

## 专论与综述Reviews

## DELLA 家族蛋白与植物生长发育的关系

黄先忠<sup>1</sup> 马正强<sup>2,\*</sup><sup>1</sup>石河子大学生物工程学院, 石河子 832003; <sup>2</sup>南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095

## Progress in Studies on DELLA Protein Family in Plant Growth and Development

HUANG Xian-Zhong<sup>1</sup>, MA Zheng-Qiang<sup>2,\*</sup><sup>1</sup>College of Bioengineering, Shihezi University, Shihezi 832003; <sup>2</sup>National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095

**提要** 赤霉素 (GA) 同细胞膜上的受体结合后, 通过一系列信号分子, 把信号传递到下游, 以调节植物的生长发育。在已发现的植物 GA 信号传递分子中, 有一类的 N 端具有高度保守的 DELLA 结构域, 称之为 DELLA 家族蛋白。文中介绍了此类蛋白作为阻遏蛋白, 对植物生长发育的调控作用及其行使阻遏作用的分子机制。

**关键词** DELLA 家族蛋白; GA; 生长发育

植物从种子萌发到果实成熟的整个生命循环过程受到许多内源因子的调节。赤霉素(GA)作为一种重要的生长激素, 调控胚根的生长、茎秆的伸长、叶片的延展、花的发育、花器的分化和果实的成熟等各个方面<sup>[1]</sup>。

植物体内存在 GA 信号的传递网络。质膜上的受体感知 GA 信号, 将其传递到细胞内部, 再通过一系列的信号因子传递至下游, 引起细胞行为的变化, 即 GA 反应。当编码这些信号因子的基因及它们所识别的顺式作用位点发生突变时, 下游基因的表达和相关的生理生化反应也发生相应的变化, 从而导致植物对 GA 反应的改变。

GA 调控植物生长发育的一个重要例子就是植物的矮秆性。例如, 拟南芥的赤霉素不敏感基因 *GAI* (GA insensitive) 和小麦的矮秆基因 *Rht* (reduce height), 它们编码受 GA 调节的负调控因子, 当其 N 端发生突变时, 植株表现矮化, 对赤霉素不敏感<sup>[2, 3]</sup>。如果这些调控因子的 C 端发生突变, 植株则表现为对 GA 敏感的细长表型<sup>[4, 5]</sup>。

在已经克隆出的 GA 信号分子中, 以 *GAI* 和 *RGA* (repressor of *gal*<sup>3</sup>) 为代表的一类蛋白的羧基端与拟南芥的 *SCARECROW* (*SCR*)<sup>[6]</sup> 基因及水稻独秆基因 *MOCI*<sup>[7]</sup> 编码的产物高度同源(图 1)。它们都属于 GRAS (*GAI*、*RGA*、*SCR*) 蛋白家族成员,

可能起核转录因子的作用<sup>[6, 7]</sup>。*GAI* 和 *RGA* 等的 N 端都含有高度保守的 DELLA 结构域, 被称为 DELLA 家族蛋白。已经发现的 DELLA 蛋白包括由拟南芥的 *GAI*、*RGA* 和 *RGL*, 大麦的 *SLN1*, 玉米的 *d8*, 水稻的 *SLR1* 和 *OsGAI*, 小麦的 *Rht* 和葡萄 *LI* 等基因的编码产物<sup>[2~4, 8~11]</sup>。

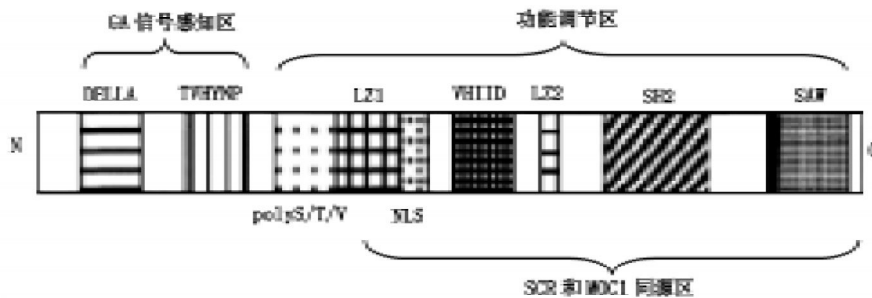
## 1 DELLA 家族蛋白的保守结构域

目前, 已克隆出许多与 GA 信号转导有关的调节因子, 其中有些是 DELLA 蛋白家族成员。研究表明 DELLA 蛋白位于细胞核中, 在 GA 信号转导中起阻遏作用<sup>[5, 12~14]</sup>。在 DELLA 蛋白的氨基酸序列中, N 端的同源性总体上不高, 但存在 DELLA 和 TVHYNP 两个非常保守的酸性结构域, 中部有一个核定位信号结构域 (NLS) R<sub>K</sub>VATYFGLARR, 其后有一个保守氨基酸结构域 VHIID 和亮氨酸重复序列 LZ, 在 C 端有类似 SH2 结构域 R<sub>15</sub>GTFLDRFTESLYY<sub>3</sub>FDSLEGG、RVER 和 SAW 结构域的结构(图 1)。Itoh 等<sup>[5]</sup>用水稻 *SLR1* 基因的不同核苷酸缺失突变体分析了 DELLA 蛋白

收稿 2003-12-23 修定 2004-04-02

资助 国家杰出青年基金(30025030)和科技部转基因产业化专项(J00-A-006-1)。

\* 通讯作者(E-mail:zqm2@njau.edu.cn, Tel:025-84396029)。

图1 DELLA 家族蛋白的结构示意<sup>[5]</sup>

不同保守结构域的功能。他们认为 DELLA 与 TVHYNP 结构是 GA 信号感知结构域, polyS/T/V (丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸富集区) 是调节结构域, LZ 是二聚化结构域, C 端的 VHIID、SH2 和 SAW 等结构是阻遏结构域。

## 2 DELLA 蛋白在 GA 信号通道中起阻遏效应的分子机制

GA 在 DELLA 蛋白的功能中被认为起负调节因子的作用。实验表明 GA 可以诱导 DELLA 蛋白 RGA、SLR1 和 SLN1 在核中的降解<sup>[13, 15, 16]</sup>。Peng 等<sup>[2, 5]</sup>提出了解释 GA 调节的 DELLA 蛋白抑制作用的“GA 可去抑制的抑制子模型”(GA de-repressible repressor model)。在该模型中, 当 DELLA 蛋白上的 GA 信号感知区接收到 GA 信号后, 这种蛋白在核内迅速降解, 其阻遏作用从而被解除, 植株表现出正常的 GA 反应。一般认为 DELLA 家族蛋白的降解是通过泛素蛋白酶体通道进行的<sup>[16~18]</sup>。DELLA 蛋白的完整性为正常 GA 反应所必需<sup>[2, 5]</sup>。如果 DELLA 结构发生改变, 使之不能感知 GA 信号, DELLA 蛋白便成为组成性的阻遏蛋白, 植株表现出类似 GA 缺乏的表型。这类突变为显性或半显性。越来越多的突变体研究支持了这一模型<sup>[8]</sup>。当 DELLA 蛋白的阻遏作用因 C 端的变化而丧失时, 植株的表型就像被施加了过量的 GA, 生长细长。这类突变为隐性, 例如拟南芥的 *rga*、大麦的 *sln1c* 和水稻的 *slr1-4*<sup>[4, 9, 16]</sup>。

但是也有一些研究不支持上述 DELLA 蛋白的抑制子模型。水稻 *OsGAI* 基因的产物是一种 DELLA 类似蛋白。Ogawa 等<sup>[11]</sup>在 GAL4-*OsGAI* 融合蛋白的反式激活试验中发现 *OsGAI* 蛋白是一种转录激活因子或辅激活因子。在拟南芥中, GA

处理对 *GAI* 和 *RGL* 蛋白的稳定性影响较小<sup>[12]</sup>。由此可见, 不同的 DELLA 蛋白在 GA 信号转导中的功能不同, 其作用机制也可能不一样。

## 3 DELLA 蛋白与植物的生长发育

### 3.1 DELLA 蛋白与植物的形态

目前, 在已发现的 DELLA 突变体中, 植株多表现为对 GA 不敏感的矮化表型。分析这类突变体中的 DELLA 蛋白, 均是在 DELLA 结构附近发生了变化。例如拟南芥的 *gai*、小麦的 *Rht*、大麦的 *sln1d* 等。*gai* 与 *GAI* 相比较, *gai* 的 5' 端缺少了 51 个碱基, 相应地, 其编码的蛋白缺少了 DELLA 结构域的 17 个氨基酸<sup>[2]</sup>。小麦的 *Rht-B1b* 和 *Rht-D1b* 均是由于编码 DELLA 结构域的区域发生了碱基替换, 导致内部终止密码子的形成, 因此不能编码能接受 GA 信号的正常蛋白<sup>[3]</sup>。在大麦的 *sln1d* 突变体中 DELLAE 代替了野生型的 DELLAG<sup>[4]</sup>, 是植株产生矮化 GA 不敏感性状的原因。根据 GA 的抑制子模型, 这些突变基因产物的抑制作用不会因 GA 的存在而消失, 因此称之为功能获得性突变。

DELLA 突变体的另外一种表型一般表现为对 GA 敏感的细长型, 遗传上为隐性, 其产物似乎不能行使阻遏作用, 常称之为功能丧失性突变。例如, 拟南芥的 *rga*<sup>[13]</sup> 和 *rgl*<sup>[10, 14]</sup>、水稻的 *slr*<sup>[9]</sup>、大麦的 *sln1c*<sup>[4]</sup> 等。上述这些突变都是由于基因的 3' 端碱基被替换导致终止密码子形成的结果, 因此这些突变基因的产物较正常的短。

### 3.2 DELLA 蛋白与植物的繁殖生长

GA 参与植物从营养生长向繁殖生长的转变<sup>[13, 19]</sup>。在一些物种如拟南芥、玉米和许多木本植物中 GA 能促进开花。在一些植物如英国常春藤 (*Hedera helix*) 中 GA 抑制开花; 在另一些植物如牵牛花和豌豆中由于

处理时间、日长和基因型不同, GA 既可能促进也可能抑制开花<sup>[19]</sup>。在由花药专化启动子驱动的 GA 不敏感基因 *gai* 转基因拟南芥和烟草中, 雄性器官发生败育<sup>[20]</sup>。

GA 抑制葡萄的开花。Boss 和 Thomas<sup>[8]</sup>对葡萄栽培品种 Pinot Meunier 的一个 GA 不敏感矮化突变体的研究证明 DELLA 蛋白与繁殖发育有关。在此种突变体中受到突变的基因 *L1* 与小麦矮秆基因 *Rht1* 同源, 其编码产物的 DELLA 结构域序列变成了 DELHA。这一突变解除了 DELLA 蛋白的抑制作用, 植株表现为矮化; 同时 GA 对花器官发育的抑制作用也被解除, 以致葡萄蔓藤上本应生长蔓须的部位变成了花序。在转录水平上的研究表明拟南芥的 RGL1 蛋白参与花器官发育<sup>[14]</sup>。

**3.3 DELLA 蛋白抑制种子的发芽** 种子的发芽除需要合适的外界条件如光照、温度、湿度外, 还受到内部调节因子如 GA 的控制。种子萌发时, 由胚分泌的 GA 进入糊粉层细胞, 刺激胚乳细胞中  $\alpha$ -淀粉酶的合成与分泌。 $\alpha$ -淀粉酶的主要功能是水解胚乳中的淀粉。在  $\alpha$ -淀粉酶基因的启动子序列中存在 TAACAAA 序列模块, 该模块响应 GA 信号, 激活基因的转录<sup>[21]</sup>。如果该模块发生突变,  $\alpha$ -淀粉酶基因便不能表达<sup>[22]</sup>。在大麦糊粉层中,  $\alpha$ -淀粉酶基因的表达通过 SLN1 和 GAMYB 调节。GAMYB 是受 GA 诱导的 MYB 转录因子。研究发现, GAMYB 基因的表达先于  $\alpha$ -淀粉酶基因的表达, 在用 GA 处理 1~2 h 后, 大麦糊粉层 GAMYB 转录本开始增加<sup>[22]</sup>。体内瞬时表达实验表明 GAMYB 的结合位点是上述 TAACAAA 模块, 它对  $\alpha$ -淀粉酶及其它基因的表达起转录激活作用<sup>[21, 22]</sup>。

*Rht-B1c* 是 *Rht1* 基因的一个等位基因<sup>[23]</sup>。携 *Rht-B1c* 基因的小麦种子糊粉层细胞  $\alpha$ -淀粉酶的表达对 GA 不敏感, 使这些种子获得了穗发芽抗性<sup>[23]</sup>。近年来, 本实验室对 *Rht-B1c* 近等基因系中  $\alpha$ -淀粉酶的活性、穗发芽抗性和 GA 敏感性三者之间的关系的研究发现, 在 *Rht-B1c* 近等基因系之间, 种子  $\alpha$ -淀粉酶活性相差 10 倍左右, 这种差异与 GA 不敏感性及矮秆性一致<sup>[24]</sup>。

在拟南芥中 DELLA 蛋白 RGL1 或 RGL2 是种子发芽的抑制因子<sup>[10, 14]</sup>。有意思的是, RGL1 对

种子发芽的调节不受 GA 的影响<sup>[14]</sup>。*RGL2* 基因的表达受吸涨诱导, 专一控制受 GA 调节的种子发芽<sup>[10]</sup>。在 *rgl2*、*rgl1-1*、*gai-t6* 和 *rga-t6* 等失去功能突变体的种子发芽中, *rgl2* 克服 paclobutrazol 的抑制效应最强<sup>[10]</sup>。这说明种子发芽存在不同的调节机制。

#### 4 展望

关于 DELLA 蛋白与植物生长发育的关系和在 GA 信号通道中的功能仍有许多问题需要回答。比如: 细胞上与 GA 信号结合的受体是什么? DELLA 蛋白在细胞内的运输和代谢机制是什么? DELLA 结构域怎样感知 GA 信号, 并如何传递到下游的功能结构域? 在不同的基因组中有多少种 DELLA 蛋白? 它们在植物生长发育中各承担什么功能? 它们之间在功能上有什么关系, 与外界环境如何相互作用? 通过对小麦 *Rht* 基因同源 EST 的分离, 我们注意到这类基因可能存在不同的 RNA 加工方式(黄先忠等未发表资料), 因此, DELLA 蛋白基因的表达可能还受到转录后 RNA 加工水平的调节。对 DELLA 蛋白基因的功能研究需要利用各种突变体。本实验室已创造了许多可能与 GA 信号有关的小麦突变体如矮秆、单分蘖、丛生性等, 它们很可能涉及到 DELLA 蛋白。目前, 我们正在开展这类突变基因的分离工作。通过对不同植物 DELLA 蛋白基因的克隆与功能分析, 将揭示它们在植物生长发育中的作用机制。*Rht* 基因的利用导致了第一次绿色革命, 可以预见, DELLA 蛋白的研究也将为第二次绿色革命作出贡献。

#### 参考文献

- Olszewski N, Sun TP, Gubler F. Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell*, 2002, 14: S61~S80
- Peng J, Carol P, Richards DE et al. The *Arabidopsis GAI* gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses. *Genes Dev*, 1997, 11: 3194~3205
- Peng J, Richards DE, Hartley NM et al. "Green revolution" genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 1999, 400: 256~261
- Chandler PM, Poll AM, Ellis M et al. Mutants at the *Slender1* locus of barley cv Himalaya. Molecular and physiological characterization. *Plant Physiol*, 2002, 129: 181~190
- Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sato Y et al. The gibberellin

- signaling pathway is regulated by the appearance and disappearance of SLENDER RICE1 in nuclei. *Plant Cell*, 2002, 14: 57~70
- 6 Di Laurenzio L, Wysocka-Diller J, Malamy JE et al. The *SCARE-CROW* gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the *Arabidopsis* root. *Cell*, 1996, 86: 423~433
- 7 Li XY, Qian Q, Fu ZM et al. Control of tillering in rice. *Nature*, 2003, 422: 618~622
- 8 Boss PK, Thomas MR. Association of dwarfism and floral induction with a grape 'green revolution' mutation. *Nature*, 2000, 406: 847~850
- 9 Ikeda A, Ueguchi-Tanaka M, Sonoda Y et al. Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the *SLRI* gene, an ortholog of the height regulating gene *GAI/RGA/RHT/DS*. *Plant Cell*, 2001, 13: 999~1010
- 10 Lee S, Cheng H, Peng J et al. Gibberellin regulates *Arabidopsis* seed germination via *RGL2*, a *GAI/RGA*-like gene whose expression is up-regulated following imbibition. *Genes Dev*, 2002, 16: 646~658
- 11 Ogawa M, Kusano T, Sano H et al. Rice gibberellin-insensitive gene homolog, *OsGAI*, encodes a nuclear localized protein capable of gene activation at transcriptional level. *Gene*, 2002, 45: 21~29
- 12 Fleck B, Hardberd NP. Evidence that the *Arabidopsis* nuclear gibberellin signaling protein GAI is not destabilised by gibberellin. 2002, *Plant J*, 32: 935~947
- 13 Poething RS. Phase change and the regulation of shoot morphogenesis in plants. *Science*, 1990, 250: 923~930
- 14 Wen CK, Chang C. *Arabidopsis RGL1* encodes a negative regulator of gibberellin responses. *Plant Cell*, 2002, 14: 87~100
- 15 Silverstone AL, Jung HS, Sun TP et al. Repressor: Gibberellin-induced rapid reduction of RGA protein in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2001, 13: 1555~1566
- 16 Fu X, Richards DE, Ait-ali T et al. Gibberellin-mediated proteasome-dependent degradation of the barley DELLA protein SLN1 repressor. *Plant Cell*, 2002, 14: 3191~3200
- 17 Sasaki A, Itoh H, Gomi K et al. Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant. *Science*, 2003, 299: 1896~1898
- 18 Karen M, Stephen G. The *Arabidopsis SLEEPY1* gene encodes a putative F-box subunit of an SCF E3 ubiquitin ligase. *Plant Cell*, 2003, 15: 1120~1130
- 19 Evans MM, Poething RS. Gibberellins promote the vegetative phase change and reproductive maturity in maize. *Plant Physiol*, 1995, 108: 475~487
- 20 Huang S, Cerny RE, Ness LA et al. Transgenic studies on the involvement of cytokinin and gibberellin in male development. *Plant Physiol*, 2003, 131: 1270~1282
- 21 Gubler F, Kalla R, Jacobsen JV. Gibberellin-regulated expression of a *myb* gene in barley aleurone cells: evidence for Myb transactivation of a high-pI alpha-amylase gene promoter. *Plant Cell*, 1995, 7: 1879~1891
- 22 Gubler F, Raventos D, Jacobsen JV et al. Target genes and regulatory domains of the GAMYB transcriptional activator in cereal aleurone. *Plant J*, 1999, 17: 1~9
- 23 Gale MD, Worland AJ. The Chromosomal location of a major dwarfing gene from Norin 10 in new British semi-dwarfing wheat. *Heredity*, 1975, 35: 417~421
- 24 万平, 马正强, 刘大钧等. 小麦矮秆基因 *Rht3* 和赤霉素不敏感基因 *Gai3* 与  $\alpha$ -淀粉酶的表达. *南京农业大学学报*, 2000, 23 (2): 1~4