

可溶性淀粉合成酶与稻米淀粉精细结构关系的研究进展

刘鑫燕^{1,2}, 李娟¹, 刘雪菊¹, 张昌泉¹, 顾铭洪¹, 刘巧泉^{1*}

¹扬州大学农学院, 江苏省作物遗传生理重点实验室/粮食作物现代产业技术协同创新中心, 江苏扬州225009; ²南通大学生命科学学院, 江苏南通226019

摘要: 支链淀粉是稻米淀粉的最主要组成部分, 不同水稻品种间支链淀粉分子聚合度及分支链链长与分布有所不同, 从而影响了稻米的品质。本文简要回顾了稻米淀粉的结构及其主要合成酶类, 并以可溶性淀粉合成酶为重点, 综述了水稻中可溶性淀粉合成酶4个亚家族不同同工型在决定淀粉精细结构中的作用, 同时对相关基因的表达等方面也做了论述, 旨在为水稻淀粉合成调控及品质改良提供参考。

关键词: 水稻; 可溶性淀粉合成酶; 淀粉合成; 精细结构; 研究进展

Progress in the Relationship between Soluble Starch Synthases and Starch Fine Structure in Rice

LIU Xin-Yan^{1,2}, LI Juan¹, LIU Xue-Ju¹, ZHANG Chang-Quan¹, GU Ming-Hong¹, LIU Qiao-Quan^{1*}

¹Jiangsu Key Laboratory for Crop Genetics and Physiology, Co-Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops, Agricultural College of Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; ²College of Life Science, Nantong University, Nantong, Jiangsu 226019, China

Abstract: Amylopectin is the main component of rice endosperm starch. Among different rice cultivars, the fine structure of amylopectin is different, which causes the variation of the physicochemical properties of rice grains. In this paper, the rice starch structure as well as the key starch biosynthesis related enzymes is briefly introduced, and the recent progress of the relationship between soluble starch synthases and starch fine structure is reviewed.

Key words: *Oryza sativa*; soluble starch synthase; starch biosynthesis; fine structure; progress

种子胚乳部分是食用稻米的主体, 约占糙米重量的90%。而淀粉是稻米胚乳中最主要成分, 占稻米胚乳干重的90%及以上, 构成了人类粮食的主体部分。因此, 稻米淀粉的组成与结构与稻米食用品质、蒸煮加工品质、甚至产量都有着密切的联系, 同时也是决定其工业用途的最重要因素之一(Nakamura 2002; Sabelli和Larkins 2009)。本文介绍了稻米淀粉的组成与结构、淀粉合成过程中参与的关键酶, 重点综述了水稻可溶性淀粉合成酶四大亚家族不同同工型对淀粉精细结构如链长分布的影响, 同时对其基因表达等方面也做了详细论述。

1 稻米淀粉的组成与结构

不同植物来源的淀粉颗粒, 其大小、组成和精细结构等都有所不同, 这些因素影响了淀粉的理化性质和最终用途。Patindol等(2007)认为, 稻米中淀粉分子以淀粉颗粒的形式存在, 是目前已知谷物中颗粒最小的, 粒径约为3~8 μm , 其形状多

数呈不规则的多角形, 且棱角显著。就单个淀粉粒来说, 淀粉粒是一种半结晶颗粒, 从淀粉粒内到表面, 葡聚糖链呈辐射状分布, 并且这些链接9 nm一个周期形成结晶层(6 nm)和无定形层(3 nm)的交替片层。水稻淀粉颗粒是一种由两类典型的葡萄糖聚合体规则而有序地组合而成的复杂结构, 属复粒淀粉结构, 贮存于胚乳淀粉体中。根据其分子结构特征, 主要可以分为两类, 即直链淀粉(amylose)和支链淀粉(amylopectin)。水稻淀粉颗粒呈球形或椭圆形, 直径为7~39 μm , 其内包含有约20~60个小淀粉颗粒(Tester等 2004)。

收稿 2014-05-14 修定 2014-08-13

资助 教育部重点项目、江苏省杰出青年基金(BK2012010)、江苏省青蓝工程和优势学科项目、江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(CXZZ13_0904)和大学生学术科技创新基金(b13097)。

* 通讯作者(E-mail: qqliu@yzu.edu.cn; Tel: 0514-8799-6648)。

在天然的大米淀粉颗粒中,直链淀粉不能形成结晶,而是以单螺旋结构掺入支链淀粉分子形成的疏密相间的结晶区和无定形区间。淀粉粒的晶体结构实质上是支链淀粉外部的线性链以双螺旋结构存在于晶体的片层中(Buléon等1997)。直链淀粉在淀粉颗粒中的精确位置仍存在争议,一般认为它主要在无定形、非结晶区域以一种单螺旋或者随机缠绕的方式散布存在(Tester等2004)。淀粉晶体类型的不同致使淀粉结构间有着明显的差异,目前研究淀粉粒有序结构的方法主要有X-射线衍射技术(X-ray powder diffraction, XRD)、¹³C CP/MAS固体核磁共振技术(cross-polarization magic-angle spinning nuclear magnetic resonance, ¹³C CP/MAS NMR)、傅里叶变换红外光谱技术(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)和偏光显微镜技术(polarized light microscopy, PLM)(Wei等2010; Atichokudomchai等2004)。根据淀粉结晶峰的不同,将晶型分为A型、B型和C型3种类型。A型主要存在于谷物胚乳中,其特点是支链淀粉的侧链是短链,且分支点之间紧密。B型主要是块茎淀粉,如马铃薯,其特点是支链淀粉的侧链是长链,分支点之间相距较远。C型则主要是块根和豆类淀粉,既有A型又有B型特点。稻米淀粉颗粒的微结晶结构属于A型(Man等2013)。

淀粉颗粒的形成是由支链淀粉的半晶体特性和聚合度(degree of polymerization, DP)及 α -1,6糖苷键共同驱动,其中半结晶特性是由支链淀粉中的直线型链长所决定的(Myers等2000)。同其他类型淀粉一样,稻米淀粉颗粒是由支链淀粉分子以疏密相间的结晶区与无定形非结晶区组合而成,中间掺杂以螺旋结构存在的直链淀粉分子,直链淀粉和支链淀粉在淀粉粒中形成发散的各向异性和半结晶结构(Copeland等2009)。

稻米支链淀粉的各条链可分为主链(C链)、内链(B链)和外链(A链)。每个支链淀粉分子具有单一条C链,C链具有支链淀粉分子中唯一的还原端。B链具有一个或多个分支的葡聚糖链;B链可分B1、B2和B3链,是指分别贯穿1~3层簇结构的B链。A链没有分支,通过 α -1,6-糖苷键连接在B链上。

2 稻米淀粉合成的关键酶类

在水稻种子胚乳中,合成淀粉的最初原料来

自叶片光合作用合成的蔗糖,它通过长距离运输至胚乳细胞。在胞液中,蔗糖在蔗糖合成酶的作用下分解为果糖和UDP-葡萄糖,它们通过一系列生化反应形成1-磷酸葡萄糖,再在ADP葡萄糖焦磷酸化酶(ADP-glucose pyrophosphorylase, AGPP)的作用下形成ADP葡萄糖(ADP-Glc),它是进一步合成淀粉的共同底物。稻米淀粉主要以淀粉粒形式贮存于植物细胞中,其合成是一系列相关酶的作用结果。在淀粉的生物合成中涉及到四类关键性的酶,即AGPP、淀粉合成酶(starch synthase, SS)、淀粉分支酶(starch branching enzymes, SBE)和淀粉去分支酶(starch debranching enzymes, DBE)。SS按水溶性不同可分为两种,即淀粉粒结合淀粉合成酶(granule-bound starch synthase, GBSS)和可溶性淀粉合成酶(soluble starch synthase, SSS)(Jeon等2010)。GBSS由*Wx*基因编码,控制直链淀粉的合成,而SSS主要参与支链淀粉的合成(Pandey等2012)。稻米淀粉合成是由淀粉合成相关基因共同协作所完成。通过突变体的研究,前人对稻米淀粉合成相关酶与淀粉精细结构的关系有了一定的认识。

3 SSS在稻米淀粉结构形成中的作用

SSS是由多基因家族编码。根据氨基酸同源性,可将SSS分成SSSI、SSSII、SSSIII和SSSIV等4个亚家族,每一亚家族又可分为不同的同工型。水稻中共有8个SSS同工型,包括1个SSSI、3个SSSII(SSSII-1、SSSII-2和SSSII-3)、2个SSSIII(SSSIII-1和SSSIII-2)和2个SSSIV(SSSIV-1和SSSIV-2)(Fujita等2007)。这些酶共同催化转移可溶性的前体ADP-Glc至 α -1,4糖苷键还原末端,连接葡聚糖的前体以合成不溶性的葡聚糖多聚物支链淀粉和支链淀粉(Tetlow等2004)。根据SSS基因的表达模式,可将上述的酶分为三种类型:早期表达、后期表达及稳定表达。对水稻而言,SSSII-2和SSSIII-1在种子胚乳的早期表达,SSSII-3和SSSIII-2表达量在稻米的灌浆期达到最高,表现为后期表达(Hirose和Terao 2004)。因此,可推测,SSSII-3和SSSIII-2这两个基因在稻米的胚乳中对淀粉的合成起着重要的作用。

3.1 SSSI

SSSI是SSS四个亚家族中唯一没有同工型的酶

(Pandey等2012)。Tanaka等(1995)成功地从水稻中分离了SSSI基因, 该基因位于第6染色体上, 与Wx基因距离仅5 cM。序列分析表明, SSSI基因包含有15个外显子和14个内含子。利用阴离子交换层析分离技术从植物中提取的可溶性淀粉合成酶活性存在两个峰, 峰I的SSS能在较高柠檬酸盐存在时催化无引物的寡葡聚糖在体内合成较短的支链淀粉分支, 峰II的SSS在有引物时才具有催化活性, 主要催化支链淀粉中等长度支链的形成(Tanaka和Akazawa 1971)。以后的研究证实峰I主要是SSSI, 峰II主要是SSSIII, SSSI的活性高于SSSIII, 占可溶性淀粉合成酶总活性的70% (Nakamura等2005)。Boyer和Preiss (1981)在其他作物如玉米中也得到了证实。不同植物中SSSI表达部位有所不同, 水稻SSSI基因在叶片和未成熟种子中均有表达。马铃薯和大芋头中的SSSI基因主要在叶片中表达, 块茎中表达量较小(Marshall等1996; Kossmann等1999); 玉米SSSI基因在发育早期的籽粒胚乳中特异表达(Cao等2000)。

SSSI对淀粉链长的分布主要是负责短链的合成。在玉米中, 研究发现SSSI主要参与 $6 < DP < 15$ 的短链合成(Cao等2000)。Commuri和Keeling (2001)通过体外实验发现, 玉米胚乳淀粉中的SSSI偏好于最短的支链作为底物, 将其底物增加葡聚糖的链长, 发现SSSI的催化活性会显著下降, 且发现大部分ADP-Glc都被催化成了短链($DP < 10$)。这说明了A链和B链的延伸主要由SSSI控制。在水稻中, Fujita等(2006)通过逆转座子Tos17插入的方法获得*sssI*突变体, 研究证明该突变体胚乳淀粉颗粒的多样性以及直链淀粉含量等均未受到影响, 而支链淀粉中聚合度为 $6 < DP < 7$ 和 $16 < DP < 19$ 的链增多, $8 < DP < 12$ 的链减少, 表明SSSI的功能可能是将 $6 < DP < 7$ 的链延伸成 $8 < DP < 12$ 的链。

水稻品种中, 支链淀粉的结构分为L型和S型(Umemoto等1999; Nakamura等2002)。S型支链淀粉主要存在于粳稻中, 相对于L型支链淀粉而言, 含有较多的短链($DP \leq 10$)。大多数的籼稻中是L型支链淀粉。B2链和长链($DP \geq 25$)两种类型的淀粉中, 没有显著差异。短链($DP \leq 10$)与中短链($DP \leq 24$)的比例与淀粉的糊化温度成负相关。其原因是在淀粉晶体薄层相邻的链间, 粳稻中支链

淀粉含有较短的双螺旋, 进而淀粉表现为较低的糊化温度(Nakamura等2002)。SSSI对支链淀粉结构的影响在籼稻和粳稻中是有差异的, Takemoto-Kuno等(2006)研究发现, SSSI酶活性在不同的亚种间表达有显著差异, Native-PAGE结果显示籼稻品种‘Kasalath’中SSSI的活性只有粳稻品种‘日本晴’的六分之一甚至更少。利用高效阴离子交换色谱-脉冲安培电化学检测器(high performance anion exchange chromatography-pulsed amperometric detector, HPAEC-PAD)分析籼稻‘Kasalath’和粳稻‘日本晴’的F₃和F₄的群体, 认为SSSI基因主要负责淀粉支链结构中短链($DP \leq 12$)的合成, 等位基因间的变异导致籼粳稻之间支链淀粉结构产生差异。

3.2 SSSII

在水稻中克隆到3个SSSII编码基因, 根据其在GenBank中登录顺序分别被命名为SSSII-1、SSSII-2和SSSII-3, 分别位于水稻的第10、2和6号染色体上。SSSII-3又称为SSSIIa或ALK, 在水稻胚乳中特异表达; SSSII-2又称为SSSIIb, 主要在叶片中表达, 推测可能与叶片临时性淀粉的合成相关; SSSII-1又称为SSSIIc, 主要在胚乳中低丰度表达。三个水稻SSSII同工型相互之间的氨基酸同源性为51%~64%, 与其他植物SSSII蛋白有52%~73%的同源性(Hirose和Terao 2004)。Li等(2013)利用荧光定量PCR技术对SSSII-3进行了系统的研究, 表明SSSII-3主要在发育的种子中表达, 其他的组织器官中也有一定的表达。植物启动子作为重要的转录调控元件控制着基因在特定组织、发育阶段及不同环境条件下表达。将SSSII-3启动子与GUS基因融合, GUS瞬时表达和荧光检测分析表明, SSSII-3控制着目的基因使其在胚乳中特异表达, 推测有可能因为存在AACA和GCN4等基序。

Umemoto等(2002)研究证明, SSSII-3基因的等位差异是导致粳稻‘日本晴’和籼稻‘Kasalath’胚乳支链淀粉链长分布差异的最主要原因。利用粳稻日本晴和籼稻‘Kasalath’来源的杂交后代群体, 将控制糊化温度(GT)差异的Alk基因、gel(t)基因、控制支链淀粉长分布的acl(t)基因等都定位于与SSSII-3相同的位点。同时还发现SSSII-3等位基因的变异导致了水稻品种间支链结构的改变; 进一步研究发现SSSII-3主要负责延伸较短支链(A+B1),

将较短支链(DP \leq 12)延长合成支链中等长度的分支(12 \leq DP \leq 24)。高振宇等(2003)利用图位克隆的方法,分离克隆了水稻GT主效基因(*ALK*),序列分析表明其编码*SSSII-3*,*SSSII-3*在籼稻中的活性高于粳稻。籼稻和粳稻中,在*SSSII-3*位点发现了4个可变氨基酸。粳稻中Asp-88和Ser-604分别被籼稻中Glu-88和Gly-604所代替,粳稻中Met-737和Phe-781分别被籼稻中Val-737和Leu-781所代替。*SSSII-3*主要将短链A和B1延伸合成支链淀粉中等长度的长链B,导致了*SSSII-3*酶活性的高低,使支链淀粉的结构成为L-型或S-型(Nakamura等2002)。Yu等(2011)分析了*SSSII-3*的非同义突变与稻米品质之间的关系,发现*SSSII-3*的3个突变位点引起了*SSSII-3*酶活性的差异,最终影响了稻米的蒸煮品质如淀粉的消碱值。

水稻中缺失*SSSII-3*后对稻米品质有着较明显的影响,糊化温度明显降低。在豌豆胚中,*SSSII-3*的缺失导致支链淀粉中间长度的链减少,短链增加,表明*SSSII*在中间长度链的合成中有专一作用,而其他同工型酶不能互补这种缺失作用(Craig等1998)。转基因和突变体的研究都表明*SSSII*主要负责延伸较短支链,合成支链淀粉中等长度的分支,其活性的缺失会导致淀粉积累减少或支链淀粉结构或淀粉粒结构的改变,其功能无法被其他*SSS*同工酶所代替(Lloyd等1999; Denyer和Smith 1992)。

3.3 SSSIII

水稻和玉米发育的胚乳中,*SSSIII*活性是继*SSSI*后的第二大类淀粉合成酶。植物*SSSIII*由15个内含子和16个外显子组成,后13个外显子的长度在不同物种中都相同,第3个外显子长度变化很大,是*SSSIII*基因的高度可变区。*SSSIII*基因突变可引起玉米暗胚乳表型,又称为*dull*突变体,因此*SSSIII*基因又可被称为*Dull (Dul)*基因,*Dul*在玉米胚乳中特异表达(Gao等1998)。拟南芥的*SSSIII*突变可改变叶中的淀粉结构,使支链中的长链增加,并带来更高的磷含量,且总*SSS*酶活增强,由此推测*SSSIII*在拟南芥的淀粉合成中发挥负调控的作用(Zhang等2008)。Abel等(1996)利用反义RNA技术转化马铃薯,使*SSSIII*减少,引起了淀粉结构的改变,淀粉粒形态发生巨大变化,共价结合的磷酸基增多。

已在水稻中克隆到2个*SSSIII*基因,分别命名为*SSSIIIa*(也称*SSSIII-2*)和*SSSIIIb*(也称*SSSIII-1*),分别位于水稻的第3和8号染色体上。其中*SSSIII-2*主要在叶片和根中表达,而*SSSIII-1*则主要在胚乳中表达(Hirose和Terao 2004)。Fujita等(2007)通过水稻突变体研究,*SSSIII-2*缺失后,稻米品质变化明显。直链淀粉含量有一定的增加,发现*SSSIII-2*缺失的突变体中参与支链淀粉链长延伸的DP \geq 30的B2和B4链和支链淀粉的分子量与野生型相比较,分别下降了约60%和70%。在水稻*SSSIII-2*突变体中,*SSSIII-2*酶活性的缺失导致了支链淀粉长链DP $>$ 30链缺失,短链6 $<$ DP $<$ 9、16 $<$ DP $<$ 19减少,10 $<$ DP $<$ 15、20 $<$ DP $<$ 25链增加,这意味着*SSSIII-2*负责支链淀粉的长链合成。另一方面,也影响了*SSSI*和*GBSSI*的转录水平的提高。

为研究*SSS*之间的相互作用,Zhang等(2011)等通过RNAi技术抑制了*SSSII-3*及*SSSIII-2*得到了转基因系,后聚合产生了*SSSII-3/SSSIII-2*双抑制株系,其谷粒外观表现较多的垩白,直链淀粉的含量及糊化温度比未转化亲本要高,而粘滞性下降。对突变体的支链淀粉结构分析,发现谷粒中短链(5 $<$ DP $<$ 6)和长链(12 $<$ DP $<$ 23)下降,而中等链长的分支(7 $<$ DP $<$ 11)增加。这暗示着*SSSII-3*和*SSSIII-2*在淀粉合成中相互影响。在马铃薯中,当*SSSII*或*SSSIII*单一基因反义抑制植株与*SSSII*和*SSSIII*同时被抑制的转基因植株相比较时,可发现一种*SSS*对支链淀粉合成的影响明显依赖于另一种*SSS*的活性(Lloyd等1999)。这种协同效应说明植物体内特定一种*SSS*同工酶对淀粉合成的贡献,除与它自身的特性有关,可能还与其底物的结构有关,即与其同工酶乃至整个淀粉合成网络中其他各类酶(如AGPP、GBSS、SBE、DBE等)的活性与由此所合成的葡聚糖的结构有关。此问题的提出使以后的研究更具复杂性和挑战性。

3.4 SSSIV

目前为止,人们对谷物中*SSSIV*同工型对葡聚糖链长度的作用知之甚少。Hirose和Terao(2004)在水稻中发现*SSSIV*有二种同工型*SSSIV-1*和*SSSIV-2*,且它们在水稻生长的整个阶段表达相对稳定。在谷类植物中,还没有*SSSIV*的突变体来研究其功能。前人预测*SSSIV*蛋白和其他可溶性淀粉

合成酶在C-末端(催化结构域和淀粉结合结构域)具有高度相似性,而N-末端的差异性比较大(Zhang等2008)。Roldan等(2007)发现拟南芥中SSSIV的缺失并未对淀粉结构及其组成造成影响,但对叶绿体中淀粉颗粒数目及大小的影响很大,表明SSSIV这类酶可能与淀粉颗粒的合成有关且在控制淀粉颗粒的数目上起着特定作用。因此,对于SSSIV可能使人们对淀粉颗粒的合成建立一个新的认识。另外,抑制SSSIV并不能完全消除叶绿体合成淀粉颗粒。Szydlowski等(2009)利用麦芽-丙糖为引物,在体外实验中发现SSSIV表现出很高的淀粉合成酶活性。今后通过SSSIV突变体的鉴定及特性的研究将有助于人们对谷物淀粉合成中SSSIV同工型的功能的认识。

4 小结

前人对水稻等禾谷类作物中淀粉合成酶类的研究已取得了长足的进展,主要可归结为:(1)10种同工型酶的种类及相关基因的表达调控研究有了新的突破;(2)所有SSS基因都已基本被定位和克隆;(3)利用突变体、转基因技术及体外表达外源基因等手段对相关基因的功能进行了研究,结合高效阴离子交换色谱等仪器对稻米淀粉的链长分布进行测定,对SSS与淀粉精细结构关系有了进一步的认识。

有关淀粉合成酶类的研究仍有许多问题有待探究。例如,各同工酶之间如何协作以及对淀粉结构如何调控还未完全清楚,各个同工酶基因转录后调控对淀粉合成影响的研究甚少。目前,已发现部分转录因子对淀粉合成有调控作用。最近,Wang等(2013)发现一种亮氨酸拉链转录因子OsB-ZIP58可调控稻米淀粉的合成。该转录因子的突变体直接调节6种淀粉合成基因的表达;突变体和野生型相比总淀粉和直链淀粉含量均下降,同时发现淀粉的表型及链长分布也发生了变化,淀粉的短链聚合度升高,而中长链聚合度降低。相信随着研究的深入,对稻米淀粉合成关键调控酶的作用机理将会更加清晰,为改良稻米淀粉品质育种和栽培提供理论依据。

参考文献

高振宇,曾大力,崔霞,周奕华,颜美仙,黄大年,李家洋,钱前(2003).水稻稻米GT控制基因 *ALK* 的图位克隆及其序列分析.

中国科学(C辑),33(6):481~487

- Abel GJ, Springer F, Willmitzer L, Kossmann J (1996). Cloning and function analysis of a cDNA encoding a novel starch synthase from potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant J*, 10 (6): 981~991
- Atichokudomchai N, Varavinit S, Chinachoti P (2004). A study of ordered structure in acid-modified tapioca starch by ¹³C CP/MAS solid-state NMR. *Carbohydr Polym*, 58: 383~389
- Boyer CD, Preiss J (1981). Evidence for independent genetic control of the multiple forms of maize endosperm branching enzymes and starch synthases. *Plant Physiol*, 67 (6): 1141~1145
- Bul on A1, Gallant DJ, Bouchet B, Mouille G, D'Hulst C, Kossmann J, Ball S (1997). Starches from A to C. *Chlamydomonas reinhardtii* as a model microbial system to investigate the biosynthesis of the plant amylopectin crystal. *Plant Physiol*, 115 (3): 949~957
- Cao HP, James MG, Myers AM (2000). Purification and characterization of soluble starch synthases from maize endosperm. *Arch Biochem Biophys*, 373 (1): 135~146
- Commuri PD, Keeling PL (2001). Chain-length specificities of maize starch synthase I enzyme: studies of glucan affinity and catalytic properties. *Plant J*, 25 (5): 475~486
- Copeland L, Blazek J, Salman H, Tang MC (2009). Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloids*, 23: 1527~1534
- Craig J, Lloyd JR, Tomlinson K, Barber L, Edwards A, Wang TL, Martin C, Hedley CL, Smith AM (1998). Mutations in the gene encoding starch synthase II profoundly alter amylopectin structure in pea embryos. *Plant Cell*, 10 (3): 413~426
- Denyer K, Smith AM (1992). The purification and characterisation of the two forms of soluble starch synthase from developing pea embryos. *Planta*, 186 (4): 609~617
- Fujita N, Yoshida M, Asakura N, Ohdan T, Miyao A, Hirochika H, Nakamura Y (2006). Function and characterization of starch synthase I using mutants in rice. *Plant Physiol*, 140 (3): 1070~1084
- Fujita N, Yoshida M, Kondo T, Saito K, Utsumi Y, Tokunaga T, Nishi A, Satoh H, Park JH, Jane JL et al (2007). Characterization of SSIIIa-deficient mutants of rice: the function of SSIIIa and pleiotropic effects by SSIIIa deficiency in the rice endosperm. *Plant Physiol*, 144 (4): 2009~2023
- Gao M, Wanat J, Stinard PS, James MG, Myers AM (1998). Characterization of *dull1*, a maize gene coding for a novel starch synthase. *Plant Cell*, 10 (3): 399~412
- Hirose T, Terao T (2004). A comprehensive expression analysis of the starch synthase gene family in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta*, 220 (1): 9~16
- Jeon JS, Ryoo N, Hahn TR, Walia H, Nakamura Y (2010). Starch biosynthesis in cereal endosperm. *Plant Physiol Biochem*, 48 (6): 383~392
- Kossmann J, Abel GJ, Springer F, Lloyd JR, Willmitzer L (1999). Cloning and functional analysis of a cDNA encoding a starch synthase from potato (*Solanum tuberosum* L.) that is predominantly expressed in leaf tissue. *Planta*, 208 (4): 503~511
- Li QF, Samuel SS, Liu QQ (2013). Characterization of the spatial and temporal expression of the *OsSSII-3* gene encoding a key soluble starch synthase in rice. *J Sci Food Agric*, 93 (13): 3184~3190
- Lloyd J, Landschutze V, Kossmann J (1999). Simultaneous antisense

- inhibition of two starch-synthase isoforms in potato tubers leads to accumulation of grossly modified amylopectin. *Biochem J*, 338: 515~521
- Man JM, Yang Y, Huang J, Zhang CQ, Chen YF, Wang YP, Gu MH, Liu QQ, Wei CX (2013). Effect of simultaneous inhibition of starch branching enzymes I and IIb on the crystalline structure of rice starches with different amylose contents. *J Agr Food Chem*, 61: 9930~9937
- Marshall J, Sidebottom C, Debet M, Martin C, Smith AM, Edwards A (1996). Identification of the major starch synthase in the soluble fraction of potato tubers. *Plant Cell*, 8 (7): 1121~1135
- Myers AM, Morell MK, James MG, Ball SG (2000). Recent progress toward understanding the biosynthesis of the amylopectin crystal. *Plant Physiol*, 122 (4): 989~998
- Nakamura Y (2002). Towards a better understanding of the metabolic system for amylopectin biosynthesis in plants: rice endosperm as a model tissue. *Plant Cell Physiol*, 43 (7): 718~725
- Nakamura Y, Sakurai A, Inaba Y, Kimura K, Iwasawa N, Nagamine T (2002). The fine structure of amylopectin in endosperm from Asian cultivated rice can be largely classified into two classes. *Starch*, 54 (3-4): 117~131
- Nakamura Y, Francisco PB, Hosaka Y, Sato A, Sawada T, Kubo A, Fujita N (2005). Essential amino acids of starch synthase IIa differentiate amylopectin structure and starch quality between japonica and indica rice varieties. *Plant Mol Biol*, 58 (2): 213~227
- Pandey MK, Rani NS, Madhav MS, Sundaram RM, Varaprasad GS, Sivaranjani AK, Bohra A, Kumar GR, Kumar A (2012). Different isoforms of starch-synthesizing enzymes controlling amylose and amylopectin content in rice (*Oryza sativa* L.). *Biotechnol Adv*, 30: 1697~1706
- Patindol JA, Gonzalez BC, Wang YJ, McClung AM (2007). Starch fine structure and physicochemical properties of specialty rice for canning. *J Cereal Sci*, 45: 209~218
- Roldan I, Wattedled F, Mercedes Lucas M, Delvallé D, Planchot V, Jiménez S, Pérez R, Ball S, D'Hulst C, Mérida A (2007). The phenotype of soluble starch synthase IV defective mutants of *Arabidopsis thaliana* suggests a novel function of elongation enzymes in the control of starch granule formation. *Plant J*, 49 (3): 492~504
- Sabelli PA, Larkins BA (2009). The development of endosperm in grasses. *Plant Physiol*, 149 (1): 14~26
- Szydlowski N, Ragel P, Raynaud S, Lucas MM, Roldan I, Montero M, Munoz FJ, Ovecka M, Bahaji A, Planchot V et al (2009). Starch granule initiation in *Arabidopsis* requires the presence of either class IV or class III starch synthases. *Plant Cell*, 21 (8): 2443~2457
- Takemoto-Kuno Y, Suzuki K, Nakamura S, Satoh H, Ohtsubo K (2006). Soluble starch synthase I effects differences in amylopectin structure between *indica* and *japonica* rice varieties. *J Agric Food Chem*, 54 (24): 9234~9240
- Tanaka KI, Ohnishi S, Kishimoto N, Kawasaki T, Baba T (1995). Structure, organization, and chromosomal location of the gene encoding a form of rice soluble starch synthase. *Plant Physiol*, 108 (2): 677~683
- Tanaka Y, Akazawa T (1971). Enzymic mechanism of starch synthesis in ripening rice grains VI. Isozymes of starch synthetase. *Plant Cell Physiol*, 12 (4): 493~505
- Tester RF, Karkalas J, Qi X (2004). Starch-composition, fine structure and architecture. *J Cereal Sci*, 39: 151~165
- Tetlow IJ, Morell MK, Emes MJ (2004). Recent developments in understanding the regulation of starch metabolism in higher plants. *J Exp Bot*, 55 (406): 2131~2145
- Umemoto T, Terashima K, Nakamura Y, Satoh H (1999). Differences in amylopectin structure between two rice varieties in relation to the effects of temperature during grain-filling. *Starch*, 51 (2-3): 58~62
- Umemoto T, Yano M, Satoh H, Shomura A, Nakamura Y (2002). Mapping of a gene responsible for the difference in amylopectin structure between japonica-type and indica-type rice varieties. *Theor Appl Genet*, 104 (1): 1~8
- Wang JC, Xu H, Zhu Y, Liu QQ, Cai XL (2013). OsbZIP58, a basic leucine zipper transcription factor, regulates starch biosynthesis in rice endosperm. *J Exp Bot*, 64 (11): 3453~3466
- Wei CX, Qin FL, Zhu LJ, Zhou WD, Chen YF, Wang YP, GU MH, Liu QQ (2010). Microstructure and ultrastructure of high-amylose rice resistant starch granules modified by antisense RNA inhibition of starch branching enzyme. *J Agr Food Chem*, 58 (2): 1224~1232
- Yu G, Olsen KM, Schaal BA (2011). Association between nonsynonymous mutations of starch synthase IIa and starch quality in rice (*Oryza sativa*). *New Phytol*, 189 (2): 593~601
- Zhang GY, Cheng ZJ, Zhang X, Guo XP, Su N, Jiang L, Mao L, Wan JM (2011). Double repression of soluble starch synthase genes *SSIIa* and *SSIIIa* in rice (*Oryza sativa* L.) uncovers interactive effects on the physicochemical properties of starch. *Genome*, 54: 448~459
- Zhang X, Szydlowski N, Delvallé D, D'Hulst C, James MG, Myers AM (2008). Overlapping functions of the starch synthases SSII and SSIII in amylopectin biosynthesis in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol*, 8 (1): 96~114