

精胺(Spm)在植物响应逆境中的特异性作用

苏国兴*

苏州大学基础医学与生物科学学院, 江苏苏州 215123

Specific Roles of Spermine (Spm) in Plant Response to Stresses

SU Guo-Xing*

School of Basic Medicine and Biology, Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215123, China

摘要: 就精胺的代谢和生物合成相关基因以及在植物耐逆境胁迫中的特异性作用研究进展作概述。

关键词: 环境胁迫; Spm 生物合成相关基因; Spm 的生理作用

多胺(polyamines)是生物体代谢进程中产生的小分子脂肪族含氮碱, 是腐胺(putrescine, Put)、亚精胺(spermidine, Spd)、精胺(spermine, Spm)和尸胺(cadaverine, Cad)的总称, 有生物活性, 广泛存在于生物有机体中。它们不仅参与细胞的基础代谢, 如细胞增殖、分化和程序性死亡等, 而且还参与对环境胁迫的响应。在多种植物中, 各种生物和非生物胁迫和多胺水平变化间的关系已有多而深的研究, 但胁迫诱导积累多胺的作用机理仍不清楚。近10年来, 基因组学、蛋白质组学和代谢研究手段的广泛应用, 使多胺在植物生长发育、离子通道调节、防御反应和信号转导等方面上的研究取得了重要进展。多胺生物合成缺失突变体的分离和鉴定以及相关分子和遗传分析的结果, 暗示每一种多胺分子都具有特殊的作用。

拟南芥精氨酸脱羧酶(arginine decarboxylase, ADC, EC 4.1.1.19)和 Spd 合酶(EC 2.5.1.16)基因双突变体是胚致死的, 表明 Put 和 Spd 是拟南芥正常生长所必需的(Urano 等 2005)。拟南芥 Spm 合酶(EC 2.5.1.22)基因双突变体(*acl5/spm1*), 体内检测不出 Spm, 除 *acl5* 突变引起矮化表型外, 突变体也像野生型一样完成整个生活周期, 因而认为 Spm 不是拟南芥生存所必需的(Imai 等 2004)。大肠杆菌基因组没有 Spm 合酶基因, 所以不能合成 Spm, 只有 Put 和 Spd, 但能正常生长。一种大肠杆菌编码 S-腺苷蛋氨酸脱羧酶(*S*-adenosylmethionine decarboxylase, SAMDC, EC 4.1.1.50)突变体, 无 Spm 形成, 但能在缺多胺的培养基中以正常速度生长(Xie 等 1993)。Mackintosh 和 Pegg (2000)报道, 在鼠成纤维细胞(mouse fibroblast cell)培养中, Spm 合酶缺失可导致 Spm 缺乏和较高的 Spd 积累, 对细

胞生长没有明显的影响。在人类细胞中, Spm 合酶基因的剪接突变与一种 X- 关联的精神障碍性 Snyder-Robinson 综合症有关, 淋巴和成纤维突变细胞的 Spm 含量低, 呈现小脑功能紊乱和红细胞核神经元功能缺失等病症(Cason 等 2003)。所有这些结果都暗示, Spm 并不是生长所必需的, 但在真核细胞中可能有特殊作用。

植物受到干旱和高盐等胁迫时, Spm 高水平积累是一个普遍现象(Maiale 等 2004; 段国辉等 2005; Su 等 2007)。盐胁迫导致 Spm 积累虽可归因于 Spm 合酶基因受盐胁迫的诱导(Urano 等 2003), 但生理意义尚不清楚。本文围绕 Spm 代谢、生物合成相关基因以及其在植物耐逆境胁迫中所表现的特殊作用研究进展作介绍。

1 Spm 的合成和代谢

1.1 Spm 生物合成 在植物中, 多胺生物合成的第一步是鸟氨酸和精氨酸的脱羧反应, 由鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase, ODC, EC 4.1.1.17)和 ADC 催化。鸟氨酸脱羧直接产生 Put, 为多胺合成的 ODC 途径。导致 Put 合成的 ADC 途径包括 3 个酶学步骤, 由 ADC、鲱精氨酸亚氨基水解酶(arginine iminohydrolase, AIH, EC 3.5.3.12)和 *N*- 氨甲酰腐胺酰胺水解酶(*N*-carbamoylputrescine amidohydrolase, CPA, EC 3.5.1.53)顺序催化。在 Spd 合酶和 Spm 合酶催化下, 氨丙基分别加到 Put 和 Spd 上形成大分子 Spd 和 Spm, 氨丙基供体由 *S*-腺苷蛋氨酸经 SAMDC 催化形成(Alcazar 等 2006)。

收稿 2008-06-20 修定 2008-09-04
资助 苏州大学博士启动基金(13120740)。

* E-mail: suguoxing@suda.edu.cn; Tel: 0512-65882833

1.2 Spm 氧化降解和结合 细胞内 Spm 水平不仅依赖于生物合成, 而且还与氧化降解和结合反应有关。参与 Spm 氧化降解的酶有两个: 二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO, EC 1.4.3.6) 和多胺氧化酶 (polyamine oxidase, PAO, EC 1.5.3.11)。DAO 催化 Spm 的初级氨基氧化脱氨, 形成 H_2O_2 、 NH_3 和 3-[[4-[(3-氧代丙基)-氨基]-丁基]-氨基]-丙醛 (苏国兴和刘友良 2005; Su 等 2005)。但 DAO 对 Spm 亲和力低, 其主要作用底物是 Put 和 Cad, 对 Spm 的氧化相对比率仅占其催化 Put 活性的 0.3% (Sebela 等 2001)。Spm 主要通过 PAO 降解。在 PAO 的催化下, Spm 次级氨基被氧化, 形成 1,3-二氨基丙烷和 4-(3-氨基丙基)-氨基丁醛, 并释放 H_2O_2 (Sebela 等 2001)。

多胺包括 Spm 不仅以游离分子存在, 而且可结合到如羟基肉桂酸、香豆酸、咖啡酸等小分子上, 也可结合到像蛋白质、糖醛酸和木质素等生物大分子上。在植物防御外界不良因素的入侵、成花诱导、性器官分化以及块茎形成中起作用。

2 Spm 生物合成相关基因与植物的耐逆性

迄今为止, 在不同植物中, 许多与多胺代谢有关的基因已得到克隆和定性。以拟南芥为例, 参与多胺生物合成的相关基因包括: 2 个 ADC 基因 (*ADC1* 和 *ADC2*)、2 个 Spd 合酶基因 (*SPD1* 和 *SPD2*)、2 个 Spm 合酶基因 (*ACL5* 和 *SPMS*)、1 个 AIH 和 CPA 基因和至少 4 个 SAMDC 基因 (*SAMDC1*、*SAMDC2*、*SAMDC3* 和 *SAMDC4*) (Alcazar 等 2006; Kusano 等 2007)。由于 Spm 位于多胺生物合成的末端, 所以参与 Put 和 Spd 合成的相关基因都与 Spm 有关。采用超表达异源和同源基因以及突变分析等方法, 人们在 Spm 合成相关基因在植物耐逆生理中的作用上获得了大量的资料。

2.1 ADC 和 ODC 基因 在响应环境胁迫中, 拟南芥编码 ADC 的 2 个基因 (*ADC1* 和 *ADC2*) 可差异性地表达。渗透胁迫、高盐和缺 K^+ 可强烈诱导 *ADC2* 的表达, 而 *ADC1* 主要受冷诱导 (Alcazar 等 2006)。Watson 等 (1998) 在拟南芥中分离到一 EMS 突变体 *spe1-1* 和 *spe2-1*, *spe2-1* 突变位置在 *ADC2* 基因上, 其 ADC 活性低, 在受高盐胁迫后, 这种突变体的多胺积累发生缺失, 对盐胁迫非常敏感。Urano 等 (2004) 报道, 拟南芥 Ds 插入突变体 *adc2-1* 的 Put 含量仅有不作 Ds 插入的 75%, 对盐胁迫更敏感, 这种

由盐胁迫诱导的损伤可因加入 Put 而部分逆转。说明 *ADC2* 是一个耐盐性关键基因, Put 是植物耐盐性中的一个重要多胺。

由于多胺是植物生长发育所必需的, 应用功能缺失突变体研究所作出的结论可能受致死效应的限制。因此, 超表达多胺生物合成异源和同源基因的研究可能会提供更有用的信息。Kumria 和 Rajam (2002) 报道, 组成型超表达鼠 ODC 基因可提高烟草的耐盐性。水稻通过组成型表达燕麦 ADC 基因, 可改善其耐旱性 (Capell 等 1998)。但组成型超表达 ADC 基因的植物在生长和发育中会出现严重缺陷。因此有人采用胁迫诱导性启动子作尝试。据报道, 在胁迫诱导性启动子控制下, 超表达燕麦 ADC 的 cDNA, 可改善水稻的抗盐性 (Roy 和 Wu 2001)。在胁迫激活玉米 *Ubi-1* 启动子控制下, 超表达曼陀罗 (*Datura stramonium*) 的 ADC 基因, 赋予水稻更大的抗旱性 (Capell 等 2004)。在正常条件下, 这些转基因植物显示有较高水平的 Put, 但当受胁迫时 SAMDC 表达增加, 并导致 Spd 和 Spm 的积累, 这暗示 Spd 或 Spm 可能对逆境胁迫有保护作用。

2.2 SAMDC 基因、Spd 合酶基因、Spm 合酶基因 一般而言, SAMDC 水平的提高可提高植物抗不同逆境胁迫的能力。超表达人类 *SAMDC* 的烟草, 可导致其耐盐和渗透胁迫性的提高 (Waie 和 Rajam 2003)。在 ABA 诱导性启动子控制下, *SAMDC* 在水稻中的超表达可导致 Spd 和 Spm 的积累, 因而降低了其对盐胁迫的敏感性 (Roy 和 Wu 2002)。烟草中, 若是组成型超表达康乃馨 *SAMDC* 后, 即会发生总多胺的积累和广泛的耐非生物胁迫性 (Wi 等 2006)。组成型超表达同源 *SAMDC1* 拟南芥植株只积累 Spm, 不积累 Put 和 Spd, 对高盐、渗透胁迫和臭氧有更高的耐性 (Alcazar 等 2006)。说明在 Spd 和 Spm 中, Spm 可能对植物抗性的提高更重要。

通过超表达 Spd 合酶和 Spm 合酶基因, 也可提高植物对多种非生物胁迫的耐性。超表达源自南瓜 (*Cucurbita ficifolia*) 的 Spd 合酶的 cDNA, 显示 Spd 合酶活性以及 Spd、Spm 含量的提高, 这些植物对冷害、冻害、盐渍、高渗胁迫、干旱和百草枯毒性的耐性都有增加 (Kasukabe 等 2004)。

3 Spm 在植物耐逆生理中的特异性作用

从上述转基因和突变体分析可知, 多胺在植物耐受逆境胁迫中起必不可少的作用, 似乎对广泛的

生物和非生物胁迫耐性都有提高作用,但又明显暗示多胺在响应环境胁迫中有特异性作用。其中, Spm 是研究最深入的一种多胺。

3.1 参与体内 Ca^{2+} 平衡 Spm 经 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ 反向运输体基因, 增加植物的耐盐和耐旱性。Yamaguchi 等(2006)在拟南芥中发现一种 *acl5/spms* (编码 Spm 合酶基因) 双突变体, 其缺失 Spm 合酶, 体内检测不出 Spm, 这种突变体对 NaCl 和 KCl 超敏感, 并显示出缺 Ca^{2+} 症状。外源添加 Spm 或 Ca^{2+} - 通道抑制剂 (La^{3+} 或异博定) 可转逆或减弱这种盐超敏症状, 而其他多胺如 Put 和 Spd 则没有此特异性。这种对 NaCl 超敏和显示的缺 Ca^{2+} 症状相似于超表达 *AtGluR2* (编码质膜门控 Ca^{2+} 通道) 和 *CAX* (编码液胞膜 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ 反向运输体) 的转基因植物症状。他们进一步研究表明, 这种 Spm 缺失突变体编码液胞膜 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ 反向运输体 *CAX1*、*CAX2* 和 *CAX3* 基因的转录水平分别比非转基因的增加 1.9、1.6 和 5.5 倍, 而在野生型和突变体幼苗中的 *AtGluR2* 表达无明显差异。Cheng 等(2005)证实, *cax1/cax3* 双突变可严重阻碍植物的生长, 以致体内离子平衡破坏, 从而表明植物正常生长是与体内 *CAX1* 和 *CAX3* 的离子平衡功能相联系的。因而指出, 在 Spm 缺失突变体中, *CAX1* 和 *CAX3* 之后的高水平同步诱导可用以部分解释对盐超敏及其所呈现的缺 Ca^{2+} 症状, 表明 Spm 可能与植物体内 Ca^{2+} 平衡的维持有关系 (Yamaguchi 等 2006)。

Yamaguchi 等(2007)在与野生型拟南芥比较干旱敏感性时还发现, 这种 Spm 缺失突变体同样对干旱超敏感, 干旱超敏性仅可为外源 Spm 恢复, 其他多胺如 Put 和 Spd 则否, 从而表现出 Spm 所特有的专一性。在干旱胁迫下, Spm 缺失突变体的叶片气孔一直处于张开状态, 因而认为其对干旱敏感性与其气孔运动的调节能力丧失有关 (Yamaguchi 等 2007)。在大麦中, 胞质多胺可阻断快速激活型液胞 (fast-activating vacuolar, FV) 阳离子通道。在红甜菜主根中, 多胺可抑制 FV 和慢性激活型液胞 (slow-activating vacuolar, SV) 通道, 作用效果是 $\text{Spm} > \text{Spd} > \text{Put}$ (Dobrovinskaya 等 1999)。FV 和 SV 通道与 K^{+} 和 Ca^{2+} 从液胞向细胞质释放有关。保卫细胞胞质中的自由 Ca^{2+} 变化参与气孔运动的调节 (於丙军等 2004; Roelfsema 和 Hedrich 2005)。Yamaguchi 等(2006, 2007)根据 Spm 缺失突变体所

呈现的体内 Ca^{2+} 平衡失调, 认为 Spm 可能通过控制 Ca^{2+} 渗透性通道 (如 FV 和 SV 通道) 最终影响气孔的运动。

3.2 特异地激活分裂原促蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 的活性 Yamakawa 等(1998)发现, 在烟草花叶病毒 (tobacco mosaic virus, TMV) 感染坏死的胞间组织中有较高水平的 Spm, 这种 Spm 可诱导病原相关蛋白的表达, 赋予寄主植物对 TMV 的抗性。因而他们推测 Spm 可作为一信号传递分子转导防御响应。Takahashi 等(2003)采用特异性抗体发现, Spm 可特异地激活两种 MAPKs——水杨酸诱导性蛋白激酶 (salicylic acid-induced protein kinase, SIPK) 和损伤诱导性蛋白激酶 (wound-induced protein kinase, WIPK) 的活性。这一激活过程与线粒体功能的紊乱有关, 并依赖活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 的产生和 Ca^{2+} 的内流, 因为这种激活作用可被抗氧化剂、多胺氧化酶抑制剂和 Ca^{2+} 通道阻断剂所阻止。Spm 对 SIPK 和 WIPK 活性的诱导作用有特异性, 其他多胺如 Put 和 Spd 则无此种促进作用。随着 SIPK 和 WIPK 的激活, 超敏特异性基因 *HIN1* 和 *HSR203J* 以及 *Cys2/His2*-型锌指基因子族也相继被激活 (Takahashi 等 2004; Uehara 等 2005)。

在病原菌识别和植物防御系统的激活期间, 蛋白质磷酸化和去磷酸化在信号传递中可能起关键作用。业已证实, 烟草中的两种 MAPKs——SIPK 和 WIPK 和它们在其他植物中的同源蛋白参与了植物细胞防御信号的传递 (Suzuki 2002)。也已证实, SIPK 和 WIPK 除分别受水杨酸和损伤诱导外, 还对其他生物和非生物性胁迫如 TMV 感染、臭氧、盐和渗透胁迫作出响应 (Takahashi 等 2003)。此外, SIPK 和 WIPK 还参与了防御基因的激活和超敏细胞死亡的调节 (Ren 等 2002)。因此一个可能的结论是, Spm 经 ROS 的产生和促进 Ca^{2+} 在线粒体中的内流, 特异地激活两种 MAPKs——SIPK 和 WIPK, 在抗病和超敏细胞死亡中起信号传递作用。

3.3 参与硝酸还原酶 (nitrate reductase, NR) 翻译后活性调节 在黑暗中, NR 在叶中会发生钝化作用。在 NR- 蛋白激酶催化下, NR 的丝氨酸 (Ser^{543}) 残基先发生磷酸化作用, 接着 14-3-3 蛋白结合到磷酸化 -NR 上, NR 活性被抑制。14-3-3 蛋白与磷酸化 -NR 的结合需微摩尔级水平的二价阳离子如

Mg²⁺、Mn²⁺和Ca²⁺等。二价阳离子结合到14-3-3蛋白上引起NR蛋白构象的改变(Kaiser和Huber 2001)。Athwal和Huber(2002)报道,在调节14-3-3蛋白的作用中,微摩尔级水平的多胺(Spm和Spd)能替代二价阳离子与14-3-3蛋白结合而抑制NR的活性,作用效果随多胺多聚阳离子静电荷的减少而降低,即Spm⁴⁺>Spd³⁺>>>Cad²⁺=Put²⁺。Athwal和Huber(2002)采用C端平截和直接致突变方法进一步证实,拟南芥14-3-3蛋白GF14ω的loop-8(残基208~219)是二价阳离子和多胺的结合位点。在逆境条件下,植物往往会积累多胺而降低体内含氮量,多胺能否通过促进依赖14-3-3蛋白的磷酸化-NR的抑制而阻止NO³⁻还原并起作用尚待进一步研究。

3.4 通过诱导NO的合成起作用 采用细胞非渗透性的NO结合性荧光染料, Tun等(2006)观察到Spm和Spd可强烈促进拟南芥幼苗根尖伸长区、叶脉等组织释放NO,但Put和它的合成前体精氨酸则无此作用。Spm在刺激NO释放过程中最活跃,且没有迟后期。Spm对NO释放的促进作用可被NO合酶抑制剂AETU(2-aminoethyl-2-thiopseudourea)和NO清除剂cPTIO[2-(4-carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-imidazoline-1-1-oxy-3-oxide]所抑制。

已知NO参与许多植物生长发育过程,如促进种子的萌发和根系的发育、抑制下胚轴的伸长和叶片扩大、促进叶绿素合成和去黄化作用(Beligni和Lamattina 2000; Lanteri等2008)、介导ABA诱导气孔关闭(Bright等2006)、作为ROS清除剂延缓大麦糊粉层细胞的程序性死亡(Beligni等2002)、参与植物防御响应和增加植物抗盐性等(张艳艳等2004; Zhao等2007)。虽然迄今仍不清楚Spm或Spd诱导NO产生的机制,但Spm和Spd能诱导植物组织释放NO这一事实,说明多胺与NO二信号传递物质协同作用是可能的。

3.5 通过促进与质膜相关的磷脂酶C(phospholipase C, PLC)活性起作用 多胺可能与磷脂酰肌醇-Ca²⁺信号转导途径有联系。Singh等(1995)在动物中发现, Spm以浓度依赖性方式抑制磷脂酰肌醇-3-激酶活性和促进磷脂酰肌醇-4-磷酸-5-激酶活性,其他多胺也有类似作用,但作用效果为Spm>Spd>Put。Spm对磷脂酰肌醇-4-激酶也有促进作用。与此相一致的是, Spd可导致油菜属植物

(*Brassica oleracea*)下胚轴磷脂酰肌醇-4-磷酸(phosphatidylinositol 4-phosphate, PIP)和磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP₂)的增加,并伴随着磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)、肌醇-1,4-二磷酸(inositol-1,4-bisphosphate, IP₂)和肌醇-1,4,5-三磷酸(inositol-1,4,5-trisphosphate, IP₃)水平的下降(Dureja-Munjial等1992)。说明多胺调节着植物细胞磷脂酰肌醇分子间的相互转化。不仅如此,多胺尤其是Spm参与PLC活性的调节。Echevarria-Machado等(2002)用毛根农杆菌感染长春花(*Catharanthus roseus*)叶片获得长春花的转化根系,并获得膜结合和半纯化的PLC,发现Spm可专一性地激活这两种状态的PLC活性,引起IP₃最大产生量一半时的Spm浓度仅25 μmol·L⁻¹,其他类型的多胺如Put和Spd则不起作用,说明Spm与PLC互作有专一性。他们还用C¹⁴-Spm培养这种转化根系,30或60 min后,在抗PLC_s免疫沉淀颗粒中测得了C¹⁴放射活性,为Spm与PLC互作提供了直接证据(Echevarria-Machado等2004)。PLC水解PIP₂产生两个胞内第二信使,即IP₃和二酰甘油。Spm与PLC特异性结合而促进其活性,这暗示Spm可介导PLC信号转导过程。

4 结语

在生理pH条件下,多胺为多聚阳离子,容易与细胞中的多聚阴离子如DNA、RNA、酸性磷脂、酸性蛋白质和细胞壁组分等结合,对DNA结构、复制与转录、生物大分子的合成、酶的活性以及生物膜结构功能起作用(白春礼等1999; Luckel等2005)。从上述资料可见, Spm可在基因转录、酶蛋白、细胞代谢等不同水平上发挥作用,但在各水平上的Spm作用机制尚待进一步探讨。如:(1)多胺调节离子通道的机制。迄今所揭示的多胺与通道蛋白、膜组分的直接作用或经胞质途径参与通道调节的控制机制是什么?多胺与已知参与气孔调节的信号物质如ABA、H₂O₂、Ca²⁺和NO之间有无互作关系?(2)多胺诱导NO合成的机制?植物有多条途径合成NO, Spm或Spd诱导NO形成与已知的NO合成途径如NO合酶、亚硝酸/NO还原酶途径等有无联系? Spm或Spd是否可通过上述NO合成酶途径起作用尚待证实。(3)业已证实, PLC信号转导过程参与植物许多生理过程如干旱和ABA引起的气孔开闭、植物对病原微生物侵染的

防御反应等, Spm是否通过PLC参与这些生理过程尚需进一步证实。

参考文献

- 白春礼, 王琛, 林璋(1999). 阳离子诱导 DNA 有序凝聚体的精细结构的研究. 中国科学基金, 13: 309~312
- 段辉国, 袁澍, 刘文娟, 林宏辉(2005). 多胺与植物逆境胁迫的关系. 植物生理学通讯, 41 (4): 531~536
- 苏国兴, 刘友良(2005). 高等植物体内多胺分解代谢及其主要产物的生理作用. 植物学通报, 22 (4): 408~418
- 於丙军, 丁义, 陈宣钦(2004). 几种信号类物质对蚕豆气孔运动的效应. 植物生理学通讯, 40 (3): 285~288
- 张艳艳, 刘俊, 刘友良(2004). 一氧化氮缓解盐胁迫对玉米生长的抑制作用. 植物生理与分子生物学报, 30 (4): 455~459
- Alcazar R, Marco F, Cuevas JC, Patron M, Ferrando A, Carrasco P, Tiburcio AF, Altabella T (2006). Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. Biotechnol Lett, 28: 1867~1876
- Athwal GS, Huber SC (2002). Divalent cations and polyamines bind to loop 8 of 14-3-3 proteins, modulating their interaction with phosphorylated nitrate reductase. Plant J, 29 (2): 119~129
- Beligni MV, Fath A, Bethke PC, Lamattina L, Jones RL (2002). Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. Plant Physiol, 129: 1642~1650
- Beligni MV, Lamattina L (2000). Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. Planta, 210: 215~221
- Bright J, Desikan R, Hancock JT, Weir IS, Neill SJ (2006). ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. Plant J, 45: 113~122
- Capell T, Bassie L, Christou P (2004). Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. Proc Natl Acad Sci USA, 101: 9909~9914
- Capell T, Escobar H, Liu H, Burtin D, Lepri O, Christou P (1998). Over-expression of the oat arginine decarboxylase cDNA in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) affects normal development patterns *in vitro* and results in putrescine accumulation in transgenic plants. Theor Appl Genet, 97: 246~254
- Cason AL, Ikeguchi Y, Skinner C, Wood TC, Holden KR, Lubs HA, Martinez F, Simensen RJ, Stevenson RE, Pegg AE et al (2003). X-linked spermine synthase gene (SMS) defect: the first polyamine deficiency syndrome. Eur J Hum Genet, 11: 937~944
- Cheng NH, Pittman JK, Shigaki T, Lachmansingh J, LeClere S, Lahner B, Salt DE, Hirschi KD (2005). Functional association of *Arabidopsis* CAX1 and CAX3 is required for normal growth and ion homeostasis. Plant Physiol, 138: 2048~2060
- Dobrovinskaya OR, Muniz J, Pottosin II (1999). Inhibition of vacuolar ion channels by polyamines. J Membr Biol, 167: 127~140
- Dureja-Munjaj I, Acharya MK, Guha-Mukherjee S (1992). Effect of hormones and spermidine on the turnover of inositolphospholipids in *Brassica* seedlings. Phytochemistry, 31: 1161~1163
- Echevarria-Machado I, Ku-Gonzalez A, Loyola-Vargas VM, Hernandez-Sotomayor SMT (2004). Interaction of spermine with a signal transduction pathway involving phospholipase C, during the growth of *Catharanthus roseus* transformed roots. Physiol Plant, 120: 140~151
- Echevarria-Machado I, Munoz-Sanchez A, Loyola-Vargas VM, Hernandez-Sotomayor SMT (2002). Spermine stimulation of a phospholipase C activity from *Catharanthus roseus* transformed roots. J Plant Physiol, 159: 1179~1188
- Imai A, Akiyama T, Kato T, Sato S, Tabata S, Yamamoto KT, Takahashi T (2004). Spermine is not essential for survival of *Arabidopsis*. FEBS Lett, 556: 148~152
- Kaiser WM, Huber SC (2001). Post-translation regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. J Exp Bot, 52: 1981~1989
- Kasukabe Y, He L, Nada K, Misawa S, Ihara I, Tachibana S (2004). Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiol, 45: 712~722
- Kumria R, Rajam MV (2002). Alteration in polyamine titres during *Agrobacterium*-mediated transformation of indica rice with ornithine decarboxylase gene affects plant regeneration potential. Plant Sci, 162: 769~777
- Kusano T, Yamaguchi K, Berberich T, Takahashi Y (2007). Advances in polyamine research in 2007. J Plant Res, 120: 345~350
- Lanteri ML, Laxalt AM, Lamattina L (2008). Nitric oxide triggers phosphatidic acid accumulation via phospholipase D during auxin-induced adventitious root formation in cucumber. Plant Physiol, 147: 188~198
- Luckel F, Kubo K, Tsumoto K, Yoshikawa K (2005). Enhancement and inhibition of DNA transcriptional activity by spermine: a marked difference between linear and circular templates. FEBS Lett, 579: 5119~5122
- Mackintosh CA, Pegg AE (2000). Effect of spermine synthase deficiency on polyamine biosynthesis and content in mice and embryonic fibroblasts, and the sensitivity of fibroblasts to 1,3-bis-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosourea. Biochem J, 351: 439~447
- Maiale S, Sanchez DH, Gulrado A, Vidal A, Ruiz OA (2004). Spermine accumulation under salt stress. J Plant Physiol, 161: 35~42
- Ren D, Yang H, Zhang S (2002). Cell death mediated by MAPK is associated with hydrogen peroxide production in *Arabidopsis*. J Biol Chem, 277: 559~565
- Roelfsema MRG, Hedrich R (2005). In the light of stomatal opening: new insights into 'the watergate'. New Phytol, 167: 665~691
- Roy M, Wu R (2001). Arginine decarboxylase transgene expression and analysis of environmental stress tolerance in transgenic rice. Plant Sci, 160: 869~875

- Roy M, Wu R (2002). Overexpression of *S*-adenosylmethionine decarboxylase gene in rice increases polyamine level and enhances sodium chloride-stress tolerance. *Plant Sci*, 163: 987~992
- Sebela M, Radova A, Angelini R, Tavladoraki P, Frebort I, Pec P (2001). FAD-containing polyamine oxidases: a timely challenge for researchers in biochemistry and physiology of plants. *Plant Sci*, 160: 197~207
- Singh SS, Chauhan A, Brokerhoff H, Chauhan VPS (1995). Differential effects of spermine on phosphatidylinositol 3-kinase and phosphatidylinositol phosphate 5-kinase. *Life Sci*, 57: 685~694
- Su GX, An ZF, Zhang WH, Liu YL (2005). Light promotes the synthesis of lignin through the production of H₂O₂ mediated by diamine oxidases in soybean hypocotyls. *J Plant Physiol*, 162: 1297~1303
- Su GX, Yu BJ, Zhang WH, Liu YL (2007). Higher accumulation of γ -aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. *Plant Physiol Biochem*, 45: 560~566
- Suzuki K (2002). MAP kinase cascades in elicitor signal transduction. *J Plant Res*, 115: 237~244
- Takahashi Y, Berberich T, Miyazaki A, Seo S, Ohashi Y, Kusano T (2003). Spermine signalling in tobacco: activation of mitogen-activated protein kinases by spermine is mediated through mitochondrial dysfunction. *Plant J*, 36: 820~829
- Takahashi Y, Berberich T, Yamashita K, Uehara Y, Miyazaki A, Kusano T (2004). Identification of tobacco *HINI* and two closely related genes as spermine-responsive genes and their differential expression during the tobacco mosaic virus-induced hypersensitive response and during leaf- and lower-senescence. *Plant Mol Biol*, 54: 613~622
- Tun NN, Santa-Catarina C, Begum T, Silveira V, Handro W, Segal Floh EI, Scherer FE (2006). Polyamines induce rapid biosynthesis of nitric oxide (NO) in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Cell Physiol*, 47: 346~354
- Uehara Y, Takahashi Y, Berberich T, Miyazaki A, Takahashi H, Matsui K, Ohme-Takagi M, Saitoh H, Terauchi R, Kusano T (2005). Tobacco ZFT1, a transcriptional repressor with a Cys₂/His₂ type zinc finger motif that functions in spermine-signaling pathway. *Plant Mol Biol*, 59: 435~448
- Urano K, Hobo T, Shinozaki K (2005). *Arabidopsis ADC* genes involved in polyamine biosynthesis are essential for seed development. *FEBS Lett*, 579: 1557~1564
- Urano K, Yoshida Y, Nanjo T, Igarashi Y, Seki M, Sekiguchi F, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2003). Characterization of *Arabidopsis* genes involved in biosynthesis of polyamines in abiotic stress responses and developmental stages. *Plant Cell Environ*, 26: 1917~1926
- Urano K, Yoshida Y, Nanjo T, Ito T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2004). *Arabidopsis* stress-inducible gene for arginine decarboxylase *AtADC2* is required for accumulation of putrescine in salt tolerance. *Biochem Biophys Res Comm*, 313: 369~375
- Waie B, Rajam MV (2003). Effect of increased polyamine biosynthesis on stress responses in transgenic tobacco by introduction of human *S*-adenosylmethionine gene. *Plant Sci*, 164: 727~734
- Watson MB, Emory KK, Piatak RM, Malmberg RL (1998). Arginine decarboxylase (polyamine synthesis) mutants of *Arabidopsis thaliana* exhibit altered root growth. *Plant J*, 13: 231~239
- Wi SJ, Kim WT, Park KY (2006). Overexpression of carnation *S*-adenosylmethionine decarboxylase gene generates a broad-spectrum tolerance to abiotic stresses in transgenic tobacco plants. *Plant Cell Rep*, 25: 1111~1121
- Xie QW, Tabor CW, Tabor H (1993). Deletion mutations in the *speED* operon: spermidine is not essential for the growth of *Escherichia coli* gene. *Gene*, 126: 115~117
- Yamaguchi K, Takahashi Y, Berberich T, Imai A, Miyazaki A, Takahashi T, Michael A, Kusano T (2006). The polyamine spermine protects against high salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 580: 6783~6788
- Yamaguchi K, Takahashi Y, Berberich T, Imai A, Takahashi T, Michael AJ, Kusano T (2007). A protective role for the polyamine spermine against drought stress in *Arabidopsis*. *Biochem Biophys Res Comm*, 352: 486~490
- Yamakawa H, Kamada H, Satoh M, Ohashi Y (1998). Spermine is a salicylate-independent endogenous inducer for both tobacco acidic pathogenesis-related proteins and resistance against tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiol*, 118: 1213~1222
- Zhao MG, Tian QY, Zhang WH (2007). Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 144: 206~217