

紫外照射对葡萄果实莽草酸途径相关基因表达的影响

初英娜, 张珍珍, 潘秋红*

中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083

摘要: 本文以花后11周的‘赤霞珠’葡萄果实为试材, 应用荧光实时定量PCR技术, 研究6种剂量的UV-A、UV-B和UV-C照射对莽草酸途径及后分支酸途径关键酶基因表达量的影响。结果表明, 这些基因在转录水平上对紫外诱导的响应不同步, 且有照射剂量的依赖性。一定剂量的紫外照射可显著地诱导莽草酸途径的大部分基因和后分支酸途径的*VvCM-1*、*VvCM-2*和*VvAS*的表达; 高于或低于该剂量, 表达量明显降低。不同基因对紫外诱导的响应也存在差异: 3种类型紫外线对莽草酸途径入口酶的两个同源基因*VvDAHPS-1*和*VvDAHPS-2*的诱导效应均最为显著。随紫外波长减小, 这两个基因受诱导表达的量有所下降。*VvSK*和*VvCS*的表达只受 $1.2 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ UV-A的诱导, 而不受UV-B和UV-C照射的影响, 在后分支酸途径中紫外对*VvCM-1*表达的诱导作用明显大于*VvCM-2*和*VvAS*。

关键词: 莽草酸途径; 紫外照射; 基因表达; 葡萄果实

Effects of Ultraviolet Radiation on Expression of Shikimate Pathway-Related Genes in Grape (*Vitis vinifera* L.) Berries

CHU Ying-Na, ZHANG Zhen-Zhen, PAN Qiu-Hong*

College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

Abstract: The present study investigated the effects of radiation of UV-A, UV-B and UV-C, respectively, with six doses on the expression of the genes in shikimate pathway and post-chorismate pathway in grape (*Vitis vinifera* cv. ‘Cabernet Sauvignon’) berries at 11 weeks after full bloom, by means of real-time PCR. The results showed that the transcript abundance of these genes in response to UV radiation was dose-dependent, but not synchronized. A certain dose of UV radiation could significantly induce the expression of most of genes in shikimate pathway and the expression of *VvCM-1*, *VvCM-2* and *VvAS* in post-chorismate pathway, but gene expression was reduced when higher or lower radiation was applied. Various genes showed different responses to the same type of UV radiation. Three types of UV all most significantly induced transcript abundances of both *VvDAHPS-1* and *VvDAHPS-2* that encode the entry isozymes of shikimate pathway, whereas short wavelength UV suppressed the accumulation of their transcripts. The expression of *VvSK* and *VvCS* was promoted only by UV-A radiation of $1.2 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, but not by UV-B and UV-C radiation. In post-chorismate pathway, the transcriptional induction of *VvCM-1* by UV radiation was more significant than that of either *VvCM-2* or *VvAS*.

Key words: shikimate pathway; ultraviolet radiation; gene expression; grape berry

莽草酸途径(shikimate pathway)是连接糖代谢和次生代谢的主要桥梁, 糖酵解途径产生的磷酸烯醇式丙酮酸和戊糖磷酸途径产生的赤藓糖-4-磷酸进入莽草酸途径, 经过7个步骤的反应形成分支酸(chorismate)。分支酸是莽草酸途径的重要枢纽物质, 其后去向有两个分支: 一个走向色氨酸(Try)的合成, 另一个是走向苯丙氨酸(Phe)和酪氨酸(Try)的合成(图1)。莽草酸途径只存在于高等植物、真菌和细菌中。据估计, 绿色植物固定的碳约有20%经莽草酸代谢途径, 最终形成芳香族氨基酸、维生素、木质素、酚类物质和芳香族类香气物质

等(Herrmann 1995)。这些物质有的可以作为信号分子(如水杨酸)参与植物发育的调节, 有的赋予植物抗紫外线、抗虫害、抗伤害、抗离子毒害等的的能力, 有的则是构成植物(如中草药)特有品质的要素或是花果特征香气(如: 苯乙醛、苯乙醇)的主要成分, 可见莽草酸途径是植物体内许多物质代谢的枢纽。

收稿 2010-05-05 修订 2010-07-14

资助 国家自然科学基金(30971980)。

* 通讯作者(E-mail: panqh@cau.edu.cn; Tel: 010-62736191)。

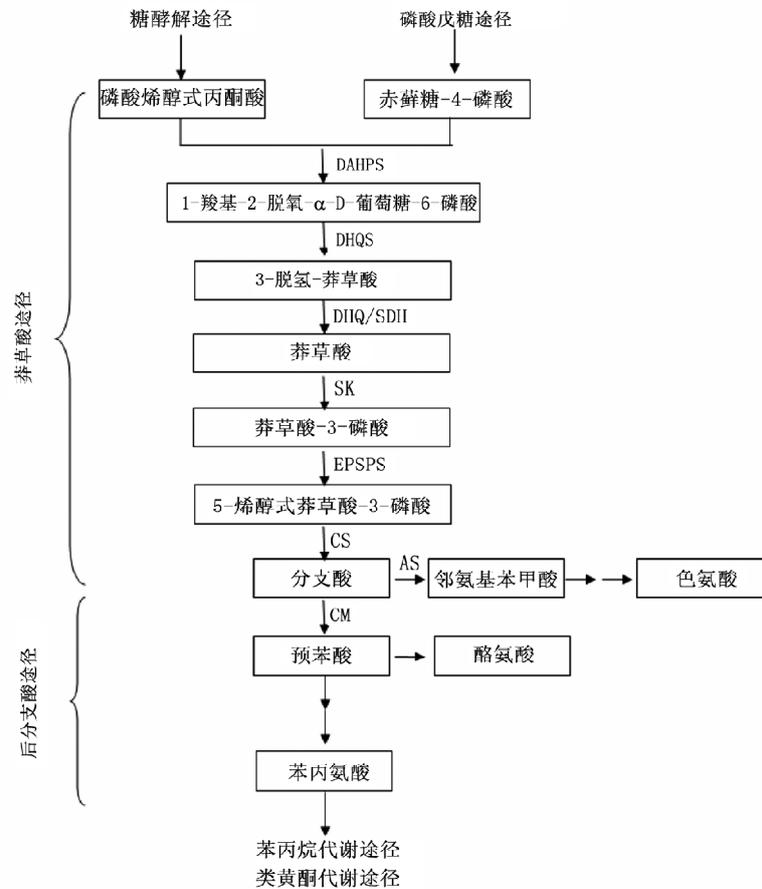


图1 植物莽草酸途径和后分支酸途径示意图

Fig.1 Schematic diagram of plant shikimate and post-chorimate pathways

DAHPS: 3-脱氧-D-阿拉伯糖型-庚酮糖酸-7-磷酸合成酶; DHQS: 3-脱氢奎尼酸合成酶; DHQ: 脱氢奎尼酸脱氢酶; SDH: 莽草酸脱氢酶; SK: 莽草酸激酶; EPSPS: 5-烯醇式丙酮酰莽草酸-3-磷酸合成酶; CS: 分文酸合成酶; CM: 分文酸变位酶; AS: 邻氨基苯甲酸合成酶。

紫外(ultraviolet, UV)照射可以促进果实酚类物质的积累已经在葡萄(Pan等2009)、苹果(Ubi等2006)、梨(Kataoka和Beppu2004)、草莓(Higashio等2005)等中得到了证实。近年来,随着调控苯丙烷代谢和类黄酮代谢的转录因子被逐步鉴定以及相关基因启动子的克隆与功能分析,对UV诱导酚类物质合成的分子机制的了解也逐渐深入。然而,这些研究多关注苯丙烷代谢和类黄酮代谢,对UV如何调节多酚代谢底物供应链上游的莽草酸途径却知之甚少。Logemann等(2000)研究了UV对西芹悬浮细胞中与酚类物质合成有关的底物供应途径上相关酶基因表达的影响,结果显示,6-磷酸葡萄糖脱氢酶(6-phosphate dehydrogenase, 6-PDH)、3-脱氧-D-阿拉伯糖型-庚酮糖酸-7-磷酸合成酶(3-

deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate synthase, DAHPS)、乙酰CoA氧化酶(ACO;催化脂肪降解,产生乙酰CoA)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)基因表达量增加,但其机制尚不明确,这是有关UV照射对植物莽草酸途径及其与多酚代谢关系的首次报道。此后,大多数研究均集中于弄清多酚代谢的紫外响应机制上,有关多酚生物合成上游的莽草酸代谢的调控,尤其是以果实(如酚类物质含量丰富的葡萄)为试材的研究迄今未见报道。我们实验室从酿酒葡萄‘赤霞珠’果实中获得了莽草酸途径6个酶(及同工酶)的全长cDNA。这些基因分别编码DAHPS(莽草酸途径入口酶)、莽草酸激酶(shikimate kinase, SK;催化第五步反应)、5-

烯醇式丙酮酰莽草酸-3-磷酸合成酶(5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, EPSPS; 催化第六步反应)、分支酸合成酶(chorismate synthase, CS; 催化最后一个反应), 还克隆到了进入 Phe/Tyr 合成支路的分支酸变位酶(chorismate mutase, CM) 的基因和进入Try合成支路的邻氨基苯甲酸合成酶(anthranilate synthase, AS), 它们分别被命名为 *VvDAHPS-1*、*VvDAHPS-2*、*VvDAHPS-3*、*VvSK*、*VvEPSP-1*、*VvEPSP-2*、*VvCS*、*VvCM-1*、*VvCM-2* 和 *VvAS*, 现已在 GenBank 上登录。在此基础上, 本文采用荧光实时定量PCR技术分析了不同类型和不同剂量的UV对莽草酸途径基因及后分支酸途径基因表达的影响, 为进一步研究UV诱导葡萄果实多酚合成的分子机制建立基础。

材料与amp;方法

1 材料

所用试材为2008年7月在河北省怀来县中法葡萄庄园采集的花后11周的‘赤霞珠’葡萄(*Vitis vinifera* L. cv. ‘Cabernet Sauvignon’)。这时期的果实刚完成转色, 正进入成熟阶段。每次采样时间均在上午10:00左右, 采后用湿纱布包裹果穗, 放进泡沫盒中, 2 h内运回实验室。挑选发育期一致、大小相近、无机械损伤、无病虫害的果粒, 经去离子水清洗干净晾干后待处理。

将果实样品分为19份, 每份约30粒果, 其中1份作为对照不经UV处理, 其余的分别平铺于同样规格的暗箱中。暗箱装有UV-A灯(20 W; 波长范围320~400 nm, 发光光谱能量主要集中在365 nm处)、UV-B灯(20 W; 波长范围280~320 nm, 发光光谱能量主要集中在305 nm处)和UV-C灯(20 W; 波长范围200~275 nm, 发光光谱能量主要集中在254 nm处)。这3种紫外灯均购置于天津瑞森特紫外线设备有限公司。暗箱中的葡萄果实与正上方灯管的距离大约50 cm。打开紫外灯, 让葡萄果实分别接受3.125、6.250、9.375、18.750、36.500 min的照射, 使之累计照射剂量分别达到0.3、0.6、0.9、1.2、1.8、3.6 kJ·m⁻²。照射达到相应剂量后立即将果实样品取出, 液氮速冻后保存于-80℃冰箱中待用。所有的处理均设置2个重复。

2 方法

2.1 葡萄果实RNA的提取及cDNA的合成 葡萄果实RNA的提取参考改进CTAB法(He等2009), 用DNaseI和BBI公司EZ-10柱式小量抽提RNA纯化试剂盒处理RNA提取液以除去DNA, 经过核酸凝胶电泳检测发现, 28S和18S rRNA条带完整, 28S条带的亮度约为18S条带的2倍, 表明所获得的RNA完整性良好, 未发生降解。紫外分光光度计分析显示OD₂₆₀/OD₂₈₀=1.91, OD₂₆₀/OD₂₃₀=2.42, 均大于理论上要求的OD₂₆₀/OD₂₈₀>1.8, OD₂₆₀/OD₂₃₀>2.3, 表明纯化后的RNA未受蛋白质和多糖的污染, RNA质量较高, 能满足后续反转录实验的要求。将得到的RNA用逆转录试剂盒(Promega)合成cDNA, 置于-80℃下保存。

2.2 荧光实时定量PCR特异引物的设计 根据各个基因的cDNA序列设计特异性引物(表1), *VvUbiquitin* 为葡萄果实中的管家基因。在预实验中, 分别采用*VvUbiquitin* 和 *actin* 作内参, 对各UV处理的样品进行转录丰度的分析, 结果表明*VvUbiquitin*表达不受UV照射的影响, 因此, 在本文中选择*VvUbiquitin* 作为内参。以花后11周的葡萄果实cDNA为模板, 分别对每对引物进行PCR分析以检测扩增产物是否与理论值相符。图2为扩增片段的琼脂糖凝胶电泳结果, 图中显示的特异目的条带长度分别约为117、132、217、182、107、118、230、170、154、118、188 bp, 与对应的*VvAS*、*VvCM-2*、*VvCM-1*、*VvUbiquitin*、*VvSK*、*VvEPSP-2*、*VvEPSP-1*、*VvCS*、*VvDAHPS-3*、*VvDAHPS-2*、*VvDAHPS-1*的理论片段长度完全相符, 表明目的片段的引物设计合理。接着分析每对引物的荧光实时定量PCR熔解曲线, 结果均获得理想的单一峰型, 其熔解温度均符合理论期望, 进一步证明了这些引物荧光实时定量PCR扩增的特异性。

2.3 荧光实时定量PCR分析 用ABI 7300实时荧光定量PCR仪分析转录本的丰度。反应体系为: 15 μL SYBR Green RT-PCR Master Mix、1.5 μL cDNA模板和引物、12.9 μL ddH₂O、0.6 μL ROX, 共30 μL。混匀后平均分成3份, 放入荧光实时定量PCR板孔, 将其置于荧光实时定量PCR仪进行反应。反应条件为: 95℃预变性30 s; 95℃10 s, 60℃31 s, 进行40个循环。

表1 用于莽草酸途径和后分支酸途径关键酶基因荧光实时定量PCR分析的特异性引物

Table 1 Specific primers used for real-time PCR analysis of the genes encoding key enzymes in shikimate and post-chorismate pathways

基因名称	基因序列号	正向引物	反向引物
<i>VvDAHPS-1</i>	FJ604856	5' TGCTGCTGGACTCACAGTT 3'	5' CATGAGCACCATCCAGTTG 3'
<i>VvDAHPS-2</i>	GU060644	5' CACCGGAGGGTATGCTTCTA 3'	5' ACCAAGGGCTTCATCAACAC 3'
<i>VvDAHPS-3</i>	GU060640	5' TGCTTTGGGTAGGTGAGAGAA 3'	5' GGTTTGTTCGAGGGTTTAG 3'
<i>VvSK</i>	FJ604859	5' TTTGGAAGGAAAGGGGTGAT 3'	5' AGTTGGTGTGAGATTGGTTACG 3'
<i>VvEPSPS-1</i>	FJ604858	5' TTCCTGGACGGAGAACAGT 3'	5' CCAGCTTCCTGAGTTCTGTG 3'
<i>VvEPSPS-2</i>	GU060646	5' AGCATGAGAGGGCAGTTAGC 3'	5' ATGGGTTGCAGGACAATCTC 3'
<i>VvCS</i>	FJ604855	5' ATCGTCTGGTGGGATACAG 3'	5' TCGTGGAACAACACATGGAT 3'
<i>VvCM-1</i>	FJ604854	5' AGGCCGGTAGATATGAGAAC 3'	5' TCACAAGCTGCAGTTAGTCC 3'
<i>VvCM-2</i>	GU060639	5' CTGCCATCAAAGCACAAGAC 3'	5' CCATCCCATTCCACTACC 3'
<i>VvAS</i>	GU060638	5' CATCTGGAAGCCGTTTTGAC 3'	5' CATCAGCGGGAACACTATCA 3'
<i>VvUbiquitin</i>	AY684131	5' GTGGTATATTGAGCCATCCTT 3'	5' AACCTCCAATCCAGTCATCTAC 3'

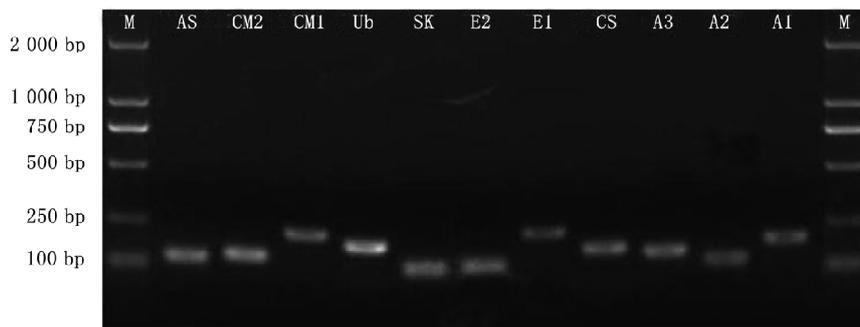


图2 莽草酸途径和后分支酸途径相关基因PCR产物的琼脂糖凝胶电泳分析

Fig.2 Agarose gel electrophoretic analysis of PCR products of genes in shikimate and post-chorismate pathways

M: DNA 分子量标准 DL2000; 样品分别为: *VvAS* (AS)、*VvCM-2* (CM2)、*VvCM-1* (CM1)、*VvUbiquitin* (Ub)、*VvSK* (SK)、*VvEPSPS-2* (E2)、*VvEPSPS-1* (E1)、*VvCS* (CS)、*VvDAHPS-3* (A3)、*VvDAHPS-2* (A2)和 *VvDAHPS-1* (A1)的荧光实时定量PCR产物。

2.4 基因表达相对定量分析计算 基因表达相对定量分析采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法(Kasai 等 2005), 先计算莽草酸途径相关基因相对于 *VvUbiquitin* 基因的表达量, 然后将未受 UV 处理的对照样品的表达量归一化, 计算出 UV 处理样品基因的相对表达量。即以 *VvUbiquitin* 作为内参将目的基因的 C_T 值标准化, $\Delta C_T = (C_{T, \text{目标基因}} - C_{T, VvUbiquitin})$, 再将 UV 处理后的样本和未处理的对照样本按照 $2^{-(\Delta C_{T, \text{处理}} - \Delta C_{T, \text{对照}})}$ 公式进行相对定量分析。每种处理有 2 个重复, 对每个重复提取高质量的 RNA 一份, 每份 RNA 中各个基因有 3 个重复的 PCR 扩增。实验结果中所呈现的数据为 4~6 个数值的平均值(将偏差较远的数据去除), 采用 SPSS 分析软件计算标准偏差。

实验结果

1 不同剂量 UV-A 照射对莽草酸途径及后分支酸途径关键酶基因表达的影响

如图 3 所示, 所有基因的相对表达量均随着 UV-A 照射剂量的增加而呈现先升后降的变化趋势, 莽草酸途径入口酶的两个同源基因 *VvDAHPS-1* 和 *VvDAHPS-2* 的表达量增加最为显著。在 UV-A 照射剂量达到 $1.8 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 时, 表达量为对照的 24.6 和 47.7 倍。在该剂量下另一个同源基因 *VvDAHPS-3* 的相对表达量为对照的 4.3 倍, 表明这些同源基因对 UV-A 的响应存在明显差异。*VvEPSPS-2* 基因相对表达量达到最大值时, UV-A 的照射剂量也为

1.8 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, 而 *VvEPSPS-1*、*VvSK* 和 *VvCS* 和后分支酸途径中的 *VvAS*、*VvCM-1* 和 *VvCM-2* 均在剂量为 1.2 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 时相对表达量达到最大。*VvCM* 是催化分支酸进入 Phe/Tyr 支路的关键酶。当 1.2 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 剂量的 UV-A 照射时, *VvCM-1* 基因的相对表达量要高于 *VvAS* 和 *VvCM-2*。

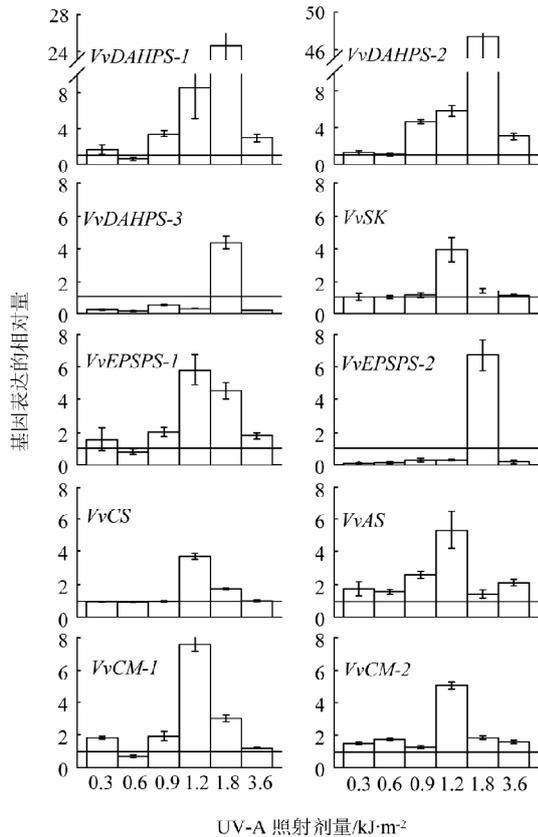


图3 经不同剂量的 UV-A 照射的葡萄果实中莽草酸途径和后分支酸途径基因的转录表达

Fig.3 Transcriptional expression of genes in shikimate and post-chorimate pathways in grape berries treated with different doses of UV-A

2 不同剂量 UV-B 照射对莽草酸途径及后分支酸途径关键酶基因表达的影响

不同的基因对 UV-B 诱导的响应均不相同。与未处理的对照相比, 当 UV-B 照射剂量达到 0.9 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 时, 莽草酸途径中 *VvDAHPS-1* 和 *VvDAHPS-2* 基因的表达量为对照的 23.2 和 45.6 倍; 但高于或低于此照射剂量, 相对表达量显著下降, 但仍高于对照;

VvEPSPS-2 则在 UV-B 照射剂量达到 1.8 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 时, 相对表达量为对照的 6 倍。而 *VvDAHPS-3*、*VvEPSPS-1*、*VvSK* 和 *VvCS* 基因的表达受 UV-B 照射的影响相对较小(图 4)。在后分支酸途径中, *VvAS* 和 *VvCM-2* 几乎不受 UV-B 照射的影响, 而 *VvCM-1* 基因表达随 UV-B 照射剂量的增加呈现先升后降的趋势, 在剂量为 0.9 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 时, 达到最大表达量, 为对照的近 4 倍(图 4)。

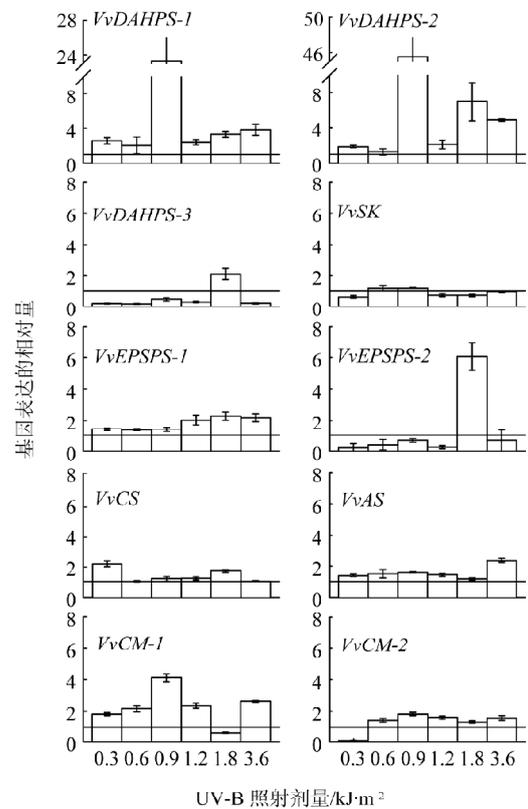


图4 经不同剂量的 UV-B 照射的葡萄果实中莽草酸途径和后分支酸途径基因的转录表达

Fig.4 Transcriptional expression of genes in shikimate and post-chorimate pathways in grape berries treated with different doses of UV-B

3 不同剂量 UV-C 照射对莽草酸途径及后分支酸途径关键酶基因表达的影响

从图 5 中可以看出, UV-C 照射对 *VvDAHPS-1* 和 *VvDAHPS-2* 表达的诱导效应不及 UV-A 和 UV-B 明显。但当照射剂量达到 1.8 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 时, 相对表达量仍显著高于该途径的其他基因, 为对照的 10 和

16倍。而在此照射剂量下, *VvDAHPS-3* 仅为未处理对照的3倍; 高于或低于此剂量, 这3个同源基因的相对表达量均明显下降。3种类型的UV对*VvEPSPS-2*基因表达的影响有相似性。只有当照射剂量为 $1.8 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 时, UV对基因表达才有显著的诱导效应; 高于或低于此剂量, 对基因表达几乎没有影响。*VvEPSPS-2*基因对 $1.8 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ UV-C照射的响应不及等剂量的UV-A和UV-B明显。与UV-B照射相似, UV-C对*VvSK*和*VvCS*基因表达没有明显的诱导作用。在后分支酸途径中, *VvCM-1*在UV-C照射剂量为 $0.6 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 时, 相对转录表达量达到最大值, 而其同源基因*VvCM-2*受UV-C的诱导作用不明显; 另一分支酶基因*VvAS*在UV-C剂量达到 $3.6 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 时, 基因表达才表现出转录量最大。

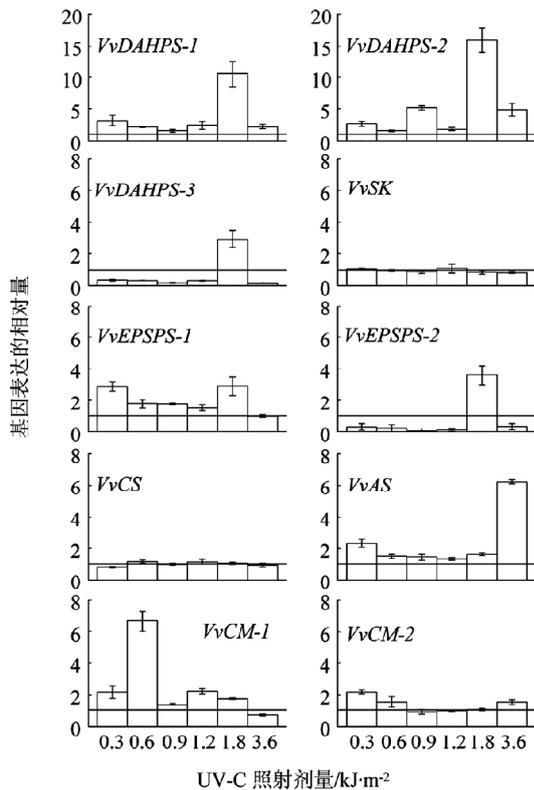


图5 经不同剂量的UV-C照射的葡萄果实中莽草酸途径和后分支酸途径基因的转录表达

Fig.5 Transcriptional expression of genes in shikimate and post-chorimate pathways in grape berries treated with different doses of UV-C

讨论

本文结果表明: 3种类型的UV照射都可促进葡萄果实莽草酸途径和后分支酸途径中大部分基因的表达, 尤其是莽草酸途径的入口酶基因*VvDAHPS-1*和*VvDAHPS-2*的表达, 受3种类型UV照射的强烈诱导, 这与前人的研究相符。McCue和Conn(1990)与Henstrand等(1992)先后用荧光照射西芹悬浮细胞, 发现莽草酸途径入口酶DAHPS和多酚代谢入口酶PAL的酶活性和基因表达均明显增加。Logemann等(2000)进一步证实: UV照射可以上调西芹悬浮细胞中与酚类物质合成有关的底物供应链上的相关酶(6-PDH、DAHPS、ACO、PAL和CHS)基因的表达。我们的研究也表明莽草酸途径下游的Phe/Tyr支路的关键酶基因*VvCM-1*的表达受UV-A、UV-B和UV-C的诱导。这些结果暗示着UV可以促进葡萄果实中的光合碳通过莽草酸途径流向次生代谢, 为下游酚类物质的合成提供底物。本文也发现各种UV对基因表达的诱导有照射剂量的依赖性, 一定剂量的UV照射可显著地增加基因的表达量, 高于或低于该剂量, 表达量明显降低, 这种基因表达对照射剂量的依赖性未见系统的报道。但Marais等(2001)发现UV-B照射对苹果和梨的花色苷含量没有影响, 而Ubi等(2006)却发现UV-B可促进苹果果皮花色苷生物合成基因的表达, 从而促进着色。因此可以推测, 这种完全相反的实验结果可能是由于采用的照射剂量不同所致。

日光中的紫外光谱分为3个波段, 即短波紫外线(UV-C) 100~280 nm、中波紫外线(UV-B) 280~320 nm和长波紫外线(UV-A) 320~390 nm。UV-C通过大气层时被臭氧层吸收, 几乎不能到达地面; UV-B大部分可以穿过臭氧层到达地表, 但也可被厚云层所阻断; 所有的UV-A都可以照射到地球表面, 被植物所吸收。Higashio等(2005)的研究表明, UV-C (254 nm)、UV-B (310 nm)和UV-A (352 nm)在剂量 $71\sim 1294 \mu\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ 之间均可提高草莓和洋葱中花色苷和槲皮素的含量。李晓东等(2007)研究指出, 不同紫外线种类和剂量对葡萄白藜芦醇的诱导积累效应因品种而异, 但UV-C的诱导效果极显著地优于UV-B。不同类型的紫外(UV-A、UV-B和

UV-C)照射对不同酚类物质的诱导效应存在差异,可能与上游路径基因的表达有关。我们发现同一种基因对不同UV的诱导效应不同。在莽草酸途径中, *VvDAHPS-1*和*VvDAHPS-2*受UV-A和UV-B的诱导作用要强于UV-C, *VvEPSPS-2*受UV-A和UV-B的诱导作用也大于UV-C,剩下的*VvSK*、*VvCS*和*VvEPSPS-1*只受到UV-A强烈的诱导作用,受UV-B和UV-C的诱导作用不明显。在后分支酸途径中, *VvCM-1*除受 $1.2 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 的UV-A诱导达到最大之外,也受到 $0.6 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 的UV-C强烈诱导,而其同工酶的基因只受 $1.2 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 的UV-A强烈诱导,其另一支路的*VvAS*基因除受 $1.2 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 的UV-A强烈诱导外, $3.6 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 的UV-C诱导其转录量达到最大值。不同类型UV对不同基因的表达产生不同效应,可能是由于各基因启动子有不同的光响应元件从而调控其表达,也可能是部分基因受带有光响应元件的不同转录因子的调节。Jackson等(1995)构建了*CHS*启动子与报告基因*GUS*并转化拟南芥,发现蓝光对转基因植物中*GUS*活性的增强效应明显大于UV-B和UV-A照射。可以推测这可能是不同光质对*CHS*转录本稳定性的影响不同,而非转录不同所致。近年研究发现, *CHS*基因启动子区域除了含G-box序列光响应元件外,还含有转录因子家族*MYB*的特异识别域(Hartmann等2005),而相应的*MYB*基因的启动子区含有与*CHS*相似的G-box序列光响应元件,即UV通过诱导*MYB*基因的表达,进而调节花色苷生物合成相关基因的表达。Chen等(2006)发现拟南芥中*AtMYB15*的过量表达可促进莽草酸途径中几乎所有基因的转录水平提高。他们通过生物信息学分析发现,在这些基因的启动子中含有一个或多个与*AtMYB15*结合的AC元件。这表明*AtMYB15*对莽草酸途径中的基因转录有调控作用。目前尚不清楚这些基因为何对各种UV和各种剂量有不同响应,有关UV对莽草酸途径的诱导机制还有待进一步研究。

参考文献

- 李晓东, 郑先波, 闫树堂, 李绍华(2007). 水杨酸和紫外线对诱导采收葡萄果皮内白藜芦醇合成作用研究. 果树学报, 24 (1): 30~33
- Chen Y, Zhang X, Wu W, Chen Z, Gu H, Qu LJ (2006). Overexpression of the wounding-responsive gene *AtMYB15* activates the shikimate pathway in *Arabidopsis*. J Integr Plant Biol, 48 (9): 1084~1095
- Hartmann U, Sagasser M, Mehrtens F, Stracke R, Weisshaar B (2005). Differential combinatorial interactions of *cis*-acting elements recognized by R2R3-MYB, BZIP and BHLH factors control light-responsive and tissue-specific activation of phenylpropanoid biosynthesis genes. Plant Mol Biol, 57: 155~171
- He F, Fang XX, Hu M, Pan QH, Shi Y, Duan CQ (2009). Preparation and biological application of antibodies against leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase from grape berry. Vitis, 48 (2): 69~75
- Henstrand JM, McCue KF, Brink K, Handa AK, Herrmann KM, Conn EE (1992). Light and fungal elicitor induce 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase mRNA in suspension cultured cells of parsley (*Petroselinum crispum* L.). Plant Physiol, 98: 761~763
- Herrmann KM (1995). The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. Plant Cell, 7: 907~919
- Higashio H, Hirokane H, Sato F, Tokuda S, Uragami A (2005). Effect of UV irradiation after the harvest on the content of flavonoids in vegetables. Acta Hort, 682: 1007~1012
- Jackson JA, Fuglevand F, Brown BA, Shaw MJ, Jenkins GI (1995). Isolation of *Arabidopsis* mutants altered in the light-regulation of chalcone synthase gene expression using a transgenic screening approach. Plant J, 8 (3): 369~380
- Kasai K, Kanno T, Akita M, Ikejiri-Kanno Y, Wakasa K, Tozawa Y (2005). Identification of three shikimate kinase genes in rice: characterization of their differential expression during panicle development and of the enzymatic activities of the encoded proteins. Planta, 222: 438~447
- Kataoka L, Beppu K (2004). UV irradiance increases development of red skin color and anthocyanins in 'Hakuho' peach. HortScience, 39: 1234~1237
- Logemann E, Tavernaro A, Schulz W, Somssich IE, Hahlbrock K (2000). UV light selectively coinduces supply pathways from primary metabolism and flavonoid secondary product formation in parsley. Proc Natl Acad Sci USA, 97 (4): 1903~1907
- Marais E, Jacobs G, Holcrof DM (2001). Postharvest irradiation enhances anthocyanin synthesis in apples but not in pears. HortScience, 36 (4): 738~740
- McCue KF, Conn EE (1990). Induction of shikimic acid pathway enzymes by light in suspension cultured cells of parsley (*Petroselinum crispum*). Plant Physiol, 94: 507~510
- Pan QH, Wang L, Li JM (2009). Amounts and subcellular localization of stilbene synthase in response of grape berries to UV irradiation. Plant Sci, 176: 360~366
- Ubi BE, Honda C, Bessho H, Kondo S, Wada M, Kobayashi S, Moriguchi T (2006). Expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in apple skin: effect of UV-B and temperature. Plant Sci, 170: 571~578