

水稻蔗糖转运基因家族研究进展

胥婷, 任蔷, 李关荣

(西南大学 农学与生物科技学院, 中国重庆 400716)

摘要: 蔗糖是韧皮部同化碳运输的主要形式, 植物蔗糖转运体 (SUT, Sucrose transporters) 在参与植物碳素分配中起着重要的作用. 编码 SUT 蛋白的基因在许多双子叶和单子叶植物中都被分离. 目前已经在水稻中鉴定出了 5 个蔗糖共运体 (Sucrose symporter) 基因家族成员. 对这 5 个成员在水稻中的鉴定、克隆和表达分析, 以及其蛋白结构、分类与进化进行了综述. 这些信息可用于探索杂交稻高产的同化物分配和运输的分子原因.

关键词: 水稻; 蔗糖转运体; 基因家族; 基因表达

中图分类号: Q785; Q786

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2006)S2-0037-07

Advances in Sucrose Transporter Gene Family of *Oryza sativa* L.

XU Ting, REN Qiang, LI Guan-rong

(College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: Sucrose is the main form of carbon assimilates transported in the phloem, and sucrose transporters (SUT) play important roles in mediating the partitioning of carbon in plants. Many of the genes encoding the SUT proteins in both dicots and monocots have been cloned and identified. All together five members of the sucrose transporter gene family in *Oryza sativa* L. have been identified so far. The cloning and identification, gene expression and physiological roles, and their protein structure, classification and evolution of the five members of the sucrose transporter genes in *Oryza sativa* L. have been reviewed and discussed. These advances can be helpful for further investigation into the molecular basis of high yield of rice especially hybrid rice in the aspect of assimilate partitioning.

Key words: *Oryza sativa*; sucrose transporter; gene family; gene expression

(Life Science Research, 2006, 10(4)S2: 037 ~ 043)

植物蔗糖转运体 (SUT) 介导的蔗糖主动运输是一种质子协同运输, 它能使蔗糖通过质膜屏障. 由于蔗糖是大多数植物通过韧皮部运输的主要碳

水化合物, 蔗糖/H⁺同向运输体被认为在参与植物碳素分配中起着重要的作用. 编码 SUT 蛋白的基因在许多双子叶和单子叶植物中都被分离.

收稿日期: 2006-11-05; 修回日期: 2006-12-05

基金项目: 重庆市科委自然科学基金资助项目 (9264)

作者简介: 胥婷 (1982-), 女, 重庆人, 西南大学基因克隆和表达分析专业硕士研究生, Tel: 13594144876, E-mail: fish313_cn@sina.com.cn; 任蔷 (1981-), 女, 湖北十堰人, 西南大学分子标记辅助育种基因表达调控专业硕士研究生; 李关荣 (1963-), 男, 四川营山人, 西南大学教授, 硕士生导师, 通讯作者, 主要从事作物基因表达和分子标记方面的研究, Tel: 13638319091, E-mail: grli@swau.edu.cn.

第一个在单子叶植物中被鉴定出来的 *SUT* 基因 *OsSUT1* 来自于水稻^[1]。Weschke 等^[2]在大麦中鉴定出了第 2 个 *HvSUT2*, 是 *OsSUT2* 的直向同源基因, Aoki 等^[3]鉴定出了 *OsSUT3*、*OsSUT4* 和 *OsSUT5*。迄今, 在水稻中已鉴定出了 5 个蔗糖共运体基因家族成员。Aoki 等^[3]研究了蔗糖共运体基因家族的 5 个成员在水稻(籼稻)的时空表达, 发现在萌发的种子、根、叶片库/源、叶鞘库/源、穗以及开花后不同天数的颖果中, 5 个成员都有表达, 但表达量不同。因此我们可以利用这些信息来探索杂交稻高产的同化物分配和运输的分子原因, 为进一步寻找其相应的特异启动子序列、采用定点突变、反义 RNA 技术结合转基因技术调控它们的表达、最终实现光合同化物分配的人工控制奠定基础。同时还可从新的角度了解、研究和控制谷类作物的结实率、籽粒充实度等奠定基础。

1 *SUT* 简介

1.1 蔗糖的转运

植物叶片的光合作用将太阳能转化为化学能形式, 并运输到植物所需要的组织。叶片制造的光合产物有糖类、脂肪、蛋白质和有机酸等, 其初级产物是蔗糖。蔗糖是有机物质运输的主要形式, 占筛管汁液干重的 73% 以上。光合作用产生的蔗糖的 50% ~ 80% 是从叶片(源)经韧皮部运输到植物的可食性部分如果实、种子和块根块茎(库)中的^[4]。蔗糖通过质外体和/或共质体的胞间短距离运输进入韧皮部薄壁细胞, 然后又经过质外体和/或共质体装载进入筛管-伴胞复合体(SE-CC), 一旦光合同化物进入韧皮部, 在压力梯度的驱动下, 向库细胞侧运输。在库端同化物从 SE-CC 向周围细胞卸出。源端的蔗糖装载和库端蔗糖卸出维持着源库两端蔗糖浓度差, 由蔗糖浓度差引起的膨压差推动着韧皮部中的物质运输。只要源端光合同化物的韧皮部装载和库端光合同化物的卸出过程不断进行, 源库间就能维持一定的压力梯度, 在此梯度下, 光合同化物源源不断地由源端向库端运输。叶绿体中的磷酸丙糖及细胞质中合成的蔗糖的去向决定于源库间的相互协调和相互作用。竞争库器官间蔗糖的分配模式受到发生在受体库器官的细胞转运事件的强烈影响, 而蔗糖的分配模式决定作物产量。已有研究表明, 此同化物分配的分配过程能显著影响作物的生产力。因此, 细胞间蔗糖的转运是控制同化

物分配及作物产量的关键控制步骤。

1.2 *SUT* 及其功能

许多植物细胞, 包括叶肉细胞、伴胞和筛管分子都有糖泵镶嵌在其质膜中。这些膜蛋白质泵利用 ATP 酶所产生的电势逆浓度梯度转运蔗糖(包括氨基酸), 此浓度梯度对于韧皮部的装载很关键。在蔗糖装载过程中, 泵同时协同运输一分子蔗糖和一个质子到细胞中去。因此这个泵经常被称为蔗糖/质子共运体(Sucrose/H⁺ symporter)或蔗糖转运体。近 10 多年来, 我们对同化物分配的了解取得了较大的进展。参与此过程的数种蛋白质已被描述和阐明, 许多研究都集中在 *SUT* 上。它是一类 12 次跨膜运输蛋白, 这些跨膜螺旋由很多已经鉴定出来的转运单糖和二糖的转运体组成。因为蔗糖是大多数植物中通过韧皮部转运的主要碳水化合物, 通常认为蔗糖/质子共运体在介导植物体中碳的分配中起重要的作用。例如, 叶片中质外体韧皮装载、蔗糖在临时储藏库如茎组织中的运出与运进、以及蔗糖向库组织如种子中的转运等。转运体性质、表达及定位的生化研究手段的结合, 可以确定每种转运蛋白的特异功能。另外, 采用蔗糖转运体表达受到特异损伤的转基因植物的研究, 提供了 *SUT1* 是韧皮装载必需的强有力的证据。这些转基因植物的生理分析表明: 蔗糖转运体是蔗糖转运途径中的必需组分, 至少在马铃薯和烟草中是这样^[5]。蔗糖/质子转运体与种子生长速率的关系的相关生理和分子证据表明: 这些蔗糖转运体是蔗糖吸收和种子生长速率的主要决定因素。

2 水稻 *SUT* 的研究现状

2.1 双子叶植物及其它单子叶植物的 *SUT* 基因的研究现状

在高等植物中已鉴定出数种糖类转运体。依赖其独特的功能每种转运体存在于特化的组织或细胞中。因为蔗糖是韧皮部中碳同化运输的主要形式, 很多研究都集中于蔗糖质子共运体上。同时, 还有许多己糖转运体, 但研究得透彻的为数不多^[6]。过去 10 多年来, 在蔗糖载体活性的生理生化研究中鉴定出了第一个蔗糖载体的 cDNA 克隆(*SoSUT1*)^[7]。随后编码 *SUT* 蛋白的基因相继在许多双子叶和单子叶植物中被分离出来。据报道, 在大多数物种中都存在 2 种或 2 种以上的 *SUT* 基因^[8, 9]。如在拟南芥中, 就有 5 个 *SUT* 基因通过

在酵母细胞中的表达进行了功能性鉴定^[10-14], 另外还有4个推定SUT序列存在于公共数据库中. 在马铃薯、蚕豆和番茄中, 发现存在3种不同蔗糖转运特性的SUT基因^[13, 15-17]. 在甜菜、豌豆、菜豆、菠菜、烟草中也有不同程度的研究, 但在双子叶植物中每种SUT是否具不同的生理功能还未完全明了.

第一个在单子叶植物中鉴定出来的SUT基因来自于水稻, *OsSUT1*. 其后, *SUT1*的直系(同源)基因也在其它谷类物中被鉴定了出来, 如玉米^[18]、大麦^[13]和小麦^[19]. 这些SUT1蛋白质在一级序列上有80%以上的同源性. Weschke等^[2]还鉴定出了大麦的第2个SUT基因, *HvSUT2*.

2.2 水稻SUT基因家族成员的鉴定和克隆

Hirose等^[11]首次在单子叶植物中鉴定出了SUT基因, 即*OsSUT1*. 此基因的cDNA克隆编码一个长1611bp的开放阅读框(537个氨基酸), 在氨基酸水平上与其它双子叶植物的蔗糖转运体有76.8%~79.7%的相似性. 把*OsSUT1*cDNA导入酵母中表达, 细胞内迅速积累蔗糖, 这说明*OsSUT1*的确编码了蔗糖转运体. 通过基因组Southern杂交, 发现*OsSUT1*是一个单拷贝基因.

尔后, 又从其它谷物如玉米、大麦和小麦中逐渐鉴定出了*OsSUT1*的直向同源基因. 同时, Takeda等^[23]和Aoki等^[3]先后分别分离出了*OsSUT3*及其cDNA, 并做了基因组克隆(Takeda等曾将*OsSUT3*命名为*OsSUT2*, 为了保持谷类SUT基因命名的一致性, Aoki等把*OsSUT2*称为*HvSUT2*的直向同源基因).

直到2002年, 于军等^[21]用鸟枪法完成了水稻基因组的框架图, 据估计此框架图覆盖了其基因组中92%的包含基因的区域. 然后Aoki等^[3]把水稻基因组的框架图与已知的SUT蛋白序列相比较, 鉴定出了3个编码推定SUT蛋白质的基因——*OsSUT2*(实际已于2001年被Takeda等克隆)、*OsSUT4*和*OsSUT5*. 他们随后确定了*OsSUT2*、*OsSUT4*和*OsSUT5*的cDNA序列. 将cDNA序列与相应的基因组序列比较, 证实了*OsSUT2*、*OsSUT4*和*OsSUT5*的外显子/内含子的排列位置. 最后把*OsSUT2*、*OsSUT4*、*OsSUT5*这3个基因和前面分离出来的*OsSUT1*与*OsSUT3*合起来组成了水稻SUT基因家族.

2.3 水稻SUT基因家族成员的表达分析

虽然在水稻基因组中存在5个不同的与

SUTs高度同源的序列, 但只有*OsSUT1*、*OsSUT2*和*OsSUT3*可以在公共表达序列标签(EST)数据库中找到. 因此, Aoki^[3]等对5种*OsSUT*基因进行了RT-PCR检测, 结果显示*OsSUT1*的mRNA在发芽的种子、源叶叶鞘(抽穗后1周旗叶下的第2叶)和圆锥花序中高水平地积累, 而在库组织如抽穗前的圆锥花序和根中表达量很小; *OsSUT2*的mRNA在所有测试组织中表达水平几乎相同; *OsSUT3*和*OsSUT5*的表达很相似, 表达水平在库性叶中最高, 在发芽的种子中最低; *OsSUT4*在库性叶中优先表达. 这些结果及推定蛋白质序列的结构明显差异表明, 这5种SUT在库组织与源组织中起着不同的作用. 在发芽的种子中, *OsSUT1*与其它4种SUT基因相比呈现出优势表达, 与*OsSUT1*的反义抑制品系显示出的发芽迟缓是一致的. 这些抑制品系没有降低成熟叶片中的光合活性, 表明*OsSUT1*对将光合同化物装载到源叶片的韧皮部中的贡献甚小^[22, 23]. 水稻库叶中*OsSUT3*、*OsSUT4*和*OsSUT5*的表达表明, 它们向正在生长的组织或临时储藏组织提供碳源, 蔗糖可能起到了重要作用^[3]. 而*OsSUT2*在水稻各个组织中的表达水平几乎都相同, 大麦的*HvSUT2*也有类似的表达模式^[2]. 此表达模式可能与*SUT2*基因的进化起源有关, 因为其*SUT2*基因在结构上与谷类SUT基因家族的其它成员都相去甚远. 重叠表达可能意味着这5种*OsSUT*蛋白在膜介导的蔗糖转运过程中具有多种作用或者能够代表不同细胞类型的表达^[3].

Aoki等还对5个*OsSUT*基因进行了发育中的颖果的mRNA水平变化的RT-PCR检测. *OsSUT1*的mRNA水平在种子发育的早期阶段很低, 开花后的5~7d(5~7DAF)增加到最大, 然后20d内逐步减少到一个几乎无法检测到的水平, 这与Hirose的研究结果一致^[24]. 其它4个*OsSUT*基因往往是在开花后即进行表达, 尔后在开花后20d降低到几乎不能检测到的水平. 此表达模式表明, 当颖果分化(1~4DAF, 第一阶段)、伸长和灌浆(5~15DAF, 第二阶段)时, *OsSUT1*的生理作用可能不同于其它4种*OsSUT*基因, *OsSUT1*主要在最大谷粒灌浆阶段得到表达^[3, 24], 它还能参与同化物跨过糊粉层运输到发育中的胚乳的过程^[23-25]. *OsSUT2*、*OsSUT3*、*OsSUT4*和*OsSUT5*在第一阶段都有优势表达, 很可能这些基因对颖果早期发育中的蔗糖转运起作用. 在两个阶段中有一些基因表达有

重叠,特别是 *OsSUT3* 可能与 *OsSUT1* 的联合作用参与谷粒灌浆过程中的同化物转运。

曾在酵母细胞的异源表达系统中进行了各种单子叶和双子叶植物的 SUT 基因的蔗糖转运体的功能验证^[8]。Baker 等^[16]使 *OsSUT1* 和 *OsSUT3* 的全长 cDNAs 在酵母突变细胞 *SUSY5/ura* 中得到了表达, Aoki 等^[3]也成功地证明了在 *SUSY7* 酵母菌株 *OsSUT1* 和 *OsSUT3* 的互补性, 但已证明许多 SUT 基因很难在体外表达^[12, 13]。通过包括表达分析^[1, 3, 24]、酵母细胞中的异源表达^[1, 3, 16]、定位^[25]和在体内功能的反义抑制^[22, 23]等大量研究表明, *OsSUT1* 编码有功能的 SUT 蛋白, 它作为一个有高亲和力的转运体, 是韧皮部装载、将同化物转运进灌浆谷粒中必需的^[16]。Hirose 等还认为 *OsSUT1* 同时还参与了叶鞘和发芽的种子中的储藏淀粉重新动员的同化物转运^[1, 23, 26, 27]。

2.4 推定 SUT 蛋白质的性质和结构

所有 5 个 *SUT* 基因的推导蛋白质都包含了 12 个跨膜 α -螺旋和 1 个在所有已知植物的 SUTs 中高度保守的结构域^[5]。这些跨膜螺旋是由很多已经鉴定出来的单糖和二糖的转运体组成的; 这个结构域包括了第 1 个跨膜的螺旋、紧接它的胞外突环, 第 2 个螺旋和紧接的胞质突环。Lu 和 Bush^[28]通过拟南芥的 *AtSUC1* 蛋白质的定点突变表明, 位于胞外环中的一个保守组氨酸残基负责在转运过程中与蔗糖结合, 在所有推定的 *OsSUT* 肽中都能找到此组氨酸残基。在已鉴定的蔗糖质子共运体中, 只有 His71 是在种间保守的。Lu 等^[32]利用定点突变和在酵母中的功能表达证明了这个残

基在作用机制上的重要性。其数据显示, His71 对于转运体功能来说是一个关键残基。他们还在改变了转运活性的共运体中鉴定了随机突变体。在 6 个不同的 His71 的替代中, H71R 比野生型转运体有更高的运输蔗糖的效率。其它替代在一定范围内也有活性。例如, H71C 可以导致转运性能的完全丧失, 而 H71Q 与野生型几乎有相同的活性。重要的是, H71Q 对 DEPC 不再敏感了, 估计 H71 是一个抑制剂敏感型组氨酸残基。

表 1 概括了 5 种由 cDNA 序列推导出来的 *OsSUT* 蛋白的一些性质。5 种 *OsSUT* 蛋白在一级结构和 pI 值上相当不同, 说明有明显不同的生化性质。当把推导的肽序列在两个水稻亚种(籼稻和粳稻)间作比较时, 发现分别在 *OsSUT1*、*OsSUT2*、*OsSUT3*、*OsSUT4*、*OsSUT5* 的 1、7、4、4、3 残基发生了氨基酸的替换。Aoki 等^[3]预测在第 6 与第 7 个跨膜螺旋之间的中部突环在所有 *OsSUT* 蛋白质中含有 30~40 个氨基酸残基, 但 *OsSUT4* 例外, 后者含有大概 90 个氨基酸残基^[3]。*OsSUT4* 蛋白所含的伸展的中部突环与双子叶植物 *SUT2* 蛋白类似, 后者与酵母糖传感蛋白的结构相似^[16]。在 *AtSUT2*(*SUC3*) 曾表明, 中部突环并不是蔗糖转运活性所必需的, 然而其 N 末端结构域在决定与蔗糖亲和力上有作用^[11, 12]。*OsSUT1*、*OsSUT4*、*OsSUT5* 的 N 末端结构域比 *OsSUT2* 和 *OsSUT3* 多 20~30 个氨基酸。拓朴学预测表明, 中部环与 N 末端和 C 末端都位于细胞质中, 这与已知功能的植物 SUTs 基因一样^[7]。这些结构分析都说明 *OsSUT1*、*OsSUT2*、*OsSUT3*、*OsSUT4*、*OsSUT5* 可以编码有功能的 SUTs。

表 1 推定 *OsSUT* 蛋白的一些生化性质及比较

Table 1 Biochemical properties and amino acid sequence similarities of the putative *osSUT* proteins

OsSUT 蛋白 OsSUT protein	大小 Length		等电点 pI	相似性 Comparability /%			
	a. a.	kDa		SUT2	SUT3	SUT4	SUT5
<i>OsSUT1</i>	537	56.1	8.53	53	78	66	65
<i>OsSUT2</i>	501	63.5	9.41	-	57	54	54
<i>OsSUT3</i>	506	52.8	6.94		-	63	63
<i>OsSUT4</i>	595	63.5	7.03			-	60
<i>OsSUT5</i>	535	57.0	8.32				-

2.5 水稻 SUT 基因家族成员的分类及进化

基于推定肽序列的系统学分析, 双子叶植物的 *SUT* 基因被分为 3 类, *SUT1*、*SUT2*、*SUT4* 型^[13, 16]。根据无根系统树型图(图 1), 在植物 SUT 蛋白质家族中, *OsSUT1*、*OsSUT3*、*OsSUT4*、*OsSUT5* 与双

子叶 *SUT2*-群体的成员聚集在一起, 形成 II 型亚家族。在这个亚家族中, *OsSUT1* 和其它谷物的直向同源体构成了谷物(单子叶植物)的 *SUT1* 群, 彼此间有至少 80% 的同源性。在 II 型亚家族中, *OsSUT3* 和 *OsSUT5* 分离。*OsSUT4* 看起来好像是

双子叶植物 -SUT2 蛋白质的水稻直向同源体, 有 58% ~ 63% 的同源性, 而且有共同延伸的 N 末端和中部环两个特性^[26, 30]. *OsSUT2* 与 *HvSUT2* 一

起, 非常接近双子叶植物 -SUT4 群, 它们共同构成了 III 型亚家族.

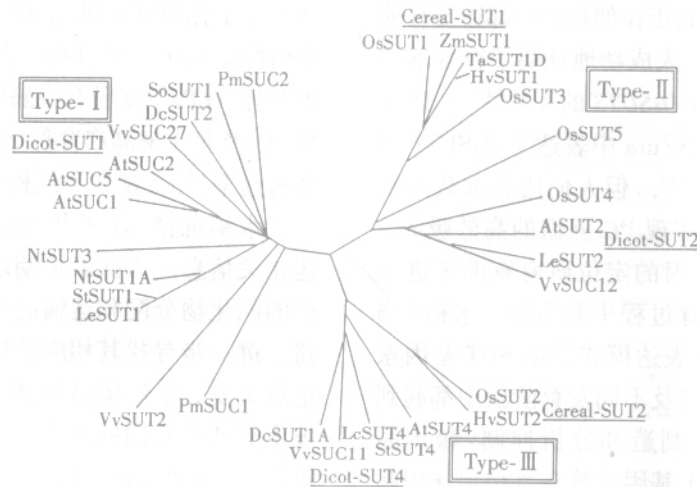


图 1 据推导氨基酸序列的植物 SUT 的无根系统树

Fig. 1 The unrooted phylogeny derived from the putative amino acid sequence of plant SUTs, showing the relationship of the *osSUT* family with SUTs of other plants^[31]

相似的植物 SUT 的分群也反映在其基因结构中. *OsSUT3* 和 *OsSUT5* 表现出与 *OsSUT1* 中的从 9 到 14 的外显子不同的融合/分离. *OsSUT1* 和 *OsSUT3* 都有大的第 1 个内含子, 这个特征同样在小麦 *TaSUT1D*^[19] 和番茄 *LeSUT2*^[19] 中观察到. *OsSUT4* 的基因结构与 *AtSUT2* 非常相似, 它们都有一个短的第 1 个内含子. III 型亚家族的成员 *OsSUT2* 和 *AtSUT4* 的基因结构也很相似, 除了它们第 1 个和最后一个内含子的长度不同外. 在 *AtSUC1* 和其它属于 I 型的拟南芥 SUT 基因中, 都只有 3 个或者 4 个外显子, 这与 II 型 SUT 基因不同.

II 型亚家族基因结构在单子叶植物和双子叶植物中相类似这一特点表明, 由许多外显子组成的原型的 II 型 SUT 基因在被子植物裂分为单/双子叶植物之前就发生了. 可以推测: 在谷类(或单子叶植物)中, SUT 基因是通过其原型基因趋异(很有可能是经基因重复)进化而来. 要验证这一假说, 则需要进一步鉴定其它单子叶植物物种中的 SUT 基因. 正如前述的 II 型 SUT 基因一样, 一个原型的 Type III SUT 基因也可能在单/双子叶植物裂分前就以一共同的祖先形式存在了. 迄今, 还没有找到与双子叶植物 SUT1- 群 (Type I 亚家族) 相应的单子叶 SUT 蛋白. 用 I 型 SUT 蛋白对水稻基因序列的 TBLASTN 查询, 结果产生与用 *OsSUT1* 序列查询得到的同样的重叠群. 这种

SUT 基因类型在水稻中似乎不存在.

3 水稻 SUT 研究的问题及展望

3.1 水稻 SUT 基因的鉴定和克隆

因鸟枪法测序得到的籼稻基因组框架图只覆盖了其基因组中 92% 的包含基因的区域, 因此有可能还有 SUT 基因存在于基因组的 8% 的待测序列中. 今后基于克隆和染色体的测序的水稻基因组测序计划的完成, 将会提供更多的关于 *OsSUT* 基因的信息, 如其位点、是否还有更多的 SUT 基因家族成员等. 在水稻中获得的基因组信息可以部分适用于其它谷类物种. 例如, 在公共数据库中, 与 *OsSUT2* 同源的 EST 序列在小麦和玉米中, 与 *OsSUT4* 同源的 EST 在小麦、大麦和玉米中都有发现.

3.2 水稻 SUT 基因的功能表达

由于 *OsSUT1* 的反义抑制品系在营养生长期对水稻旗叶没有表现出同化物积累的明显症状, 也没有降低成熟叶片中的光合活性^[21], 而 Scofield 等^[22] 的水稻 *OsSUT1* 的反义抑制研究却表明其灌浆的削弱和种子萌发的减缓, 因此 *OsSUT1* 对将光合同化物装载到源叶片的韧皮部中的贡献甚小. 而 *OsSUT1* 在源叶中却有表达^[3], 其生理作用尚需进一步研究. 很有可能 *OsSUT1* 在种子萌发和生殖生长过程的蔗糖转运中起主要作用.

OsSUT3、*OsSUT4*、*OsSUT5* 的表达表明, 它们

向正在生长的组织或临时储藏组织提供碳源(蔗糖)可能具有重要作用。然而,膜介导的蔗糖转运所起的作用在植物营养性库组织如生长中的叶片、正在储藏淀粉的叶鞘和正在伸长的根部还没有进行广泛的研究。尽管有人成功地证明了在 SUSY7 酵母菌株中 *OsSUT1* 和 *OsSUT3* 的互补性^[3],以及在酵母突变细胞 SUSY5/ura 中表达了 *OsSUT1* 和 *OsSUT3* 的全长 cDNAs^[16],但人们用各种载体和酵母菌株迄今还不能实现 ¹⁴C 蔗糖的高效吸收。因此对每个 *OsSUT* 基因的定位研究有助于进一步阐明它们在颖果发育过程中的功能。水稻中 5 种 *OsSUT* 基因的差异表达模式说明 SUT 基因家族在源组织和库组织以及不同发育阶段中都起到很多作用。这有助于制造和分析抑制/敲出品系,以便充分了解 SUT 基因家族在水稻植株中起的生理作用。由于其生理功能的可能的重叠性和复杂性,抑制/敲出特定成员或全部成员及特异生理效应的确定,可能具有极大的挑战性,但还是有可能提供一些关于特定成员特异生理效应的趋向性信息。另外,蔗糖转运活性是决定种子生长速率的关键因素。有人也提出了一些可能包含糖信号的转运体活性的转录调控^[4],但还需要进一步论证。

3.3 5 种 *OsSUT* 蛋白的结构及性质

5 种 *OsSUT* 蛋白在一级结构和 pI 值上相当不同,说明有明显不同的生化性质。*OsSUT4* 蛋白所含的伸展的中部突环与双子叶植物 SUT2-型蛋白类似,后者与酵母糖传感蛋白的结构相似。在拟南芥 SUT2(SUC3) 中曾表明,中部突环并不是蔗糖转运活性所必需的,然而其 N 末端结构域在决定与蔗糖亲和力上有作用。

如果把 5 种 *OsSUT* 蛋白之间的底物特异性和转运活性的动力学性质做比较,这将是很有趣的课题。另外,Reinders 等^[31]报道了在土豆和番茄中 3 种不同功能的 SUT 蛋白能够在同一筛管分子中表达,而且能够在体内形成同寡聚体和异寡聚体,说明了 SUT 蛋白之间存在互作,这在生理上也可能具有重要性,另外水稻中 5 个不同的推定 SUTs 可能会以蛋白质复合物或与质膜的互作而行使功能,这些都应是值得进一步研究的课题。

3.4 对杂交稻高产的同化物分配和运输的原因的探索

光合同化物的形成、运输、分配直接关系到作

物产量的高低和品质的好坏。同化物运输、分配不仅受源库关系控制,还受到激素和环境因素的影响。除了蔗糖转运体本身影响生长速率以外,从生理生化角度来讲,ATP 酶的活性、茎鞘中的非结构性碳水化合物、IAA 含量、叶面积指数(LAI)、光合势(PP)、淀粉合成酶活性、细胞壁转化酶活性、以及多年来高产育种增加的气孔开度(增加了蒸腾速率)等等都在不同程度上影响了碳的同化。

水稻蔗糖/质子共运体基因及编码产物的上述相关信息,为探索长期以来未明了的杂交稻高产的同化物分配和运输的分子原因提供了新的思路。进一步寻找其相应的特异启动子序列、采用定点突变、反义 RNA 技术、基因抑制或基因敲除技术等调控它们的表达,结合转基因水稻的田间表现,一方面可以了解这些基因的特异生理作用,另一方面还可揭示杂交稻高产同化物转运的分子事件,为最终实现光合同化物分配的人工控制奠定基础。根据目前蔗糖/质子共运体信息,利用诸如荧光定量 PCR 技术,基因表达连续分析(SAGE),DNA 微阵列法(DNA microarray)等方法研究水稻特别是杂交稻中这 5 个基因成员在其生长发育过程中不同时空的特异表达模式和水平的差异,揭示正常生长条件或逆境条件(如高温伏旱)下控制水稻的结实率及籽粒充实度的同化物转运的分子原因。结合其它单子叶或双子叶植物 SUT 基因研究,最终完全了解光合同化物的详尽的转运、调控分子机制,同时进一步了解其分类和进化。这在目前粳稻基因组序列信息不完善、杂交稻基因组计划尚未完成的情况下,可能是研究同化物的分配与运输的分子原因的主要的途径。

参考文献(References):

- [1] HIROSE T, IMAIZUMI N, SCOFIELD G N, *et al.* cDNA cloning and tissue-specific expression of a gene for sucrose transporter from rice (*Oryza sativa L.*) [J]. *Plant Cell Physiology*, 1997, 38: 1389-1396.
- [2] WESCHKE W, PANITZ R, SAUER N, *et al.* Sucrose transport into barley seeds: molecular characterization of two transporters and implications for seed development and starch accumulation [J]. *Plant J*, 2000, 21: 455-467.
- [3] AOKI N, HIROSE T, GRAHAM N, *et al.* The sucrose transporter gene family in rice [J]. *Plant Cell Physiology*, 2003, 44(3): 223-232.
- [4] MATTHEW W, VAUGH N, GREGORY N, *et al.* Sucrose-mediated transcriptional regulation of sucrose symporter activity in the phloem [J]. *Plant Biology*, 2002, 99,

- 10876-10880.
- [5] WARD J M, KUHN C, TEGEDER M, *et al.* Sucrose transport in higher plants[J]. *Int Rev Cytol*, 1998, 178: 41-71.
- [6] CHIOU T J, BUSH D R. Isolation and molecular characteristics of two putative sugar transporters from sugar beet[J]. *Plant Physiol*, 1997, 113: 663.
- [7] RIESMEIER J W, WILLMITZER L, FROMMER W B. Isolation and characterization of a sucrose carrier cDNA from spinach by functional expression in yeast[J]. *EMBO J*, 1992, 11: 4705-4713.
- [8] LEMOINE R. Sucrose transporters in plants: update on function and structure[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1465: 246-262.
- [9] WILLIAMS L E, LEMOINE R, SAUER N. Sugar transporters in higher plants - a diversity of roles and complex regulation[J]. *Trends Plant Sci*, 2000, 5: 283-290.
- [10] SAUER N, STOLZ J. SUC1 and SUC2: two sucrose transporters from *Arabidopsis thaliana*; expression and characterization in baker's yeast and identification of the histidine-tagged protein[J]. *Plant J*, 1994, 6: 67-77.
- [11] MEYER S, MELZER M, TRUERNIT E, *et al.* *AtSUC3*, a gene encoding a new *Arabidopsis* sucrose transporter, is expressed in cells adjacent to the vascular tissue and in a carpel cell layer[J]. *Plant J*, 2000, 24: 869-882.
- [12] SCHULZE W, WEISE A, FROMMER W B, *et al.* Function of the cytosolic N-terminus of sucrose transporter AtSUT2 in substrate affinity[J]. *FEBS Lett*, 2000, 485: 189-194.
- [13] WEISE A, BARKER L, KÜHN C, *et al.* A new subfamily of sucrose transporters, SUT4, with low affinity/high capacity localized in enucleate sieve elements of plants[J]. *Plant Cell*, 2000, 12: 1345-1355.
- [14] LUDWIG A, STOLZ J, SAUER N. Plant sucrose-H⁺ symporters mediate the transport of vitamin H[J]. *Plant J*, 2000, 24: 503-509.
- [15] RIESMEIER J W, HIRNER B, FROMMER W B. Potato sucrose transporter expression in minor veins indicates a role in phloem loading[J]. *Plant Cell*, 1993, 5: 1591-1598.
- [16] BARKER L, KÜHN C, WEISE A, *et al.* SUT2, a putative sucrose sensor in sieve elements[J]. *Plant Cell*, 2000, 12: 1153-1164.
- [17] HARRINGTON G N, FRANCESCHI V R, OFFLER C E, *et al.* Cell-specific expression of three genes involved in plasma membrane sucrose transport in developing *Vicia faba* seed[J]. *Protoplasma*, 1997, 197: 160-173.
- [18] AOKI N, HIROSE T, TAKAHASHI S, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of a gene for a sucrose transporter in maize (*Zea mays L*) [J]. *Plant Cell Physiol*, 1999, 40: 1072-1078.
- [19] AOKI N, WHITFIELD P, HOEREN F, *et al.* Three sucrose transporter genes are expressed in the developing grain of hexaploid wheat[J]. *Plant Mol Biol*, 2002, 50: 453-462.
- [20] TAKEDA T, TOYOFUKU K, MATSUKURA C, *et al.* Sugar transporters involved in flowering and grain development of rice[J]. *J Plant Physiol*, 2001, 158: 465-470.
- [21] YU J, HU S, WANG J, *et al.* A draft sequence of the rice (*Oryza sativa ssp. indica*) genome[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2001, 46(23): 1937-1942.
- [22] ISHIMARU K, HIROSE T, AOKI N, *et al.* Antisense expression of a rice sucrose transporter OsSUT1 in rice (*Oryza sativa L*) [J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42: 1181-1185.
- [23] SCOFIELD G N, HIROSE T, GAUDRON J A, *et al.* Antisense suppression of the rice sucrose transporter gene, OsSUT1, leads to impaired grain filling and germination but does not affect photosynthesis[J]. *Funct Plant Biol*, 2002, 29: 815-826.
- [24] HIROSE T, TAKANO M, TERAO T. Cell wall invertase in developing rice caryopsis: molecular cloning of *OsCIN1* and analysis of its expression in relation to its role in grain filling[J]. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43: 452-459.
- [25] FURBANK R T, SCOFIELD G N, HIROSE T, *et al.* Cellular localisation and function of a sucrose transporter *OsSUT1* in developing rice grains[J]. *Aust J Plant Physiol*, 2001, 28: 1187-1196.
- [26] HIROSE T, ENDLER A, OHSUGI R. Gene expression of enzymes for starch and sucrose metabolism and transport in leaf sheaths of rice (*Oryza sativa L*) during the heading period in relation to the sink to source transition[J]. *Plant Prod Sci*, 1999, 2: 178-183.
- [27] MATSUKURA C, SAITOH T, HIROSE T, *et al.* Sugar uptake and transport in rice embryo. Expression of companion cell-specific sucrose transporter (*OsSUT1*) induced by sugar and light[J]. *Plant Physiol*, 2000, 124: 85-93.
- [28] LU M-Y J, BUSH D R. His-65 in the proton-sucrose symporter is an essential amino acid whose modification with site-directed mutagenesis increases transport activity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 9025-9030.
- [29] LU M-Y J, SAUER N, BUSH D R. *et al.* Site-directed mutagenesis of his 71 in the proton-sucrose symporter, *supp*[J]. *Plant Physiol*, 1997, 114: 958.
- [30] DAVIES C, WOLF T, ROBINSON S P. Three putative sucrose transporters are differentially expressed in grapevine tissues[J]. *Plant Sci*, 1999, 147: 93-100.
- [31] REINDERS A, SCHULZE W, KÜHN C, *et al.* Protein-protein interactions between sucrose transporters of different affinities colocalized in the same enucleate sieve element[J]. *Plant Cell*, 2002, 14: 1567-1577.