

植物花色苷生物合成的转录调控

吴江 程建徽* 杨夫臣

(浙江省农业科学院园艺研究所, 杭州 310021)

摘要 转录调节是植物花色苷生物合成途径中调节其结构基因表达的重要环节之一。近十多年来, 通过调节转录因子的表达激活或抑制有效地调控植物中花色苷的合成成了众多植物学家研究的重点。现简要介绍了花色苷的合成运输过程与液泡的沉积扣押、转录因子与调控及转录调节在遗传改良中的应用等方面的研究进展。

关键词 花色苷; 生物合成; 转录调控

花色苷是植物体内的类黄酮类次生代谢物质, 是植物着色的主要色素, 常见的有矢车菊素糖苷、飞燕草素糖苷、锦葵色素糖苷、天竺葵素糖苷、芍药素糖苷与矮牵牛素糖苷等6类^[1], 在细胞液泡中不同种类与数量的花色苷积累和贮藏使得植物表现出不同的颜色^[2], 此外, 花色苷也可吸引昆虫传粉, 保护花和果实少受紫外线伤害, 同时还具有潜在的抗氧化、抗癌与抗动脉硬化功能^[3,4]。目前有关花色苷生物合成的研究取得了很大的进展, 参与合成的基因在很多植物上得到了克隆与表达分析。目前的研究表明影响花色苷合成的一类基因是不同种类植物共同具有的结构基因, 如 *CHS*、*CHI*、*F3H*、*DFR*、*ANS*、*GT* 等^[5], 直接编码花色苷代谢生物合成酶; 另一类是转录因子调节基因(或调控基因), 如编码 *MYB*、*MYC*(bHLH)、*WD40*、*WRKY*、锌指蛋白(zinc finger)、同源域蛋白(homeodomain)、*MADS* 蛋白基因家族^[3], 调节着生物合成酶活性、色素积累基因时空表达^[6]。本文简要综述了花色苷的合成运输过程与液泡的沉积扣押、转录因子与调控及转录调节在遗传改良中的应用等方面的研究进展。

1 花色苷的生物合成途径概述

花色苷的生物合成途径在矮牵牛、金鱼草与玉米上已得到了广泛的研究, 通过细胞质和内质网膜上的一系列酶促反应而完成, 然后被有效的运输到液泡中予以固定、积累与贮存, 即花色苷的液泡沉积与扣押。目前植物中花色苷的生物合成途径已经基本明确, 见图1。

有关植物花色苷的运输与液泡沉积方面的机

制还未完全阐明, 现有研究表明: *ABC* 运输转运器、*MATE* 家族蛋白、*VP24* 蛋白参与了这一过程。液泡中沉积花色苷防止紫外线伤害, 这个过程要求谷胱甘肽转移酶 *GST* 的参与^[7], *GSTs* 促进谷胱甘肽结合杂环有机阴离子。谷胱甘肽 *S* 交联结合泵(*GSH S-conjugate pump*)是结合 *ATP* 的 *ABC* 运输转运器, 属于 *MRP* (*multidrug resistance-associated protein*) 亚族蛋白^[8], 在结构上 *MRP* 存在3个跨膜结构域(*transmembrane domain, TMD*), 2个 *ATP* 结合域^[9], *ABC* 转运器通过疏水基团的交互作用结合花

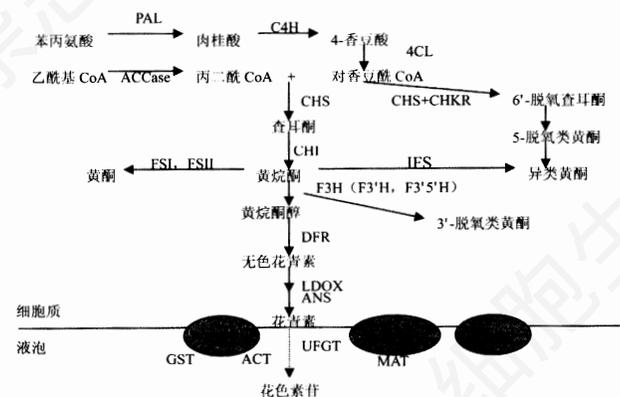


图1 植物花色苷生物合成途径图解^[6]

ABC: *ABC* 运输转运器(*ATP binding cassette transporters*); *MATE*: *MATE* 家族蛋白(*multidrug and toxic compound extrusion family*); *VP24*: *VP24* 蛋白(*a 24-kDa vacuolar protein*); *GST*: 谷胱甘肽转移酶(*glutathione S-transferases*); *ACT*: 花青素酰基转移酶(*anthocyanin acyltransferase*); *UFGT*: *UDP-葡萄糖类黄酮-3-O-葡萄糖转移酶*(*UDP glucose:flavonoid 3-O-glucosyl transferase*); *MAT*: 丙二酰转移酶(*malonyltransferase*)。

收稿日期: 2005-11-03 接受日期: 2006-02-21

浙江省自然科学基金资助项目(No. Y304371)

* 通讯作者。Tel: 0571-86405569; E-mail: jianhuicheng@126.com

表1 几种植物中调控花色苷生物合成的转录因子^[3]

转录因子/ 编码基因	拟南芥	矮牵牛	金鱼草	玉米	紫苏	大丁草	番茄	葡萄	水稻	辣椒
MYB	<i>TT2</i> <i>PAP1</i> 、 <i>PAP2</i>	<i>AN2</i> <i>AN4</i>	<i>AmMYB305</i> <i>AmMYB340</i>	<i>CI</i> 、 <i>PI</i> <i>P</i> <i>Vpl</i>	<i>MYB-PI</i>	<i>GMYP10</i>	<i>ANT1</i> <i>FaMYB1</i>	<i>MybA</i>	<i>OSB1</i>	<i>A</i>
MYC(bHLH)	<i>TT8</i>	<i>AN1</i> <i>JAF3</i>	<i>Delila</i>	<i>R</i> 、 <i>B</i> <i>INI</i> <i>Lc</i> <i>PAC1</i>	<i>MYC-F3G1</i> <i>MYC-GP/RP</i>	<i>GMYC1</i>				
WD40	<i>TTG1</i>	<i>AN11</i>			<i>PFWD</i>					
WKRY	<i>TTG2</i>									
锌指蛋白(Wip)	<i>TT1</i>									
同源域蛋白(HD-GL2)	<i>ANL2</i>									
MADS	<i>TT16</i>									

色苷，然后运送到液泡膜上。玉米 *Bz2* 基因编码谷胱甘肽转移酶 *GST III*，功能分析表明 *Bz2* 基因对花色苷的液泡扣押是必需的，玉米缺失 *bz2*，花色苷不能被运输入液泡而保留在细胞质中^[10]；Goodman 等^[11]研究还表明玉米中 *ZmMrp3* 参与了花色苷的运输过程。在拟南芥上，*TT12* 编码的 MATE 家族蛋白控制着内种皮中原花青素的液泡扣押过程。*VP24*，是一种由 893 个氨基酸组成的前体蛋白，含有多重跨膜结构域，在马铃薯上研究表明光诱导 *VP24* 基因的表达与液泡中花色苷的积累关系密切^[12]。

2 花色苷生物合成的转录调节

2.1 转录因子

目前已从拟南芥、矮牵牛、玉米、紫苏与番茄等植物中分离、鉴定了 MYB、MYC(bHLH)、WD40、WKRY、锌指蛋白、同源域蛋白等调控花色苷合成的转录因子，见表 1。这些转录因子通过与结构基因启动子中含有的能被其识别的顺式作用元件结合，从而激活花色苷生物合成途径中多个基因的表达，有效启动花色苷生物合成途径。此外，这些转录因子多数还具多效性，不仅调控花色苷的生物合成，也还调节其他的生理过程。如矮牵牛转录因子 *AN1* 除了调节花色苷的生物合成外，还在花瓣细胞液泡的酸化和种皮的上表皮形态建成中起着重要作用^[3]；拟南芥 *TTG1*^[14]与 *ANL2*^[15]、紫苏 *PFWD*^[16]等转录因子除了调节控制花色苷的合成外，也还控制着毛状体发育或根外表皮细胞形成。

2.2 结构与功能比较

植物中调控花色苷生物合成的同一类转录因子存在多个基因编码，如拟南芥 *TT2* 基因、矮牵牛 *AN2* 基因、玉米 *CI* 基因与番茄 *ANT1* 基因都编码

MYB 结构域转录因子。从结构上来说，转录因子间存在一定差异。MYB 蛋白含有一段保守的 DNA 结合区域(MYB 结构域)，约由 52 个氨基酸构成，由 1~3 个不完全重复序列(R1~R3)构成，能特异性的结合靶基因启动子。2 个重复 MYB 结构域 R2R3-MYB 参与各种植物中激活花色苷的合成过程；MYC(bHLH)蛋白含有一个螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix)结构域，约由 52 个氨基酸构成；WD40 蛋白在高等真核细胞 G 蛋白 β 亚单位中有 8 个随机重复序列，每个由 40 个氨基酸残基构成。截止目前为止，上述 MYB、MYC(bHLH)与 WD40 等 3 类转录因子的研究较为深入。

在同源性比较方面，同一种植物中控制花色苷合成的转录因子编码基因之间具有同源性，如玉米中编码 MYB 族蛋白 *R* 基因与编码 MYC(bHLH)族蛋白 *CI* 基因序列具有一定同源性；不同植物中控制花色苷合成的转录因子编码基因之间也表现出一定的同源性，如拟南芥 *PAP1* 基因显示与矮牵牛花 *AN2* 基因、玉米 *CI* 基因，紫苏 *F3G1* 基因与玉米 *INI* 基因序列间具有高度同源性^[17]；玉米 *PAC1* 与拟南芥 *TTG1*、矮牵牛 *AN11*、紫苏 *PFWD* 基因的转录因子氨基酸序列间保持了 62% 的同源性^[18]。尽管不同转录因子间具有一定的同源性，但却控制着花色苷合成途径中不同结构基因的表达。如玉米转录因子 *C1*、*R* 调控花色苷合成途径的前期与后期步骤；而金鱼草 *JAF13*、*AN2* 仅诱导后期途径结构基因的转录。Quattrocchio 等^[19]认为这可能是由于不同靶基因启动子序列的进化导致。

不同种类植物转录因子调节花色苷生物合成的作用位点不同。在玉米上，转录因子调控花色苷生物合成途径 *CHS* 与下游 *DFR*、*3GT* 等酶编码

基因的表达; 金鱼草上则调控生物合成途径 *F3H* 与下游 *DFR*、*ANS*、*3GT* 等酶编码基因的表达; 矮牵牛上则是生物合成途径 *DFR* 与下游 *ANS*、*3GT*、*3RT*、*ANS*、*GST* 等多个酶编码基因的表达^[5]; 欧亚种葡萄上 *MYB* 结构域转录因子通过调控生物合成途径之后期阶段 *UFGT* 基因的转录表达参与花色素苷生物合成的调节^[20], 番茄上 *MYB* 结构域转录因子则是通过调控生物合成途径之前期阶段 *CHS* 与后期阶段 *DFR* 基因的转录表达参与花色素苷生物合成的调节^[21]。

2.3 转录调节作用

转录调节是植物花色素苷生物合成途径中调节其结构基因表达的重要环节之一。这些转录因子单独或协作作用调节花色素苷合成途径中结构基因的表达, 从而控制植物体内花色素苷的合成。如在番茄上运用启动子标签技术分离鉴定的转录因子 *ANT1*, 调节番茄果实中花色素苷的积累^[21]; 锌指蛋白 *TT1* 与同源域蛋白 *ANL2* 调节拟南芥中花色素苷的积累^[22]。

2.3.1 直接调节 单子叶植物玉米上, 由 *P* 基因编码的 *MYB* 转录因子其结构域与黄烷酮醇还原酶或 *AI(DFR)* 启动子结合调控着玉米仁中 3'-脱氧类黄酮和韧皮部色素的合成, 这一过程则不需要 *bHLH* 结构的转录因子协作, 单独控制合成途径中结构基因的表达^[23]; 双子叶植物中, 金鱼草 *AmMYB305*、*AmMYB340* 基因的调控表达与玉米中 *P* 基因相似, 不依赖于 *bHLH* 结构的转录因子, 激活合成途径之前期阶段结构基因的表达^[24]。

2.3.2 协作调节 花色素苷的生物合成除直接调节外, 更主要是通过转录因子间的协作而进行的。由于拟南芥基因组小、冗余性低等特点, 有关花色素苷合成的研究较深入, 大多数与色素合成有关的突变体都得到了分离与鉴定。如转录因子 *TTG2*、*TT1* 与 *TTG1*、*TT2*、*TT8* 一起控制着拟南芥中原花色素的合成; *TT2* 基因编码的 *MYB* 蛋白激活后期色素代谢途径, 依赖 *bHLH* 型转录因子 *TT8* 的作用, 协作控制 *DFR* 和 *BAN* 基因的时空表达^[25,26]。在玉米上, *MYB* 型转录因子 *C1 (COLORLESS1)* / *PI (PURPLE LEAF)* 和 *bHLH* 型转录因子 *R(RED)/B (BOOSTER)* 协同诱导花色素苷生物合成途径结构基因的表达^[3]; *Selinger* 等^[27] 研究还表明转录因子 *B/C1* 和 *P* 激活花色素苷生物合成结构基因的表达需要 *PAC1* 的参与。在矮牵牛上, 色素的生物合成途径

至少受到 2 个转录因子的调节^[28], 转录因子蛋白质间的相互作用对控制花色素苷生物合成结构基因的表达是必需的。*AN2* 是一种 *R2R3* 型 *MYB* 结构域转录因子, 瞬间表达分析表明 *AN2* 能与 2 种不同的 *bHLH* 型转录因子 *JAF13* 和 *AN1* 蛋白结合, 共同调节花瓣中花色素苷生物合成途径之后期阶段 *DFR* 位点下游多个酶编码基因的表达^[29]。*Spelt* 等^[30] 在矮牵牛花中研究发现转录因子 *AN1* 启动 *DFR* 基因的表达受 *AN2* 与 *AN4* 的调节, 除此以外, 由 *AN11* 基因编码的细胞质重复序列蛋白 *WD40* 对花色素苷的积累也是必需的, 作用于 *AN2* 的上游。

2.4 转录调节在植物遗传改良中的应用

植物的遗传改良, 尤其是提高有用次生代谢物质含量是近十多年来生物学界研究的焦点之一, 植物花色素苷因其对人体具有抗氧化、抗动脉硬化等保健功能, 越来越受到植物学家的重视^[4,31]。近年来, 利用基因工程技术, 通过调节转录因子基因的表达激活花色素苷合成途径中多个结构基因的协同表达, 或将从特定植物中分离的转录因子基因在另外不同的植物中进行转化, 有效地提高或降低转基因植物中花色素苷的含量, 达到改变颜色的目的^[32], 这些研究工作近年来得到了相继展开。*Mathews* 等^[33] 将转录因子调节基因 *ANT1* 转入番茄品种 *Micro-Tom* 中发现, 植株与果实表现出不同的颜色显型, 花色素苷含量最高达 3 574 $\mu\text{g/g}$ 鲜重, 相当于野生型的 500 倍, 进一步研究表明 *CHS*、*DFR*、*GST* 基因的表达与 *ANT1* 转录相关。把玉米花色素苷合成的 *MYC(bHLH)* 转录因子调节基因 *Lc* 转入苜蓿中, 在强光和低温条件培养下, 转化植株中 *CHS*、*F3H* 基因的表达较野生型明显加强, 花色素苷大量积累, 植株表现紫红色^[34]。*Elomaa* 等^[35] 将大丁草转录因子调节基因 *GMYB10* 置于 *CaMV35S* 启动子之下转入烟草中, 转基因植株径、叶、花萼、花粉囊、子房壁均较对照积累大量花色素苷, 颜色发生改变。*Quattrocchio* 等^[28] 将玉米花色素苷生物合成转录因子调节基因 *C1* 和 *Lc* 转入矮牵牛之后, 得到红色的愈伤组织和粉红色花冠。

转录因子调节基因的表达能表现出正向与反向的双重作用。*Aharoni* 等^[36] 运用 *EST* 标签技术从草莓中分离出的 *FaMYB1* 基因编码一个相对较短的 *MYB* 蛋白, 该基因在转色、成熟和过熟的果实中表达, 转入烟草过量表达后, 转化植株花瓣中花色素苷合成酶 *ANS*、*GT* 的活性降低, 其基因表达受到抑制,

花色素苷积累明显减少, 花冠由粉红色变为白色。

3 小结

近十多年来, 有关花色素苷生物合成的结构基因和转录因子调节基因在分子结构和基因表达方面的研究取得了很大的进步。尤其是合成途径末期步骤中如 ANS 修饰酶、载体运输、液泡沉积与 CHS、CHI、ANS 三维结构方面的研究给阐明花色素苷等类黄酮类次生代谢物质的生物合成提供了新的信息^[32]。然而, 有关花色素苷生物合成的液泡扣押与沉积, 转录因子蛋白质是如何相互作用来协作调节花色素苷生物合成等方面的研究尚处于起步阶段, 仍有待于进一步阐明。相信随着分子生物学与蛋白质组学的发展, 转录因子的进一步分离、鉴定, 以及基因工程技术应用, 将有利于通过调节转录因子编码基因的表达激活或抑制, 有效地调控植物中花色素苷合成工作的开展, 实现改良植物遗传性状的目标。

参考文献(References)

- [1] Tian Q *et al.* *J Chromatogr A*, 2005, **1091**: 72
- [2] Kim SH *et al.* *Plant Sci*, 2003, **165**: 403
- [3] Springob K *et al.* *Nat Prod Rep*, 2003, **20**: 288
- [4] Bagchi D *et al.* *Biochemistry(Mosc)*, 2004, **69**: 75
- [5] Holton TA *et al.* *Plant Cell*, 1995, **7**: 1071
- [6] Jaakola L *et al.* *Plant Physiol*, 2002, **130**: 729
- [7] Marrs KA *et al.* *Nature*, 1995, **375**: 397
- [8] Theodoulou FL. *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1465**: 79
- [9] Borst P *et al.* *Biochim Biophys Acta*, 1999, **1461**: 347
- [10] Alfenito MR *et al.* *Plant Cell*, 1998, **10**: 1135
- [11] Goodman CD *et al.* *Plant Cell*, 2004, **16**: 1812
- [12] Xu W *et al.* *Plant Physiol*, 2001, **125**: 447
- [13] Spelt C *et al.* *Plant Cell*, 2002, **14**: 2121
- [14] Walker AR *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 1337
- [15] Kubo H *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 1217
- [16] Sompornpailin K *et al.* *Plant Mol Biol*, 2002, **50**: 485
- [17] Burr FA *et al.* *Plant Cell*, 1996, **8**: 1249
- [18] Carey CC *et al.* *Plant Cell*, 2004, **16**: 450
- [19] Quattrocchio F *et al.* *Plant J*, 1998, **13**: 475
- [20] Kobayashi S *et al.* *Planta*, 2002, **215**: 924
- [21] Mathews H *et al.* *Plant Cell*, 2003, **15**: 1689
- [22] Kubo H *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 1217
- [23] Sainz MB *et al.* *Plant Cell* 1997, **9**: 611
- [24] Moyano E *et al.* *Plant Cell*, 1996, **8**: 1519
- [25] Nesi N *et al.* *Plant Cell*, 2001, **13**: 2099
- [26] Nesi N *et al.* *Plant Cell*, 2000, **12**: 1863
- [27] Selinger DA *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 5
- [28] Quattrocchio F *et al.* *Plant Cell*, 1993, **5**: 1497
- [29] Quattrocchio F *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 1433
- [30] Spelt C *et al.* *Plant Cell*, 2000, **12**: 1619
- [31] Acquaviva R *et al.* *Cell Biol Toxicol*, 2003, **19**: 243
- [32] Winkel-Shirley B. *Plant Physiol*, 2001, **126**: 485
- [33] Mathews H *et al.* *Plant Cell*, 2003, **15**: 1689
- [34] Ray H *et al.* *Plant Physiol*, 2003, **132**: 1448
- [35] Elomaa P *et al.* *Plant Physiol*, 2003, **133**: 1831
- [36] Aharoni A *et al.* *Plant J*, 2001, **28**: 319

Transcriptional Regulation of Anthocyanin Biosynthesis in Plants

Jiang Wu, Jian-Hui Cheng*, Fu-Chen Yang

(Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Science, Hangzhou 310021, China)

Abstract Transcriptional regulation is one of important steps regulating structure genes expression of anthocyanin biosynthetic pathway in plants. During last ten years, regulating anthocyanin biosynthesis by activation or repression of transcription factor has become research emphasis of many botanist. Carry on the introduction to the process of anthocyanin biosynthesis and transportation, vacuolar deposition and sequestration, transcription factors and regulatory role, and application of transcriptional regulation to plant genetic improvement.

Key words anthocyanin; biosynthesis; transcriptional regulation

Received: November 3, 2005 Accepted: February 21, 2006

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.Y304371)

*Corresponding author. Tel: 86-571-86405569, E-mail: jianhuicheng@126.com