

植物小分子化合物的糖基化与糖基转移酶

王军, 侯丙凯*

山东大学生命科学学院, 植物细胞工程与种质创新教育部重点实验室, 济南 250100

Glycosylation and Glycosyltransferase of Small Molecular Compounds of Plant

WANG Jun, HOU Bing-Kai*

Key Laboratory of Plant Cell Engineering and Germplasm Innovation, Ministry of Education, College of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, China

摘要: 文章介绍近年来植物体内亲脂性小分子化合物的糖基化和与其相关的糖基转移酶研究进展。

关键词: 植物小分子化合物; 糖基化; 糖基转移酶

植物小分子化合物的糖基化是一种很普遍的生理现象, 是植物细胞维持代谢平衡的主要机制之一(Weis等2008)。糖基转移酶是专门负责催化这种糖基化反应的酶, 它将活性糖基从核苷糖(nucleotide sugar), 通常是从尿嘧啶核苷二磷酸-葡萄糖(UDP-glucose)转移到激素、次级代谢物、病原菌侵染物以及植物内外源毒性物质等一系列植物小分子化合物受体上。糖基化会改变植物小分子化合物的生物活性、水溶性、稳定性、在细胞内和整体植株中的运输特性、亚细胞定位以及与受体的相互识别与结合特性, 另外还能降低/除去内源和外源物质的毒性(Lim和Bowles2004)。糖基转移酶具有多种功能和生物活性, 其作用底物广泛, 同时糖基化还能产生级联效应, 因此糖基转移酶对小分子化合物的作用影响着植物生长发育的众多方面。

1 植物的糖基转移酶多基因家族

至2008年4月, 按照所催化的底物的性质和序列相关性, 生物界存在的糖基转移酶被划分成90多个不同的家族。其中家族1 (family 1)包含的成员数量最多, 与植物的关系最密切。这个家族中的酶所催化的底物是一些亲脂性的小分子化合物, 一个或多个糖基可以结合在这些分子的-OH、-COOH、-NH₂、-SH或C-C基团上(Bowles等2005)。家族1中, 有些酶在C端具有一个由44个氨基酸组成的保守序列, 这一保守序列称C末端保守区或PSPG盒(plant secondary product glycosyltransferase box)或特征基序(signature motif)。在家族1中具有C末端保守区的酶占48%左右, 推测这一保守序列可能在糖基化过程中与尿嘧啶核苷二磷酸-

糖(UDP-sugar)的结合有关。这些酶的N端序列变异较大, 与不同底物的识别有关。由于基因组测序计划的完成, 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)是第一个得到全面分析糖基转移酶多基因家族的植物。拟南芥家族1的糖基转移酶绝大部分都含有C末端保守序列, 只有3个是例外(Paquette等2003)。尿嘧啶二磷酸-糖基转移酶(UDP-glycosyl transferase, UGT)通常用来表示含有C末端保守区的糖基转移酶。按C端保守序列分析整个基因组, 在拟南芥中共发现119个可能的糖基转移酶。这些糖基转移酶按其同源性又分成14个组(Li等2001)。当把其他植物来源的糖基转移酶进行归类分析时, 大部分成员都分别与拟南芥的同源物糖基转移酶归为一组, 而来自豆科和玉米的4个糖基化细胞分裂素的酶则单独构成一组, 它们不能与拟南芥中糖基化细胞分裂素的酶归类在一起(Hou等2004), 说明某些糖基转移酶在不同植物中可能具有很大的变异性。拟南芥中编码糖基转移酶的基因有超过一半不含有内含子, 其余含有1~2个内含子。分析这些含有内含子的糖基转移酶基因后推测拟南芥糖基转移酶基因在进化过程中至少发生过10次独立的内含子插入和1~2次的内含子丢失现象(Ross等2001)。

虽然UDP-糖是植物的家族1糖基转移酶最常用的核苷糖, 但在单糖的种类中, 这类酶却有不同的选择。其中, UDP-葡萄糖是最常用的糖供体, 除

收稿 2008-05-07 修定 2008-08-26
资助 教育部留学回国人员科研启动基金和国家自然科学基金(30770214)。

* 通讯作者(E-mail: bkhou@sdu.edu.cn; Tel: 0531-88364723-8231)。

此外, 家族1中有些酶以UDP-鼠李糖(UDP-Rha)、UDP-半乳糖(UDP-Gal)、UDP-木糖(UDP-Xyl)以及UDP-葡萄糖醛酸(UDP-GlcUA)作为专一性的糖供体(Bowles等2005)。

蛋白质结构信息对研究和了解糖基转移酶蛋白质进化和催化机制至关重要。Shao等(2005)在2.6埃水平上观察研究蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)糖基转移酶UGT71G1与供体UDP-葡萄糖共结晶结构的结果表明, 植物糖基转移酶有2个罗斯曼折叠(rossmann fold, $\beta\alpha\beta$ 结构), 受体结合区主要在N末端, 活化供体结合区主要在C末端; 同时该结构还清楚地显示出C末端保守区所起的作用以及由特定氨基酸残基构成的结合糖供体的口袋结构。

随着其他植物糖基转移酶家族1的结构被破解, 加上目前在体外通过生物化学获得大量的与植物糖基转移酶活性相关的数据, 有可能预测多基因家族中每个糖基转移酶结构, 从而进一步了解每种糖基转移酶与底物相互识别和作用的机制。

2 糖基转移酶基因的鉴定

目前已有几种不同的方法用于鉴定糖基转移酶基因, 这包括生物信息学方法、生物化学方法、分子生物学方法和遗传学方法等。

2.1 生物信息学与生物化学相结合的方法 首先从生物信息学入手, 根据糖基转移酶基因的保守序列, 对目的植物的基因组序列或EST、cDNA序列进行同源性比较, 可从中发现可能的糖基转移酶基因。然后克隆这些基因, 将这些基因在原核细胞中表达, 纯化表达产物, 并通过生物化学的方法鉴定这些基因产物的糖基转移酶活性以及底物特异性。例如, 通过这种方法, 已发现在拟南芥中有119个糖基转移酶构成的多基因家族。分析这个家族中不同成员的生化活性, 已鉴定出生长素、细胞分裂素和酚类物质(包括水杨酸)的糖基转移酶(Jackson等2001; Hou等2004; Lim等2001)。Richman等(2005)通过比较甜叶菊(*Stevia rebaudiana*)的ESTs, 从中鉴定了3个与甜菊苷形成有关的糖基转移酶基因。

2.2 经典的生物化学方法 先从植物离体培养物中分离纯化出具有特定糖基转移酶活性的蛋白, 然后根据蛋白质序列克隆相应的基因序列。采用这种方法已成功从拟南芥中克隆到糖基转移酶基因

GT72B1, 该基因产物对外源污染物二氯苯胺(3,4-dichloroaniline)具有很强的糖基化作用(Loutre等2003)。另外, Frydman等(2004)用这种方法还从苦柚中克隆到与苦味形成相关的鼠李糖基转移酶基因*Cm1,2RhaT*。

2.3 分子生物学方法 Moraga等(2004)根据糖基转移酶基因的保守序列, 设计兼并引物, 并通过RT-PCR方法从番红花中首次克隆到一种萜类(藏红花藏花酸, saffron apocarotenoid crocetin)的糖基转移酶, 这为从异源系统生产藏花素建立了基础。

2.4 遗传学方法 通过筛选蓝色荧光突变体, Quiel等(2003)已从拟南芥中克隆到一个与蓝色荧光形成有关的糖基转移酶基因*UGT74F2*。该酶能够催化邻氨基苯甲酸盐(anthranilate)的糖基化, 产生能发出蓝色荧光的糖酯(anthranilate glucose ester)。与以上几种方法不同的是, *UGT74F2*的鉴定纯属偶然, 实验开始并非是针对糖基转移酶的。

3 糖基转移酶的生物学功能

植物小分子化合物糖基化与糖基转移酶的研究, 较多地集中在拟南芥中。虽然有些糖基转移酶已经进行了离体生物化学方面的研究, 但关于糖基转移酶的生物学功能却了解较少。

3.1 参与植物激素平衡 植物体内激素含量的动态平衡对植物的生长、发育、环境应答起到至关重要的作用。在植物体内除了乙烯外, 其余经典激素的糖苷物均已发现, 所以认为糖基化是精确调控植物不同组织细胞中不同激素含量的机制之一(Creelman和Mullet 1997; Fujioka和Yokota 2003; Mok和Mok 2001; Woodward和Bartel 2005)。一般认为, 糖基化能降低甚至完全消除植物激素的生物活性。糖基化使激素失活的原因并不清楚, 可能是糖基化影响了受体对激素的识别, 也可能糖基化改变了激素其他方面的性质。目前已有几项研究涉及到植物激素的糖基化。Jackson等(2002)用离体生化方法鉴定了一个拟南芥的糖基转移酶UGT84B1, 该酶在离体条件下能将生长素IAA糖基化。当该基因在拟南芥中过表达时, 转基因植物表现出生长素缺陷表型。同时, 转基因植物的根系失去向地性(Jackson等2002, 2001)。Poppenberger等(2005)发表了另一项工作, 他们将糖基转移酶基因*UGT73C5*在拟南芥中过表达后, 转基因植物表现出固醇类激素油菜素内酯(brassinosteroid)的缺陷

表型,同时伴随着高水平的油菜素内酯糖苷物的积累。而在RNAi转基因株系中则未检测到油菜素内酯糖苷物。这表明,糖基转移酶UGT73C5在植物体内催化油菜素内酯的糖基化,可能与油菜素内酯活性水平的调控有关(Poppenberger等2005; Suzuki等1993)。在转基因烟草中组成型过表达糖基转移酶ZOG1能将烟草体内玉米素转化生成高水平的玉米素-O-糖苷物。在烟草转基因叶盘培养物中可用诱导启动子启动ZOG1表达,转基因培养物需比非转基因培养物高出10倍的玉米素才能从愈伤组织形成芽,说明在转基因培养物中玉米素由于糖基化而失活(Martin等2001)。另外, Hou等(2004)通过离体生物化学分析发现拟南芥细胞分裂素糖基转移酶是一个多基因家族,至少包括5个成员,其中UGT76C1和UGT76C2能够催化细胞分裂素的N位发生糖基化产生N-糖苷;而UGT85A1、UGT73C5、UGT73C1则催化细胞分裂素的-OH位置上发生糖基化并产生O-糖苷。一般认为,细胞分裂素的N-糖苷是该激素的永久失活形式,激素的活性无法逆转;而O-糖苷则是该激素的贮藏形式,在一定条件下可通过去糖基化而恢复细胞分裂素活性。因此,深入研究以上5个糖基转移酶基因在植物体内的生物学功能,对于了解细胞分裂素的代谢、细胞分裂素维持平衡的机制以及对植物生长发育的作用都有一定的意义。Xu等(2002)从赤豆(*Vigna angularis*)中克隆到一个脱落酸糖基转移酶,体外重组蛋白实验表明,该基因产物能特异性糖基化反式脱落酸。Lim等(2005)在拟南芥中也鉴定到1个脱落酸糖基转移酶UGT71B6,该基因产物能识别天然存在的顺式脱落酸。水杨酸的糖基化在烟草中已研究得比较透彻,现已经发现一些水杨酸诱导的糖基转移酶基因,如*Is5a*和*Is10a* (Horvath和Chua 1996; Horvath等1998)、*TOGT1*、*TOGT2*、*SAGT*、*NtGT1a*和*NtGT1b* (Taguchi等2001);同时还发现拟南芥中UGT74F1和UGT74F2对水杨酸有活性(Lim等2002)。

3.2 参与植物防御反应 体外生化实验表明,来自烟草的一个糖基转移酶TOGT能够糖基化羟基肉桂酸、羟基香豆素和羟基甲氧基香豆素,并且此酶的表达在超敏反应过程中能够为水杨酸上调(Fraissinet等1998)。Chong等(2002)采用反义策略,抑制此基因在烟草中的表达,结果表明,随着羟

基甲氧基香豆素糖苷物含量的降低,转基因烟草表现出对TMV更加敏感,病毒侵染部位组织坏死斑增大,抗性降低。这一实验结果似乎有力的表明,糖基转移酶TOGT在羟基甲氧基香豆素的糖基化和增强植物防御反应中起关键作用。Matros和Mock(2004)用同一基因在烟草中过表达时,也见到TOGT的过表达还能增加烟草对马铃薯Y病毒的抗性。

皂角苷的C-3通常具有葡萄糖、半乳糖、精氨酸、葡萄糖醛酸、木糖或鼠李糖构成的寡糖链,同时有些皂角苷还在C-26或C-28连接一个葡萄糖残基。一般认为,皂角苷C-3位上的寡糖链在跨膜运输和抗真菌中起作用,除去该寡糖链即会导致这类化合物失去生物活性。有意思的是真菌类病原体浸染植物后会合成水解酶水解皂角苷C-3位上的寡糖链来保护自己。例如,寄生菌禾顶囊壳(*Gaeumannomyces graminis*)浸染燕麦根后会产生一种 β -葡萄糖苷酶,它可以三萜化合物皂角苷C-3寡糖链上的末端葡萄糖水解掉使之失去生物活性。同样,在茄科植物如番茄和马铃薯中,病原体也具有同样的策略对糖基化的类固醇生物碱进行失活。如许多番茄病原体在浸染番茄后会产生水解酶作用于 α -番茄素的C-3寡糖链将其失活(Sandrock和VanEtten 1998)。

3.3 参与植物脱毒反应 镰刀霉(*Fusarium*)是侵染禾谷类粮食作物的常见真菌,在侵染过程中释放出毒素脱氧雪腐镰刀菌醇(deoxynivalenol, DON)。此毒素不仅能够影响植物细胞的生长,而且对人类健康也会严重威胁。来自拟南芥的一种糖基转移酶UGT73C5,经证明能糖基化这种毒素从而使毒性丧失,过表达UGT73C5的转基因植物可增强对该毒素的抗性(Poppenberger等2003)。在拟南芥中过表达高粱的糖基转移酶基因*sbHMNGT*(命名为UGT85B1)能使植物在体内积累蜀黍苷(dhurrin),同时在此转基因株系中,2个细胞色素P450基因也上调表达(Tattersall等2001)。Kristensen等(2005)进一步证实,转入UGT85B1基因能恢复转基因株系中只表达CYP79A1和CYP71E1基因所造成的多种效应,他们推测糖基转移酶UGT85B1参与形成一个多酶复合体,解除有些中间代谢物对植物自身产生的毒性。在玉米幼苗中还分离纯化到2个糖基转移酶BX8和BX9,它们均以UDP-葡萄糖作为糖基供体,以2,4-二羟基-7-甲氧基-1,4-苯并噻-3-

酮(DIMBOA)和2,4-二羟基-1,4-苯并噻-3-酮(DIBOA)作为受体。在拟南芥中过表达糖基转移酶 BX8 或糖基转移酶 BX9 均能降低添加外源 DIBOA 和 DIMBOA 给转基因植物所造成的毒性效应(von Rad 等 2001)。由于这类糖苷配基在植物根系周围土壤中存在,所以推测植物的糖基转移酶能糖基化相邻植物的分泌化合物以降低这些分泌物给自身带来的毒害。许多研究还表明,糖基转移酶不仅对生物来源的毒素进行解毒,而且还对非生物来源(xenobiotic)的毒素例如除草剂、杀虫剂、各种污染物质等进行脱毒反应(Lim 等 2002; Loutre 等 2003)。体外实验已证实,拟南芥糖基转移酶 UGT72E1、UGT75D1、UGT84A1、UGT84A2、UGT84B1、UGT75B1 都能够作用于外源 2,4,5-三氯苯酚(TCP) (Messner 等 2003)。另有研究表明,拟南芥根培养物能够迅速对污染物 3,4-二氯苯胺(DCA)通过糖基化修饰生成 *N*-糖基化-DCA 进行解毒,然后将 *N*-糖基化-DCA 运输至根外(Loutre 等 2003)。

3.4 参与植物次生代谢 植物在长期进化中形成许多代谢途径,通过合成大量的次级代谢物来适应环境。大量实验证明,糖基化参与次级代谢物的合成、修饰、运输。体外实验表明拟南芥中有 3 个糖基转移酶(UGT84A1~3)对羟基肉桂酸有活性(Lim 等 2001)。同时在拟南芥中已鉴定出 UGT72E2 和 UGT72E3 对苯丙烷类的醇衍生物尤其是芥子醇、松柏醇有活性。这类物质是木质素生物合成的前体,据此推测糖苷物的形成可促进木质素前体从细胞内到细胞外的跨膜运输,对木质素的合成至关重要。

Jones 等(2003)在拟南芥中发现两个糖基转移酶 UGT73C6 和 UGT78D1 参与黄酮醇糖苷物的生物合成。Tohge 等(2005)将拟南芥的一个 MYB 转录因子 PAP1 过表达后,在过表达植株中即合成高水平的花青素,同时还鉴定出 3 个参与类黄酮代谢的糖基转移酶(UGT79B1、UGT75C1 和 UGT78D2)。在这两项研究中,虽然编码 UGT78D1 和 UGT78D2 的这两个糖基转移酶的基因是高度同源的,但它们对供体糖的特异性却不同,UGT78D1 以 UDP-Rha 作为糖基供体,而 UGT78D2 则以 UDP-葡萄糖作为糖基供体。

有些植物的花与果实的颜色由花青素决定。

花青素的颜色除了受遗传背景、细胞内金属离子、液泡 pH、黄酮醇和黄酮等辅色素等的影响以外,其颜色主要决定于类黄酮分子 B 环的 3' 和 5' 羟基化(Holton 和 Cornish 1995)。迄今发现至少需要三步酶催化反应将无色的黄烷酮醇转变成花青素。第一步还原生成无色的花色苷,然后氧化,脱水,最后糖基化形成相应的 3-*O*-天竺葵素糖苷物(红棕色)、3-*O*-矢车菊素糖苷物(红色)、3-*O*-花翠素糖苷物(蓝色)。形成的糖苷物又会进一步发生不同的糖基化、甲基化和酰基化。糖基化被认为在色素稳定性和溶解性中起主要作用。虽然这些糖基转移酶中最具有代表性的是催化所有花青素生物合成途径中第一次 3-*O*-糖基化,但在月季中发现,有一种糖基转移酶先催化合成花青素 5-*O*-糖苷物然后再形成花青素 3,5-双-*O*-糖苷物。在体外表达该糖基转移酶重组蛋白(RhGT1)时,它可以将花青素或花青素 5-*O*-糖苷作为受体进行催化,但对花青素 3-*O*-糖苷则无活性。系统发生分析表明,RhGT1 与其花青素 3-和 5-糖基转移酶亚家族明显不同(Ogata 等 2005)。

甜叶菊的叶子中积累大量二萜化合物,这些二萜化合物在不同的部位发生糖基化后产生不同的二萜糖苷物以致口感不同。甜菊苷是这些二萜糖苷物主要成分之一,其甜度是蔗糖的 300 倍左右。甜菊苷生物合成的起始步骤发生在质体中,然后在甜菊双糖苷 C-4 羧基的糖基化修饰下形成甜菊苷,然后运送到液泡中。一般认为,这一步糖基化对甜菊苷转运至液泡是至关重要的。前几年已在甜叶菊叶中克隆到 3 个糖基转移酶基因(*UGT74G1*、*UGT76G1*和*UGT85C2*),体外研究表明它们可以选择性的在甜菊醇(steviol)的不同位点进行糖基化(Richman 等 2005)。

3.5 参与植物信号转导 O'Donnell 等(1998)研究番茄的防御反应时,发现糖基转移酶基因 *Twil* 的表达能够对叶部机械创伤和病原菌感染作出快速反应。他们进一步研究该基因的结果表明,该基因表达不受茉莉酸/系统素途径的诱导,却受水杨酸和病原菌的 *Avr9* 基因产物所诱导。研究 *Twil* 基因的表达模式表明,糖基转移酶可能在植物防卫反应的信号转导中起一定的作用。

4 糖基转移酶的应用

植物小分子化合物糖基转移酶能够在受体的

不同部位选择性的发生糖基化形成一系列糖苷物。这些糖苷物分子在相同部位或不同部位连接上不同或相同的糖配体, 它们的溶解性、稳定性、生物活性等都有很大差异。通过化学方法合成这一系列糖苷物是非常困难的, 因为化学方法对糖基化位点缺乏选择性, 而采用糖基转移酶在体外合成这一系列糖苷物可能会解决这一困难。通过蛋白工程或定点突变将有可能设计出更能符合人类需求的糖基转移酶。如将椴木(*Aralia* L.)的一个花色苷糖基转移酶374位的组氨酸通过定点诱变促使它突变成谷氨酸后, 形成的糖基转移酶即以UDP-葡萄糖作为糖基供体而不再以UDP-半乳糖为糖基供体(Kubo等2003)。Hoffmeister等(2002)将细菌中参与合成乌达霉素(urdamycin)的糖基转移酶I受体结合区域采用随机突变的方法, 得到了一系列能够将糖基转移到受体不同部位的糖基转移酶。

迄今, 有些糖的供体还不能在体外合成或者很难从植物中纯化分离到, 以致糖基转移酶在应用中受到很大限制。虽然以细胞作为糖基转移酶催化场所可以解决这个问题, 但由于糖苷物通常储存在液泡中, 所以还需要将细胞破碎, 然后从中抽提出目的产物。用整个细菌细胞为反应器合成糖苷物的研究已获得了一定的进展(Arend等2001; Lim等2004)。先将植物糖基转移酶转入细菌细胞, 给细菌培养物中加入糖苷配基, 细菌即能将糖苷配基吸收至体内并将其糖基化, 然后将生成的糖苷物排出到培养介质中, 最后从介质中可以回收得到糖基化产物。运用这一方法还可以同时表达多种不同的酶并催化合成新的小分子。例如, von Rad等(2001)将植物的甲基转移酶和糖基转移酶转入细菌细胞后, 细菌体内即合成多甲基标精糖苷物。Karim等(2002)采用酶固定化技术, 利用柚子中的一种糖基转移酶将苦味的柠檬苦素转化成无味的糖苷物, 成功地降低了橙汁的苦味。

虽然目前的应用研究主要集中在体外酶催化反应上, 但糖基转移酶基因的功能研究也为今后开展植物代谢工程和作物改良提供了巨大的应用空间。如用特定糖基转移酶基因对农作物进行转基因时, 可以采用调控植物激素活性而控制植物的生长发育; 通过糖基转移酶代谢工程改良的方法, 实现植物对农药残留和污染物的解毒, 从而提高食品的安全性; 此外, 还可通过糖基转移酶的基因工程

提高植物抵抗生物胁迫和非生物胁迫的能力; 同时也有可能通过提高作物体内某类化合物的糖基化水平, 以获得含有更多应用价值的糖苷物(例如营养或保健成分)的优良作物品种。

5 结语

从拟南芥的研究可以看出, 糖基转移酶是以多基因家族的形式存在于植物中, 它们能够糖基化多种多样的植物小分子化合物。有时甚至用同一个糖基转移酶即可催化不同底物。这些现象反映出糖基转移酶在植物体内有多种功能。关于糖基转移酶, 国际上只有在拟南芥中有比较系统的研究, 但这些研究多数集中在生化功能的确定上。一个棘手而又关键的问题是在体外由于反应环境不像体内那样复杂多变, 这些通过生化方法对糖基转移酶活性、生理功能等的研究结果与植物体内是否一致, 还需做大量的研究。因为在细胞内, 很多因素都会影响酶的生物活性和动力学性质, 如辅因子、蛋白质与蛋白质间的相互作用、复杂的代谢通路以及酶发挥作用的的空间等。植物小分子化合物的糖基转移酶在体内究竟是如何发挥作用的? 又是如何调控的? 其生物学功能是什么? 迄今尚了解很少。据此, 我们认为以下几个方面值得研究。

(1)激素相关糖基转移酶的多基因家族的研究。经典的植物激素主要包括5大类: 即生长素、细胞分裂素、赤霉素、乙烯和脱落酸。此外, 茉莉酸、水杨酸和油菜素内酯也逐渐列入这一研究范畴。各类激素的糖苷(或糖酯)已在植物中早有发现(Kleczkowski等1995)。植物激素在植物的生长发育中起多种调控作用, 激素的糖基化被认为是对活性激素水平进行精细调控的一个手段, 这种调控可能与植物的生理状态、发育阶段、环境条件、生物和非生物胁迫等因素密切相关。因此, 以模式植物拟南芥为实验材料, 从基因组水平上全面系统地鉴定与激素相关的糖基转移酶多基因家族, 并深入研究这些基因的生物学功能, 对于了解激素代谢的平衡机制、激素对环境的感应以及对植物生长发育的调节都有一定的意义。

(2)植物防御反应中的糖基转移酶的研究。已有几个实验发现糖基转移酶在植物受到机械创伤、病原菌感染时表达明显增强, 这表明糖基转移酶可能参与植物的防御反应。植物生长的环境复杂多变, 不利的环境条件不仅有生物胁迫(虫害、病害

等), 还有非生物胁迫(干旱、盐碱、高温、低温、环境污染等)。植物小分子化合物的糖基化与糖基转移酶是否在植物的各种防御反应中普遍发挥作用? 如何发挥作用? 这也是一个富有挑战性和有意义的研究内容。

(3)植物信号转导中的糖基转移酶的研究。到目前为止, 还没有多少实验说明植物小分子化合物的糖基化与信号转导之间的关系。但植物小分子化合物的糖基转移酶是一个非常庞大的多基因家族, 具有非常广泛的和多样化的底物, 植物小分子化合物发生糖基化后的生物活性、运输特性以及与受体的识别和结合活性都会发生变化。因此, 糖基转移酶和植物小分子化合物的糖基化有可能在植物信号转导中有普遍意义。而要证明这种推测, 尚待在植物小分子化合物的糖基化研究中深入探讨。

(4)重要农作物的糖基转移酶功能基因组的研究。目前国际上只有在拟南芥中对糖基转移酶功能基因组开展了比较系统的研究, 而在其他植物(包括重要农作物)中尚缺少类似的研究。如能针对某种重要农作物, 例如番茄或水稻或小麦等, 开展大规模糖基转移酶功能基因组研究, 克隆出所有可能的小分子化合物糖基转移酶基因, 并确定它们相应的功能, 从而得到一大批有应用价值的基因(特别是在调控生长、次生代谢和防御反应等功能领域), 则对通过基因工程进行农作物改良来说, 无疑是有实际意义的。

参考文献

- Arend J, Warzecha H, Hefner T, Stockigt J (2001). Utilizing genetically engineered bacteria to produce plant-specific glucosides. *Biotechnol Bioeng*, 76: 126-131
- Bowles DJ, Isayenkova J, Lim EK, Poppenberger B (2005). Glycosyltransferases: managers of small molecules. *Curr Opin Plant Biol*, 8: 254-263
- Chong J, Baltz R, Schmitt C, Beffa R, Fritig B, Saindrenan P (2002). Downregulation of a pathogen-responsive tobacco UDP-Glc: phenylpropanoid glucosyltransferase reduces scopoletin glucoside accumulation, enhances oxidative stress, and weakens virus resistance. *Plant Cell*, 14: 1093-1107
- Creelman RA, Mullet JE (1997). Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Plant Mol Biol*, 48: 355-381
- Fraissinet-Tachet L, Baltz R, Chong J, Kauffmann S, Fritig B, Saindrenan P (1998). Two tobacco genes induced by infection, elicitor and salicylic acid encode glucosyltransferases acting on phenylpropanoids and benzoic acid derivatives, including salicylic acid. *FEBS Lett*, 437: 319-323
- Frydman A, Weisshaus O, Bar-Peled M, Huhman DV, Sumner LW, Marin FR, Lewinsohn E, Fluhr R, Gressel J, Eyal Y (2004). Citrus fruit bitter flavors: isolation and functional characterization of the gene Cm1,2RhaT encoding a 1,2 rhamnosyltransferase, a key enzyme in the biosynthesis of the bitter flavonoids of citrus. *Plant J*, 40: 88-100
- Fujioka S, Yokota T (2003). Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Plant Biol*, 54: 137-164
- Hoffmeister D, Wilkinson B, Foster G, Sidebottom PJ, Ichinose K, Bechthold A (2002). Engineered urdamycin glycosyltransferases are broadened and altered in substrate specificity. *Chem Biol*, 9: 287-295
- Holton TA, Cornish EC (1995). Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *Plant Cell*, 7: 1071-1083
- Horvath DM, Chua NH (1996). Identification of an immediate-early salicylic acid-inducible tobacco gene and characterization of induction by other compounds. *Plant Mol Biol*, 31: 1061-1072
- Horvath DM, Huang DJ, Chua NH (1998). Four classes of salicylate-induced tobacco genes. *Mol Plant Microbe Interact*, 11: 895-905
- Hou B, Lim EK, Higgins GS, Bowles DJ (2004). *N*-glucosylation of cytokinins by glycosyltransferases of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 279: 47822-47832
- Jackson RG, Kowalczyk M, Li Y, Higgins G, Ross J, Sandberg G, Bowles DJ (2002). Over-expression of an Arabidopsis gene encoding a glucosyltransferase of indole-3-acetic acid: phenotypic characterisation of transgenic lines. *Plant J*, 32: 573-583
- Jackson RG, Lim EK, Li Y, Kowalczyk M, Sandberg G, Hoggett J, Ashford DA, Bowles DJ (2001). Identification and biochemical characterization of an Arabidopsis indole-3-acetic acid glucosyltransferase. *J Biol Chem*, 276: 4350-4356
- Jones P, Messner B, Nakajima J, Schaffner AR, Saito K (2003). UGT73C6 and UGT78D1, glycosyltransferases involved in flavonol glycoside biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 278: 43910-43918
- Karim MR, Hashinaga F (2002). Preparation and properties of immobilized pummelo limonoid glucosyltransferase. *Process Biochem*, 38: 809-814
- Kleczkowski K, Schell J (1995). Phytohormone conjugates: nature and function. *Plant Sci*, 14: 283-298
- Kristensen C, Morant M, Olsen CE, Ekstrom CT, Galbraith DW, Moller BL, Bak S (2005). Metabolic engineering of dhurrin in transgenic Arabidopsis plants with marginal inadvertent effects on the metabolome and transcriptome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 1779-1784
- Kubo A, Arai Y, Nagashima S, Yoshikawa T (2004). Alteration of sugar donor specificities of plant glycosyltransferases by a single point mutation. *Arch Biochem Biophys*, 429: 198-203
- Li Y, Baldauf S, Lim EK, Bowles DJ (2001). Phylogenetic analysis of the UDP-glycosyltransferase multigene family of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 276: 4338-4343
- Lim EK, Ashford DA, Hou B, Jackson RG, Bowles DJ (2004). *Arabidopsis* glycosyltransferases as biocatalysts in fermentation for regioselective synthesis of diverse quercetin glucosides.

- Biotechnol Bioeng, 87: 623~631
- Lim EK, Bowles DJ (2004). A class of plant glycosyltransferases involved in cellular homeostasis. *EMBO J*, 23: 2915~2922
- Lim EK, Doucet CJ, Hou B, Jackson RG, Abrams SR, Bowles DJ (2005). Resolution of (+)-abscisic acid using an *Arabidopsis* glycosyltransferase. *Tetrahedron Asymmetry*, 16: 143~147
- Lim EK, Doucet CJ, Li Y, Elias L, Worrall D, Spencer SP, Ross J, Bowles DJ (2002). The activity of *Arabidopsis* glycosyltransferases toward salicylic acid, 4-hydroxybenzoic acid, and other benzoates. *J Biol Chem*, 277: 586~592
- Lim EK, Li Y, Parr A, Jackson R, Ashford DA, Bowles DJ (2001). Identification of glycosyltransferase genes involved in sinapate metabolism and lignin synthesis in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 276: 4344~4349
- Loutre C, Dixon DP, Brazier M, Slater M, Cole DJ, Edwards R (2003). Isolation of a glycosyltransferase from *Arabidopsis thaliana* active in the metabolism of the persistent pollutant 3,4-dichloroaniline. *Plant J*, 34: 485~493
- Martin RC, Mok DWS, Smets R, van Onckelen HA, Mok MC (2001). Development of transgenic tobacco harbouring a zeatin O-glycosyltransferase gene from *Phaseolus*. *In vitro Cell Dev Biol Plant*, 37: 354~360
- Matros A, Mock HP (2004). Ectopic expression of a UDP-glucose: phenylpropanoid glycosyltransferase leads to increased resistance of transgenic tobacco plants against infection with *potato virus Y*. *Plant Cell Physiol*, 45: 1185~1193
- Messner B, Thulke O, Schaffner AR (2003). *Arabidopsis* glycosyltransferases with activities toward both endogenous and xenobiotic substrates. *Planta*, 217: 138~146
- Mok DWS, Mok MC (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 52: 89~118
- Moraga AR, Nohales PF, Perez JA, Gomez-Gomez L (2004). Glucosylation of the saffron apocarotenoid crocetin by a glycosyltransferase isolated from *Crocus sativus* stigmas. *Planta*, 219: 955~966
- Ogata J, Kanno Y, Itoh Y, Tsugawa H, Suzuki M (2005). Plant biochemistry: anthocyanin biosynthesis in roses. *Nature*, 435: 757~758
- Paquette S, Moller BL, Bak S (2003). On the origin of Family 1 plant glycosyltransferases. *Phytochemistry*, 62: 399~413
- Poppenberger B, Berthiller F, Lucyshyn D, Sieberer T, Schuhmacher R, Krska R, Kuchler K, Gloss J, Luschnig C, Adam G (2003). Detoxification of the fusarium mycotoxin deoxynivalenol by a UDP-glycosyltransferase from *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 278: 47905~47914
- Poppenberger B, Fujioka S, Soeno K, George GL, Vaistij FE, Hiranuma S, Seto H, Takatsuto S, Adam G, Yoshida S et al (2005). The UGT73C5 of *Arabidopsis thaliana* glucosylates brassinosteroids. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 15253~15258
- Quiel JA, Bender J (2003). Glucose conjugation of anthranilate by the *Arabidopsis* UGT74F2 glycosyltransferase is required for tryptophan mutant blue fluorescence. *J Biol Chem*, 278: 6275~6281
- Richman A, Swanson A, Humphrey T, Chapman R, McGarvey B, Pocs R, Brandle J (2005). Functional genomics uncovers three glycosyltransferases involved in the synthesis of the major sweet glucosides of *Stevia rebaudiana*. *Plant J*, 41: 56~67
- Ross J, Li Y, Lim EK, Bowles DJ (2001). Higher plant glycosyltransferases. *Genome Biol*, 2: 30041~30046
- Sandrock RW, VanEtten HD (1998). Fungal sensitivity to and enzymatic degradation of the phytoanticipin alpha-tomatine. *Phytopathology*, 88: 137~143
- Shao H, He X, Achinine L, Blount JW, Dixon RA, Wang X (2005). Crystal structures of a multifunctional triterpene/flavonoid glycosyltransferase from *Medicago truncatula*. *Plant Cell*, 17: 3141~3154
- Taguchi G, Yazawa T, Hayashida N, Okazaki M (2001). Molecular cloning and heterologous expression of novel glycosyltransferases from tobacco cultured cells that have broad substrate specificity and are induced by salicylic acid and auxin. *Eur J Biochem*, 268: 4086~4094
- Tattersall DB, Bak S, Jones PR, Olsen CE, Nielsen JK, Hansen ML, Peter BH, Miller BL (2001). Resistance to an herbivore through engineered cyanogenic glucoside synthesis. *Science*, 293: 1826~1828
- Tohge T, Nishiyama Y, Hirai MY, Yano M, Nakajima J, Awazuhara M, Inoue E, Takahashi H, Goodenowe DB, Kitayama M et al (2005). Functional genomics by integrated analysis of metabolome and transcriptome of *Arabidopsis* plants over-expressing an MYB transcription factor. *Plant J*, 42: 218~235
- Von Rad U, Huttel R, Lottspeich F, Gierl A, Frey M (2001). Two glycosyltransferases are involved in detoxification of benzoxazinoids in maize. *Plant J*, 28: 633~642
- Weis M, Lim EK, Bruce NC, Bowles DJ (2008). Engineering and kinetic characterisation of two glycosyltransferases from *Arabidopsis thaliana*. *Biochimie*, 90: 830~834
- Woodward AW, Bartel B (2005). Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann Bot*, 95: 707~735
- Xu ZJ, Nakajima M, Suzuki Y, Yamaguchi I (2002). Cloning and characterization of the abscisic acid-specific glycosyltransferase gene from adzuki bean seedlings. *Plant Physiol*, 129: 1285~1295