

脱落酸、胁迫、成熟诱导基因研究进展

赵宏亮,徐碧玉,金志强

(中国热带农业科学院 生物技术研究所 热带作物生物技术国家重点实验室,中国海南 海口 571101)

摘要:近年来从植物中发现了越来越多的受脱落酸、胁迫、成熟诱导表达的基因,这些 ASR(Abscisic acid, Stress and Ripening inducible)基因参与植物对冷、渗透压、脱落酸处理的胁迫应答已被证实,该类基因也参与植物生命活动的许多方面如果实发育、成熟等。对 ASR 基因的克隆鉴定,以及该基因在胁迫应答和果实成熟方面的作用进行了综述。

关键词: ASR; 胁迫应答; 果实成熟

中图分类号: Q7

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2005)S1-0018-05

Progress on Abscisic Acid, Stress and Ripening Inducible Genes

ZHAO Hong-liang, XU Bi-yu, JIN Zhi-qiang

(State Key Laboratory of Tropical Crops Biotechnology, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology,
Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, Hainan, China)

Abstract: More and more genes whose expressions are inducible by abscisic acid, stress and ripening have been found in plants during these years. It is demonstrated that these abscisic acid, stress and ripening inducible (ASR) genes are involved in plant response to stress, such as cold, osmotic pressure and abscisic acid treatment. As a result, ASR genes are involved in many aspects of plant life such as fruit development and ripening. ASR genes cloning and characterization, roles in stress response and fruit ripening are discussed.

Key words: ASR; stress response; fruit ripening

(Life Science Research, 2005, 9(4): 018 ~ 022)

ASR 基因(脱落酸、胁迫、成熟诱导基因)是近年来从植物中发现的一类基因,从各种植物中分离鉴定出越来越多的 ASR 基因,尽管它的生理作用还不清楚,据报道该基因的表达受冷、渗透压、脱落酸处理等胁迫诱导,在果实的成熟过程中 ASR 也被诱导表达^[1-3]。近来关于 ASR 基因在胁迫应答和果实成熟方面的研究不断深入,本文对

ASR 基因在胁迫应答和果实成熟过程中的表达以及该基因可能具有的功能进行讨论,以期进一步理解植物胁迫应答和果实成熟的机制。

1 ASR 基因的克隆鉴定

自从 Iusem 等(1993)首次用番茄果实 cDNA 文库与灌溉的和水分胁迫的叶子 cDNA 文库进行

收稿日期: 2005-11-18; 修回日期: 2005-12-04

基金项目: 海南省高校优秀中青年教师科研和教学奖励基金

作者简介: 赵宏亮(1978-),男,硕士生,主要从事生物化学与分子生物学方面的研究, E-mail: hnxxzhao@126.com; 金志强(1962-),男,研究员,博士生导师,通讯作者,主要从事热带水果采后保鲜的分子生物学方面的研究, Tel: +86-0898-66890772, E-mail: zhiqiangjin2001@yahoo.com.cn

差异筛选分离了番茄 *ASR₁*后^[4],在不同种植物中克隆了许多 *ASR* 基因,这些植物有单子叶植物、双子叶植物、草和树^[5],其中包括番茄^[1,6-9]、马铃薯^[10,11]、柑橘^[12]、玉米^[13]、松树^[2,14]、杏^[15]、百合^[16,17]、水稻^[3]、梨^[18]、葡萄^[19]等,但令人惊奇的是拟南芥中没有该类基因^[19]。

克隆的 *ASR* 基因的氨基酸序列有许多共同特征。这些 *ASR* 蛋白是一类有高亲水性的小蛋白,推测的氨基酸序列富含组氨酸、谷氨酸、丙氨酸和赖氨酸,缺少半胱氨酸和色氨酸,这些 *ASR* 蛋白的二级结构主要是 α -螺旋,具有核定位信号。几乎所有已知 *ASR* 蛋白包含两个高度保守的区域(如图1):第一个区域是短的 N 端区,大约有 18~21 个氨基酸残基,其中 6~7 个组氨酸残基可能构成一个 Zn 结合位置;第二个区域是较长的 C 端区,大约 80 个氨基酸残基,这个区域高度保守含有 *ASR* 基因共同序列特征 ABA/WDS 序列标签。然而 *ASR* 蛋白也有许多不同之处,这些蛋白的分子质量不同(70~230 个氨基酸)、等电点不同(从碱性到酸性)、组织和器官特异性不同、表达的时期和模式也有所不同,在 *ASR* 多基因家族的垂直同源物和水平同源物中也并不都具有核定位信号^[19]。

2 *ASR* 基因在植物胁迫应答方面的研究

植物基因表达受发育^[20-22]和环境^[23]的调控,水分的利用效率是植物生长过程中的一个主要限制因素,水分胁迫是一个严重的非生物胁迫,它能诱使植物改变大量基因的表达^[23]。水分缺乏能诱导植物发生一系列复杂的反应,首先是植物对逆境的感觉,通过信号转导途径,改变一些基因的表达模式,从而使植物的细胞、生理和发育水平发生改变。胁迫过程中一些基因的表达可能是在细胞质内起作用,通过增强细胞对失去的忍耐性,改变细胞的水势促进水分吸收,控制离子积累,调控基因表达来改变植物的适应性^[23]。基因表达的确切机制还不清楚,但是这些胁迫响应至少是部分受植物激素 ABA 调控的,这种激素在植物缺乏水分时浓度增高^[24]。

干旱和低温胁迫信号通过依赖 ABA 和不依赖 ABA 两条途径调控各种基因的表达^[25]。在依赖 ABA 途径中,*ASR* 基因的表达受 ABA 诱导。在缺水逆境中,松树 *ASR* 基因 *lp3* 不仅在根中被诱导表达,在茎和针叶中也有表达,用灌溉的 ABA 处理的幼苗 Northern 分析表明 *lp3* 基因在根中的

转录量低于缺水胁迫幼苗中的转录量,*lp3* 基因的表达在根中受 ABA 诱导,由此表明 *lp3* 基因在缺水胁迫下的表达部分受 ABA 调控^[2]。水稻中的一个 *ASR* 基因 *OsAsr₁* 在茎中受外源 ABA、盐胁迫、甘露醇诱导上调表达,盐胁迫代表离子渗透胁迫导致 ABA 增加^[26],盐胁迫是通过诱导 ABA 调控,而甘露醇代表非离子渗透胁迫,不导致 ABA 增加,主要是通过不依赖 ABA 途径,这表明了 *OsAsr₁* 基因的诱导表达不只是通过一个信号转导途径^[3]。

另一方面,在不依赖 ABA 途径,*ASR* 基因的表达不受 ABA 诱导。几个基因转录物的积累与马铃薯块茎在低温储藏有关,其中一个基因 *CI21* 与 *ASR* 同源,Northern 分析表明 *CI21* 在冷藏的马铃薯块茎中表达量最高,在茎和根中表达量较低,而在叶和室温储藏的块茎中表达量最低,用热、ABA 和高浓度盐处理对 *CI21* 在块茎和叶子中的转录水平没有明显影响^[11]。马铃薯中早诱导表达的 *DS₂* 基因是 *ASR* 基因家族中的一员,以前研究表明 *DS₂* 基因在马铃薯叶子中是高度脱水特异性表达的,不受冷、热、盐、缺氧、氧化剂胁迫诱导,也不受 ABA 诱导,现在从马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 中克隆的一个 *ASR* 基因 *StDS₂* 对蔗糖和任何植物激素都不响应^[27]。

在胁迫响应过程中,*ASR* 基因并不是严格地局限于依赖 ABA 和不依赖 ABA 两条途径,或许在胁迫过程中不只有一条信号转导途径。对于 *ASR* 基因在胁迫中的作用,一个假设认为 *ASR* 蛋白并不能直接使植物在逆境中存活,而是作为级联事件中的一步,通过改变基因表达的模式使植物适应非生物胁迫^[7]。这或许说明了 *ASR* 蛋白作为共同信号转导途径中的一个下游成分参与植物细胞对各种环境信号的响应。根据 *ASR* 蛋白类似于干旱环境下积累的 LEA 蛋白(晚期胚胎发生丰富蛋白)^[28],另一个假设推测 *ASR* 蛋白的功能可能包括螯合离子,保护其他蛋白或膜,复性未折叠蛋白^[23],报道表明在各种非生物胁迫过程中,大量的 *ASR* 蛋白的积累^[5] 对植物在这些胁迫条件下起潜在的保护作用^[10]。

3 *ASR* 基因在果实成熟中的作用

果实成熟是一个十分复杂的发育过程,包括成熟相关特定基因的表达和果实细胞代谢的特定变化。成熟过程涉及许多生物化学和生理学的改变,包括叶绿素和细胞壁的降解,淀粉转变为糖,

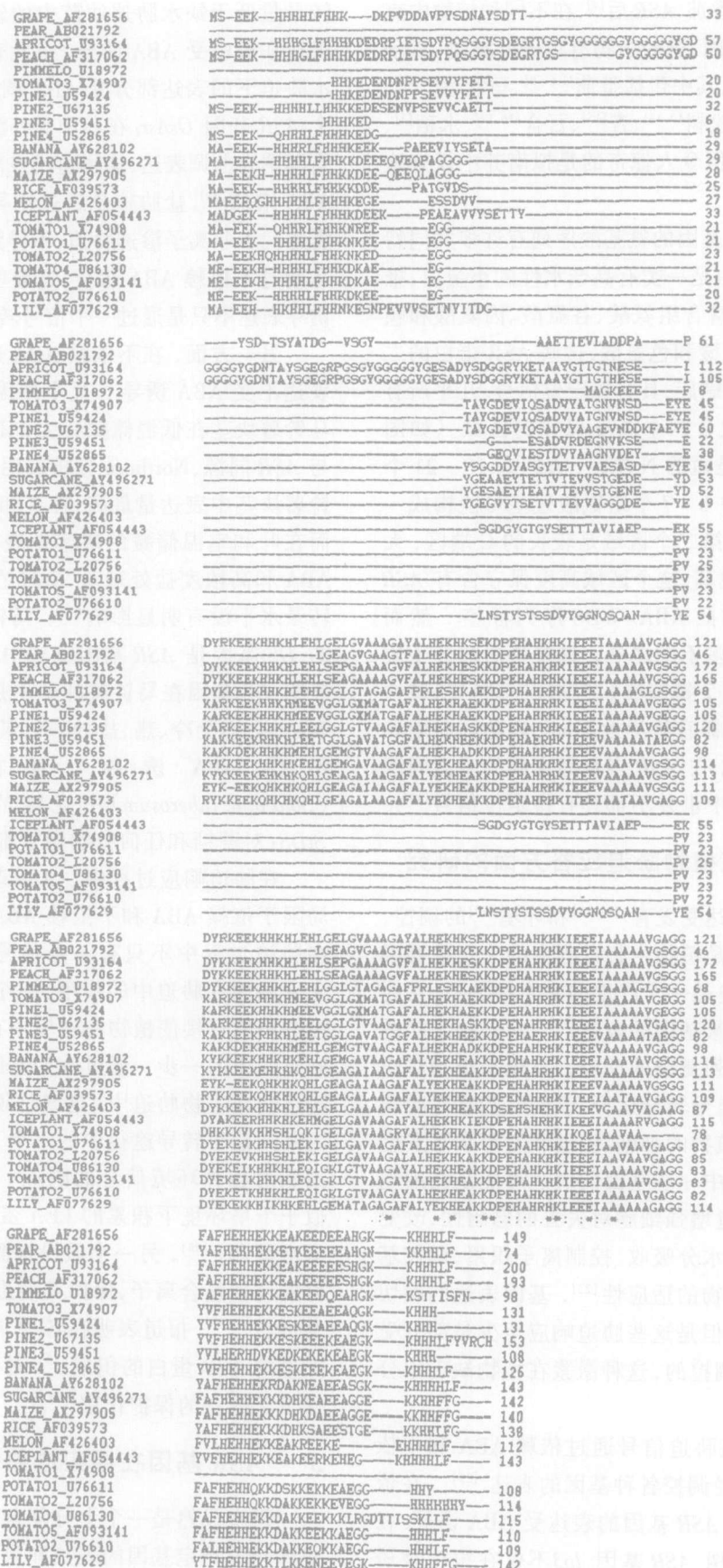


图 1 已知 ASR 蛋白的氨基酸序列对比
Fig. 1 Amino Acid Alignment of Known ASR Proteins from Different Species

色素的合成,以及香味、芳香化合物、多聚不饱和脂肪酸的积累^[29]。根据呼吸和乙烯的生物合成速率,果实被分为两大类:呼吸跃变型和非呼吸跃变型。对于非呼吸跃变型果实如葡萄、柑橘、柚子等,ABA是唯一一种从转色期到成熟后期含量增加的内源激素,这个变化与糖的积累相一致。在葡萄成熟过程中,葡萄中的一个ASR基因*VvMSA*的mRNA在转色期之前开始大量积累,这种信号一直持续到收获时期。Birsen Cakir等(2003)研究发现在座果和转色期之前*VvMSA*基因的转录量最多,在转色期*VvMSA*表达量减少,在成熟后期表达量少量增加^[19]。Camilo Canel等(1995)从未成熟的低酸柚子汁中发现了中度丰富的ASR多肽,这个多肽在相同发育阶段的高酸柚子汁中未被检测到,在根、上胚轴、果皮和未受胁迫的叶子中也未被检测到^[12]。

然而,许多果实属于呼吸跃变型如番茄、香蕉、杏、梨、苹果等,这些果实成熟过程中特定基因的表达受植物激素乙烯的调控^[30]。番茄*Asr₁*基因的表达受发育时期的调控,在成熟过程中*Asr₁*的mRNA增加^[31],番茄中的三个ASR基因在果实的不同发育时期表达量没有明显改变,除了*Asr₂*在转黄期少量减少^[5]。杏中的ASR基因*pAPRI41*从未成熟的绿色期到半熟期mRNA稍微增加,直到全熟期转录水平都比较稳定,此外,该基因在叶、受到伤害的叶子和茎中也有少量表达。*pAPRI41*基因可能不受乙烯调控,因为该基因的表达发生在乙烯合成关键酶—ACC氧化酶的基因表达之前^[15]。从Kikusui梨中分离到的成熟相关ASR基因*PPFRU21*,在成熟的果实中大量表达,用乙烯受体抑制剂1-MCP处理果实发现*PPFRU21*表达量减少,从这个结果暗示了在果实成熟过程中*PPFRU21*的表达可能受乙烯调控^[18]。

ASR蛋白涉及糖和ABA的信号转导,ASR作为转录调控复合物的一部分参与了糖、ABA的代谢和信号转导^[19],这个假说进一步支持了当前的观点:糖信号在植物对生物和非生物胁迫响应中起基本作用^[32]。从以上结果可以看出,ASR基因的表达受乙烯或ABA调控,ASR基因或许在果实发育成熟过程的糖代谢,信号转导中起重要作用。

4 ASR基因的可能功能

尽管从不同种植物中克隆到许多ASR基因,对其编码产物进行了分子鉴定,但是该类基因的

具体生理功能还不清楚,在不同物种中ASR基因表达的器官不同,如番茄、柚子、杏的果实^[12,15,31];番茄、水稻、松树、玉米的根、叶^[3,6,14,33];马铃薯的块茎^[10];百合的花粉^[16]。ASR基因家族的不同成员在不同的器官,不同的条件下有不同的表达模式^[5,12]。番茄ASR₁是植物特异蛋白,因为用FASTA或BLAST搜索除了植物以外的现存数据库,不能搜索到其同源蛋白。ASR₁具有结合特异DNA序列活性,但ASR₁中没有DNA结合蛋白的共同基序—锌指结构^[34],对ASR₁进行序列分析,发现ASR₁不包含任何以前已知的Zn结合基序^[35,36]。因此根据现在的研究结果预测ASR基因的功能是比较困难的,在胁迫应答和果实成熟过程中特定基因的激活和抑制的机制或许是相似的,ASR基因家族的不同成员在该过程中的作用可能是相互关联,相互补充。

根据ASR₁蛋白有依赖于Zn的DNA结合活性,定位于细胞质和细胞核内^[36]。ASR₂可能编码一个转录因子,参与ABA信号转导途径^[37]。ASR蛋白类似于染色体非组蛋白^[4],染色体非组蛋白涉及DNA拓扑结构的改变,染色质高级结构的维持,基因表达的调控^[38]。推测ASR蛋白作为共同信号转导途径中的一步在细胞质内被激活,激活的ASR蛋白被运输到细胞核内结合到DNA上,该蛋白作为转录因子或转录复合物中的一部分通过改变DNA的拓扑结构或染色质的结构调控基因的表达模式,从而在植物胁迫响应和果实成熟中发挥作用。很显然还需要更多的研究来进一步弄清ASR基因家族的生物化学与生理学功能。

参考文献(References):

- [1] GILAD A, AMITAI-ZEIGERSON H, BAR-ZVI D, *et al.* ASR1, a tomato water stress-regulated gene: Genomic organization, developmental regulation and DNA-binding activity [J]. *Acta Horti*, 1997a, 447, 441-453.
- [2] PADMANABHAN V, DIAS D M A L, NEWTON R J. Expression analysis of a gene family in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) induced by water deficit stress [J]. *Plant Mol Biol*, 1997, 35: 801-807.
- [3] VAIDYANATHAN R, KURUVILLA S, THOMAS G. Characterization and expression pattern of an abscisic acid and osmotic stress responsive gene from rice [J]. *Plant Sci*, 1999, 140: 25-36.
- [4] ROSSI M, IUSEM N D. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) genomic clone homologous to a gene encoding an abscisic acid-induced protein [J]. *Plant Physiol*, 1994, 104: 1073-1074.
- [5] MASKIN L, GUBESBLAT G E, MORENO J E, *et al.* Differential expression of the members of the *Asr* gene family in

- tomato (*Lycopersicon esculentum*)[J]. *Plant Sci*, 2001, 161: 739-746.
- [6] AMITAI-ZEIGERSON H, SCOLNIK P A, BAR-ZVI D. Genomic nucleotide sequence of tomato *Asr2*, a second member of the stress/ripening-induced *Asr1* gene family[J]. *Plant Physiol*, 1994, 106(4): 1699-1700.
- [7] AMITAI-ZEIGERSON H, SCOLNIK P A. Tomato *Asr1* mRNA and protein are transiently expressed following salt stress, osmotic stress and treatment with abscisic acid[J]. *Plant Sci*, 1995, 110: 205-213.
- [8] ROSSI M, LJAVETZKY D, BERNACCHI D, *et al.* *Asr* genes belong to a gene family comprising at least three closely linked loci on chromosome 4 in tomato[J]. *Mol Gen Genet*, 1996, 252: 489-492.
- [9] GILAD A, AMITAI-ZEIGERSON H, SCOLNIK P A, *et al.* Genomic nucleotide sequence of the tomato stress/ripening induced *Asr1* gene (Accession No. U86130) (PCR97-042) [J]. *Plant Physiol*, 1997b, 113: 1004.
- [10] SILHAVY D, HUTVAGNER G, BARTA E, *et al.* Isolation and characterization of a water-stress-inducible cDNA clone from *Solanum chacoense*[J]. *Plant Mol Biol*, 1995, 27: 587-595.
- [11] SCHNEIDER A, SALAMINI F, GEBHARDT C. Expression patterns and promoter activity of the cold-regulated gene *ci21A* of potato[J]. *Plant Physiol*, 1997, 113: 335-345.
- [12] CAMILO C, BAILEY-SERRES J N, ROOSE M L. Pummelo fruit transcript homologous to ripening-induced genes[J]. *Plant Physiol*, 1995, 108 (3): 1323-1324.
- [13] SHEN B, CARNEIRO N, TORRES-JEREZ I, *et al.* Single-pass sequencing and mapping of clones from two maize cDNA libraries(accession no. T15295) [J]. *EMBL Data Library*, 1994.
- [14] CHANG S, PURYEAR J D, DIAS MADL, *et al.* Gene expression under water deficit in loblolly pine (*Pinus taeda* L): Isolation and characterization of cDNA clones[J]. *Physiol Plantarum*, 1996, 97: 139-148.
- [15] MBEGUIE-A-MBEGUIE D, GOMEZ R M, FILS-LYCAON B. molecular cloning and nucleotide sequence of an abscisic acid-, stress-, ripening-induced (ASR) -like protein from apricot fruit (Accession No. U93164) [J]. *Gene Expression During Fruit Ripening Plant Physiol*, 1997, 115: 1288.
- [16] WANG C S, LIAU Y E, HUANG J C, *et al.* Characterization of a desiccation-related protein in lily pollen during development and stress[J]. *Plant Cell Physiol*, 1998, 39: 1307-1314.
- [17] CHANG F C, WANG C S. Lily (*Lilium longiflorum*) transcript(Accession No. AF077629) induced by desiccation during pollen development. (PCR99-159)[J]. *Plant Physiol*, 1999, 121: 1057.
- [18] ITAI A, TANABE K, TAMURA F, *et al.* Isolation of cDNA clones corresponding to genes expressed during fruit ripening in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai): involvement of the ethylene signal transduction pathway in their expression[J]. *J Exp Bot*, 2000, 51: 1163-1166.
- [19] BIRSEN C, ALICE A, CECILE G, *et al.* A grape ASR protein involved in sugar and abscisic acid signaling[J]. *Plant Cell*, 2003, 15: 2165-2180.
- [20] GILLAPSY G, BENDAVID H, GRUISSEM W. Fruits-a developmental perspective[J]. *Plant Cell*, 1993, 5: 1439-1452.
- [21] MEEKSWAGNER D R. Gene expression in the early floral meristem[J]. *Plant Cell*, 1993, 5: 1167-1174.
- [22] THOMAS T L. Gene expression during plant embryogenesis and germination: an overview[J]. *Plant Cell*, 1993, 5: 1401-1410.
- [23] BRAY E A. Molecular responses to water deficit[J]. *Plant Physiol*, 1993, 103: 1035-1040.
- [24] ZEEVAART J A D, CREELMAN R A. Metabolism and physiology of abscisic acid[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1988, 39: 439-473.
- [25] SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Gene expression and signal transduction in water-stress response[J]. *Plant Physiol*, 1997, 115: 327-334.
- [26] MOONS A, BAUW G, PRINSEN E, *et al.* Molecular and physiological responses to abscisic acid and salts in roots of salt-sensitive and tolerant indica varieties[J]. *Plant Physiol*, 1995, 107: 177-186.
- [27] R6BERT D, MIH6LY K, GABRIELLA K, *et al.* Conservation of the drought-inducible *DS2* genes and divergences from their ASR paralogues in solanaceous species[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, 43: 269-276.
- [28] DURE L, III CROUCH M, HARADA J, *et al.* Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants[J]. *Plant Mol Biol*, 1989, 12: 475-486.
- [29] GIOVANNONI J. Molecular biology of fruit maturation and ripening[J]. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52: 725-749.
- [30] GRIERSON D. Senescence in fruits[J]. *Hort Science*, 1987, 22: 859-862.
- [31] IUSEM N D, BARTHOLOMEW D M, HITZ W D, *et al.* Tomato (*Lycopersicon esculentum*) transcript induced by water deficit and ripening[J]. *Plant Physiol*, 1993, 102: 1353-1354.
- [32] SMEEKENS S. Sugar-induced signal transduction in plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2000, 51: 49-81.
- [33] RICCARDI F, GAZEAU P, VIENNE D D E, *et al.* Protein changes in response to progressive water deficit in maize[J]. *Plant Physiol*, 1998, 117: 1253-1263.
- [34] LAITY J H, LEE B M, WRIGHT P E. Zinc finger proteins: new insights into structural and functional diversity[J]. *Curr Opin, in Struct Biol*, 2001, 11(1): 39-46.
- [35] VALLEE, B L, AULD, D S. Functional zinc-binding motifs in enzymes and DNA-binding proteins[J]. *Faraday Discuss*, 1992, 93: 47-65.
- [36] YOSHI K, AYELET G, ZVIA K, *et al.* The water- and salt-stress regulated *Asr1* gene encodes a zinc-dependent DNA-binding protein[J]. *Biochemical Journal Immediate Publication*, 2004, 4: 1-26.
- [37] FINKELSTEIN R R, GAMPALA S S, ROCK C D. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings[J]. *Plant Cell*, 2002, 14 (Suppl.): S15- S 45.
- [38] ZLATANOVA I. Histone H1 and the regulation of transcription of eukaryotic genes[J]. *Trends Biochem Sci*, 1990, 15(7): 273-276.