

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00307

动物bHLH转录因子家族成员及其功能

王勇¹, 姚勤², 陈克平²

1. 江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013;
2. 江苏大学生命科学研究院, 镇江 212013

摘要: bHLH 转录因子在真核生物生长发育调控过程中具有重要作用。动物 bHLH 转录因子包含 45 个家族, 分别参与调控神经元发生、肌细胞生成、肠组织发育以及环境毒素响应等生物学过程。过去 20 年里, 研究人员对动物 bHLH 家族成员鉴定及其生物学功能开展了广泛的研究。文章在介绍动物 45 个 bHLH 家族名称来源的基础上, 综述了小鼠、果蝇和线虫 3 种模式动物 bHLH 家族成员及其功能的研究进展。小鼠、果蝇和线虫中分别有 114、59 和 42 种 bHLH 蛋白。其中, 小鼠 108 种、果蝇 47 种和线虫 20 种 bHLH 蛋白的功能已比较明确, 功能未知的 22 种线虫 bHLH 蛋白中还有 15 种尚未归入相应家族。文章也对部分被误用的 bHLH 家族成员名称做了说明, 可为相关研究人员深入开展 bHLH 转录因子结构与功能的研究提供较为清晰和系统的背景资料。

关键词: bHLH; 转录因子; 家族成员; 调控功能; 生长发育

Progress of studies on family members and functions of animal bHLH transcription factors

WANG Yong¹, YAO Qin², CHEN Ke-Ping²

1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;
2. Institute of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

Abstract: bHLH transcription factors play essential roles in the regulation of eukaryotic growth and development. Animal bHLH transcription factors comprise of 45 families. They are involved in regulating biological processes such as neurogenesis, myogenesis, gut development and response to environmental toxins. In the past two decades, extensive studies had been conducted on identification of bHLH family members and their biological functions in animals. Based on introduction of origin of the 45 animal bHLH family names, this article reviewed the progresses of studies on bHLH family members and functions of three model animals namely mouse, fruit fly and nematode. There are 114, 59 and 42 bHLH proteins in mouse, fruit fly and nematode, respectively. Among them, the functions of 108 mouse, 47 fruit fly and 20 nematode bHLH proteins have been well characterized. Among the 22 nematode bHLH proteins of unknown functions, 15 have not yet been assigned into certain families. This article also explained misused names of several bHLH family members, thus providing clear and overall background information for relevant researchers to conduct in-depth studies on structures and functions of bHLH transcription factors.

Keywords: bHLH; Transcription factor; Family member; Regulatory function; Growth and development

收稿日期: 2009-09-10; 修回日期: 2009-12-05

基金项目: 江苏大学高级人才科研启动基金项目(编号: 09JGDG029)和江苏省农业科技支撑项目(编号: BE2008379)资助

作者简介: 王勇(1965-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 昆虫生物信息学。E-mail: ywang@ujs.edu.cn

姚勤(1961-), 女, 研究员, 研究方向: 昆虫病毒分子生物学。E-mail: yaoqin@ujs.edu.cn

王勇与姚勤同为第一作者。

通讯作者: 陈克平(1962-), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 昆虫分子生物学、昆虫生物信息学。E-mail: kpchen@ujs.edu.cn

碱性螺旋-环-螺旋 (Basic helix-loop-helix, bHLH) 转录因子在真核生物的生长发育调控过程中发挥着极为重要的作用, 它们组成了蛋白质中的一个超家族。已知动物 bHLH 超家族包含 6 个高阶组 (Higher-order group) 共 45 个家族, 每个家族由一至数个成员组成, 分别参与调控神经元发生、肌细胞生成、肠组织发育以及环境毒素响应等生物学过程。

自 1989 年第一个 bHLH 蛋白结构被解析以来^[1], 研究人员对 bHLH 家族的成员及其功能进行了持续不懈的探索, 积累了大量资料, 尤其在动物 bHLH 转录因子方面, 已基本弄清各家族由哪些成员组成以及各成员分别具有哪些功能, 为今后深入探讨动物生长发育过程中的调控网络结构奠定了良好基础。

近年来, 虽然有国内外学者对 bHLH 转录因子结构与功能的研究进展做了综述, 但文章大多只对其中的一个或几个家族进行介绍^[2-5], 少数文章虽然涵盖了所有 bHLH 家族, 但对各家族具体有哪些成员、各具有什么功能未能做出较为详细的介绍^[6-7]; 另外, 由于 bHLH 家族名称多以英文缩写表示, 加上其成员组成较为复杂, 既给确切理解家族名称的含义带来了困难, 也导致了对部分家族成员做了不恰当的命名。

本文认真总结了小鼠、果蝇和线虫 3 种模式动物中 bHLH 家族的总体研究情况, 从 bHLH 家族的名称来源、成员组成与功能 3 个方面分别介绍了 45 个动物 bHLH 转录因子家族的研究进展, 并对部分被误用的 bHLH 家族成员名称做了说明, 从而为相关研究人员深入开展 bHLH 转录因子结构与功能的研究提供较为清晰和系统的背景资料。

1 A组bHLH家族成员及其功能

A 组 bHLH 蛋白是能够与具有 CACCTG 或 CAGCTG 特征的 E 框 DNA 片段结合的转录因子, 共分 22 个家族, 分别是 ASCa、ASCb、MyoD、E12/E47、Ngn、NeuroD、Atonal、Mist、Beta3、Oligo、Net、esp、Twist、Paraxis、MyoRa、MyoRb、Delilah、Hand、PTFa、PTFb、SCL 和 NSCL。

1.1 ASCa家族

早在 1979 年, Garcia-Bellido^[8]发现在黑腹果蝇中存在一个复合位点, 该位点发生突变会导致刚毛

和盾片发育异常。之后, Carramolino 等^[9]发现该复合位点含有 4 个基因, 并将它们统称为无刚毛-盾片基因复合体 (Achaete-scute gene complex, ASC)。2001 年以前, ASC 一直用作该基因家族的名称^[10]。2002 年, 发现在脊椎动物中存在与原先 ASC 基因同源但在进化树中形成单独进化枝的基因, 因此, 将早先发现的基因归入 ASCa 家族, 而将新发现的基因归入 ASCb 家族 (见本文 1.2)^[11]。

果蝇 ASCa 家族具有 4 个基因, 分别为 *ac* (Achaete)、*sc* (Scute)、*l'sc* (Lethal of scute) 以及 *ase* (Asense)。*ac*、*sc* 与 *l'sc* 基因具有促进神经前体形成的作用, 称为原神经基因。其中, *ac* 与 *sc* 基因的表达产物共同作用使果蝇表皮细胞分化成感觉母细胞^[12], *l'sc* 基因在体细胞中胚层的细胞团中表达, 并通过逐渐限制其表达而使细胞分化为肌肉细胞的祖先^[13], *sc* 基因还能与 *da* 基因 (见本文 1.4) 产物形成二聚体并在果蝇性别决定中发挥作用, 此时也将 *sc* 基因称为 *sis-b* (Sisterless)^[14]。*ase* 基因只在神经前体中表达, 称为神经前体基因, 它在果蝇中央神经系统的眼叶原基细胞、中脑成神经细胞以及腹神经节细胞中表达, 去除该基因的产物会导致成虫眼叶结构产生缺陷^[15]。

小鼠 ASCa 家族中有 2 个成员, 分别为 Mash1 (Mammalian achaete-scute homolog 1) 和 Mash2^[16]。Mash1 具有对早期大脑皮层中星形胶质细胞分化方向进行重新设定的能力, 从而促使它们形成神经元^[17], Mash2 则在外胎盘锥体的二倍体滋养层细胞发育形成绒毛膜尿囊胎盘的成胶质细胞层过程中发挥作用^[18]。

线虫中已鉴定出 2 个 ASCa 家族成员, 分别为 HLH-3 和 HLH-14。HLH-3 的作用类似于果蝇中的 *ase* 基因, 缺失该基因的线虫虽然仍具有功能基本完整的神经系统, 但不能产卵, 其原因是 HSN 运动神经元的分化受到了阻碍^[19]。HLH-14 在一些成神经细胞中表达, 能通过调控不对称细胞分裂来决定细胞命运^[20]。

1.2 ASCb家族

小鼠有 3 个 ASCb 家族成员, 即 Ash3、Ash4 和 Ash5^[21]。其中只对 Ash3 的功能有所了解, 研究发现, Ash3 的表达局限在唾液腺的部分导管细胞中, 对唾

液腺维持在成熟状态有一定贡献^[22]。人Hash4 的表达局限在皮肤中, 并且胎儿中的表达水平是成人的7倍^[23]。

线虫有1个ASCB家族成员, 称为HLH-6, 在线虫咽腺发育中发挥重要作用。无HLH-6的线虫会缺失部分腺体, 并且余下的腺体功能也被削弱, 显示HLH-6既与腺体的发育有关, 也与其功能有关^[24]。

果蝇中未发现ASCB家族成员。

1.3 MyoD家族

MyoD1(Myogenic differentiation 1)是最先在小鼠中发现的肌肉特异性调控因子^[25]。MyoG(Myogenin)是MyoD家族的第2个成员^[26]。之后, Myf5(Myogenic factor 5)与Myf6也很快从人中得到鉴定^[27, 28]。虽然MyoD1与MyoG在人中最初被称为Myf3与Myf4^[29, 30], 也一度为其他生物采用, 但多数注释及文献均沿用了MyoD1和MyoG这两个名称。

小鼠有4个MyoD家族成员, 即MyoD1、MyoG、Myf5和Myf6。MyoD1和Myf5是决定肌肉细胞发育的2个主要因子, 两者在胚胎发育时期的作用有互补性; 其中, MyoD1使肌肉细胞发育成肌管, Myf5则使肌肉细胞发育成肌肉前体细胞^[31]。MyoG是幼鼠骨骼肌发育所必须的, 幼鼠出生后MyoG的缺失会导致个体发育受阻, 缺少骨骼肌, 同时骨骼肌中其他基因的表达也受到影响^[32]。小鼠Myf6的功能还不清楚, 而在一例肌肉萎缩病人中, 检测到了Myf6基因的突变, 其Myf6的蛋白质相互作用功能被削弱, DNA结合能力以及反式激活能力均丧失^[33]。

果蝇只有一个MyoD家族成员, 由*nau*(Nautilus)基因编码, 在部分肌肉起始细胞中有短暂表达, 在12~24 h胚胎、培养的胚胎细胞以及成虫肌肉细胞中均难以检测到MyoD^[34]。

线虫也有1个MyoD家族成员, 称为HLH-1, 在横纹肌及其前体细胞中表达, 其无效突变的纯合体虽然能产生收缩性体壁肌, 但肌肉收缩能力减弱并缺乏协调性, 线虫在幼虫期或成虫早期即死亡^[35]。

1.4 E12/E47家族

1988年, Moss等^[36]发现仓鼠免疫球蛋白重链基因的增强子可以被划分为 μ E1、 μ E2和 μ E3 3个区域, 其中 μ E2的作用最强。E12和E47是由E2A基因产物

经可变剪接产生的两种蛋白, 它们能结合到 μ E2上^[37], E12/E47家族由此得名。不久, 从人中鉴定出该家族的另外3个成员, 最初命名为ITF-1(Immunoglobulin transcription factor 1)、ITF-2和HTF4(HLH transcription factor 4)^[38, 39]。而后来在其他生物中鉴定出的成员却被命名为TCF3(Transcription factor 3)、TCF4和TF12(Transcription factor 12)。

小鼠E12/E47家族具有4个成员, 即E2A、TCF3、TCF4和TF12。E2A是B细胞形成所必须的, E2A基因敲除小鼠虽然能正常发育, 没有明显畸形, 但出生后死亡率极高, 检查发现其体内无任何B细胞, 而T细胞、粒细胞、巨噬细胞以及红细胞则能正常形成^[40]。TCF3、TCF4和TF12的功能还不是很清楚, 它们的蛋白序列登录号分别为EDL31542.1、NP_038713.1和NP_035674.2。

果蝇E12/E47家族只有1个成员, 由*da*(Daughterless)基因编码, 在果蝇胚胎发育中具有多种功能, 包括性别决定、卵子发生和神经系统发育^[41]。

线虫也有1个E12/E47家族成员, 称为HLH-2, 在不同神经谱系发育以及体细胞生殖腺发育细胞命运决定中均有作用^[42]。

1.5 Ngn家族

Ngn1(Neurogenin 1)最初在蟾蜍中发现, 具有调控神经原生成的功能^[43]。Ngn2与Ngn3是在小鼠中发现的^[44]。除了小鼠和人中的Ngn家族成员曾被称为Math4a(Mouse atonal homolog 4a)、Math4b和Math4c以及Hath4a、Hath4b和Hath4c^[45]之外, 其他生物中的Ngn成员均沿用了Ngn1、Ngn2和Ngn3名称。

小鼠Ngn1由基板外胚层细胞表达, 在神经细胞分层之前发挥作用, 能激活一系列下游bHLH转录因子^[45]。对小鼠海马区基因表达情况的检测发现Ngn2在增殖中的神经始祖细胞中有短暂表达, 显示其在成熟小鼠的神经系统发育中起到重要作用^[46]。Ngn3则促进成熟小鼠睾丸中的精子发生^[47]。

果蝇有1个Ngn家族成员, 由*tap*(Target of poxn)基因编码。tap基因在部分正在进行分化的神经元中表达; 在外周神经系统中, tap只在其中的一个神经元中表达, 但却具有支配幼虫各种化学感应器官的能力^[48]。

线虫也有1个Ngn家族成员, 称为Ngn-1, 其功

能未见报道, 其蛋白序列登录号为 NP_500236.1。

1.6 NeuroD家族

NeuroD(Neurogenic differentiation)家族的第一个成员是在蟾蜍中发现的^[49], 最初命名为NeuroD。1996年, 在人类中发现了该家族的第2、3个成员, 当时被命名为NeuroD2与NeuroD3^[50]。但NeuroD3是一个误用的名称, 因为该蛋白后来经鉴定是Ngn1。在小鼠中有另外两个NeuroD家族成员最初被鉴定为果蝇Atonal蛋白的同源蛋白, 因此被命名为Math2(Mouse atonal homolog 2)和Math3^[51, 52]。后来, Math3被重命名为NeuroD4, 因为小鼠NeuroD3已经被使用了(虽然也是错误地使用); Math2被重命名为NeuroD6, 因为小鼠NeuroD5也已经被使用了(后来发现该序列其实属于Net家族)。因此, 小鼠NeuroD家族的4个成员名称是NeuroD1、NeuroD2、NeuroD4和NeuroD6。

小鼠NeuroD1在视网膜发育中发挥作用。甲状腺激素及其受体之一TR β 2(Thyroid hormone receptor beta2)是视锥光感受器发育中视蛋白表达的重要调控因子, TR β 2缺失会导致不能产生负责感应中等波长光线的视蛋白。研究发现, TR β 2在未成熟视锥光感受器中的持续表达需要NeuroD1的参与^[53]。NeuroD2在小鼠的神经元分化中发挥调控作用, 在小鼠胚胎干细胞中, 其表达需要大约3 d的时间来使神经元发生脱分化作用^[54]。NeuroD4能够直接将非神经细胞转变成神经细胞, 其表达一开始是在整个正在发育的神经系统中, 之后逐渐局限在神经视网膜中^[55]。在整个中央神经系统的发育过程中, NeuroD6均在皮板和套层细胞中表达, 而在室间区没有表达, 其作用很可能是通过反式激活参与哺乳动物神经系统的发育与维持^[52]。

线虫有1个NeuroD家族成员, 称为Cnd-1, 在胚胎发育早期即开始表达, 并在许多神经元后代细胞中维持其表达, 直到孵化前才在大多数发育完成的神经元中逐渐消失, 它具有脊椎动物中调控神经元生成的多种bHLH蛋白的综合功能, 有可能是该家族的祖先^[56]。

果蝇中未发现NeuroD家族成员。

1.7 Atonal家族

Atonal(无调基因)最初是在果蝇中发现的, 它是一种原神经基因, 负责调控果蝇弦音器的形成^[57]。之后, 在哺乳动物中陆续发现有8种Atonal同源蛋白, 在小鼠中分别称为Math1(Mouse atonal homolog 1)至Math8。但后续分析发现, 其中只有2种真正属于Atonal家族, 即Math1与Math5(或Math7); Math2与Math3属于NeuroD家族; Math4a、Math4b与Math4c属于Ngn家族; Math6(或Math8)属于Net家族^[58, 59]。

果蝇Atonal家族有3个成员, 分别由*ato*(Atonal)、*cato*(Cousin of atonal)和*amos*(Absent MD and olfactory sensilla)基因编码, 三者 in 果蝇感觉器官的形成中具有不同的功能。其中, *ato*基因编码调控弦音器与光感受器的转录因子, 在缺失*ato*基因的成虫突变体中没有任何弦音器与光感受器形成^[57]; *cato*基因只在外周神经系统细胞中表达, 表达时间介于前体选择与尾部分化阶段之间, 晚于原神经基因的表达, 在决定感觉神经元形态上发挥作用^[60]; *amos*基因在特化两种类型的嗅觉感应器中发挥作用, 缺失*amos*基因的突变体感觉刚毛出现在错误的位置且没有嗅觉感应器^[61]。

小鼠Atonal家族有2个成员, 分别是Math1与Math5。小鼠胚胎发育至9.5 d时在脑神经节和背部中央神经系统中检测到Math1的表达; 第10.5 d后, 成熟神经系统中的表达持续增强; 第18 d, Math1的表达局限在小脑的外颗粒细胞层; 成熟神经系统中无Math1的表达^[62]。Math5在小鼠眼发育中发挥作用, 其在视网膜细胞中的表达早于第一个神经元的分化, 并在小鼠出生后一直存在于视网膜祖先细胞中^[58]。

线虫有1个Atonal家族成员, 称为Lin-32(Abnormal cell lineage family member 32), 缺失Lin-32的线虫形成的神经束中缺少完全分化的神经元、神经元中缺少关联的神经束、神经束细胞中缺少相应的细胞及其应具备的细胞形态, 推测Lin-32在神经束发育过程中, 起到了原神经基因、神经前体基因以及其它系统分化基因的多重作用^[63]。

1.8 Mist家族

Mist(Muscle, intestine and stomach expression)最初在小鼠中发现^[64], 在不同器官中表达, 包括胃、肝脏、肺和脾脏。小鼠只有1个Mist家族成员, 称为Mist1, 是胰腺腺泡细胞功能、稳定性以及细胞身份确认的重要调控因子^[65]。

果蝇也只有1个Mist家族成员, 由Mistr(Mist1-related)基因编码, 该基因也称为dimmed。Mistr赋予了果蝇神经内分泌细胞产生、维持并释放大量分泌蛋白的表型特征, 缺失Mistr会大大降低分泌蛋白的mRNA水平、各种各样肽的水平以及行使调控分泌功能的蛋白质水平^[66]。

线虫中未发现Mist家族成员。

1.9 Beta3 家族

Beta1(Beta-cell E-box transcriptional activator 1)一开始用于命名仓鼠的E12/E47家族bHLH蛋白^[67], 然而, 大多数哺乳动物的同源蛋白被命名为TCF3(参见本文1.4); 与此情况相似, Beta2也用于命名一种bHLH蛋白, 但后来发现该蛋白属于NeuroD家族^[68], 之后即被更名为NeuroD2。再后来, 在仓鼠中发现了Beta3蛋白^[69], 属于一个新的家族, 即Beta3家族^[10]。

小鼠Beta3家族有2个成员, 即Beta3a和Beta3b。Beta3a(也称为bHLHB5)在前脑结构中随发育阶段不同而表现出很高的特异性, 在新皮质与原皮质细胞中都有, 但主要存在于已经迁移到目标区域的细胞中, 而在处于增殖区域的细胞中基本没有, 提示Beta3a的功能与神经细胞命运的确立有关^[70]。Beta3b(也称为bHLHB4)在小鼠间脑的区域化以及胰腺内分泌细胞系形成中发挥作用, 调控胰腺细胞与神经细胞的分化与维持中所需基因的表达^[71]。

果蝇有1个Beta3家族成员, 由Oli(Olig family)基因编码, 其功能尚无报道, 该基因编码的蛋白序列登录号为NP_523592.1。

线虫也有1个Beta3家族成员, 称为HLH-17, 在线虫的所有发育时期都有表达, 而在胚胎发生时期其mRNA水平稳定在最高状态, 推测HLH-17能影响线虫对食物信号的响应以及在正常发育与繁殖活力中胰岛素信号基因的下游调控中发挥作用^[72]。

1.10 Oligo家族

小鼠Oligo(Oligodendrocyte transcription factor)

家族有3个成员, 即Oligo1、Oligo2和Oligo3。Oligo1与Oligo2特异性地在将要分化为少突胶质细胞前体的神经上皮细胞中表达, 但在运动神经元细胞和少突胶质细胞命运决定中各具不同功能, 与其他原神经基因一起组成一套复合编码来决定中央神经系统中神经元细胞、星状细胞和少突胶质细胞的特化^[73]。Oligo3在背部脊索细胞中表达, 这些细胞会向腹部脊索移动, 因此, 表达Oligo3的背部细胞对背部中线细胞和接缝中间神经元的形成均有一定贡献^[74]。

果蝇、线虫中未发现Oligo家族成员。

1.11 Net家族

Net(网纹)家族最初在果蝇中发现, Net蛋白在调控翅器官芽发育中发挥作用, 缺失Net的果蝇会在翅上产生异位纹理; 因此, 在促进纹理发育、维持翅的网纹结构中需要Net的参与^[75]。

小鼠Net家族也只有1个成员, 称为Math6, Math6开始时在心室区的神经前体细胞中表达, 之后在部分正在分化的以及成熟的神经元中表达, 通过反转录病毒在视网膜中表达Math6能诱导产生神经组织而抑制产生结缔组织, 同时不会影响细胞的正常增殖与凋亡^[59]。

线虫也有1个Net家族成员, 称为HLH-10, 但其功能还不清楚^[76]。

1.12 Mesp家族

小鼠Mesp(Mesoderm posterior)家族有3个成员, 即Mesp1、Mesp2和pMeso1。Mesp1在小鼠新生中胚层发育中发挥重要作用, Mesp基因在6.5 dpc(Days post coitum, 交配后天数)的原肠胚形成时期即开始表达^[77]; Mesp2则控制体节形成过程中的成骨细胞极性, 缺失Mesp2的小鼠出生后即死亡、脊柱合并、后根神经节合并, 成骨细胞极性受损^[78], pMeso1(Paraxial mesogenin 1)调控小鼠轴旁中胚层发育, 特异性地在未成熟、未分节的轴旁中胚层中表达, 缺失pMeso1引起体节形成、躯干与尾的分节彻底失败, 所有躯干的轴旁中胚层衍生组织(包括骨骼肌、脊椎骨和肋骨)丧失^[79]。

果蝇只有1个Mesp家族成员, 由sage(Salivary gland-expressed bHLH)基因编码, 其表达产物可与唾腺中da蛋白(见本文1.4)形成二聚体, 是维持sens(Senseless)基因在胚胎唾腺中的表达所必需的,

sens 基因的表达可避免胚胎中唾腺细胞的凋亡^[80]。

线虫中未发现 *Mesp* 家族成员。

1.13 Twist 家族

Twist(转折)家族 bHLH 蛋白最初在果蝇中发现, 由 *twi*(Twist) 基因编码, 在果蝇中胚层谱系的形成中调控一系列不同的细胞命运决定过程, 可与 *da* 蛋白(见本文 1.4) 形成二聚体, 阻遏体细胞肌肉生成所需基因的表达。其表达特性是: 首先, 在中胚层诱导过程中呈现初始统一表达形式; 之后, 在每个中胚层节段呈现高低水平不等的表达样式; 最后, 在成虫肌肉原细胞中的表达则受到一定限制^[81]。

小鼠有 2 个 Twist 家族成员, 即 M-Twist 和 Dermo1。M-Twist 是胚胎发育中肌肉分化的抑制因子, 并且其抑制过程是可逆的^[82]。Dermo-1 是部分间叶细胞基因表达的调控因子, 其作用是阻遏肌肉生成 bHLH 蛋白的转录活性; 其表达在 10.5 dpc 的生骨节与生皮节以及肢芽中水平较低, 但在 13.5 dpc 的生皮节、原椎骨和鳃弓的衍生组织中表达明显增强, 而随着脊索细胞的分化其表达被限制在软骨膜中^[83]。

线虫有 1 个 Twist 家族成员, 称为 HLH-8, 在一部分中胚层组织的正常发育中起关键作用, 胚胎中 3 种无条纹肠肌的形成均需要 HLH-8 的参与^[84]。

1.14 Paraxis 家族

小鼠 Paraxis 家族有 2 个成员, 即 Paraxis 和 Scleraxis。Scleraxis 是小鼠胚胎发生过程中将要形成软骨与结缔组织的间充质细胞中基因表达的调控因子, 它在生骨节、骨与软骨的间质前体以及结缔组织中表达, 能与 E12 蛋白形成二聚体、结合到 E 框上并激活相关基因的转录^[85]。Paraxis 与 Scleraxis 一起在决定轴旁中胚层的图式和体细胞系建立的调控途径中发挥作用, Paraxis 在 7.5 dpc 的原始中胚层中即开始表达, 表达位置从头与心原基沿轴旁中胚层向尾部延伸, 直到体节形成为止。Paraxis 与 Scleraxis 在生骨节中是共同表达的, 但 Paraxis 表达水平在生骨节形成不久后即下降, 而 Scleraxis 表达水平在生骨节及其衍生组织中上升^[86]。

果蝇有 1 个 Paraxis 家族成员, 由 *pxs*(Paraxis) 基因编码^[11], 其蛋白序列登录号为 NP_001014730.1, 功能尚无报道。

线虫中未发现 Paraxis 家族成员。

1.15 MyoRa 家族

MyoR(Myogenic repressor) 最初在小鼠中发现, 是肌肉分化程序中谱系限制性转录阻遏蛋白^[87]。2007 年以前, MyoR 一直被用来作为家族名称; 之后, Simionato 等^[88]认为有必要将 MyoR 家族拓展为 MyoRa、MyoRb 和 Delilah(见本文 1.16 和 1.17) 3 个家族。需要注意的是, 这些家族成员的命名相当不规范, 比如哺乳动物 MyoRa 家族的第 1 个成员称为 MyoR 或 *musculin*(肌球蛋白), 第 2 个成员则有 TF21、*capsulin*、*epicardin* 或 *Pod1*(Podocyte-expressed 1) 等名称; MyoRb 家族的第 1 个成员有少数被称为 TF23, 多数则被称为“与 hCG2037011 相似”, 第 2 个成员也被称为 TF23, 小鼠中也将其称为 OUT(Ovary, uterus and testis protein)(见本文 1.16)。

小鼠有 2 个 MyoRa 家族成员, 即 MyoR 和 Pod-1。小鼠 MyoR 在未分化的成肌细胞中表达, 在成肌细胞的分化过程中表达量下降; MyoR 与 E 蛋白形成二聚体并结合到该 E 蛋白的目标 DNA 上, 但 MyoR 在此处发挥的作用是有效地阻止肌肉细胞生成和 E 框依赖性肌肉基因的激活^[87]。Pod-1 在肾、肺和心脏中的表达水平最高, 在小鼠胚胎中, Pod-1 有选择性地肾、肺、小肠和胰腺中上皮细胞与间质细胞相互作用部位的间质细胞中表达, Pod-1 也在肾脏的足细胞中表达, 并且其表达与足细胞分化的进程是同步的, 显示其在肾脏的形态发生中具有调控作用^[89]。

果蝇中只有 1 个 MyoRa 家族成员, 称为 bHLH54F, 其在胚盘期的表达被限制在靠近后极的部分中胚层细胞中, 在胚带收缩过程中这些细胞沿着未来的中肠区域分散开来, 之后, 表达 bHLH54F 的细胞形成内脏肌肉组织的纵向部分, 显示中肠的外部纵向肌肉前体细胞的来源及其形态与其内部环向肌肉不同^[90]。

线虫中未发现 MyoRa 家族成员。

1.16 MyoRb 家族

小鼠 MyoRb 家族有 2 个成员, 即“与 hCG2037011 相似”和 OUT。hCG2037011 是 GenBank 中登录的一条由 Celera Genomics 公司预测的人蛋白质序列编号, 其功能尚无报道。OUT 主要在成熟小

鼠的繁殖器官中表达,如卵巢、子宫和精巢,在发育中的胚胎中几乎检测不到,OUT通过与其他bHLH蛋白形成无活性的二聚体来发挥其调控功能^[91]。

果蝇与线虫中均未发现 MyoRb 家族成员。

1.17 Delilah家族

Delilah(达莉拉)家族目前发现主要存在于果蝇等昆虫中,Delilah在果蝇的表皮细胞向肌肉附着位点的分化过程中发挥重要作用,它能与E12 蛋白形成二聚体并结合到肌酸激酶启动子上,激活一部分表皮细胞基因的表达,促使体细胞肌肉附着到表皮的肌腱细胞上^[92]。

小鼠、线虫中未发现 Delilah 家族成员。

1.18 Hand家族

小鼠Hand(Heart and neural crest derivatives)家族有 2 个成员,即eHand(Extraembryonic Hand-expressed protein)和dHand(Deciduum Hand-expressed protein),两者均在小鼠心脏形态发生中发挥作用。eHand在小鼠胚胎的滋养层细胞和胚外膜细胞中表达水平很高,其表达首先出现在心脏,在 8.5~10.5 dpc时表达处于高水平,之后立即下调,至 13.5 dpc时,其在心脏组织的表达位于心瓣膜形成的区域;eHand在交感肾上腺细胞谱系、肠组织的第一鳃弓及其衍生组织中表达,显示其在胚外组织、心脏和神经嵴组织形成中具有调控功能^[93]。后续研究表明,dHand与eHand以互补方式表达,并且分别位于将要形成右心室和左心室的心脏管区域中,缺失dHand的小鼠胚胎在 10.5 dpc即死于心力衰竭^[94]。

果蝇有 1 个Hand家族成员,由*Hand*基因编码,在果蝇循环系统的成心细胞、围心细胞和淋巴腺造血祖先细胞中表达,缺失Hand将阻断心脏与淋巴腺的形成,导致重大心脏缺陷(包括心肌发育不全、缺少围心细胞与淋巴腺造血细胞)^[95]。

线虫也有 1 个Hand家族成员,称为Hnd-1,在线虫的性腺发生中具有重要的调控作用。野生型线虫在其性腺原基相应位置具有 2 个体细胞性腺前体和 2 个原生殖细胞,Hnd-1 仅对性腺原基中这两类细胞的出现与位置产生影响,而对后期的性腺发生没有影响;缺失Hnd-1 的线虫能正常产生体细胞性腺前体,但得不到适当维持,有时会导致线虫死亡^[96]。

1.19 PTFa家族

第一个PTF(Pancreas-specific transcription factor)是在小鼠中发现的,最初被命名为PTF1^[97]。之后,发现该蛋白由 3 个亚基组成,分别是p48、p64和 p75^[98,99],其中,p48和p64亚基是DNA结合功能域,p75亚基引导该蛋白转位至细胞核内,因此,不少哺乳动物的同源蛋白都被称为PTF1-p48。2001 年以前,PTF1 用来作为该家族的名称^[10],2002 年发现了与PTF1 家族成员相近但又有足够趋异度的同源蛋白,这样,早先的PTF1 家族被更名为PTFa家族,而将新发现的bHLH蛋白归入PTFb家族(见本文 1.20)^[11]。

小鼠只有 1 个PTFa家族成员,称为PTF1-p48,对胰腺外分泌具有指导作用,缺失该蛋白的小鼠出生后很快死亡,完全丧失胰腺的外分泌组织及其特异分泌物,显示外分泌细胞系的分化与增殖中需要该蛋白的参与^[100]。

果蝇也只有 1 个PTFa家族成员,称为Fer1(Forty-eight related 1),是小鼠PTF1-p48 的同源蛋白,其功能尚无报道^[11]。

线虫中未发现 PTFa 家族成员。

1.20 PTFb家族

小鼠只有 1 个PTFb家族成员,称为Nato3(Nephew of atonal 3),从 7 d龄小鼠胚胎至出生后 5 周内,该蛋白在中脑、丘脑、下丘脑、脑桥和延髓中的表达均维持在高水平,而其在脊索中的表达仅限于胚胎时期^[101]。

果蝇有 2 个PTFb家族成员,称为Fer2 和Fer3,也是小鼠PTF1-p48 的同源蛋白,功能尚无报道^[11]。

线虫有 1 个 PTFb 家族成员,称为 HLH-13,蛋白序列登录号为 NP_508725.1,功能尚无报道。

1.21 SCL家族

SCL(Stem cell leukemia)家族成员在人中研究的最为透彻,人SCL家族有 3 个成员,即Tal1(T-cell acute lymphocytic leukemia 1)、Tal2 和 Lyl1(Lymphoblastic leukemia 1)。Tal1 是在患有T细胞急性淋巴细胞白血病的病人中发现的,从能分化成骨髓细胞和淋巴细胞的白血病干细胞中,发现 1 号染色体与 14 号染色体之间发生了易位,导致SCL基因被破坏,而SCL是血细胞分化与肿瘤诱发的重要调

控因子^[102]。后来,发现这种类型的染色体易位只占 T-ALL(T-cell acute lymphoblastic leukemia)病人的 3%,有大约 25%的病人是由于位于 1 号染色体上的该基因(*Tal1*)编码区缺失了 90 kb^[103];另外大约 70%的病人则是由于易位而表达了另外一个位于 9 号染色体上的基因(*Tal2*)^[104]。*Lyl1* 最初被发现是位于 19 号染色体上并且因为与 7 号染色体之间发生易位而被破坏后也会导致 T-ALL 疾病的基因^[105],后来发现它也属于 SCL 家族^[106]。

果蝇中只有 1 个 SCL 家族成员,称为 HLH3b,其表达局限于胚胎中央神经系统部分细胞中^[107]。

线虫中未发现 SCL 家族成员。

1.22 NSCL 家族

小鼠 NSCL(Neurological SCL)家族有 2 个成员,即 NSCL1 和 NSCL2。1992 年,在小鼠神经系统中发现了一个 SCL 同源基因,当时被命名为 NSCL,在 9.5~14.5 dpc 的小鼠胚胎中检测到了它的表达,在 12~13 d 的小鼠胚胎中,其表达仅限于神经系统中^[108],同年,发现了另外一个成员,命名为 NSCL2,其表达主要出现在 11~13 d 的小鼠胚胎中,并且主要在发育的神经元中,是神经系统发育的调控因子^[109]。

果蝇有 1 个 NSCL 家族成员,称为 HLH4c,其表达局限于胚胎中央神经系统部分细胞中^[107]。

线虫也有 1 个 NSCL 家族成员,称为 HLH-15,蛋白序列登录号为 NP_508440.1,功能尚无报道。

2 B 组 bHLH 家族成员及其功能

B 组 bHLH 蛋白是能够与具有 CACGTG 或 CATGTTG 特征的 E 框 DNA 片段结合的转录因子,共分为 12 个家族,分别是 SRC、FIGα、Myc、Max、Mad、Mnt、Mlx、USF、MITF、SREBP、AP4 和 TF4。

2.1 SRC 家族

第一个 SRC(Steroid receptor coactivator)家族成员是在人中发现的,它对人类固醇受体具有转录激活作用,被命名为 SRC1^[110];其第二个成员(SRC2)一开始在人中称为 TIF2(Transcriptional intermediary factor-2)^[111]、在小鼠中称为 GRIP-1(Glucocorticoid

receptor-interacting protein 1)^[112];其第 3 个成员(SRC3)则有许多别名,比如人的称为 RAC-3(Receptor-associated coactivator 3)^[113],小鼠的称为 pCIP(CBP-interacting protein)^[114]。除此而外,也有把 SRC1、SRC2 和 SRC3 分别称为 NCoA 1、NCoA2 和 NCoA3 的(NCoA: Nuclear receptor coactivator)。

小鼠有 3 个 SRC 家族成员,称为 SRC1、GRIP-1 和 pCIP。过氧化物酶体增殖子激活受体 γ (Peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)是细胞核受体超家族中的一员,主要在脂肪组织中表达。在成纤维细胞中强制表达 PPAR γ 能启动一系列基因的转录、使其发育成脂肪细胞。小鼠 SRC1 是 PPAR γ 的相互作用蛋白,在 PPAR γ 引发的信号通路中发挥作用^[115]。GRIP-1 在增殖中的肌肉细胞以及已分化肌管中表达,其表达水平随着分化进行而升高,可以强化骨骼肌的分化^[116]。pCIP 具有富含亮氨酸的螺旋形相互作用基序,是细胞核受体特异性基因激活机理中所必需的,对不同信号转导途径有选择性抑制作用^[114]。

果蝇只有 1 个 SRC 家族成员,由 *tai*(Taiman)基因编码,是蜕皮激素受体的辅激活蛋白^[117]。

线虫中未发现 SRC 家族成员。

2.2 FIGα 家族

小鼠 FIGα(Factor in the germline alpha)家族只有 1 个成员,它调控卵泡形成,缺失 FIGα 的母鼠不能形成原始卵泡,导致严重缺少卵母细胞;另外,透明带基因的表达也需要 FIGα 的参与^[118,119]。

果蝇与线虫中均未发现 FIGα 家族成员。

2.3 Myc 家族

Myc(Myelocytomatosis oncogene)家族的研究最早在鸡细胞中进行。最初,发现一个鸡髓细胞瘤病毒 MC29 亚组的成员(名为 OK10)能在转化细胞中引起类似巨噬细胞的表型,引起这一表型的基因被称为 *mac*(Macrophage)^[120],之后,发现 MC29 亚组的另 2 个成员(CMII 和 MH2)与 OK10 一样拥有亚组特异性的等位基因 *mcv*(Myelocytomatosis virus MC29)^[121],再以后,在鸡的基因组中发现了 OK10 中该基因的同源基因,因此将该基因统一命名为 *myc*(myelocytomatosis),并且将病毒中的基因命名为 v-*myc*(viral *myc*),鸡中的基因命名为 c-*myc* (cellular *myc*)^[122,123]。

小鼠Myc家族有4个成员,即C-myc、N-myc(Neuroblastoma myc)、L-myc(Lung carcinoma myc)和S-myc(Suppressive myc)。小鼠C-myc和N-myc共同对造血干细胞的增殖、分化与存活发挥调控作用。缺失C-myc的小鼠将积累大量有缺陷的造血干细胞;虽然骨髓中有条件缺失N-myc对造血功能没有影响,但C-myc和N-myc同时缺失会导致各类血细胞减少及个体的快速死亡^[124,125]。小鼠L-myc在母鼠子宫经砒霜处理后产下的雌性幼鼠肺中过量表达,表达水平同时上调的还有 α 胎蛋白、表皮生长因子受体和金属硫蛋白1,这些蛋白均与肺癌的发生相关^联^[126]。小鼠S-myc可以诱导细胞凋亡,从而抑制肿瘤的发生^[127]。

果蝇只有1个Myc家族成员,由*dm*(Diminutive)基因编码,是果蝇生长与发育的整体性调控因子,其异位表达能逆转一部分与“小体型”突变相关的表型变化,是果蝇正常生长与发育所必需的^[128]。

线虫中未发现Myc家族成员。

2.4 Max家族

小鼠Max(Myc associated factor x)家族只有1个成员,Max能特异性地与C-Myc、N-Myc和L-Myc结合,与Myc家族蛋白功能共同发挥调控作用^[129]。

果蝇有1个Max家族成员,由*max*基因编码,其功能尚无报道,蛋白序列登录号为NP_649097.1。

线虫有2个Max家族成员,称为Mxl-1(Max-like family member 1)和Mxl-2。Mxl-1与Mdl-1(见本文2.5)形成二聚体,在线虫胚后期发育中发挥重要调控作用^[130]。Mxl-2与Mml-1(见本文2.7)形成二聚体,在线虫尾部调控射线细胞的迁移^[131]。

2.5 Mad家族

小鼠Mad(Max dimerization protein)家族有4个成员,即Mad1、Mxi1(Max interactor 1)、Mad3和Mad4。小鼠Mad1和Mxi1能与Max形成二聚体,从而阻遏Max-Myc二聚体的转录激活与增殖促进功能,能在最终的分化步骤中限制细胞的增殖,使细胞走出分裂循环;另外,Mxi1还具有肿瘤抑制作用^[132]。小鼠Mad3和Mad4也能与Max形成二聚体,并且阻止启动子中含有CACGTG位点的基因转录,它们主

要在已停止增殖的分化细胞中表达^[133]。

线虫中有1个Mad家族成员,称为Mdl-1(Mad like 1),其功能见本文2.4。

果蝇中未发现Mad家族成员。

2.6 Mnt家族

第一个Mnt是在小鼠中发现的,当时被命名为Max结合蛋白Mnt(Max-binding protein Mnt)^[134]。后来,在Nilsson与Cleveland^[135]的综述文章中,也许是出于为Mnt找一个英文全名的考虑,文章作者用了Max's next tango,书面意思是“Max的下一支探戈舞”,而实际有取其“下一个舞伴”的含义,因为Mnt是继Myc与Mad之后发现的又一种能与Max发生相互作用的蛋白。

小鼠Mnt家族只有1个成员,小鼠Mnt能在活体内与Max形成二聚体并阻遏启动子中含有CACGTG位点的基因转录;Mnt在许多培养的增殖细胞系中均有表达,其中Myc-Max与Mnt-Max两种二聚体都存在;Mnt有可能是活体内Myc活性的主要调节者^[136]。

果蝇也只有1个Mnt家族成员,由*Mnt*基因编码,其作用是抑制细胞的生长与增殖;Mnt突变体比野生型的细胞更大、体重更高、寿命更短^[137]。

线虫中未发现Mnt家族成员。

2.7 Mlx家族

小鼠Mlx(Max-like protein x)家族有2个成员,即Mlx和MondoA。小鼠Mlx只能与Mad1和Mad4发生相互作用,可使Mad家族成员的功能多元化^[138]。小鼠MondoA形成同型二聚体的能力很弱,也不与Max、Myc或Mad家族成员形成二聚体,但能优先与Mlx形成二聚体、结合到具有CACGTG特征的E框上并激活转录。由此可知,Mlx通过与Mad家族成员的相互作用而实现转录阻遏,而MondoA通过与Mlx的相互作用而解除这一阻遏^[139]。

果蝇只有1个Mlx家族成员,是根据基因组DNA序列预测而来,功能尚无报道^[140]。

线虫也只有1个Mlx家族成员,称为Mml-1(Myc and Mondo-like 1),其功能见本文2.4。

关于Myc、Max、Mad、Mnt和Mlx家族成员之间相互作用以及它们所参与调控的基因表达网络,有多篇综述文章可供参阅^[135,141~143]。

2.8 USF家族

USF(Upstream stimulatory factor)家族的研究在人中较为透彻。人USF家族有 2 个成员,即USF1 和 USF2,主要功能是在一些细胞类型中对细胞增殖起负调控作用。在甲状腺滤泡细胞中,过量表达USF1 和 USF2 能显著抑制甲状腺刺激激素引起的胸苷吸收、抑制癌细胞中的BrdU(5-bromo-2'-deoxyuridine)吸收以及在G₂/M期诱导细胞周期延迟。USF的过量表达伴随着细胞周期蛋白B1 的下降、细胞周期蛋白依赖激酶 1(CDK-1)的下降以及p27的上升。USF1 与USF2 两者均抑制正常甲状腺细胞和甲状腺癌细胞的增殖;然而,它们在甲状腺刺激激素作用以后保留了产生cAMP的能力,对细胞增殖的抑制可能是由于引起了细胞周期在G₂/M期的延迟^[144]。另有研究发现,人类USF转录因子以同型二聚体的形式结合到DNA上,其N末端部分在与DNA结合中不起作用,但如果缺少C末端的亮氨酸重复则失去DNA结合活性^[145]。

果蝇只有 1 个USF家族成员,是根据基因组DNA序列预测而来,功能尚无报道^[11]。

线虫中未发现 USF 家族成员。

2.9 MITF家族

小鼠 MITF(Microphthalmia transcription factor)家族有 4 个成员,即 MITF、TFE3(Transcription factor E3)、TFEB 和 TFEC。

小鼠MITF家族成员的研究始于对*mi* (Microphthalmia)位点突变的研究,携带有该位点突变的小鼠没有色素沉着能力、眼睛变小、无次级骨吸收、肥大细胞数目减少且早发耳聋^[146]。人的*mi*同源基因被发现时,开始用MITF来命名^[147]。TFE3 最早是从人中发现的,因它能结合到免疫球蛋白重链基因增强子的 μ E3 位点上并强烈促进转录而得名^[148]。不久,从人B细胞系中得到另一个能识别免疫球蛋白重链基因E框的蛋白质,命名为TFEB^[149],TFEB可以形成同型二聚体或与TFE3 形成异型二聚体并结合到DNA上,其中的亮氨酸拉链结构是二聚化以及与DNA紧密结合所必需的^[150]。TFEC是在大鼠中发现的,它能与TFE3 形成二聚体,从而抑制TFE3 的反式激活作用,TFEC在成熟大鼠的多种组织中均有表达,但TFEC与TFE3 的相对浓度在这些组织中有很大的不同;在成纤维细胞、肌肉细胞、软骨肉瘤细胞

和骨髓瘤细胞等细胞系中没有检测到TFEC的RNA,说明TFEC不是普遍表达的蛋白^[151]。

虽然TFE3、TFEB和TFEC三者的功能与MITF截然不同,但系统发生分析显示它们的序列确实是同源的^[11]。

果蝇只有 1 个MITF家族成员,在胚胎发育过程以及眼芽与触角芽中均有表达,其野生型或显性失活基因的定向表达会导致眼发育异常^[152]。

线虫也只有 1 个 MITF 家族成员,称为 HLH-30,功能尚无报道,蛋白序列登录号为 NP_001023414.1。

2.10 SREBP家族

小鼠 SREBP(Sterol regulatory element-binding protein)家族有 2 个成员,即SREBP1 和SREBP2。SREBP1 的功能在人中较为清楚,它是一种能与SRE-1(Sterol regulatory element 1)DNA元件结合的蛋白,该元件为低密度脂蛋白受体基因所拥有。当细胞内固醇含量下降时该基因被激活,固醇含量上升可使该基因沉默,是控制人血浆胆固醇水平的重要因子^[153]。人SREBP2 具有与SREBP1 相似的DNA结合活性与功能,但其氨基酸序列中有一个富含谷氨酰胺的区域(121 个氨基酸中有 27%);小鼠SREBP2 则被发现在生精细胞中有高水平表达,并且不受细胞中固醇含量的控制^[154,155]。

果蝇只有 1 个SREBP家族成员,缺失该基因的果蝇生长严重受阻、脂肪酸合成所需基因的转录严重不足,幼虫在 3 龄前死亡^[156]。

线虫也只有 1 个SREBP家族成员,称为Sbp-1,敲除该基因的线虫体形变小,脂肪储存与产卵能力下降^[157]。

2.11 AP4 家族

人AP4(Activating element-binding protein 4)家族只有 1 个成员,它是一种能结合到病毒SV40 增强子元件上并激活病毒晚期基因转录的细胞蛋白^[158],后来发现它是一种bHLH蛋白,并且具有多个蛋白质相互作用的界面^[159]。另有研究发现,AP4 能与联会蛋白形成复合体,并对非神经细胞中的目标基因实施负调控,对抑制胎儿脑中目标基因的过早表达有关^[160]。

果蝇也只有 1 个AP4 家族成员,由*crp*(Cropped)

基因编码, 功能还不清楚^[11]。

线虫也有 1 个 AP4 家族成员, 称为 HLH-11, 在线虫的咽、肠、神经索、肛降肌和阴门肌细胞中均有表达, 与调控体形与繁殖能力有关^[161]。

2.12 TF4 家族

人 TF4 (Transcription factor-like protein 4) 家族只有 1 个成员, 最初被命名为 TCFL4 (Transcription factor like 4), 功能尚不清楚^[162]。

需要指出的是, 不少 TF4 同源蛋白都被误称为 Mix。为了正确识别 TF4 序列, 现列出人、小鼠、大鼠 TF4 蛋白序列的登录号: 人(NP_937847.1)、小鼠(NP_035680.2)、大鼠(NP_001029284.1)。

果蝇也有 1 个 TF4 家族成员, 由 *bmx* (Bigmax) 基因编码, 功能还不清楚^[11]。

线虫中未发现 TF4 家族成员。

3 C组bHLH家族成员及其功能

C组bHLH蛋白均具有 1 个或 2 个 PAS 结构域 (*Drosophila* Period – human Arnt – *Drosophila* Single-minded domains)^[163], 其中第 2 个 PAS 结构域后面还带有 1 个 PAC (PAS domain's C-terminal) 基序^[164]。因此, 许多 C 组 bHLH 蛋白都曾使用如 NPAS1、NPAS2 和 NPAS3 或者 EPAS1, 容易引起混淆。C 组 bHLH 蛋白共分 7 个家族, 即 AHR、ARNT、Bmal、Clock、Sim、Trh 和 HIF。

3.1 AHR 家族

小鼠 AHR (Aryl hydrocarbon receptor) 家族有 2 个成员, 称为 AHR 和 AHRR (AHR repressor)。1979 年, 在小鼠中发现 AHR 是一种胞质蛋白, 能结合到外源化学物质 (如多环芳香烃) 上、进入细胞核并激活药物代谢酶基因的表达^[165]; 1992 年, 发现 AHR 是一种具有 PAS 结构域的 bHLH 蛋白^[166]; 1999 年, 发现 AHRR 是 AHR 的拮抗物, 能通过 ARNT 蛋白 (见本文 3.2) 发生二聚化从而抑制 AHR 的功能^[167]。

果蝇也有 2 个 AHR 家族成员, 分别由 *ss* (Spineless) 和 *dys* (Dysfusion) 基因编码, 果蝇 *Ss* 在感觉神经元的树突分枝中调控树突的多样性^[168], 果蝇 *Dys* 则调控气管融合中的基因表达, 在不同细胞类型中均具有转录激活作用, 但其作用在气管细胞里

最有效, 并且只在胚胎发生的中后期发挥作用^[169]。

线虫只有 1 个 AHR 家族成员, 称为 AHR-1, 是 γ -氨基丁酸能神经元 (GABAergic neuron) 命运特化的调控因子^[170]。

3.2 ARNT 家族

小鼠 ARNT (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator) 家族有 2 个成员, 即 ARNT1 和 ARNT2, 其作用均为帮助“AHR-配体”复合物从细胞质转移到细胞核中, 其中 ARNT1 是普遍表达的蛋白, 而 ARNT2 在成熟小鼠的脑和肾脏中表达^[171, 172]。需要注意的是, ARNT1 曾被称为 HIF1 β (Hypoxia-inducible factor 1 beta), 因为最初发现它是 HIF1 的一个亚基 (见本文 3.7)。

果蝇只有 1 个 ARNT 家族成员, 由 *tgo* (Tango) 基因编码。果蝇 *Sim* 和 *Trh* 基因 (见本文 3.5 和 3.6) 分别控制中央神经系统中线细胞发育和气管发育, 但两者的功能都是通过与 Tgo 蛋白形成二聚体、结合到相应的增强子 DNA 上并激活基因的转录的^[173]。

线虫也只有 1 个 ARNT 家族成员, 称为 AHA-1 (AHR associated protein family member 1), 其作用是与 HIF-1 形成二聚体, 帮助细胞适应低氧环境 (详见本文 3.7)^[174]。

3.3 Bmal 家族

小鼠 Bmal (Brain and muscle Arnt-like protein) 家族有 2 个成员, 即 Bmal1 和 Bmal2。大鼠 Bmal1 与 Clock1 (见本文 3.4) 一起调控昼夜节律, 它在主观夜时间段的视交叉上核表达水平最高^[175]。人 Bmal2 的表达限制在胎儿脑及成人的肝脏中, 人 Bmal1 则在脑及骨骼肌中表达, 显示 Bmal2 可能在胚胎发育时期以及成人时期具有与 Bmal1 不同的功能^[176]。需要注意的是, 不少哺乳动物的 Bmal1 和 Bmal2 同源蛋白都被命名成了 ARNTL1 (Arnt-like protein 1) 和 ARNTL2, 有少数还被称为 MOP (Member of PAS protein)。

果蝇只有 1 个 Bmal 家族成员, 由 *cyc* (Cycle) 基因编码, 负责控制昼夜节律, *cyc* 基因纯合突变体完全失去昼夜节律, 杂合突变体虽然具有昼夜节律, 但其节奏被打乱, 显示该基因有一定的剂量效应^[177]。

线虫中未发现 Bmal 家族成员。

3.4 Clock家族

小鼠 Clock(Circadian locomotor output cycles kaput)家族有 2 个成员,即Clock1 和Clock2。小鼠 Clock1 与Bmal1 一起参与调控昼夜节律,显性失活的Clock1 突变体与Bmal1 形成的二聚体能结合到目标DNA上但不能激活基因转录^[178]。小鼠Clock2 在脑与脊索中表达,最初称为NPAS2(Neural PAS domain protein 2)^[179],与Bmal2 一起参与调控昼夜节律。Clock2-Bmal2 二聚体需要经过类似于Clock1-Bmal1 二聚体一样的磷酸化作用后才能获得反式激活功能^[180]。需要注意的是,绝大多数哺乳动物的Clock2 同源蛋白都被叫做NPAS2。

果蝇有 3 个Clock家族成员,分别由*clk*(Clock)、*Met*(Methoprene-tolerant)和*gce*(Germ cell-expressed bHLH-PAS)基因编码。*Clk*与*Cyc*(见本文 3.3)一起参与昼夜节律的控制,在一个昼夜循环中,成虫头部的大部分*Clk*蛋白都稳定地与*Cyc*蛋白结合,而在深夜与早晨 *Clk*-*Cyc* 二聚体被 *Per*(Period) 和 *Tim*(Timeless)结合形成没有转录活性的四聚体^[181]。果蝇*Met*基因突变体具有对杀虫剂甲氧普烯的耐受性,说明该杀虫剂起作用过程中需要*Met*蛋白的参与^[182]。*Gce*能与*Met*形成二聚体,但在保幼激素类杀虫剂存在的条件下,*Met*-*Gce*二聚体显著减少^[183]。

线虫中未发现 Clock 家族成员。

3.5 Sim家族

Sim(Single-minded)家族的第一个成员是在果蝇中发现的。*Sim*特异性地在中线神经上皮细胞中表达^[184],是一种转录激活调控因子,在其C末端具有富含丝氨酸、苏氨酸、谷氨酰胺或脯氨酸的区域^[185]。

小鼠*Sim*家族有 2 个成员,即*Sim1* 和*Sim2*,两者均能与ARNT形成二聚体,从而阻遏ARNT的活性。胚胎发育过程中,*Sim1* 主要在体节、生肾索及中脑组织中表达,*Sim2* 则主要在间脑、鳃弓及四肢中表达^[186]。

线虫的一条蛋白质序列(NP_506391.2),称为HLH-34,有可能是*Sim*家族的 1 个成员(目前还无法确定它属于*Sim*、*Trh*和HIF中的哪一个)^[188]。

3.6 Trh家族

Trh(Trachealess)家族成员最早在果蝇中发现,它在胚胎气管系统的发育中起重要作用,*Trh*的异位

表达能导致产生额外的气管囊和气管支,在后气孔和唾液腺管的发育中也需要*Trh*的作用^[187]。

小鼠也只有 1 个*Trh*家族成员,称为NPAS3(Neural PAS domain protein 3),在控制脑的正常发育和神经信号传递中发挥重要作用。*NPAS3* 基因敲除小鼠生长受阻、脑发育异常,包括前海马体变小、胼胝体发育不全以及脑室增大,其行为异常包括多动、步态稍有缺陷、听觉惊吓前脉冲抑制功能减弱、再认记忆丧失以及焦虑相关响应行为改变^[188]。

线虫中未发现 *Trh* 家族成员。

3.7 HIF家族

人HIF(Hypoxia-inducible factor)家族有 4 个成员,即HIF1 α 、HIF3 α 、EPAS1 和NPAS1。最初,发现人HIF1 是由低氧条件诱导表达的蛋白质,它能结合到促红细胞生成素基因的增强子元件上并激活该基因的转录^[189],后来,发现HIF1 是由HIF1 α 与HIF1 β 组成的复合体,其中HIF1 α 是最初鉴定出的由低氧诱导产生的蛋白质,而HIF1 β 实际上是普遍表达的ARNT1 蛋白(见本文 3.2)^[172, 190]。HIF3 α 在人肾脏中表达,它的C末端没有HIF1 α 那样的反式激活功能域,是低氧诱导基因表达的负调控因子^[191]。人EPAS1(Endothelial PAS domain protein 1)在含氧量正常的肺、心脏、肝以及其他器官中均有高水平表达;同时,低氧又能强烈地诱导其表达^[192]。人NPAS1 (Neural PAS domain protein 1)的功能类似于HIF3 α ,对受低氧响应元件调控的基因表达有抑制作用^[193]。

果蝇只有 1 个HIF家族成员,由*sim*(Similar)基因编码,*Sima*与*Tango*(见本文 3.2)形成类似于人HIF1 α -HIF1 β 那样的复合体,在低氧条件下激活相关基因的表达,其表达在低氧条件下上调并保持稳定^[194]。

线虫也只有 1 个HIF家族成员,称为HIF-1,其作用是与AHA-1(见本文 3.2)一起调控细胞在低氧条件下的代谢过程。在标准实验条件下,HIF-1 突变体虽然没有严重缺陷,但失去了对低氧条件的适应能力,其中AHA-1 也失去了向细胞核转移的能力,显示AHA-1 的细胞核转位功能需要HIF的参与^[174]。

4 D组bHLH家族成员及其功能

D组蛋白在其HLH结构基序的N端缺少碱性区域,因此不能与DNA结合,它们通过与A组bHLH蛋白形成无DNA结合能力的二聚体而发挥作用。该组bHLH蛋白只有1个家族,即Emc(Extramacrochaetae)家族。

Emc家族的第一个成员是在果蝇中发现的,最初发现它是无刚毛-盾片复合体(见本文1.1)遗传系统的反式调控基因,具有较少*emc*基因剂量的果蝇突变体会在其背板的固定位置产生超粗的刚毛^[195]。后来发现它是具有HLH结构的蛋白质,能通过与其他bHLH蛋白形成没有DNA结合能力的二聚体而起负调控作用^[196]。

小鼠Emc家族有4个成员,即Id1(Inhibitor of DNA-binding 1)、Id2、Id3和Id4。小鼠Id1无效突变体没有任何异常,但是Id2-/-小鼠缺少淋巴结,并且天然杀伤细胞谱系的建立受到严重干扰^[197,198]。小鼠Id1、Id2与Id3在多种组织中都有表达,而Id4只在神经组织和处于腹部位置的胃上皮细胞中表达。Id1、Id2与Id3表达的区域,如肠道、肺脏、肾脏、牙齿、触须以及其他腺体结构,都处于活跃的形态发生阶段^[199]。

线虫中未发现Emc家族成员。

5 E组bHLH家族成员及其功能

E组bHLH蛋白优先与具有CACGCG或CACGAG碱基的N框(N-box)DNA序列结合。另外,绝大多数E组bHLH蛋白都含有“Orange”结构域并且在C末端具有“WRPW”或“YRPW”这4种氨基酸^[200]。E组bHLH蛋白分为2个家族,即Hes和Hey。

5.1 Hes家族

小鼠Hes(Hairy and enhancer of split)家族有8个成员,即Hes1、Hes2、Hes3、Hes5、Hes6、Hes7、Dec1(Differentially expressed in chondrocytes protein 1)和Dec2。

小鼠中央神经系统发育过程中,位于脑室区的神经前体细胞在接收到让它们分化为神经元或胶质细胞的指令后,向外部迁移并完成最后的分化步骤。Hes1在小鼠胚胎的整个脑室区中均有高水平表

达,但随着神经元分化程度升高,其表达水平降低。在脑室区持续高水平表达Hes1会使神经前体细胞继续留在脑室区而不向外部迁移,严重干扰神经元与胶质细胞的分化^[201]。大鼠Hes2的表达从9.5 dpc的胚胎中就开始,并在胚胎与成熟大鼠的多种组织中一直能检测到,它能通过与DNA的结合而对相关基因的表达起负调控作用^[202]。在小鼠中央神经系统发育的早期,Hes3特异性地在中脑与后脑的交界区域以及第2、4、6、7菱脑原节处表达;在发育后期,Hes3与其他神经生成基因在中央神经系统以及部分表皮细胞中共同表达^[203]。小鼠Hes5专门在发育中的神经系统中表达,功能与Hes1相近,其表达水平随分化程度升高而下降^[204]。在小鼠胚胎发育过程中,Hes6的表达在Ngn基因之后,但在其他神经元分化基因之前,具有促进神经生成的功能;与其他Hes蛋白不同,Hes6与其他原神经元bHLH蛋白一起通过正反馈环路来促进神经元的分化^[205]。Hes7在协调体节分化上极为重要,在Hes7无效突变的小鼠中,不能形成正常的体节,其前后极性也被扰乱,体节相关部分如椎骨和肋骨严重变形^[206]。

小鼠Dec1参与对分子钟的精密调控及其稳定性的维持,Dec1基因敲除小鼠在持续黑暗条件下呈现显著延长了的昼夜周期^[207]。小鼠Dec2是细胞对低氧条件响应的负调控因子,通过与HIF1 α 形成二聚体抑制由HIF1 α -ARNT1二聚体激活的低氧响应相关基因的表达(见本文3.7)^[208]。

果蝇共有11个Hes基因,即*h*、*dpm*、*side*、*Her*、*E(spl)m3*、*E(spl)m5*、*E(spl)m7*、*E(spl)m8*、*E(spl)m β* 、*E(spl)m γ* 以及*E(spl)m δ* 。果蝇*h*(Hairy)基因具有调控胚胎分节和成虫刚毛图样的功能^[209]。果蝇*dpm*(Deadpan)基因在调控幼虫视神经节有丝分裂中发挥作用,缺失该基因导致细胞增殖减少,异位表达该基因则引起细胞过度增殖^[210]。果蝇*side*(Similar to deadpan)基因和*Her*(Hes-related)基因是根据基因组DNA序列预测而来,其功能尚无报道,它们的蛋白序列号分别为NP_523599.1和NP_525094.1。其余7种Hes蛋白在果蝇的早期神经生成中帮助神经外胚层细胞进入表皮发育途径,功能上有一定的互补性^[211,212]。

线虫中已经确定的Hes家族成员只有1个,称为Lin-22,在决定线虫前后体轴上不同区域细胞命运中发挥作用^[213]。

5.2 Hey 家族

小鼠 Hey(Hes-related with YRPW motif)家族有 4 个成员, 即 Hey1、Hey2、HEYL(Hey-like transcription factor)和 HESL(Hes-like transcription factor)。

小鼠 Hey1 在神经系统发育、体节分化、心脏与头部形成中表达。Hey2 在体节分化中的表达与 Hey1 相似, 但在心脏与头部形成和神经系统发育中的表达则与 Hey1 互补, 两者在神经生成、体节分化与器官发生中具有独特的功能^[214]。HEYL 在中胚层、体节、外周神经系统和所有动脉的平滑肌中均强烈表达^[215]。HESL 与 Mash1(见本文 1.1)共同表达能强烈促进 γ 氨基酸能神经元的形成, 显示不同 bHLH 因子的组合能促进不同神经元亚型的形成, 由此增加神经元的多样性^[216]。

果蝇有 2 个 Hey 家族成员, 分别由 *Hey* 和 *Stich1* (*Sticky ch 1*) 基因编码, 其功能尚不清楚^[11]。

线虫中未发现 Hey 家族成员。

6 F 组 bHLH 家族成员及其功能

F 组 bHLH 蛋白具有 IPT(Immunoglobulin-like, plexins and transcription factors)结构域, 该结构域在二聚化以及与 DNA 结合中均有作用^[217]。该组 bHLH 蛋白只有 1 个家族, 即 COE(Collier/Olfactory-1/Early B-cell factor)家族。

小鼠 COE 家族有 4 个成员, 即 EBF1(Early B-cell Factor 1)、EBF2、EBF3 和 EBF4。小鼠 EBF1 发现于 1991 年, 能激活免疫球蛋白 A 之 α 链基因的表达, EBF1 的表达限制在早期 B 细胞中^[218]; 该基因在 1993 年被其他研究人员鉴定并命名为 *Olf-1*, 因为它参与调控嗅觉神经元特异基因的表达^[219]; 1996 年, 当该基因的同源基因在果蝇中被发现的时候, 被命名为 Collier^[220]。因此, 2001 年 Ledent 与 Vervoort^[10] 使用了 COE 来命名该家族。小鼠 EBF2 和 EBF3 也称为 O/E-2(Olf-1/EBF-like protein 2)和 O/E-3, 两者均只在嗅觉组织中有高表达^[221]。小鼠 EBF4(O/E-4)在嗅觉上皮细胞的神经元与基底细胞中表达, 但只能微弱地激活转录^[222]。

果蝇只有 1 个 COE 家族成员, 由 *col*(Collier) 基因编码, 其在胚盘期的表达限制在对应于闰节与上颚节原基的一个条形区域中, 缺失 *Col* 会导致果蝇头

部缺少来自这一区域的结构^[220]。

线虫也有 1 个 COE 家族成员, 称为 Unc-3 (Un-coordinated family member 3), 是根据基因组序列预测而来(NP_510453.1), 功能尚无报道。

7 孤儿成员及其功能

小鼠中还有 4 种 bHLH 蛋白因系统发生分析无法确定其家族归属, 因此暂时归入“孤儿”成员, 它们是 Sohlh1、Sohlh2、Mga 和 TF42。

Sohlh1(Spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix 1) 在人中发现, 最初称为 TCFL5 (Transcription factor-like 5), 它特异性地在粗线期初级精母细胞中表达^[223, 224]。小鼠 Sohlh2 是生殖细胞早期发育的重要调控因子^[225]。小鼠 Mga(*Max* gene associated) 能与 Max(见本文 2.4) 蛋白结合, 含有额外的 DNA 结合功能域(称为 T 框), 能在 Max 网络调控和 T 框家族基因表达调控中发挥双重作用^[226]。TF42(Transcription factor 42) 是从小鼠脑细胞中鉴定出的转录因子, 其功能还不清楚^[227]。

所有果蝇 bHLH 蛋白都已归入相应家族。

在系统发生分析中, 用来做参照的大多数已鉴定 bHLH 都来自果蝇、斑马鱼与小鼠等较为高等的动物, 目前有 15 种线虫 bHLH 蛋白还未能确定其家族归属, 它们的功能也尚无报道^[88]。

8 结 语

本文对小鼠、果蝇和线虫 3 种模式动物的 bHLH 家族成员及其功能的研究进展进行了综述。其中, 对于每种动物各具有哪些 bHLH 家族成员及其名称来源方面的介绍较为全面, 而由于篇幅所限, 关于每种 bHLH 蛋白功能方面的介绍基本上只参阅了一篇文献的研究结果。动物 bHLH 家族成员众多, 不同家族 bHLH 蛋白具有不同的生物学功能, 同一家族 bHLH 蛋白在不同动物中又有不同的功能, 甚至同一种 bHLH 蛋白在动物的不同发育时期、不同组织器官中均有不同的作用。因此, 要更深入、更全面地了解 bHLH 蛋白的功能, 还应关注更多最新研究报道。

参考文献(References):

- [1] Murre C, McCaw PS, Baltimore D. A new DNA binding

- and dimerization motif in immunoglobulin enhancer binding, daughterless, MyoD, and myc proteins. *Cell*, 1989, 56(5): 777–783. [\[DOI\]](#)
- [2] Barnes RM, Firulli AB. A twist of insight-the role of Twist-family bHLH factors in development. *Int J Dev Biol*, 2009, 53(7): 909–924. [\[DOI\]](#)
- [3] Kageyama R, Ohtsuka T, Kobayashi T. Roles of *Hes* genes in neural development. *Dev Growth Differ*, 2008, 50(Suppl 1): S97–103. [\[DOI\]](#)
- [4] 邹林春, 赵旺森, 杨新宇, 杨树源. Hes1 蛋白在神经细胞生成中的作用. 国际神经病学神经外科学杂志, 2008, 35(5): 438–441.
- [5] 王敏, 郑燕, 郑雁飞, 李彬彬, 汪运山. 转录调节因子 DEC1 的研究进展. 山东科学, 2008, 21(4): 29–35.
- [6] 王勇, 陈克平, 姚勤. bHLH 转录因子家族研究进展. 遗传, 2008, 30(7): 821–830.
- [7] Massari ME, Murre C. Helix-loop-helix proteins: regulators of transcription in eucaryotic organisms. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(2): 429–440. [\[DOI\]](#)
- [8] Garcia-Bellido A. Genetic analysis of the Achaete-Scute system of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1979, 91(3): 491–520.
- [9] Carramolino L, Ruiz-Gomez M, Guerrero MD, Campuzano S, Modolell J. DNA map of mutations at the scute locus of *Drosophila melanogaster*. *Embo J*, 1982, 1(10): 1185–1191.
- [10] Ledent V, Vervoort M. The basic helix-loop-helix protein family: comparative genomics and phylogenetic analysis. *Genome Res*, 2001, 11(5): 754–770. [\[DOI\]](#)
- [11] Ledent V, Paquet O, Vervoort M. Phylogenetic analysis of the human basic helix-loop-helix proteins. *Genome Biol*, 2002, 3(6): RESEARCH0030.
- [12] Cubas P, de Celis JF, Campuzano S, Modolell J. Proneural clusters of achaete-scute expression and the generation of sensory organs in the *Drosophila* imaginal wing disc. *Genes Dev*, 1991, 5(6): 996–1008. [\[DOI\]](#)
- [13] Carmena A, Bate M, Jimenez F. Lethal of scute, a proneural gene, participates in the specification of muscle progenitors during *Drosophila* embryogenesis. *Genes Dev*, 1995, 9(19): 2373–2383. [\[DOI\]](#)
- [14] Deshpande G, Stuke J, Schedl P. *scute* (*sis-b*) function in *Drosophila* sex determination. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(8): 4430–4440.
- [15] Gonzalez F, Romani S, Cubas P, Modolell J, Campuzano S. Molecular analysis of the *asense* gene, a member of the achaete-scute complex of *Drosophila melanogaster*, and its novel role in optic lobe development. *Embo J*, 1989, 8(12): 3553–3562.
- [16] Johnson JE, Zimmerman K, Saito T, Anderson DJ. Induction and repression of mammalian achaete-scute homologue (MASH) gene expression during neuronal differentiation of P19 embryonal carcinoma cells. *Development*, 1992, 114(1): 75–87.
- [17] Berninger B, Costa MR, Koch U, Schroeder T, Sutor B, Grothe B, Gotz M. Functional properties of neurons derived from *in vitro* reprogrammed postnatal astroglia. *J Neurosci*, 2007, 27(32): 8654–8664. [\[DOI\]](#)
- [18] Tanaka M, Gertsenstein M, Rossant J, Nagy A. Mash2 acts cell autonomously in mouse spongiontrophoblast development. *Dev Biol*, 1997, 190(1): 55–65. [\[DOI\]](#)
- [19] Doonan R, Hatzold J, Raut S, Conradt B, Alfonso A. HLH-3 is a *C. elegans* Achaete/Scute protein required for differentiation of the hermaphrodite-specific motor neurons. *Mech Dev*, 2008, 125(9-10): 883–893. [\[DOI\]](#)
- [20] Frank CA, Baum PD, Garriga G. HLH-14 is a *C. elegans* achaete-scute protein that promotes neurogenesis through asymmetric cell division. *Development*, 2003, 130(26): 6507–6518. [\[DOI\]](#)
- [21] Zheng X, Wang Y, Yao Q, Yang Z, Chen K. A genome-wide survey on basic helix-loop-helix transcription factors in rat and mouse. *Mamm Genome*, 2009, 20(4): 236–246. [\[DOI\]](#)
- [22] Bullard T, Koek L, Roztocil E, Kingsley PD, Mirels L, Ovitt CE. Ascl3 expression marks a progenitor population of both acinar and ductal cells in mouse salivary glands. *Dev Biol*, 2008, 320(1): 72–78. [\[DOI\]](#)
- [23] Jonsson M, Bjorntrorp Mark E, Brantsing C, Brandner JM, Lindahl A, Asp J. Hash4, a novel human achaete-scute homologue found in fetal skin. *Genomics*, 2004, 84(5): 859–866. [\[DOI\]](#)
- [24] Smit RB, Schnabel R, Gaudet J. The HLH-6 transcription factor regulates *C. elegans* pharyngeal gland development and function. *PLoS Genet*, 2008, 4(10): e1000222. [\[DOI\]](#)
- [25] Tapscott SJ, Davis RL, Thayer MJ, Cheng PF, Weintraub H, Lassar AB. MyoD1: a nuclear phosphoprotein requiring a Myc homology region to convert fibroblasts to myoblasts. *Science*, 1988, 242(4877): 405–411. [\[DOI\]](#)
- [26] Wright WE, Sassoon DA, Lin VK. Myogenin, a factor regulating myogenesis, has a domain homologous to MyoD. *Cell*, 1989, 56(4): 607–617. [\[DOI\]](#)
- [27] Braun T, Buschhausen-Denker G, Bober E, Tannich E, Arnold HH. A novel human muscle factor related to but distinct from MyoD1 induces myogenic conversion in 10T1/2 fibroblasts. *Embo J*, 1989, 8(3): 701–709.
- [28] Braun T, Bober E, Winter B, Rosenthal N, Arnold HH. Myf-6, a new member of the human gene family of myo-

- genic determination factors: evidence for a gene cluster on chromosome 12. *Embo J*, 1990, 9(3): 821–831.
- [29] Rhodes SJ, Konieczny SF. Identification of MRF4: a new member of the muscle regulatory factor gene family. *Genes Dev*, 1989, 3(12B): 2050–2061. [\[DOI\]](#)
- [30] Gessler M, Hameister H, Henry I, Junien C, Braun T, Arnold HH. The human MyoD1 (MYF3) gene maps on the short arm of chromosome 11 but is not associated with the WAGR locus or the region for the Beckwith-Wiedemann syndrome. *Hum Genet*, 1990, 86(2): 135–138.
- [31] Gensch N, Borchardt T, Schneider A, Riethmacher D, Braun T. Different autonomous myogenic cell populations revealed by ablation of Myf5-expressing cells during mouse embryogenesis. *Development*, 2008, 135(9): 1597–1604. [\[DOI\]](#)
- [32] Meadows E, Cho JH, Flynn JM, Klein WH. Myogenin regulates a distinct genetic program in adult muscle stem cells. *Dev Biol*, 2008, 322(2): 406–414. [\[DOI\]](#)
- [33] Kerst B, Mennerich D, Schuelke M, Stoltenburg-Didinger G, von Moers A, Gossrau R, van Landeghem FK, Speer A, Braun T, Hubner C. Heterozygous myogenic factor 6 mutation associated with myopathy and severe course of Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*, 2000, 10(8): 572–577.
- [34] Paterson BM, Shirakata M, Nakamura S, Dechesne C, Walldorf U, Eldridge J, Dubendorfer A, Frasch M, Gehring WJ. Isolation and functional comparison of Dmyd, the *Drosophila* homologue of the vertebrate myogenic determination genes, with CMD1. *Symp Soc Exp Biol*, 1992, 46: 89–109. [\[DOI\]](#)
- [35] Chen L, Krause M, Sepanski M, Fire A. The *Caenorhabditis elegans* MYOD homologue HLH-1 is essential for proper muscle function and complete morphogenesis. *Development*, 1994, 120(6): 1631–1641.
- [36] Moss LG, Moss JB, Rutter WJ. Systematic binding analysis of the insulin gene transcription control region: insulin and immunoglobulin enhancers utilize similar transactivators. *Mol Cell Biol*, 1988, 8(6): 2620–2627.
- [37] Mellentin JD, Murre C, Donlon TA, McCaw PS, Smith SD, Carroll AJ, McDonald ME, Baltimore D, Cleary ML. The gene for enhancer binding proteins E12/E47 lies at the t(1;19) breakpoint in acute leukemias. *Science*, 1989, 246(4928): 379–382.
- [38] Henthorn P, Kiledjian M, Kadesch T. Two distinct transcription factors that bind the immunoglobulin enhancer microE5/kappa 2 motif. *Science*, 1990, 247(4941): 467–470. [\[DOI\]](#)
- [39] Zhang Y, Babin J, Feldhaus AL, Singh H, Sharp PA, Bina M. HTF4: a new human helix-loop-helix protein. *Nucleic Acids Res*, 1991, 19(16): 4555. [\[DOI\]](#)
- [40] Zhuang Y, Soriano P, Weintraub H. The helix-loop-helix gene *E2A* is required for B cell formation. *Cell*, 1994, 79(5): 875–884. [\[DOI\]](#)
- [41] Brown NL, Paddock SW, Sattler CA, Cronmiller C, Thomas BJ, Carroll SB. *Daughterless* is required for *Drosophila* photoreceptor cell determination, eye morphogenesis, and cell cycle progression. *Dev Biol*, 1996, 179(1): 65–78. [\[DOI\]](#)
- [42] Karp X, Greenwald I. Multiple roles for the E/Daughterless ortholog HLH-2 during *C. elegans* gonadogenesis. *Dev Biol*, 2004, 272(2): 460–469. [\[DOI\]](#)
- [43] Ma Q, Kintner C, Anderson DJ. Identification of *neurogenin*, a vertebrate neuronal determination gene. *Cell*, 1996, 87(1): 43–52. [\[DOI\]](#)
- [44] Sommer L, Ma Q, Anderson DJ. Neurogenins, a novel family of atonal-related bHLH transcription factors, are putative mammalian neuronal determination genes that reveal progenitor cell heterogeneity in the developing CNS and PNS. *Mol Cell Neurosci*, 1996, 8(4): 221–241. [\[DOI\]](#)
- [45] Ma Q, Chen Z, del Barco Barrantes I, de la Pompa JL, Anderson DJ. *Neurogenin1* is essential for the determination of neuronal precursors for proximal cranial sensory ganglia. *Neuron*, 1998, 20(3): 469–482. [\[DOI\]](#)
- [46] Ozen I, Galichet C, Watts C, Parras C, Guillemot F, Raineteau O. Proliferating neuronal progenitors in the postnatal hippocampus transiently express the proneural gene *Ngn2*. *Eur J Neurosci*, 2007, 25(9): 2591–2603. [\[DOI\]](#)
- [47] Yoshida S, Takakura A, Ohbo K, Abe K, Wakabayashi J, Yamamoto M, Suda T, Nabeshima Y. Neurogenin3 delineates the earliest stages of spermatogenesis in the mouse testis. *Dev Biol*, 2004, 269(2): 447–458. [\[DOI\]](#)
- [48] Gautier P, Ledent V, Massaer M, Dambly-Chaudiere C, Ghysen A. *Tap*, a *Drosophila* bHLH gene expressed in chemosensory organs. *Gene*, 1997, 191(1): 15–21. [\[DOI\]](#)
- [49] Lee JE, Hollenberg SM, Snider L, Turner DL, Lipnick N, Weintraub H. Conversion of *Xenopus* ectoderm into neurons by NeuroD, a basic helix-loop-helix protein. *Science*, 1995, 268(5212): 836–844. [\[DOI\]](#)
- [50] McCormick MB, Tamimi RM, Snider L, Asakura A, Bergstrom D, Tapscott SJ. NeuroD2 and neuroD3: distinct expression patterns and transcriptional activation potentials within the neuroD gene family. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(10): 5792–5800.
- [51] Takebayashi K, Takahashi S, Yokota C, Tsuda H, Nakanishi S, Asashima M, Kageyama R. Conversion of ecto-

- derm into a neural fate by *ATH-3*, a vertebrate basic helix-loop-helix gene homologous to *Drosophila* proneural gene *atonal*. *Embo J*, 1997, 16(2): 384–395. [\[DOI\]](#)
- [52] Shimizu C, Akazawa C, Nakanishi S, Kageyama R. MATH-2, a mammalian helix-loop-helix factor structurally related to the product of *Drosophila* proneural gene *atonal*, is specifically expressed in the nervous system. *Eur J Biochem*, 1995, 229(1): 239–248. [\[DOI\]](#)
- [53] Liu H, Etter P, Hayes S, Jones I, Nelson B, Hartman B, Forrest D, Reh TA. NeuroD1 regulates expression of thyroid hormone receptor 2 and cone opsins in the developing mouse retina. *J Neurosci*, 2008, 28(3): 749–756. [\[DOI\]](#)
- [54] Sugimoto Y, Furuno T, Nakanishi M. Effect of NeuroD2 expression on neuronal differentiation in mouse embryonic stem cells. *Cell Biol Int*, 2009, 33(2): 174–179. [\[DOI\]](#)
- [55] Tsuda H, Takebayashi K, Nakanishi S, Kageyama R. Structure and promoter analysis of *Math3* gene, a mouse homolog of *Drosophila* proneural gene *atonal*. Neural-specific expression by dual promoter elements. *J Biol Chem*, 1998, 273(11): 6327–6333. [\[DOI\]](#)
- [56] Hallam S, Singer E, Waring D, Jin Y. The *C. elegans* NeuroD homolog *cnd-1* functions in multiple aspects of motor neuron fate specification. *Development*, 2000, 127(19): 4239–4252.
- [57] Jarman AP, Grau Y, Jan LY, Jan YN. *Atonal* is a proneural gene that directs chordotonal organ formation in the *Drosophila* peripheral nervous system. *Cell*, 1993, 73(7): 1307–1321. [\[DOI\]](#)
- [58] Brown NL, Kanekar S, Vetter ML, Tucker PK, Gemza DL, Glaser T. *Math5* encodes a murine basic helix-loop-helix transcription factor expressed during early stages of retinal neurogenesis. *Development*, 1998, 125(23): 4821–4833.
- [59] Inoue C, Bae SK, Takatsuka K, Inoue T, Bessho Y, Kageyama R. *Math6*, a bHLH gene expressed in the developing nervous system, regulates neuronal versus glial differentiation. *Genes Cells*, 2001, 6(11): 977–986. [\[DOI\]](#)
- [60] Goulding SE, White NM, Jarman AP. *Cato* encodes a basic helix-loop-helix transcription factor implicated in the correct differentiation of *Drosophila* sense organs. *Dev Biol*, 2000, 221(1): 120–131. [\[DOI\]](#)
- [61] zur Lage PI, Prentice DR, Holohan EE, Jarman AP. The *Drosophila* proneural gene *amos* promotes olfactory sensillum formation and suppresses bristle formation. *Development*, 2003, 130(19): 4683–4693. [\[DOI\]](#)
- [62] Akazawa C, Ishibashi M, Shimizu C, Nakanishi S, Kageyama R. A mammalian helix-loop-helix factor structurally related to the product of *Drosophila* proneural gene *atonal* is a positive transcriptional regulator expressed in the developing nervous system. *J Biol Chem*, 1995, 270(15): 8730–8738. [\[DOI\]](#)
- [63] Portman DS, Emmons SW. The basic helix-loop-helix transcription factors LIN-32 and HLH-2 function together in multiple steps of a *C. elegans* neuronal sublineage. *Development*, 2000, 127(24): 5415–5426.
- [64] Lemercier C, To RQ, Swanson BJ, Lyons GE, Konieczny SF. Mist1: a novel basic helix-loop-helix transcription factor exhibits a developmentally regulated expression pattern. *Dev Biol*, 1997, 182(1): 101–113. [\[DOI\]](#)
- [65] Pin CL, Rukstalis JM, Johnson C, Konieczny SF. The bHLH transcription factor Mist1 is required to maintain exocrine pancreas cell organization and acinar cell identity. *J Cell Biol*, 2001, 155(4): 519–530. [\[DOI\]](#)
- [66] Hewes RS, Park D, Gauthier SA, Schaefer AM, Taghert PH. the bHLH protein Dimmed controls neuroendocrine cell differentiation in *Drosophila*. *Development*, 2003, 130(9): 1771–1781. [\[DOI\]](#)
- [67] Peyton M, Moss LG, Tsai MJ. Two distinct class A helix-loop-helix transcription factors, E2A and BETA1, form separate DNA binding complexes on the insulin gene E box. *J Biol Chem*, 1994, 269(41): 25936–25941.
- [68] Naya FJ, Stellrecht CM, Tsai MJ. Tissue-specific regulation of the insulin gene by a novel basic helix-loop-helix transcription factor. *Genes Dev*, 1995, 9(8): 1009–1019. [\[DOI\]](#)
- [69] Peyton M, Stellrecht CM, Naya FJ, Huang HP, Samora PJ, Tsai MJ. BETA3, a novel helix-loop-helix protein, can act as a negative regulator of BETA2 and MyoD-responsive genes. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(2): 626–633.
- [70] Kim MH, Gunnensen J, Augustine C, Tan SS. Region-specific expression of the helix-loop-helix gene *BETA3* in developing and adult brains. *Mech Dev*, 2002, 114(1–2): 125–128. [\[DOI\]](#)
- [71] Bramblett DE, Copeland NG, Jenkins NA, Tsai MJ. BHLHB4 is a bHLH transcriptional regulator in pancreas and brain that marks the dimesencephalic boundary. *Genomics*, 2002, 79(3): 402–412. [\[DOI\]](#)
- [72] McMiller TL, Johnson CM. Molecular characterization of HLH-17, a *C. elegans* bHLH protein required for normal larval development. *Gene*, 2005, 356: 1–10. [\[DOI\]](#)
- [73] Zhou Q, Wang S, Anderson DJ. Identification of a novel family of oligodendrocyte lineage-specific basic helix-loop-helix transcription factors. *Neuron*, 2000, 25(2): 331–343. [\[DOI\]](#)
- [74] Ding L, Takebayashi H, Watanabe K, Ohtsuki T, Tanaka KF, Nabeshima Y, Chisaka O, Ikenaka K, Ono K. Short-term lineage analysis of dorsally derived Olig3 cells in the de-

- veloping spinal cord. *Dev Dynam*, 2005, 234(3): 622–632.[\[DOI\]](#)
- [75] Brentrup D, Lerch H, Jackle H, Noll M. Regulation of *Drosophila* wing vein patterning: *net* encodes a bHLH protein repressing rhomboid and is repressed by rhomboid-dependent Egfr signalling. *Development*, 2000, 127(21): 4729–4741.
- [76] Portman DS, Emmons SW. Identification of *C. elegans* sensory ray genes using whole-genome expression profiling. *Dev Biol*, 2004, 270(2): 499–512.[\[DOI\]](#)
- [77] Saga Y, Hata N, Kobayashi S, Magnuson T, Seldin MF, Taketo MM. MesP1: a novel basic helix-loop-helix protein expressed in the nascent mesodermal cells during mouse gastrulation. *Development*, 1996, 122(9): 2769–2778.
- [78] Saga Y, Hata N, Koseki H, Taketo MM. *Mesp2*: a novel mouse gene expressed in the presegmented mesoderm and essential for segmentation initiation. *Genes Dev*, 1997, 11(14): 1827–1839.[\[DOI\]](#)
- [79] Yoon JK, Moon RT, Wold B. The bHLH class protein pMesogenin1 can specify paraxial mesoderm phenotypes. *Dev Biol*, 2000, 222(2): 376–391.[\[DOI\]](#)
- [80] Chandrasekaran V, Beckendorf SK. *Senseless* is necessary for the survival of embryonic salivary glands in *Drosophila*. *Development*, 2003, 130(19): 4719–4728.[\[DOI\]](#)
- [81] Castanon I, Von Stetina S, Kass J, Baylies MK. Dimerization partners determine the activity of the Twist bHLH protein during *Drosophila* mesoderm development. *Development*, 2001, 128(16): 3145–3159.
- [82] Hebrok M, Wertz K, Fuchtbauer EM. M-twist is an inhibitor of muscle differentiation. *Dev Biol*, 1994, 165(2): 537–544.[\[DOI\]](#)
- [83] Li L, Cserjesi P, Olson EN. Dermo-1: a novel twist-related bHLH protein expressed in the developing dermis. *Dev Biol*, 1995, 172(1): 280–292.[\[DOI\]](#)
- [84] Corsi AK, Kostas SA, Fire A, Krause M. *Caenorhabditis elegans* twist plays an essential role in non-striated muscle development. *Development*, 2000, 127(10): 2041–2051.
- [85] Cserjesi P, Brown D, Ligon KL, Lyons GE, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Olson EN. Scleraxis: a basic helix-loop-helix protein that prefigures skeletal formation during mouse embryogenesis. *Development*, 1995, 121(4): 1099–1110.
- [86] Burgess R, Cserjesi P, Ligon KL, Olson EN. Paraxis: a basic helix-loop-helix protein expressed in paraxial mesoderm and developing somites. *Dev Biol*, 1995, 168(2): 296–306.[\[DOI\]](#)
- [87] Lu J, Webb R, Richardson JA, Olson EN. MyoR: a muscle-restricted basic helix-loop-helix transcription factor that antagonizes the actions of MyoD. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(2): 552–557.[\[DOI\]](#)
- [88] Simionato E, Ledent V, Richards G, Thomas-Chollier M, Kerner P, Coornaert D, Degnan BM, Vervoort M. Origin and diversification of the basic helix-loop-helix gene family in metazoans: insights from comparative genomics. *BMC Evol Biol*, 2007, 7: 33.[\[DOI\]](#)
- [89] Quaggin SE, Vanden Heuvel GB, Igarashi P. Pod-1, a mesoderm-specific basic-helix-loop-helix protein expressed in mesenchymal and glomerular epithelial cells in the developing kidney. *Mech Dev*, 1998, 71(1–2): 37–48.[\[DOI\]](#)
- [90] Georgias C, Wasser M, Hinz U. A basic-helix-loop-helix protein expressed in precursors of *Drosophila* longitudinal visceral muscles. *Mech Dev*, 1997, 69(1–2): 115–124.[\[DOI\]](#)
- [91] Narumi O, Mori S, Boku S, Tsuji Y, Hashimoto N, Nishikawa S, Yokota Y. OUT, a novel basic helix-loop-helix transcription factor with an Id-like inhibitory activity. *J Biol Chem*, 2000, 275(5): 3510–3521.[\[DOI\]](#)
- [92] Armand P, Knapp AC, Hirsch AJ, Wieschaus EF, Cole MD. A novel basic helix-loop-helix protein is expressed in muscle attachment sites of the *Drosophila* epidermis. *Mol Cell Biol*, 1994, 14(6): 4145–4154.
- [93] Cserjesi P, Brown D, Lyons GE, Olson EN. Expression of the novel basic helix-loop-helix gene *eHAND* in neural crest derivatives and extraembryonic membranes during mouse development. *Dev Biol*, 1995, 170(2): 664–678.[\[DOI\]](#)
- [94] Srivastava D, Thomas T, Lin Q, Kirby ML, Brown D, Olson EN. Regulation of cardiac mesodermal and neural crest development by the bHLH transcription factor, dHAND. *Nat Genet*, 1997, 16(2): 154–160.[\[DOI\]](#)
- [95] Han Z, Yi P, Li X, Olson EN. Hand, an evolutionarily conserved bHLH transcription factor required for *Drosophila* cardiogenesis and hematopoiesis. *Development*, 2006, 133(6): 1175–1182.[\[DOI\]](#)
- [96] Mathies LD, Henderson ST, Kimble J. The *C. elegans* *Hand* gene controls embryogenesis and early gonadogenesis. *Development*, 2003, 130(13): 2881–2892.[\[DOI\]](#)
- [97] Cockell M, Stevenson BJ, Strubin M, Hagenbuchle O, Wellauer PK. Identification of a cell-specific DNA-binding activity that interacts with a transcriptional activator of genes expressed in the acinar pancreas. *Mol Cell Biol*, 1989, 9(6): 2464–2476.
- [98] Sommer L, Hagenbuchle O, Wellauer PK, Strubin M. Nuclear targeting of the transcription factor PTF1 is mediated by a protein subunit that does not bind to the PTF1 cognate sequence. *Cell*, 1991, 67(5): 987–994.[\[DOI\]](#)
- [99] Roux E, Strubin M, Hagenbuchle O, Wellauer PK. The

- cell-specific transcription factor PTF1 contains two different subunits that interact with the DNA. *Genes Dev*, 1989, 3(10): 1613–1624. [\[DOI\]](#)
- [100] Krapp A, Knofler M, Ledermann B, Burki K, Berney C, Zoerkler N, Hagenbuchle O, Wellauer PK. The bHLH protein PTF1-p48 is essential for the formation of the exocrine and the correct spatial organization of the endocrine pancreas. *Genes Dev*, 1998, 12(23): 3752–3763. [\[DOI\]](#)
- [101] Segev E, Halachmi N, Salzberg A, Ben-Arie N. Noto3 is an evolutionarily conserved bHLH transcription factor expressed in the CNS of *Drosophila* and mouse. *Mech Dev*, 2001, 106(1–2): 197–202. [\[DOI\]](#)
- [102] Begley CG, Aplan PD, Davey MP, Nakahara K, Tchorz K, Kurtzberg J, Hershfield MS, Haynes BF, Cohen DI, Waldmann TA, Kirsch IR. Chromosomal translocation in a human leukemic stem-cell line disrupts the T-cell antigen receptor delta-chain diversity region and results in a previously unreported fusion transcript. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86(6): 2031–2035. [\[DOI\]](#)
- [103] Brown L, Cheng JT, Chen Q, Siciliano MJ, Crist W, Buchanan G, Baer R. Site-specific recombination of the *tal-1* gene is a common occurrence in human T cell leukemia. *Embo J*, 1990, 9(10): 3343–3351.
- [104] Xia Y, Brown L, Yang CY, Tsan JT, Siciliano MJ, Espinosa R, III, Le Beau MM, Baer RJ. *TAL2*, a helix-loop-helix gene activated by the (7; 9)(q34; q32) translocation in human T-cell leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(24): 11416–11420. [\[DOI\]](#)
- [105] Mellentin JD, Smith SD, Cleary ML. *lyl-1*, a novel gene altered by chromosomal translocation in T cell leukemia, codes for a protein with a helix-loop-helix DNA binding motif. *Cell*, 1989, 58(1): 77–83. [\[DOI\]](#)
- [106] Baer R. *TAL1*, *TAL2* and *LYL1*: a family of basic helix-loop-helix proteins implicated in T cell acute leukaemia. *Semin Cancer Biol*, 1993, 4(6): 341–347.
- [107] Vartanasian M, Lipkowitz S, Karsch-Mizrachi I, Paterson B, Kirsch I. Two new *Drosophila* genes related to human hematopoietic and neurogenic transcription factors. *Cell Growth Differ*, 1993, 4(11): 885–889.
- [108] Begley CG, Lipkowitz S, Gobel V, Mahon KA, Bertness V, Green AR, Gough NM, Kirsch IR. Molecular characterization of *NSCL*, a gene encoding a helix-loop-helix protein expressed in the developing nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(1): 38–42. [\[DOI\]](#)
- [109] Gobel V, Lipkowitz S, Kozak CA, Kirsch IR. *NSCL-2*: a basic domain helix-loop-helix gene expressed in early neurogenesis. *Cell Growth Differ*, 1992, 3(3): 143–148.
- [110] Onate SA, Tsai SY, Tsai MJ, O'Malley BW. Sequence and characterization of a coactivator for the steroid hormone receptor superfamily. *Science*, 1995, 270(5240): 1354–1357. [\[DOI\]](#)
- [111] Voegel JJ, Heine MJ, Zechel C, Chambon P, Gronemeyer H. TIF2, a 160 kDa transcriptional mediator for the ligand-dependent activation function AF-2 of nuclear receptors. *Embo J*, 1996, 15(14): 3667–3675.
- [112] Hong H, Kohli K, Garabedian MJ, Stallcup MR. GRIP1, a transcriptional coactivator for the AF-2 transactivation domain of steroid, thyroid, retinoid, and vitamin D receptors. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(5): 2735–2744.
- [113] Li H, Gomes PJ, Chen JD. RAC3, a steroid/nuclear receptor-associated coactivator that is related to SRC-1 and TIF2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(16): 8479–8484. [\[DOI\]](#)
- [114] Torchia J, Rose DW, Inostroza J, Kamei Y, Westin S, Glass CK, Rosenfeld MG. The transcriptional co-activator p/CIP binds CBP and mediates nuclear-receptor function. *Nature*, 1997, 387(6634): 677–684. [\[DOI\]](#)
- [115] Zhu Y, Qi C, Calandra C, Rao MS, Reddy JK. Cloning and identification of mouse steroid receptor coactivator-1 (mSRC-1), as a coactivator of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Gene Expr*, 1996, 6(3): 185–195.
- [116] Chen SL, Dowhan DH, Hosking BM, Muscat GE. The steroid receptor coactivator, GRIP-1, is necessary for MEF-2C-dependent gene expression and skeletal muscle differentiation. *Genes Dev*, 2000, 14(10): 1209–1228.
- [117] Jang AC, Chang YC, Bai J, Montell D. Border-cell migration requires integration of spatial and temporal signals by the BTB protein Abrupt. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(5): 569–579. [\[DOI\]](#)
- [118] Liang L, Soyal SM, Dean J. FIGa, a germ cell specific transcription factor involved in the coordinate expression of the zona pellucida genes. *Development*, 1997, 124(24): 4939–4947.
- [119] Dean J. Oocyte-specific genes regulate follicle formation, fertility and early mouse development. *J Reprod Immunol*, 2002, 53(1–2): 171–180. [\[DOI\]](#)
- [120] Beug H, von Kirchbach A, Doderlein G, Conscience JF, Graf T. Chicken hematopoietic cells transformed by seven strains of defective avian leukemia viruses display three distinct phenotypes of differentiation. *Cell*, 1979, 18(2): 375–390. [\[DOI\]](#)
- [121] Bister K, Ramsay G, Hayman MJ, Duesberg PH. OK10, an avian acute leukemia virus of the MC29 subgroup with a unique genetic structure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 77(12): 7142–7146. [\[DOI\]](#)
- [122] Chiswell DJ, Ramsay G, Hayman MJ. Two virus-specific

- RNA species are present in cells transformed by defective leukemia virus OK10. *J Virol*, 1981, 40(1): 301–304.
- [123] Vennstrom B, Sheiness D, Zabielski J, Bishop JM. Isolation and characterization of *c-myc*, a cellular homolog of the oncogene (*v-myc*) of avian myelocytomatosis virus strain 29. *J Virol*, 1982, 42(3): 773–779.
- [124] Laurenti E, Varnum-Finney B, Wilson A, Ferrero I, Blanco-Bose WE, Ehninger A, Knoepfler PS, Cheng PF, MacDonald HR, Eisenman RN, Bernstein ID, Trumpp A. Hematopoietic stem cell function and survival depend on c-Myc and N-Myc activity. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(6): 611–624. [\[DOI\]](#)
- [125] Sauvageau G, Perreault C. Killer granzyme B linked to N-myc- and c-myc-dependent HSC survival: isn't that comyc? *Cell Stem Cell*, 2008, 3(6): 579–580. [\[DOI\]](#)
- [126] Shen J, Liu J, Xie Y, Diwan BA, Waalkes MP. Fetal onset of aberrant gene expression relevant to pulmonary carcinogenesis in lung adenocarcinoma development induced by *in utero* arsenic exposure. *Toxicol Sci*, 2007, 95(2): 313–320. [\[DOI\]](#)
- [127] Sugiyama A, Noguchi K, Kitanaka C, Katou N, Tashiro F, Ono T, Yoshida MC, Kuchino Y. Molecular cloning and chromosomal mapping of mouse intronless *myc* gene acting as a potent apoptosis inducer. *Gene*, 1999, 226(2): 273–283. [\[DOI\]](#)
- [128] Schreiber-Agus N, Stein D, Chen K, Goltz JS, Stevens L, DePinho RA. *Drosophila* Myc is oncogenic in mammalian cells and plays a role in the diminutive phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(4): 1235–1240. [\[DOI\]](#)
- [129] 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. [\[DOI\]](#)
- [130] Yuan J, Tirabassi RS, Bush AB, Cole MD. The *C. elegans* MDL-1 and MXL-1 proteins can functionally substitute for vertebrate MAD and MAX. *Oncogene*, 1998, 17(9): 1109–1118. [\[DOI\]](#)
- [131] Pickett CL, Breen KT, Ayer DE. A *C. elegans* Myc-like network cooperates with semaphorin and Wnt signaling pathways to control cell migration. *Dev Biol*, 2007, 310(2): 226–239. [\[DOI\]](#)
- [132] Foley KP, Eisenman RN. Two MAD tails: what the recent knockouts of Mad1 and Mxi1 tell us about the MYC/MAX/MAD network. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1423(3): M37–47.
- [133] Hurlin PJ, Queva C, Koskinen PJ, Steingrimsson E, Ayer DE, Copeland NG, Jenkins NA, Eisenman RN. Mad3 and Mad4: novel Max-interacting transcriptional repressors that suppress c-myc dependent transformation and are expressed during neural and epidermal differentiation. *Embo J*, 1995, 14(22): 5646–5659.
- [134] Hurlin PJ, Queva C, Eisenman RN. Mnt, a novel Max-interacting protein is coexpressed with Myc in proliferating cells and mediates repression at Myc binding sites. *Genes Dev*, 1997, 11(1): 44–58. [\[DOI\]](#)
- [135] Nilsson JA, Cleveland JL. Mnt: master regulator of the Max network. *Cell Cycle*, 2004, 3(5): 588–590.
- [136] Hurlin PJ, Queva C, Eisenman RN. Mnt: a novel Max-interacting protein and Myc antagonist. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1997, 224: 115–121.
- [137] Loo LW, Secombe J, Little JT, Carlos LS, Yost C, Cheng PF, Flynn EM, Edgar BA, Eisenman RN. The transcriptional repressor dMnt is a regulator of growth in *Drosophila melanogaster*. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(16): 7078–7091. [\[DOI\]](#)
- [138] Billin AN, Eilers AL, Queva C, Ayer DE. Mlx, a novel Max-like BHLHZip protein that interacts with the Max network of transcription factors. *J Biol Chem*, 1999, 274(51): 36344–36350. [\[DOI\]](#)
- [139] Billin AN, Eilers AL, Coulter KL, Logan JS, Ayer DE. MondoA, a novel basic helix-loop-helix-leucine zipper transcriptional activator that constitutes a positive branch of a max-like network. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(23): 8845–8854. [\[DOI\]](#)
- [140] Peyrefitte S, Kahn D, Haenlin M. New members of the *Drosophila* Myc transcription factor subfamily revealed by a genome-wide examination for basic helix-loop-helix genes. *Mech Dev*, 2001, 104(1–2): 99–104. [\[DOI\]](#)
- [141] Pirity M, Blanck JK, Schreiber-Agus N. Lessons learned from Myc/Max/Mad knockout mice. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2006, 302: 205–234. [\[DOI\]](#)
- [142] Billin AN, Ayer DE. The Mlx network: evidence for a parallel Max-like transcriptional network that regulates energy metabolism. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2006, 302: 255–278. [\[DOI\]](#)
- [143] Brohl D, Strehle M, Wende H, Hori K, Bormuth I, Nave KA, Muller T, Birchmeier C. A transcriptional network coordinately determines transmitter and peptidergic fate in the dorsal spinal cord. *Dev Biol*, 2008, 322(2): 381–393. [\[DOI\]](#)
- [144] Jung HS, Kim KS, Chung YJ, Chung HK, Min YK, Lee MS, Lee MK, Kim KW, Chung JH. USF inhibits cell proliferation through delay in G2/M phase in FRTL-5 cells. *Endocr J*, 2007, 54(2): 275–285. [\[DOI\]](#)
- [145] Sirito M, Walker S, Lin Q, Kozlowski MT, Klein WH,

- Sawadogo M. Members of the USF family of helix-loop-helix proteins bind DNA as homo- as well as heterodimers. *Gene Expr*, 1992, 2(3): 231–240.
- [146] Hodgkinson CA, Moore KJ, Nakayama A, Steingrimsdottir E, Copeland NG, Jenkins NA, Arnheiter H. Mutations at the mouse microphthalmia locus are associated with defects in a gene encoding a novel basic-helix-loop-helix zipper protein. *Cell*, 1993, 74(2): 395–404. [\[DOI\]](#)
- [147] Tachibana M, Perez-Jurado LA, Nakayama A, Hodgkinson CA, Li X, Schneider M, Miki T, Fex J, Francke U, Arnheiter H. Cloning of *MITF*, the human homolog of the mouse microphthalmia gene and assignment to chromosome 3p14.1-p12.3. *Hum Mol Genet*, 1994, 3(4): 553–557. [\[DOI\]](#)
- [148] Beckmann H, Su LK, Kadesch T. TFE3: a helix-loop-helix protein that activates transcription through the immunoglobulin enhancer μ E3 motif. *Genes Dev*, 1990, 4(2): 167–179. [\[DOI\]](#)
- [149] Carr CS, Sharp PA. A helix-loop-helix protein related to the immunoglobulin E box-binding proteins. *Mol Cell Biol*, 1990, 10(8): 4384–4388.
- [150] Fisher DE, Carr CS, Parent LA, Sharp PA. TFEB has DNA-binding and oligomerization properties of a unique helix-loop-helix/leucine-zipper family. *Genes Dev*, 1991, 5(12A): 2342–2352. [\[DOI\]](#)
- [151] Zhao GQ, Zhao Q, Zhou X, Mattei MG, de Crombrughe B. TFEC, a basic helix-loop-helix protein, forms heterodimers with TFE3 and inhibits TFE3-dependent transcription activation. *Mol Cell Biol*, 1993, 13(8): 4505–4512.
- [152] Hallsson JH, Hafliadottir BS, Stivers C, Odenwald W, Arnheiter H, Pignoni F, Steingrimsdottir E. The basic helix-loop-helix leucine zipper transcription factor Mitf is conserved in *Drosophila* and functions in eye development. *Genetics*, 2004, 167(1): 233–241. [\[DOI\]](#)
- [153] Yokoyama C, Wang X, Briggs MR, Admon A, Wu J, Hua X, Goldstein JL, Brown MS. SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Cell*, 1993, 75(1): 187–197. [\[DOI\]](#)
- [154] Hua X, Yokoyama C, Wu J, Briggs MR, Brown MS, Goldstein JL, Wang X. SREBP-2, a second basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that stimulates transcription by binding to a sterol regulatory element. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(24): 11603–11607.
- [155] Wang H, Liu F, Millette CF, Kilpatrick DL. Expression of a novel, sterol-insensitive form of sterol regulatory element binding protein 2 (SREBP2) in male germ cells suggests important cell- and stage-specific functions for SREBP targets during spermatogenesis. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(24): 8478–8490. [\[DOI\]](#)
- [156] Kunte AS, Matthews KA, Rawson RB. Fatty acid auxotrophy in *Drosophila* larvae lacking SREBP. *Cell Metab*, 2006, 3(6): 439–448. [\[DOI\]](#)
- [157] Nomura T, Horikawa M, Shimamura S, Hashimoto T, Sakamoto K. Fat accumulation in *Caenorhabditis elegans* is mediated by SREBP homolog SBP-1. *Genes Nutr*, 2009 (Epub ahead of print).
- [158] Mermod N, Williams TJ, Tjian R. Enhancer binding factors AP-4 and AP-1 act in concert to activate SV40 late transcription *in vitro*. *Nature*, 1988, 332(6164): 557–561. [\[DOI\]](#)
- [159] Hu YF, Luscher B, Admon A, Mermod N, Tjian R. Transcription factor AP-4 contains multiple dimerization domains that regulate dimer specificity. *Genes Dev*, 1990, 4(10): 1741–1752. [\[DOI\]](#)
- [160] Kim MY, Jeong BC, Lee JH, Kee HJ, Kook H, Kim NS, Kim YH, Kim JK, Ahn KY, Kim KK. A repressor complex, AP4 transcription factor and geminin, negatively regulates expression of target genes in nonneuronal cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(35): 13074–13079. [\[DOI\]](#)
- [161] Lee SU, Song HO, Lee W, Singaravelu G, Yu JR, Park WY. Identification and characterization of a putative basic helix-loop-helix (bHLH) transcription factor interacting with calcineurin in *C. elegans*. *Mol Cells*, 2009 (Epub ahead of print).
- [162] Bjerknes M, Cheng H. *TCFL4*: a gene at 17q21.1 encoding a putative basic helix-loop-helix leucine-zipper transcription factor. *Gene*, 1996, 181(1–2): 7–11. [\[DOI\]](#)
- [163] Huang ZJ, Edery I, Rosbash M. PAS is a dimerization domain common to *Drosophila* period and several transcription factors. *Nature*, 1993, 364(6434): 259–262. [\[DOI\]](#)
- [164] Pellequer JL, Wager-Smith KA, Kay SA, Getzoff ED. Photoactive yellow protein: a structural prototype for the three-dimensional fold of the PAS domain superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(11): 5884–5890. [\[DOI\]](#)
- [165] Okey AB, Bondy GP, Mason ME, Kahl GF, Eisen HJ, Guenther TM, Nebert DW. Regulatory gene product of the Ah locus. Characterization of the cytosolic inducer-receptor complex and evidence for its nuclear translocation. *J Biol Chem*, 1979, 254(22): 11636–11648.
- [166] Burbach KM, Poland A, Bradfield CA. Cloning of the Ah-receptor cDNA reveals a distinctive ligand-activated transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(17): 8185–8189. [\[DOI\]](#)
- [167] Mimura J, Ema M, Sogawa K, Fujii-Kuriyama Y. Identification of a novel mechanism of regulation of Ah (dioxin)

- receptor function. *Genes Dev*, 1999, 13(1): 20–25. [\[DOI\]](#)
- [168] Kim MD, Jan LY, Jan YN. The bHLH-PAS protein Spineless is necessary for the diversification of dendrite morphology of *Drosophila* dendritic arborization neurons. *Genes Dev*, 2006, 20(20): 2806–2819. [\[DOI\]](#)
- [169] Jiang L, Crews ST. Transcriptional specificity of *Drosophila* dysfusion and the control of tracheal fusion cell gene expression. *J Biol Chem*, 2007, 282(39): 28659–28668. [\[DOI\]](#)
- [170] Huang X, Powell-Coffman JA, Jin Y. The AHR-1 aryl hydrocarbon receptor and its co-factor the AHA-1 aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator specify GABAergic neuron cell fate in *C. elegans*. *Development*, 2004, 131(4): 819–828. [\[DOI\]](#)
- [171] Reisz-Porszasz S, Probst MR, Fukunaga BN, Hankinson O. Identification of functional domains of the aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator protein (ARNT). *Mol Cell Biol*, 1994, 14(9): 6075–6086.
- [172] Hirose K, Morita M, Ema M, Mimura J, Hamada H, Fujii H, Saijo Y, Gotoh O, Sogawa K, Fujii-Kuriyama Y. cDNA cloning and tissue-specific expression of a novel basic helix-loop-helix/PAS factor (Arnt2) with close sequence similarity to the aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (Arnt). *Mol Cell Biol*, 1996, 16(4): 1706–1713.
- [173] Sonnenfeld M, Ward M, Nystrom G, Mosher J, Stahl S, Crews S. The *Drosophila tango* gene encodes a bHLH-PAS protein that is orthologous to mammalian Arnt and controls CNS midline and tracheal development. *Development*, 1997, 124(22): 4571–4582.
- [174] Jiang H, Guo R, Powell-Coffman JA. The *Caenorhabditis elegans hif-1* gene encodes a bHLH-PAS protein that is required for adaptation to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(14): 7916–7921. [\[DOI\]](#)
- [175] Honma S, Ikeda M, Abe H, Tanahashi Y, Namihira M, Honma K, Nomura M. Circadian oscillation of BMAL1, a partner of a mammalian clock gene *Clock*, in rat suprachiasmatic nucleus. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 250(1): 83–87. [\[DOI\]](#)
- [176] Ikeda M, Yu W, Hirai M, Ebisawa T, Honma S, Yoshimura K, Honma KI, Nomura M. cDNA cloning of a novel bHLH-PAS transcription factor superfamily gene, *BMAL2*: its mRNA expression, subcellular distribution, and chromosomal localization. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 275(2): 493–502. [\[DOI\]](#)
- [177] Rutla JE, Suri V, Le M, So WV, Rosbash M, Hall JC. CYCLE is a second bHLH-PAS clock protein essential for circadian rhythmicity and transcription of *Drosophila* period and timeless. *Cell*, 1998, 93(5): 805–814. [\[DOI\]](#)
- [178] Gekakis N, Staknis D, Nguyen HB, Davis FC, Wilsbacher LD, King DP, Takahashi JS, Weitz CJ. Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science*, 1998, 280(5369): 1564–1569. [\[DOI\]](#)
- [179] Zhou YD, Barnard M, Tian H, Li X, Ring HZ, Francke U, Shelton J, Richardson J, Russell DW, McKnight SL. Molecular characterization of two mammalian bHLH-PAS domain proteins selectively expressed in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(2): 713–718. [\[DOI\]](#)
- [180] Dardente H, Fortier EE, Martineau V, Cermakian N. Cryptochromes impair phosphorylation of transcriptional activators in the clock: a general mechanism for circadian repression. *Biochem J*, 2007, 402(3): 525–536. [\[DOI\]](#)
- [181] Bae K, Lee C, Hardin PE, Edery I. dCLOCK is present in limiting amounts and likely mediates daily interactions between the dCLOCK-CYC transcription factor and the PER-TIM complex. *J Neurosci*, 2000, 20(5): 1746–1753.
- [182] Ashok M, Turner C, Wilson TG. Insect juvenile hormone resistance gene homology with the bHLH-PAS family of transcriptional regulators. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(6): 2761–2766. [\[DOI\]](#)
- [183] Godlewski J, Wang S, Wilson TG. Interaction of bHLH-PAS proteins involved in juvenile hormone reception in *Drosophila*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 342(4): 1305–1311. [\[DOI\]](#)
- [184] Thomas JB, Crews ST, Goodman CS. Molecular genetics of the single-minded locus: a gene involved in the development of the *Drosophila* nervous system. *Cell*, 1988, 52(1): 133–141. [\[DOI\]](#)
- [185] Franks RG, Crews ST. Transcriptional activation domains of the single-minded bHLH protein are required for CNS midline cell development. *Mech Dev*, 1994, 45(3): 269–277. [\[DOI\]](#)
- [186] Ema M, Morita M, Ikawa S, Tanaka M, Matsuda Y, Gotoh O, Saijoh Y, Fujii H, Hamada H, Kikuchi Y, Fujii-Kuriyama Y. Two new members of the murine *Sim* gene family are transcriptional repressors and show different expression patterns during mouse embryogenesis. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(10): 5865–5875. [\[DOI\]](#)
- [187] Wilk R, Weizman I, Shilo BZ. *Trachealess* encodes a bHLH-PAS protein that is an inducer of tracheal cell fates in *Drosophila*. *Genes Dev*, 1996, 10(1): 93–102.
- [188] Brunskill EW, Ehrman LA, Williams MT, Klanke J, Hammer D, Schaefer TL, Sah R, Dorn GW 2nd, Potter SS, Vorhees CV. Abnormal neurodevelopment, neurosignaling and behaviour in *Npas3*-deficient mice. *Eur J Neurosci*,

- 2005, 22(6): 1265–1276. [\[DOI\]](#)
- [189] Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via *de novo* protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol*, 1992, 12(12): 5447–5454.
- [190] Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(12): 5510–5514. [\[DOI\]](#)
- [191] Hara S, Hamada J, Kobayashi C, Kondo Y, Imura N. Expression and characterization of hypoxia-inducible factor (HIF)-3 α in human kidney: suppression of HIF-mediated gene expression by HIF-3 α . *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 287(4): 808–813. [\[DOI\]](#)
- [192] Wiesener MS, Turley H, Allen WE, Willam C, Eckardt KU, Talks KL, Wood SM, Gatter KC, Harris AL, Pugh CW, Ratcliffe PJ, Maxwell PH. Induction of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia: characterization and comparison with hypoxia-inducible factor-1 α . *Blood*, 1998, 92(7): 2260–2268.
- [193] Ohsawa S, Hamada S, Kakinuma Y, Yagi T, Miura M. Novel function of neuronal PAS domain protein 1 in erythropoietin expression in neuronal cells. *J Neurosci Res*, 2005, 79(4): 451–458. [\[DOI\]](#)
- [194] Lavista-Llanos S, Centanin L, Irisarri M, Russo DM, Gleadle JM, Bocca SN, Muzzopappa M, Ratcliffe PJ, Wappner P. Control of the hypoxic response in *Drosophila melanogaster* by the basic helix-loop-helix PAS protein similar. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(19): 6842–6853. [\[DOI\]](#)
- [195] Botas J, Moscoso del Prado J, Garcia-Bellido A. Gene-dose titration analysis in the search of trans-regulatory genes in *Drosophila*. *Embo J*, 1982, 1(3): 307–310.
- [196] Ellis HM. Embryonic expression and function of the *Drosophila* helix-loop-helix gene, *extramacrochaetae*. *Mech Dev*, 1994, 47(1): 65–72. [\[DOI\]](#)
- [197] Yan W, Young AZ, Soares VC, Kelley R, Benezra R, Zhuang Y. High incidence of T-cell tumors in E2A-null mice and E2A/Id1 double-knockout mice. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(12): 7317–7327.
- [198] Yokota Y, Mansouri A, Mori S, Sugawara S, Adachi S, Nishikawa S, Gruss P. Development of peripheral lymphoid organs and natural killer cells depends on the helix-loop-helix inhibitor Id2. *Nature*, 1999, 397(6721): 702–706. [\[DOI\]](#)
- [199] Jen Y, Manova K, Benezra R. Expression patterns of Id1, Id2, and Id3 are highly related but distinct from that of Id4 during mouse embryogenesis. *Dev Dynam*, 1996, 207(3): 235–252. [\[DOI\]](#)
- [200] Dawson SR, Turner DL, Weintraub H, Parkhurst SM. Specificity for the hairy/enhancer of split basic helix-loop-helix (bHLH) proteins maps outside the bHLH domain and suggests two separable modes of transcriptional repression. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(12): 6923–6931.
- [201] Ishibashi M, Moriyoshi K, Sasai Y, Shiota K, Nakanishi S, Kageyama R. Persistent expression of helix-loop-helix factor HES-1 prevents mammalian neural differentiation in the central nervous system. *Embo J*, 1994, 13(8): 1799–1805.
- [202] Ishibashi M, Sasai Y, Nakanishi S, Kageyama R. Molecular characterization of HES-2, a mammalian helix-loop-helix factor structurally related to *Drosophila* hairy and Enhancer of split. *Eur J Biochem*, 1993, 215(3): 645–652. [\[DOI\]](#)
- [203] Lobe CG. Expression of the helix-loop-helix factor, Hes3, during embryo development suggests a role in early mid-brain-hindbrain patterning. *Mech Dev*, 1997, 62(2): 227–237. [\[DOI\]](#)
- [204] Takebayashi K, Akazawa C, Nakanishi S, Kageyama R. Structure and promoter analysis of the gene encoding the mouse helix-loop-helix factor HES-5. Identification of the neural precursor cell-specific promoter element. *J Biol Chem*, 1995, 270(3): 1342–1349. [\[DOI\]](#)
- [205] Koyano-Nakagawa N, Kim J, Anderson D, Kintner C. Hes6 acts in a positive feedback loop with the neurogenins to promote neuronal differentiation. *Development*, 2000, 127(19): 4203–4216.
- [206] Bessho Y, Sakata R, Komatsu S, Shiota K, Yamada S, Kageyama R. Dynamic expression and essential functions of Hes7 in somite segmentation. *Genes Dev*, 2001, 15(20): 2642–2647. [\[DOI\]](#)
- [207] Nakashima A, Kawamoto T, Honda KK, Ueshima T, Noshiro M, Iwata T, Fujimoto K, Kubo H, Honma S, Yorioka N, Kohno N, Kato Y. DEC1 modulates the circadian phase of clock gene expression. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(12): 4080–4092. [\[DOI\]](#)
- [208] Sato F, Bhawal UK, Kawamoto T, Fujimoto K, Imaizumi T, Imanaka T, Kondo J, Koyanagi S, Noshiro M, Yoshida H, Kusumi T, Kato Y, Kijima H. Basic-helix-loop-helix (bHLH) transcription factor DEC2 negatively regulates vascular endothelial growth factor expression. *Genes Cells*, 2008, 13(2): 131–144. [\[DOI\]](#)
- [209] Rushlow CA, Hogan A, Pinchin SM, Howe KM, Lardelli M, Ish-Horowicz D. The *Drosophila* hairy protein acts in both segmentation and bristle patterning and shows homology to N-myc. *Embo J*, 1989, 8(10): 3095–3103.

- [210] Wallace K, Liu TH, Vaessin H. The pan-neural bHLH proteins DEADPAN and ASENSE regulate mitotic activity and CDK inhibitor dacapo expression in the *Drosophila* larval optic lobes. *Genesis*, 2000, 26(1): 77–85. [\[DOI\]](#)
- [211] Schrons H, Knust E, Campos-Ortega JA. The Enhancer of split complex and adjacent genes in the 96F region of *Drosophila melanogaster* are required for segregation of neural and epidermal progenitor cells. *Genetics*, 1992, 132(2): 481–503.
- [212] Klamt C, Knust E, Tietze K, Campos-Ortega JA. Closely related transcripts encoded by the neurogenic gene complex enhancer of split of *Drosophila melanogaster*. *Embo J*, 1989, 8(1): 203–210.
- [213] Alper S, Kenyon C. REF-1, a protein with two bHLH domains, alters the pattern of cell fusion in *C. elegans* by regulating Hox protein activity. *Development*, 2001, 128(10): 1793–1804.
- [214] Leimeister C, Externbrink A, Klamt B, Gessler M. Hey genes: a novel subfamily of hairy- and Enhancer of split related genes specifically expressed during mouse embryogenesis. *Mech Dev*, 1999, 85(1–2): 173–177. [\[DOI\]](#)
- [215] Leimeister C, Schumacher N, Steidl C, Gessler M. Analysis of HeyL expression in wild-type and Notch pathway mutant mouse embryos. *Mech Dev*, 2000, 98(1–2): 175–178. [\[DOI\]](#)
- [216] Miyoshi G, Bessho Y, Yamada S, Kageyama R. Identification of a novel basic helix-loop-helix gene, *Heslike*, and its role in GABAergic neurogenesis. *J Neurosci*, 2004, 24(14): 3672–3682. [\[DOI\]](#)
- [217] Aravind L, Koonin EV. Gleaning non-trivial structural, functional and evolutionary information about proteins by iterative database searches. *J Mol Biol*, 1999, 287(5): 1023–1040. [\[DOI\]](#)
- [218] Hagman J, Travis A, Grosschedl R. A novel lineage-specific nuclear factor regulates *mb-1* gene transcription at the early stages of B cell differentiation. *Embo J*, 1991, 10(11): 3409–3417.
- [219] Kudrycki K, Stein-Izsak C, Behn C, Grillo M, Akeson R, Margolis FL. Olf-1-binding site: characterization of an olfactory neuron-specific promoter motif. *Mol Cell Biol*, 1993, 13(5): 3002–3014.
- [220] Crozatier M, Valle D, Dubois L, Ibnsouda S, Vincent A. Collier, a novel regulator of *Drosophila* head development, is expressed in a single mitotic domain. *Curr Biol*, 1996, 6(6): 707–718. [\[DOI\]](#)
- [221] Wang SS, Tsai RY, Reed RR. The characterization of the Olf-1/EBF-like HLH transcription factor family: implications in olfactory gene regulation and neuronal development. *J Neurosci*, 1997, 17(11): 4149–4158.
- [222] Wang SS, Betz AG, Reed RR. Cloning of a novel Olf-1/EBF-like gene, *O/E-4*, by degenerate oligo-based direct selection. *Mol Cell Neurosci*, 2002, 20(3): 404–414. [\[DOI\]](#)
- [223] Maruyama O, Nishimori H, Katagiri T, Miki Y, Ueno A, Nakamura Y. Cloning of *TCFL5* encoding a novel human basic helix-loop-helix motif protein that is specifically expressed in primary spermatocytes at the pachytene stage. *Cytogenet Cell Genet*, 1998, 82(1–2): 41–45. [\[DOI\]](#)
- [224] Ballow D, Meistrich ML, Matzuk M, Rajkovic A. Sohlh1 is essential for spermatogonial differentiation. *Dev Biol*, 2006, 294(1): 161–167. [\[DOI\]](#)
- [225] Ballow DJ, Xin Y, Choi Y, Pangas SA, Rajkovic A. Sohlh2 is a germ cell-specific bHLH transcription factor. *Gene Expr Patterns*, 2006, 6(8): 1014–1018. [\[DOI\]](#)
- [226] Hurlin PJ, Steingrimsson E, Copeland NG, Jenkins NA, Eisenman RN. Mga, a dual-specificity transcription factor that interacts with Max and contains a T-domain DNA-binding motif. *Embo J*, 1999, 18(24): 7019–7028. [\[DOI\]](#)
- [227] Gray PA, Fu H, Luo P, Zhao Q, Yu J, Ferrari A, Tenzen T, Yuk DI, Tsung EF, Cai Z, Alberta JA, Cheng LP, Liu Y, Stenman JM, Valerius MT, Billings N, Kim HA, Greenberg ME, McMahon AP, Rowitch DH, Stiles CD, Ma Q. Mouse brain organization revealed through direct genome-scale TF expression analysis. *Science*, 2004, 306(5705): 2255–2257. [\[DOI\]](#)