
- [34] Novillo F, Alonso J M, Ecker J R, *et al.* CBF2/DREB1C is a negative regulator of *CBF1/DREB1B* and *CBF3/DREB1A* expression and plays a central role in stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(11):3985-3990
- [35] Boyce J M, Knight H, Deyholos M, *et al.* The *sfr6* mutant of

- Arabidopsis* is defective in transcriptional activation via CBF/DREB1 and DREB2 and shows sensitivity to osmotic stress [J]. *Plant J*, 2003, **34**(4): 395-406
- [36] Fowler S, Thomashow M F. *Arabidopsis* transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway [J]. *Plant Cell*, 2002, **14**(8): 1675-1690
- [37] Oono Y, Seki M, Satou M, *et al.* Monitoring expression profiles of *Arabidopsis* genes during cold acclimation and deacclimation using DNA microarrays[J]. *Funct Integr Genomics*, 2006, **6**(3): 212-234
- [38] Kim J C, Lee S H, Cheong Y H, *et al.* A novel cold-inducible zinc finger protein from soybean, SCOF-1, enhances cold tolerance in transgenic plants[J]. *Plant J*, 2001, **25**(3): 247-259
- [39] Zhu J, Shi H, Lee B H, *et al.* An *Arabidopsis* homeodomain transcription factor gene, *HOS9*, mediates cold tolerance through a CBF-independent pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(26): 9873-9878
- [40] Zhu J, Verslues P E, Zheng X, *et al.* *HOS10* encodes an R2R3-type MYB transcription factor essential for cold acclimation in plants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(28): 9966-9971
- [41] Xin Z, Mandaokar A, Chen J, *et al.* *Arabidopsis* *ESK1* encodes a novel regulator of freezing tolerance. *Plant J*, 2007, **49**(5): 786-799
- [42] Vlachonasios K E, Thomashow M F, Triezenberg S J. Disruption mutations of *ADA2b* and *GCN5* transcriptional adaptor genes dramatically affect *Arabidopsis* growth, development, and gene expression [J]. *Plant Cell*, 2003, **15**(3): 626-638
- [43] Jones P G, Inouye M. The cold-shock response—a hot topic [J]. *Mol Microbiol*, 1994, **11**(5): 811-818
- [44] Nakashima K, Yamaguchi-Shinozaki K. Regulons involved in osmotic stress-responsive and cold stress-responsive gene expression in plants [J]. *Physiol Plant*, 2006, **126**(1): 62-71
- [45] Kim J S, Park S J, Kvak K J, *et al.* Cold shock domain proteins and glycine-rich RNA-binding proteins from *Arabidopsis thaliana* can promote the cold adaptation process in *Escherichia coli* [J]. *Nucleic Acids Res.*, 2007, **35**(2): 506-516
- [46] Kim Y O, Kim J S, Kang H. Cold-inducible zinc finger-containing glycine-rich RNA-binding protein contributes to the enhancement of freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 2005, **42**(6): 890-900
- [47] Yu E, Owttrim G W. Characterization of the cold stress-induced cyanobacterial DEAD-box protein CrhC as an RNA helicase [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, **28**(20): 3926-3934
- [48] Gong Z, Lee H, Xiong L, *et al.* RNA helicase-like protein as an early regulator of transcription factors for plant chilling and freezing tolerance [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, **99**(17): 11507-11512
- [49] Gong Z, Dong C H, Lee H, *et al.* A DEAD box RNA helicase is essential for mRNA export and important for development and stress responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2005, **17**(1): 256-267
- [50] Dong C H, Hu X, Tang W, *et al.* A putative *Arabidopsis* nucleoporin, AtNUP160, is critical for RNA export and required for plant tolerance to cold stress [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, **26**(24): 9533-9543
- [51] Thomashow M F. So what's new in the field of plant cold acclimation? Lots! [J]. *Plant Physiol*, 2001, **125**(1): 89-93