

## 植物谷胱甘肽转移酶在类黄酮累积中的作用

张亚真, 张芬, 王丽鸳, 韦康\*, 成浩\*

中国农业科学院茶叶研究所, 国家茶树改良中心, 农业部茶树生物学与资源利用重点实验室, 杭州310008

**摘要:** 植物谷胱甘肽转移酶(GSTs)是一类广泛存在于植物中的多功能蛋白, 参与调节植物次生代谢、解毒和防御等。深入研究GSTs在类黄酮累积中的作用, 对于揭示植物类黄酮累积的调控机制具有重要意义。本文主要从GSTs的分类出发, 对近年来不同类别GSTs在类黄酮累积中的作用进行了综述。

**关键词:** 植物; 谷胱甘肽转移酶; 类黄酮; 转运

## Plant Glutathione S-Transferases: Roles in Flavonoid Accumulation

ZHANG Ya-Zhen, ZHANG Fen, WANG Li-Yuan, WEI Kang\*, CHENG Hao\*

Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, National Center for Tea Improvement, Key Laboratory of Tea Biology and Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Hangzhou 310008, China

**Abstract:** Glutathione S-transferases (GSTs) belong to a family of abundant and multifunctional enzymes participated in the regulation of secondary metabolism, detoxification and defenses. Extensive analysis of the roles of plant GSTs in flavonoid accumulation will provide deeper insights into the regulatory system of plant flavonoid. This paper reviews the recent advances in different GSTs involved in flavonoid accumulation from the point of view of classification and functional analysis, which will promote a better understanding of the underlying mechanism.

**Key words:** plant; glutathione S-transferases; flavonoids; transportation

类黄酮是植物中一类重要的次生代谢产物, 由于其较强的抗氧化特性, 在植物抵御非生物及生物胁迫中发挥重要的作用(谢焯等2013)。此外, 在人类健康方面, 类黄酮也具有抗菌、抗病毒、抗骨质疏松、抗肿瘤等多种功效(甘蓓和杨红玉2008)。自然界中存在的类黄酮有5 000多种, 根据结构差异, 类黄酮主要分为黄酮醇、黄酮、黄烷酮、黄烷醇、花青素和原花青素六大类(舒波等2015)。目前, 类黄酮合成途径已基本清楚, 但对于类黄酮合成后的转运及累积机制研究相对较少。近几年的研究表明, 类黄酮的转运主要有3种类型: 质子依赖性转运(Nozue等1997)、ABC (ATP-binding cassette)型转运体(Yazaki 2005)和MATE (multi-drug and toxin extrusion)型转运体(Debeaujon等2001; Zhao等2011)。其中, ABC型转运体和MATE型转运体在类黄酮中的累积作用都需要谷胱甘肽转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)的参与(Zhao和Dixon 2009; Petrusa等2013), 说明GSTs是植物类黄酮累积的关键酶。本文在现有研究基础上, 对不同类别的GSTs在类黄酮累积中的作用进

行了总结, 旨在为深入了解类黄酮累积机制提供参考及研究基础。

### 1 GSTs概述

GSTs是一类普遍存在的具有多种生物学功能的超家族二聚体蛋白酶, 主要存在于细胞质内, 少数分布在叶绿体、细胞核中(Dixon等2010), 在植物光合作用细胞中占可溶性蛋白的1% (Hayes和Pulford 1995)。植物GSTs最先于1970年在玉米(*Zea mays*)中发现, 能够催化还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH;  $\gamma$ -glu-cys-gly)与氯-S-三嗪阿特拉津结合, 使玉米免受除草剂毒害(Shimabukuro等1970)。自此, 在不同植物中不断有新的GSTs被发现。如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)发现54个GSTs

收稿 2015-08-04 修定 2015-10-23

资助 现代农业(茶叶)产业技术体系(CARS-23)、国家自然科学基金项目(31470396)、浙江省自然科学基金项目(LY14C020001)。

\* 共同通讯作者(E-mail: weikang@tricaas.com, Tel: 0571-86650575; E-mail: chenghao@tricaas.com, Tel: 0571-86653169)。

基因家族成员,大豆(*Glycine max*)中发现26个,玉米42个(McGonigle等2000)。目前,根据蛋白同源性和基因组织结构,植物GSTs可被分为8类,包括7类可溶性GSTs,即phi (GSTF)、tau (GSTU)、zeta (GSTZ)、theta (GSTT)、lambda (GSTL)、脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, DHAR)、四氯代氢醌脱卤素酶(tetrachlorohydroquinone dehalogenase, TCHQD),其中GSTF型和GSTU是植物中特有的两类GST,种类也最多。第八类为微粒体GST,虽与其他GSTs序列差异大,但同样具有依赖于GSH的酶活性,属于MAPEG (membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism)家族(Mohsenzadeh等2011)。

虽然GSTs之间的氨基酸序列相似性较低,但它们的蛋白质二级结构和高级结构却具有高度的相似性(陈秀华等2013)。植物中的GSTF、GSTU、GSTZ、GSTT是由约25 kDa的亚基组成的同源或异源二聚体,每个亚基一般都具有两个功能域:一是位于N端的GSH结合位点,即G位点,该区域由高度保守的氨基酸组成,且有一个丝氨酸(Ser)残基活性位点;二是位于C端的结合疏水性底物的位点,即H位点,该区域的结构可塑性较大,决定了GSTs底物的多样性。两个结构域之间是由5~10个氨基酸残基组成的可变连接区(胡廷章等2007)。GSTL和DHAR由单体组成,活性位点为半胱氨酸(Cys)残基。TCHQD结构与其他GST亚家族有较大差异,可能也具有Ser残基活性位点(Basantani和Srivastava 2007)。

GSTs的蛋白结构决定了功能的多样性。其中,最为重要的是解毒功能,它可催化GSH与毒性异源物质或体内有毒的次生代谢产物结合,促进此类物质的代谢、区域化、隔离或清除(江董丽等2013)。其次,GSTs可与内源性代谢物质如类黄酮结合,参与这些物质在液泡中的积累(Basantani和Srivastava 2007)。此外,GSTs还可参与植物体内激素调节(Bilang和Sturm 1995; Dixon等2008)、细胞信号调节(Loyall等2000)和细胞凋亡(Kampranis等2000)等过程。

不同类别的GSTs功能存在一定的差异。根据近年来对模式植物拟南芥GSTs的研究发现,不同GSTs家族的亚细胞定位及功能具有一定的特性。

如GSTF定位于细胞质和叶绿体,与类黄酮转运有关(Dixon等2002b); GSTT定位于质体和细胞核,是GSH氧化物酶,具有解除羟基过氧化物毒性的功能,参与氧化胁迫反应(Dixon和Edwards 2009); GSTZ定位于细胞质,是依赖于GSH的异构化酶,与酪氨酸代谢相关(Reumann等2009); DHAR也定位于细胞质和叶绿体中,除具有巯基转移酶活性外,还参与抗坏血酸循环(Dixon等2002a; Basantani和Srivastava 2007)。

## 2 不同类别GSTs在类黄酮累积中的作用

### 2.1 GSTU

*Bronze2 (Bz2)*基因是最早在玉米中发现的与花青素转运有关的GST,编码GSTU。在*Bz2*缺失突变体中检测到花青素累积在细胞质中,而没有被转运至液泡,证明*Bz2*基因编码的GSTU参与花青素累积。进一步通过钒酸盐(液泡膜上谷胱甘肽泵的抑制剂)处理,发现液泡中花青素的累积量减少。因此,Marrs等(1995)认为*Bz2*编码的GSTU参与花青素累积和GST解毒的作用机制相似,毒性物质与花青素均先与谷胱甘肽形成复合物,再被转运至液泡。随后,Alfenito等(1998)进一步完善了这一作用机制。*Bz2*编码的GSTU催化GSH与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷(cyanidin-3-*O*-glycoside, C3G)共价结合形成复合物后,被液泡膜上的MRP (multi-drug resistance-associated protein, GS-X pump, 谷胱甘肽S交联结合泵,需Mg-ATP参与)识别并跨膜转运至液泡内。

大豆中*GmGST26A*可弥补*Bz2*功能的缺失,说明与*Bz2*功能相似,*GmGST26A*也参与了液泡中花青素的累积,转运效率低于*Bz2* (Alfenito等1998; Li等1997)。从葡萄(*Vitis vinifera*)细胞悬浮液中分离出的*VvGST1 (GSTU)*和*VvGST4 (GSTF)*也可以弥补*Bz2*基因缺失,使花青素正常转运至液泡中,因此认为*VvGST1*和*VvGST4*参与花青素的转运,与花青素转运有关GST的序列比对后发现,它们的氨基酸序列在G位点与L位点(ligand-binding site)具有很高的保守性(Conn等2008)。拟南芥中*AtGSTU17 (AtGSTU17)*也与花青素累积有关。在红外光照射下,当缺失*AtGSTU17*或光敏色素A基因(*phyA*)时,花青素含量均下降,表明*AtGSTU17*与*phyA*共同调节花青素累积,而且*AtGSTU17*具有谷胱甘肽酶催

化活性, 可通过影响植物体内谷胱甘肽库的平衡来调节拟南芥幼苗的生长发育(Jiang等2010)。

在现有研究中, 已发现的与类黄酮累积有关的GSTU都参与了花青素的调节, 其他类黄酮成分还未发现。GSTU使花青素谷胱甘肽化, 进而被膜上的MRP识别并转运至液泡内。此外, GSTU也可作为信号分子, 间接参与类黄酮累积(Loyall等2000)。

## 2.2 GSTF

矮牵牛(*Petunia hybrida*)的*PhAn9*基因是继*Bz2*之后发现的与花青素转运有关的GST, 编码GSTF。虽然*An9*与*Bz2*编码的氨基酸序列相似度仅有12%, 但它们却能够相互弥补各自的突变体, 表明*An9*编码的GSTF也可转运花青素, 且两者的作用机制相似(Alfenito等1998)。但Mueller等(2000)认为*An9*无酶催化活性, 不与GSH形成复合物, 而是作为配体蛋白, 直接与花青素结合, 将其转运至液泡内。

*Bz2*和*An9*基因功能的发现, 为以后验证有关GST在类黄酮累积中的作用提供了便利。如*Transparent Testa 19 (TT19)*编码的GSTF12在类黄酮累积中的作用。*An9*基因的表达可弥补*TT19*突变体转运花青素功能的缺失, 但不能弥补原花青素的累积, 由此表明*TT19*不仅参与了花青素的转运, 还参与了原花青素的累积。与*An9*参与花青素运输机制相似, 类黄酮前体物质在内质网中合成后, 与GSTF12结合并运输至液泡膜, 被膜上的特异运输蛋白识别后转运并累积在液泡, 不同的类黄酮成分由膜上不同的运输蛋白特异性识别, 如花青素前体C3G被MRP识别, 原花青素前体被*Transparent Testa 12 (TT12)*识别(Kitamura等2004)。进一步研究表明, *TT19*与矢车菊素或C3G结合后, 先经糖基化或酰化修饰, 提高花青素的水溶性和稳定性, 再由液泡膜上的特异运输蛋白识别, 由此, 花青素便从转运蛋白*TT19*上释放, 并最终累积在液泡中。同时, *TT19*也开始了下一轮的转运, 如此循环往复, 实现了类黄酮从合成部位到液泡之间的运输(Sun等2012; 谢焯等2013)。Wangwattana等(2008)的研究也表明*TT19*编码的GSTF12在花青素累积中起主导作用。

拟南芥中GSTF2 (AtGSTF2)可与类黄酮共定

位到质膜, 具有两个不同的结合位点, 既可与槲皮素和山柰酚结合, 也与生长素结合, 且在其中一个结合位点上山柰酚和吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)之间存在竞争。由于未检测到GSH与类黄酮复合物, 因此认为AtGSTF2参与类黄酮的转运机制与结合生长素的运输机制相似, 即不具有酶催化活性, 而是直接作为配体蛋白与生长素、乙烯和类黄酮物质结合, 参与调节生长素和类黄酮在植物体内的分布和累积(Smith等2003)。后续研究也进一步证明了AtGSTF2和AtGSTF6可作为配体蛋白, 与槲皮苷结合, 参与植物抗胁迫反应(Dixon等2011)。

紫苏(*Perilla frutescens*)中*PfGST1*基因的表达量与不同组织中花青素的累积量一致, 它可以弥补拟南芥突变体中*TT19*基因功能的缺失, 使花青素累积(Yamazaki等2008); 瓜叶菊(*Senecio cruentus*)中*ScGST3*与*PfGST1*的表达模式相同, 在花青素含量高的组织中高度表达, 而不含或含较少花青素的组织不表达或不明显, 且其编码的氨基酸与花青素累积相关的GST亲缘关系较近, 推测与花青素转运和累积相关(金雪花等2013)。康乃馨(*Dianthus caryophyllus*)中*DcGSTF2*在花青素合成最旺盛时期高度表达, 若*DcGSTF2*过量表达, 则会导致花瓣颜色加深(Sasaki等2012); 仙客来(*Cyclamen persicum*)中*CkmGST3*与*DcGSTF2*的表达模式相同, 在花发育早期高度表达, 而在花瓣完全着色后表达量较低, 也可弥补拟南芥突变体中*TT19*基因功能的缺失, 它编码的氨基酸与花青素累积相关的GST, 尤其是*PhAn9*亲缘关系较近, 说明也参与了花青素累积(Kitamura等2012)。

Cummins等(2003)发现小麦(*Triticum aestivum*)中也存在结合类黄酮的GST。TaGSTF1和TaGSTF6结合GST的模式底物——1-氯-2,4-二硝基苯(1-chloro-2,4-dinitrobenzene, CDNB)的活性被类黄酮, 尤其是异甘草素明显地抑制, 且TaGSTF1的抑制特点与*PhAn9*的一致, 表明TaGSTF1在小麦中也可以作为类黄酮结合蛋白, 参与植物体内次生代谢产物的调节; TaGSTF6结合CDNB的活性可被部分类黄酮物质抑制, 但却对矢车菊素葡萄糖苷的抑制作用不敏感, 因此TaGSTF6是否转运类黄酮物质还有待进一步研究。禾本科杂草*Alope-*



*curus myosuroides*中AmGSTF1可与类黄酮物质如山柰酚和花青素结合,产生稳定的中间产物,并累积保护性物质,从而使植物产生多重抗除草剂性。这种作用与转录调控无关,其作用机制可能是AmGSTF1作为配体蛋白,直接与类黄酮结合(Cummins等2013)。

GSTF底物广泛,参与类黄酮多种成分的累积,不仅包括花青素和原花青素的运输,还可与类黄酮合成途径中的上游物质如槲皮素、山柰酚等结合。目前,有关GSTF参与类黄酮运输的作用机制仅限于证明GSTF与类黄酮累积相关,或作为配体蛋白直接结合类黄酮成分,而之后具体的转运机制,除对花青素与原花青素深入研究外,GSTF在其他类黄酮成分累积中的作用机制仍不清楚。但根据前人的大量研究可推测,GSTF在参与转运不同成分类黄酮时,其作用机制可能相同:类黄酮前体物质在细胞质中合成后,与GSTF结合,再经糖基化、酰化或甲基化修饰转运至液泡膜,被膜上的特异运输蛋白识别后,进入并累积在液泡中。

### 2.3 其他GST亚家族

Dixon等(2010)发现小麦中的GSTL1 (TaGSTL1)在胁迫诱导的条件下参与了黄酮醇的调节。当位于41位的活性位点Cys残基结合GSH后,TaGSTL1便可选择性地识别结合黄酮醇的氧化产物醌,并将其还原为黄酮醇,这样不仅减少了潜在有毒物质醌的累积,也产生了抗毒性物质黄酮醇。同样,拟南芥中的AtGSTL1也具有类似的结合和还原活性。大豆中GmGSTL1也可与类黄酮物质如槲皮素等反应,通过调节植物体中抗氧化物质类黄酮的代谢,来提高自身的抗胁迫能力(Chan和Lam 2014)。康乃馨中*Flavonoid3 (fl3)*编码的一种GST参与了花青素累积。当*fl3*突变后,花的颜色变浅,与*Bz2*和*An9*缺失突变体植株的表型相似,且*Bz2*和*An9*可弥补由*fl3*基因突变造成的表型变化,但*fl3*具体编码哪一个亚家族成员仍未知(Larsen等2003)。Kim等(2015)发现菊花中也存在与类黄酮累积相关的GST和MATE家族成员,通过参与花青素累积,进而影响花瓣颜色。

### 3 结语

自植物中发现GSTs以来,它在植物体内的作用就受到了广泛的关注。由于除草剂的经济价值,

前期的研究工作都主要集中于GSTs对外源性物质的解毒功能,较少关注GSTs在内源代谢中的作用。而植物在生长发育的过程中会合成许多次生代谢产物,这些产物可能对细胞产生毒害作用,它们都可能是GSTs的潜在底物,被区室化后使细胞免受毒害。因此,GSTs在植物次生代谢,尤其是类黄酮累积中的作用也就显得尤为重要。

研究显示,在8个亚家族中,与类黄酮累积相关的GST中发现最多的是GSTF,部分GSTU参与了类黄酮累积,而其他类别的GST亚家族虽有各自特异的功能,也有少数GST参与了类黄酮累积。这与模式植物拟南芥中GSTs的功能研究结果一致。而在类黄酮成分中,研究较多的是花青素。目前,关于花青素是如何转运至液泡有4种模型,GST和MRP共同参与花青素转运、MATE介导、囊泡运输、BTL homologue (bilitranslocase homologue)蛋白介导(王璐等2014)。其他类黄酮成分如原花青素、山柰酚、槲皮素在液泡中的累积机制没有系统的研究,但也在部分植物中有所发现。大部分研究只是表明了GSTs可与以上类黄酮物质结合,间接证明GSTs参与了类黄酮累积,具体的作用机制还需进一步研究。

类黄酮种类的多样性、GSTs的多样性和底物特异性,部分GSTs作为配体蛋白还具有多个类黄酮结合位点,这些原因导致了不同物种的GSTs在类黄酮累积中有不同的作用机制。一是GSTs使GSH与类黄酮共价结合,形成谷胱甘肽复合物,被膜上的MRP识别后,跨膜转运至液泡;二是类黄酮前体物质在细胞质中合成后,与GST结合,再经糖基化、酰化或甲基化修饰转运至液泡膜,被膜上的特异运输蛋白识别后,进入并累积在液泡中。已有大量研究证实了GSTs作为配体蛋白的功能,除结合类黄酮物质外,还可以结合生长素(Bilang和Sturm 1995)、卟啉原(Dixon等2008)等。这两种作用机制之间不是相互排斥的,而是共同参与调节类黄酮在液泡中的累积(Zhao和Dixon 2009)。

随着GSTs在类黄酮累积中作用的发现,已有许多学者开始转向于类黄酮是如何从合成部位(细胞质)转移至作用位点(主要是液泡),这些研究也取得了一定的进展,但仍有许多问题亟待解决。如为什么序列差异很大的GSTs也可能具有相似的

功能, 而序列相似度较高的GSTs却具有不同的功能; 大多数研究是在植物体外进行, 通过GSTs与类黄酮成分结合和基因互补模型, 间接证明了GSTs在类黄酮累积中的作用和可能存在的作用机制, 还缺乏直接证据; GSTs参与类黄酮累积, 是否还存在着其他作用机制; GSTs具体是如何调节植物体内类黄酮含量的, 除了将类黄酮转运至液泡内, 是否还参与了类黄酮在整个植物体内的分配等。因此, 探究植物GSTs在类黄酮累积中的作用机理, 不仅能揭示GSTs家族功能的多样性, 为理解植物体内代谢调控提供理论基础, 也可应用于实际生活中, 如提升作物的农学特性和食品的营养品质, 这对于保障人们的身体健康, 预防多种疾病具有重要的意义。虽然关于类黄酮物质是如何从合成部位转运至液泡并在液泡中累积的过程还比较模糊, 但基因组学的快速发展和基因工程技术的广泛应用, 为研究类黄酮的转运机制及调控网络提供了方便、有效的手段。相信在不久的将来, 这些难题也将会得到解决。

### 参考文献

- 陈秀华, 王臻昱, 李先平, 朱延明, 刘丽, 陈威, 陈勤(2013). 谷胱甘肽S-转移酶的研究进展. 东北农业大学学报, 44 (1): 149~153
- 甘蓓, 杨红玉(2008). 拟南芥中类黄酮代谢途径及其调控. 安徽农业科学, 36 (13): 5290~5292
- 胡廷章, 周大祥, 罗凯(2007). 植物谷胱甘肽转移酶的结构与功能及其基因表达. 植物生理学通讯, 43 (1): 195~200
- 江董丽, 才华, 端木慧子, 朱延明(2013). 大豆GST基因家族全基因组筛选、分类和表达. 分子植物育种, 11 (5): 465~475
- 金雪花, 洪艳, 黄河, 戴思兰, 朱嫫(2013). 瓜叶菊谷胱甘肽转移酶基因GST的分离及表达分析. 园艺学报, 40 (6): 1129~1138
- 舒波, 李伟才, 刘丽琴, 魏永赞, 石胜友(2015). 调控丛枝菌根形成的相关信号物质研究进展. 植物生理学报, 51 (8): 1185~1194
- 王璐, 戴思兰, 金雪花, 黄河, 洪艳(2014). 植物花青素苷转运机制的研究进展. 生物工程学报, 30 (8): 848~863
- 谢焯, 孙毅, 黄继荣(2013). 拟南芥中花青素的修饰. 植物生理学报, 49 (2): 101~110
- Alfenito M, Souer E, Goodman CD, Buell R, Mol J, Koes R, Walbot V (1998). Functional complementation of anthocyanin sequestration in the vacuole by widely divergent glutathione S-transferases. *Plant Cell*, 10: 1135~1149
- Basantani M, Srivastava A (2007). Plant glutathione transferases—a decade falls short. *Can J Bot*, 85: 443~456
- Bilang J, Sturm A (1995). Cloning and characterization of a glutathione S-transferase that can be photolabeled with 5-azido-indole-3-acetic acid. *Plant Physiol*, 109: 253~260
- Braidot E, Zancani M, Petrucci E, Peresson C, Bertolini A, Patui S, Macri F, Vianello A (2008). Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Signal Behav*, 3 (9): 626~632
- Chan C, Lam HM (2014). A putative lambda class glutathione S-transferase enhances plant survival under salinity stress. *Plant Cell Physiol*, 55 (3): 570~579
- Conn S, Curtin C, Bezier A, Franco C, Zhang W (2008). Purification, molecular cloning, and characterization of glutathione S-transferases (GSTs) from pigmented *Vitis vinifera* L. cell suspension cultures as putative anthocyanin transport proteins. *J Exp Bot*, 59 (13): 3621~3634
- Cummins I, O'Hagan D, Jablonkai I, Cole DJ, Hehn A, Reichhart DW, Edwards R (2003). Cloning, characterization and regulation of a family of phi class glutathione transferases from wheat. *Plant Mol Biol*, 52: 591~603
- Cummins I, Wortley DJ, Sabbadin F, He Z, Coxon CR, Straker HE, Sellars JD, Kbight K, Edwards L, Hughes D et al (2013). Key role for a glutathione transferase in multiple-herbicide resistance in grass weeds. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110 (15): 5812~5817
- Debeaujon I, Peeters AJM, Leon-Kloosterziel KM, Koornneef M (2001). The *TRANSPARENT TESTA12* gene of *Arabidopsis* encodes a multidrug secondary transporter-like protein required for flavonoid sequestration in vacuoles of the seed coat endothelium. *Plant Cell*, 13: 853~871
- Dixon DP, Davis BG, Edwards R (2002a). Functional divergence in the glutathione transferase superfamily in plants. *J Biol Chem*, 277 (34): 30859~30869
- Dixon DP, Edwards R (2009). Selective binding of glutathione conjugates of fatty acid derivatives by plant glutathione transferases. *J Biol Chem*, 284: 21249~21256
- Dixon DP, Laphorn A, Edwards R (2002b). Plant glutathione transferases. *Genome Biol*, 3 (3): 3004.1~3004.10
- Dixon DP, Laphorn A, Madesis P, Mudd EA, Day A, Edwards R (2008). Binding and glutathione conjugation of porphyrinogens by plant glutathione transferases. *J Biol Chem*, 283 (29): 20268~20276
- Dixon DP, Sellars JD, Edwards R (2011). The *Arabidopsis* phi class glutathione transferase AtGSTF2: binding and regulation by biologically active heterocyclic ligands. *Biochem J*, 438 (1): 63~70
- Dixon DP, Skipsey M, Edwards R (2010). Roles for glutathione transferases in plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 71: 338~350
- Hayes JD, Pulford DJ (1995). The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 30: 445~600
- Jiang HW, Liu MJ, Chen CI, Huang CH, Chao LY, Hsieh HL (2010). A glutathione S-transferase regulated by light and hormones participates in the modulation of *Arabidopsis* seedling development. *Plant Physiol*, 154: 1646~1658
- Kampranis SC, Damianova R, Atallah M, Togy G, Kondi G, Tsiachlis PN, Makris AM (2000). A novel plant glutathione S-transferase/peroxidase suppresses Bax lethality in yeast. *J Biol Chem*, 275: 29207~29216
- Kim SH, Sung SY, Kim YS, Jo YD, Kang SY, Kim JB, Ahn JW, Ha BK, Kim DS (2015). Isolation and characterization of differen-

- tially expressed genes in petals of chrysanthemum mutant cultivars developed by irradiation. *Sci Hortic*, 189: 132~138
- Kitamura S, Akita Y, Ishizaka H, Narumi I, Tanaka A (2012). Molecular characterization of an anthocyanin-related glutathione *S*-transferase gene in cyclamen. *J Plant Physiol*, 169: 636~642
- Kitamura S, Shikazono N, Tanaka A (2004). *TRANSPARENT TESTA 19* is involved in the accumulation of both anthocyanins and proanthocyanidins in *Arabidopsis*. *Plant J*, 37: 104~114
- Larsen ES, Alfenito MR, Briggs WR, Walbot V (2003). A carnation anthocyanin mutant is complemented by the glutathione *S*-transferases encoded by maize *Bz2* and petunia *An9*. *Plant Cell Rep*, 21: 900~904
- Li ZS, Alfenito M, Rea PA, Walbot V, Dixon RA (1997). Vacuolar uptake of the phytoalexin medicarpin by the glutathione conjugate pump. *Phytochemistry*, 45: 689~693
- Loyall L, Uchida K, Braun S, Furuya M, Frohnmeyer H (2000). Glutathione and a UV light-induced glutathione *S*-transferases are involved in signaling to chalcone synthase in cell culture. *Plant Cell*, 12: 1939~1950
- Marrs KA, Alfenito MR, Lloyd AM, Walbot V (1995). A glutathione *S*-transferase involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene *Bronze-2*. *Nature*, 375: 397~400
- McGonigle B, Keeler SJ, Lau SC, Koeppe MK, Okeefe DP (2000). A genomics approach to the comprehensive analysis of glutathione *S*-transferase gene family in soybean and maize. *Plant Physiol*, 124: 1105~1120
- Mohsenzadeh S, Esmaceli M, Moosavi F, Shahrtaash M, Saffari B, Mohabatkar H (2011). Plant glutathione *S*-transferase classification, structure and evolution. *Afr J Biotechnol*, 10 (42): 8160~8165
- Mueller LA, Goodman CD, Silady RA, Walbot V (2000). AN9, a petunia glutathione *S*-transferase required for anthocyanin sequestration, is a flavonoid-binding protein. *Plant Physiol*, 123: 1561~1570
- Nozue M, Yamada K, Nakamura T, Kubo H, Kondo M, Nishimura (1997). Expression of a vacuolar protein (VP24) in anthocyanin-producing cells of sweet potato in suspension culture. *Plant Physiol*, 115: 1065~1072
- Petrussa E, Braidot E, Zancani M, Peresson C, Bertolini A, Patui S, Vianello A (2013). Plant flavonoids-biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *Int J Mol Sci*, 14: 14950~14973
- Reumann S, Quan S, Aung K, Yang P, Manandhar-Shrestha K, Holbrook D, Linka N, Switzenberg R, Wilkerson C, Weber A et al (2009). In-depth proteome analysis of *Arabidopsis* leaf peroxisomes combined with *in vivo* subcellular targeting verification indicates novel metabolic and regulatory functions of peroxisomes. *Plant Physiol*, 150: 125~143
- Sasaki N, Nishizaki Y, Uchida Y, Wakamatsu E, Umemoto N, Momose M, Okamura M, Yoshida H, Yamaguchi M, Nakayama M et al (2012). Identification of the *glutathione S-transferase* gene responsible for flower color intensity in carnations. *Plant Biotechnol*, 29: 223~227
- Shimabukuro RH, Swanson HR, Walsh WC (1970). Glutathione conjugation: atrazine detoxification mechanism in corn. *Plant Physiol*, 46: 103~107
- Smith AP, Nourizadeh SD, Peer WA, Xu JH, Bandyopadhyay A, Murphy AS, Goldsbrough PB (2003). *Arabidopsis AtGSTF2* is regulated by ethylene and auxin, and encodes a glutathione *S*-transferase that interacts with flavonoids. *Plant J*, 36: 433~442
- Sun Y, Li H, Huang JR (2012). *Arabidopsis* TT19 functions as a carrier to transport anthocyanin from the cytosol to tonoplasts. *Mol Plant*, 5 (2): 387~400
- Wangwattana B, Koyama Y, Nishiyama Y, Kitayama M, Yamazaki M, Saito K (2008). Characterization of *PAP1*-upregulated glutathione *S*-transferases genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology*, 25: 191~196
- Yamazaki M, Shibata M, Nishiyama Y, Springob K, Kitayama M, Shimada N, Aoki T, Ayabe S, Saito K (2008). Differential gene expression profiles of red and green forms of *Perilla frutescens* leading to comprehensive identification of anthocyanin biosynthetic genes. *FEBS J*, 275: 3494~3502
- Yazaki K (2005). Transporters of secondary metabolites. *Curr Opin Plant Biol*, 8: 301~307
- Zhao J, Dixon RA (2009). The 'ins' and 'outs' of flavonoid transport. *Trends Plant Sci*, 15 (2): 72~80
- Zhao J, Huhman D, Shadle G, He XZ, Sumner LW, Tang Y, Dixon RA (2011). MATE2 mediates vacuolar sequestration of flavonoid glycosides and glycoside malonates in *Medicago truncatula*. *Plant Cell*, 23: 1536~1555