

# 植物纤维素合酶

田爱梅<sup>1\*</sup> 许丽爱<sup>2</sup> 陶贵荣<sup>1</sup> 于 晖<sup>2</sup> 苏丽艳<sup>1</sup> 曹家树<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>西安文理学院生物与环境工程学院, 西安 710065; <sup>2</sup>浙江大学蔬菜研究所, 杭州 310058)

**摘要** 纤维素合酶与类纤维素合酶构成一个庞大的超基因家族。纤维素合酶基因在植物的不同组织及不同的发育时期, 表达种类和表达量都存在差异。不同组织或不同细胞壁发育时期, 不同的纤维素合酶与类纤维素合酶参与合成不同类型的纤维素和半纤维素。此外, 纤维素合酶在花粉发育过程中行使着重要的功能, 但它们确切的功能以及不同的纤维素合酶之间的相互作用关系尚不明确。因此, 研究纤维素合酶基因的功能及其作用机制具有非常重要的现实意义。该文介绍了目前这一领域内分类与功能方面的研究进展, 为进一步研究纤维素合酶在植物中的作用机制提供新的线索。

**关键词** 纤维素合酶; 类纤维素合酶; 功能

## Cellulose Synthase in Higher Plants

Tian Aimei<sup>1\*</sup>, Xu Liai<sup>2</sup>, Tao Guirong<sup>1</sup>, Yu Hui<sup>2</sup>, Su Liyan<sup>1</sup>, Cao Jiashu<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Biological and Environmental Engineering, Xi'an University, Xi'an 710065, China;

<sup>2</sup>Institute of Vegetable Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

**Abstract** Cellulose synthase and cellulose-synthase-like protein constitute a large cellulose synthase genes superfamily. Increasing studies showed that different members of cellulose synthase genes family exhibit a wide range of expression profiles throughout the developing plant. Different types of cellulose and hemicellulose are involved in the synthesis of different cellulose synthase and cellulose-synthase-like protein. In addition, cellulose synthase plays an important role in pollen development. However, their precise biological function and the interaction among them *in vivo* still remain unclear. Thus, it is very essential to study the function and mechanism of cellulose synthase gene. In this review, we described recent progresses of classification and molecular biology of cellulose synthase and cellulose-synthase-like protein referring to the results of our investigation. The further study may also facilitate us to fully understand their mechanism of action in plant.

**Keywords** cellulose synthase; cellulose synthase-like protein; function

细胞壁作为植物细胞的重要组成成分, 在植物整个生长发育与进化过程中起着十分重要的作用。因此, 有关植物细胞壁合成与修饰分子调控机理的研究一直是植物发育生物学热点领域之一。纤维素是植物细胞壁初生壁和次生壁的主要组成成分, 而

植物的细胞壁是由葡萄糖苷多聚物结晶而成的微纤丝组成, 微纤丝的纤丝角度决定着细胞的伸长方向。因此, 从某种角度来看, 纤维素决定着植物的外观形态<sup>[1-2]</sup>。纤维素是由D-葡萄糖通过 $\beta$ -1,4糖苷键连接而成的一种线性葡聚糖。很多实验证据表明,

收稿日期: 2016-07-28 接受日期: 2016-11-22

国家自然科学基金(批准号: 31372083)和陕西省自然科学基金(批准号: 2014JM2-3022)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 029-88241902, E-mail: tianaimei@126.com

Received: July 28, 2016 Accepted: November 22, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31372083) and the Natural Science Foundation of Shaanxi Province (Grant No. 2014JM2-3022)

\*Corresponding author. Tel: +86-29-88241902, E-mail: tianaimei@126.com

网络出版时间: 2017-02-23 17:08:53 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170223.1708.002.html>

植物纤维素的生物合成是由植物纤维素合酶亚基A(*cellulose synthase A*, *CesA*)组成的纤维素合酶复合体(Rosette)和其他酶共同完成的一个复杂过程<sup>[3-5]</sup>,同时也是纤维纤维素合成基因、非纤维素多糖合成基因以及结构蛋白与非结构蛋白基因等在细胞发育信号调控下进行协同表达、相互作用的过程<sup>[6]</sup>。

近年来,人们相继从拟南芥、玉米、杨树、水稻、棉花等植物中克隆到纤维素合酶基因<sup>[7-11]</sup>。随着相关研究的深入以及植物基因组大规模测序的进行,更多的纤维素合酶编码基因将会被发现。纤维素的生物合成依赖纤维素合酶基因家族。纤维素合成受严格而又复杂的转录调控系统协同调控,植物中除了*CesA*家族之外还有类纤维素合酶(*cellulose synthase-like protein*, *Csl*)家族参与纤维素的合成。众多的纤维素合成相关基因中,每一个基因都有其特殊的作用和功能,同一家族中不同的基因需要在不同的时间和空间表达。已有研究发现,不同的纤维素合酶基因分别在细胞初生壁和次生壁合成时期起不同的作用<sup>[8-12]</sup>。但纤维素合酶基因的确切功能和不同的纤维素合酶的相互作用关系以及表达调控机制尚未研究清楚,因此,探讨纤维素合酶基因的功能及其作用机制具有重要的现实意义。前人在纤维素的合成、纤维素合酶及其相似蛋白的结构、定位以及影响纤维素合成的关键调控因子方面进行了总结<sup>[2-6]</sup>。本文就植物纤维素合酶基因超家族的特征、纤维素合酶基因的表达模式、功能进行了全面系统的分析,并进一步对植物纤维素合酶及其相似蛋白在花粉发育中的功能进行了深入的阐述,以期今后深入探讨植物纤维素合酶基因的作用机制提供参考。

## 1 纤维素合酶基因超家族

由于纤维素合酶亚基A(*CesA*)有多基因现象的存在,所以它与大量的类纤维素合酶(*Csl*)构成了一个庞大的超基因家族。研究发现,纤维素合酶在质膜上催化纤维素的生物合成,而类纤维素合酶是在高尔基体体腔中介导半纤维素合成的,而后再运出细胞壁<sup>[10]</sup>。所有的*CesA*与*Csl*蛋白质都具有跨膜蛋白的特征,在N-端与C-端具有2个或多个跨膜区域,其中间为亲水胞内区,*CesA*与*Csl*蛋白之间最大的同源性就出现在胞内区。*Csl*和*CesA*基因具有很高的序列相似性,它们编码的蛋白质都具有糖基转移

酶的活性<sup>[11]</sup>;此外,它们还包含一个酶的催化位点:D-D-D-QXXRW模体。而*Csl*和*CesA*之间最大的区别是*Csl*家族缺少锌指模体结构。*CesA*蛋白中的锌指结构是用来维持纤维素合成过程中*CesA*复合体的稳定性的,纤维素的合成必须在*CesA*蛋白质复合体的作用下完成;*Csl*不具有锌指结构,因而人们推测类纤维素的合成很可能不需要*CesA*蛋白质复合体这样的结构,单一的*Csl*蛋白质也具有催化类纤维素主链合成的活性<sup>[12-13]</sup>。

### 1.1 纤维素合酶家族

一般纤维素合酶基因的大小为3.5~5.5 Kb,有9~13个内含子,序列同源性为53%~98%。纤维素合酶基因内含子和外显子的边界区域是高度保守的,基因结构的差异主要在于内含子的多少<sup>[14]</sup>。通过对已知植物的*CesA*氨基酸序列相似性比较,发现植物纤维素合酶具有一些共同的结构特征:植物纤维素合酶是一个由36个单体组成的玫瑰状复合体,其单体主要由植物*CesA*基因家族成员编码,纤维素合酶包含有8个跨膜结构域,分别处于*CesA*蛋白质序列的两端。植物*CesA*蛋白质的N-端具有锌指结构或LIM(*lin-11 isl-1 mec-3*)结构域,该结构域内具有非常保守的重复序列CXXC(半胱氨酸-X-X-半胱氨酸),该序列可以与DNA结合,对于维持纤维素合酶复合体的稳定性具有重要作用,同时与*CesA*蛋白各亚基之间的相互作用有关。另外,植物纤维素合酶包含有2个高突变区<sup>[15-16]</sup>。

生物体内催化纤维素合成的蛋白质首先从木醋杆菌中鉴定出来<sup>[14]</sup>。1996年,Pear等<sup>[17]</sup>从棉纤维中鉴定出了第一个植物纤维素合酶基因。随着拟南芥基因组测序的完成,拟南芥中10多个*CesA*基因被鉴定出来。到目前为止,已经从多种植物中鉴定出了*CesA*基因,在毛果杨(*Populus trichocarpa*)中就鉴定出了18个*CesA*基因,这些基因共同组成了纤维素合酶基因家族<sup>[12]</sup>。纤维素合酶基因家族在植物中广泛存在(表1)。目前,纤维素合酶基因家族中拥有来自40多个不同植物的1400多个相关序列,新的序列还在不断增加。而植物体中数目繁多的纤维素合酶基因可能是进化过程中染色体复制的结果,这些基因之间如何协调表达尚不清楚。

### 1.2 类纤维素合酶家族

除了纤维素合酶之外,植物体内还有一些类纤维素合酶也被鉴定出来。2000年,Richmond等<sup>[18]</sup>以

表1 部分被子植物中纤维素合酶和类纤维素合酶基因家族成员数

| Table 1 The number of gene members in Cesa and Csl family in some of the angiosperm plants |          |                                  |          |
|--|----------|----------------------------------|----------|
| 物种名称   | Cesa/Csl | 物种名称                             | Cesa/Csl |
| Species name   | Cesa/Csl | Species name                     | Cesa/Csl |
| <i>Brassica napus</i>  | 24/101   | <i>Nicotiana sylvestris</i>      | 7/31     |
| <i>Arabidopsis thaliana</i>  | 15/52    | <i>Solanum pennellii</i>         | 7/30     |
| <i>Brassica oleracea</i>   | 12/44    | <i>Nicotiana tomentosiformis</i> | 7/31     |
| <i>Brassica rapa</i>   | 12/41    | <i>Oryza sativa</i>              | 6/41     |
| <i>Medicago truncatula</i>   | 8/57     | <i>Cucumis melo</i>              | 5/35     |
| <i>Zea mays</i>  | 18/35    | <i>Citrus sinensis</i>           | 4/28     |

拟南芥*AtCes1*基因及棉花纤维素合酶多肽氨基酸序列为初始序列,找到了31个高度相关的基因序列,其编码产物与*AtCesA*具有结构上的相似性。由于它们的功能目前还不清楚,因而命名为类纤维素合酶蛋白质(Csl)。

类纤维素合酶家族中存在多个保守域,这些保守域的蛋白质序列决定了该酶的特定功能,这表明它们在进化上的亲缘关系极其相近<sup>[8]</sup>。在拟南芥、水稻、烟草、杨树等多种植物中已发现类纤维素合酶基因有A、B、C、D、E、F、G、H等8个庞大的基因家族。同拟南芥类似,从毛果杨中鉴定出的30个*Csl*基因,分为*PtCslA~E*和*PtCslG*等6个亚族。除了数目不同,2个物种中的*Csl*基因很相似,都含有双子叶植物特异的*Csl*基因家族。对*CslA*的免疫定位研究表明,它们位于细胞质中(如高尔基体),并在高尔基体内介导了半纤维素主链的合成<sup>[14,19]</sup>。水稻中的*CslF*基因被转移到拟南芥中后,发现*CslF*催化了牧草和谷类植物细胞壁所特有的(1→3、1→4)-β-D-葡聚糖的合成<sup>[12]</sup>。Richmond等<sup>[18]</sup>通过对拟南芥的6个*Csl*基因进行序列分析发现,*CslA*、*CslB*、*CslG*和*CslE*基因亚家族的内含子和外显子结构高度保守,推测它们很可能由同一个基因进化而来。

## 2 植物纤维素合酶基因的表达

### 2.1 表达模式

纤维素合酶基因主要受转录水平的调控,其在植物的不同组织及不同的发育时期,表达种类和表达量都存在差异。拟南芥*AtCesA1*几乎在植物的各个部位都表达,而*AtCesA9*仅在叶片和茎的连接处和胚的发育过程中表达,且*AtCesA1*的表达量远远高于*AtCesA9*<sup>[20]</sup>。Holland等<sup>[21]</sup>利用RT-PCR对玉米植株不同部位的*CesA1*、*CesA9*基因的mRNA进行半定量分析发现,每个基因在不同区域表达水平是不同的。

其次,不同的*CesA*基因在植物不同部位的表达模式也不一样,如*AtCesA7*仅在木质部表达,而*AtCesA7*在叶片上几乎不表达。研究发现,在同一个细胞中有多个*CesA*表达,如在根和其他伸长区的细胞中*AtCesA1*、*AtCesA2*、*AtCesA3*、*AtCesA5*、*AtCesA6*同时表达<sup>[20-21]</sup>,而*AtCesA4*、*AtCesA7*、*AtCesA8*表现出相同的表达模式,都仅在木质部的细胞中表达。因而人们推测,*AtCesA1*、*AtCesA2*、*AtCesA3*、*AtCesA5*、*AtCesA6*与细胞初生壁的形成相关,而*AtCesA4*、*AtCesA7*、*AtCesA8*与细胞次生壁的形成相关。

### 2.2 外界环境对*CesA*基因表达的影响

外界环境的变化对不同的*CesA*的表达影响程度也不一样,如在有光的盐胁迫条件下*AtCesA1*、*AtCesA3*、*AtCesA4*、*AtCesA6*中只有*AtCesA1*的表达量减少了1/3,而其他3个基因的表达量不变。在有光的条件下,经乙烯处理的拟南芥中仅有*AtCesA1*、3的表达量提高了3倍,而其他基因的表达量没有变化<sup>[18]</sup>。在黑暗处理得到的黄化苗茎部,*AtCesA2*、*AtCesA3*、*AtCesA5*的表达量远低于叶片中的表达量,而*AtCesA4*、*AtCesA6*、*AtCesA7*在黄化苗茎部的表达量远高于叶片,而*AtCesA1*在二者中的表达量是一致的。此外,*AtCesA1*、*AtCesA3*、*AtCesA6*在空间上的表达模式是一样的,但其时间上的表达水平却不同。可见,不同的*CesA*基因是由不同的调控因子调控的。纤维素的生物合成需要多个纤维素合酶基因的共同参与。植物纤维素合酶基因表达的分析表明,在同一个细胞的同一个发育期有多个植物纤维素合酶基因同时表达<sup>[22]</sup>。

对拟南芥的纤维素合酶基因的功能分析发现,拟南芥的纤维素合酶基因*CesA1*、*CesA2*、*CesA3*可能共表达,组合在一个纤维素复合体中参与纤维素的生物合成,主要与细胞初生壁的合成相关<sup>[22]</sup>。在水

稻中已证实,与以上3个基因同源的3个水稻纤维素合酶基因也精确地在同一个细胞中表达,组合在同一个纤维素合酶复合体中,与次生壁的形成有关<sup>[22]</sup>。最近,通过大量的转录分析明确了拟南芥纤维素合酶基因家族中有两个共表达的基因家族<sup>[23-25]</sup>,进一步证实,在植物体内多个纤维素合酶基因共同参与纤维素生物合成的可能。但无论是拟南芥还是杨树的*CsI*基因,它们的表达水平都要比*CesA*低很多,这与纤维素与半纤维素在次生木质部中占的组分是一致的。Suzuki等<sup>[26]</sup>对毛果杨*CsI*基因的表达分析发现,与*CesA*基因类似,*CsI*基因也具有组织特异性表达,*PtCslA1*、*PtCslA2*、*PtCslA5*和*PtCslD6*在发育的木质部表现出很强的优先表达,而*PtCslC1*和*PtCslC4*具有芽尖组织的特异性表达。

### 3 植物纤维素合酶的功能

不同组织或不同细胞壁发育时期,由不同的纤维素合酶参与合成不同类型的纤维素。目前研究表明,不同纤维素合酶可能与不同组织、细胞及不同细胞壁层的纤维素合成有关<sup>[25-28]</sup>。植物细胞壁突变体的发现与研究使潜在的植物纤维素合酶基因功能的验证成为可能。

#### 3.1 纤维素合酶的功能

近年来,科学家采用了多种技术手段,在拟南芥纤维素合酶基因的的定位、表达和功能的研究上取得了一定的进展。迄今为止,在拟南芥中已发现10个纤维素合酶基因,其中已获得6个基因的突变体(*AtCesA1*、*AtCesA3*、*AtCesA4*、*AtCesA6*、*AtCesA7*和*AtCesA8*),各突变体均有特殊的表型,不同程度地影响纤维素的合成量和细胞壁的结构<sup>[29-31]</sup>。在拟南芥中*AtCesA1*、*AtCesA3*和*AtCesA6*基因参与了初生细胞壁的组成与纤维素合成<sup>[32-33]</sup>。在纤维素合酶家族中,*AtCesA1*是合成纤维素所必需的,另外,*AtCesA3*与*AtCesA6*的功能缺失突变体也会导致纤维素的减少,但不会引起其他的生理表型<sup>[30,33-34]</sup>。虽然这些*CesA*基因共表达并且存在功能上的冗余,但单基因缺失仍然会导致植株纤维素含量减少<sup>[35-36]</sup>。*AtCesA4*、*AtCesA7*和*AtCesA8*的功能缺失突变体除了表现出次生细胞壁纤维素含量降低,通常还伴随木质部结构的改变。进一步的分析发现,*AtCesA4*、*AtCesA7*和*AtCesA8*是共表达的,并且这3个蛋白质两两彼此互作<sup>[35,37-38]</sup>。

伴随着分子生物学的发展,*CesA*家族陆续在棉花、杨树、苧麻、玉米、大麦和水稻等其他植物中发现<sup>[36,39]</sup>。Burton等<sup>[39]</sup>将*CesA*基因转化到烟草中进行功能分析,发现转基因植株表现出节间缩短、小叶和侏儒症状,叶表面由于缺少纤维素而表现为细胞膨胀,叶片的多聚糖含量降低了25%。*CesA*基因的转录水平降低,表明*CesA*基因片段沉默了一个或多个纤维素合酶基因的表达<sup>[39-40]</sup>。杨树中*PtCslA*亚家族含有*PtCCslA1*~*PtCslA5*等5个成员,其中*PtCslA1*具有 $\beta$ -甘露聚糖合酶(endo-1,4- $\beta$ -mannanase, ManS)和 $\beta$ -葡甘露聚糖合酶( $\beta$ -glucomannan synthase, GlcManS)的活性,*PtCslA3*具有特异的ManS活性,而*PtCslA5*既没有ManS也没有GlcManS的活性<sup>[41]</sup>。由此看来,杨树次生木质部的葡甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖是由*CsIA*催化合成的,但半纤维素中最丰富的木聚糖是否也由类纤维素合酶催化合成,由哪种类纤维素合酶催化合成,目前还尚不明确。在水稻中,也有研究发现,*CsIA*家族成员与甘露聚糖、葡甘露聚糖合成相关。*CsIC*家族主要参与到木葡聚糖的合成<sup>[42-43]</sup>。*CsID*家族与细胞的延伸、扩张、细胞的扩增和分裂密切相关。*CsIG*基因家族被普遍认为与细胞壁内多糖的合成相关<sup>[44]</sup>。苧麻*BnCesA1*基因转入烟草后抑制了细胞壁纤维素的合成,使纤维素含量下降,妨碍了细胞壁纤维素的沉积,从而导致细胞壁厚度减小,进而造成了细胞形态发生改变<sup>[45]</sup>。通过转基因手段对毛白杨纤维素合酶*PtoCesA1*功能分析发现,转基因杨树表现为成熟植株瘦小、次生木质部厚度和纤维细胞壁厚度减小以及茎纤维素含量下降等特征<sup>[1]</sup>,说明*PtoCesA1*的基因功能是参与次生木质部次生壁的纤维素的合成。

#### 3.2 类纤维素合酶的功能

大多数的类纤维素合酶位于半纤维素合成的场所高尔基体中。类纤维素合酶包含有典型的 $\beta$ -糖基转移酶,它们可能催化非纤维的多聚糖(半纤维素的骨架)的合成。类纤维素合酶被划分为9个亚家族(*CsIA*~*CsIH*和*CsIJ*),其中*CsID*亚家族在陆生植物中普遍存在,在9个*CsI*亚家族中,它显示了与纤维素合酶基因高度的序列相似性,表明了它在植物发育中具有重要的功能。到目前为止,在拟南芥中存在6个*CsID*基因,玉米中发现5个,水稻中发现5个。且已在拟南芥、杨树、水稻中证实了几个类纤维素合酶也直接参与纤维素的生物合成<sup>[46-47]</sup>。Samuga等<sup>[48]</sup>利用

定量PCR技术发现, *PtrCslD2*基因在杨树木质部细胞的次生壁中有较高的表达, 推测其对杨树木质部基质多糖的合成有重要作用。Burton等<sup>[39]</sup>报道了水稻*CslF*基因家族在植物细胞壁形成和生长发育中具有重要作用。在旱金莲花(*Tropaeolum majus*)中发现, *Csl*与I型初生细胞壁的半纤维素主要成分木葡聚糖(xyloglucan, XyG)的-1,4-glucan骨架合成有关, 该基因与拟南芥*CslC4*高度同源。目前, *Csl*基因家族功能研究只有少数的报道, 绝大多数的*Csl*基因功能有待进一步探索。研究表明, 不同纤维素合酶可能与不同组织细胞及不同细胞壁层的纤维素合成有关<sup>[46-48]</sup>。揭示不同纤维素合酶的确切功能还有待于进一步的精细研究, 而对类纤维素合酶功能的了解则更少。

### 3.3 植物纤维素合酶及其相似蛋白质在花粉发育中的功能

雄配子体发育是被子植物有性生殖过程中的一个重要环节, 因而近年来植物花粉发育突变体的研究备受关注。近年来, 在拟南芥、玉米等植物中发现了好多个*Csl*基因突变体。系统进化分析显示, 这些基因被进一步分成3个分支, 第一分支包括*AtCslD1*和*AtCslD4*, 特异表达在花粉中, 其突变体有花粉发育的缺陷; 第二分支包括*AtCslD2*、*AtCslD3*、*OsCslD1*和*ZmCslD5*, 高表达在除了根尖外的其他根组织中, 其突变体在根须发育上缺陷。第三分支包括*AtCslD5*、*OsCslD4*和*ZmCslD1*, 其突变体表现出植物生长减少。*AtCslD5*表达在除了根尖外的其他根组织、高表达在茎间。不同的表达模式与不同的突变表型相一致<sup>[41,49]</sup>。

Liu等<sup>[50]</sup>对拟南芥花粉中特异表达的类纤维素合酶D亚家族的成员*CslD1*和*CslD4*在调控花粉管生长中的功能特征进行了研究, 发现上述这2个基因均在成熟的花粉粒和花粉管中高表达, 它们编码的蛋白产物定位在高尔基体, 然后被运输到合成纤维素的花粉管顶端质膜区域。*CslD1*和*CslD4*的突变体植株表现出花粉管细胞壁的纤维素沉积明显降低, 而且花粉管细胞壁层序的组织性被明显打破, 因而影响花粉管的萌发和生长以及雄配子体的传递率。在*CslD1*和*CslD4*的突变体以及它们的双突变体中都表现出相似的表型: 无论是在体内还是在体外花粉管生长都不能正常伸长, 大多数在顶端发生爆裂。遗传和表型分析的结果也说明, *CslD1*和*CslD4*彼此功能不是冗余的, 可能是以复合体的形式发挥功能。

进一步分析认为, *CslD1*和*CslD4*在花粉管的生长中发挥重要的功能, 可能是通过参与花粉管壁的纤维素合成来实现的。

近年来, 多个*CslD*突变体在其他植物中已被分离。Doblin等<sup>[51]</sup>研究发现, 烟草*NaCslD1*基因在花粉管中高度表达且花粉管细胞壁几乎完全由胼胝质和纤维素组成, 并推测*NaCslD1*基因可能是编码花粉管纤维素合成的特异基因。在水稻中*SLE1*(slender leaf 1)编码水稻*OsCslD4*蛋白, *SLE1*突变体在花粉形成、花药开裂、气孔形成在不同组织中的细胞重排表现出严重的发育缺陷<sup>[52]</sup>。*SLE1*突变体表现出花药不正常的发育, 花粉粒畸形。因此, *SLE1*突变体不仅在细胞数目和大小上发生了变化而且在细胞形状和组织分化方面也受到了影响。在*SLE1*突变体中, 几乎没有花药开裂、柱头上几乎没有花粉粒。通常花药开裂的驱动力来源于药室内壁细胞的纤维结构, 即药室腔的发育和隔膜的破裂是开裂所必需的。在*SLE1*突变体中, 药室内壁的纤维结构和开裂所必需的药室腔发育不完全, 因此*SLE1*基因的功能与这些结构的发育有关。双靶原位杂交和定量PCR分析发现, *SLE1*特异表达在细胞分裂循环的M期。这表明了在*SLE1*突变体中细胞循环被改变。因此, 我们推断, *OsCslD4/SLE1*在细胞增殖和植物发育中通过调节细胞分裂的M期的进程而起着举足轻重的作用<sup>[52]</sup>。目前, 多个研究表明, *CslD*基因在植物中具有保守的功能, *CslD*基因降低细胞增殖已经在*AtCslD5/OsCslD4/ZmCslD1*突变体中报道<sup>[53-55]</sup>。

刘雪梅等<sup>[56]</sup>发现了一个天然白桦雄花序发育异常突变体。该突变体在花序的着生位置、形态结构、花药形态及生殖发育等方面与正常雄花序都有明显不同。正常植株的雄花序着生在枝条的顶端, 而突变植株上有2种不同的雄花序。一种与正常雄花序形态结构和着生位置等很相似, 但后期发育异常, 表现为败育特征, 且越冬后散粉时雄花序枯死, 或者只有少数花药开裂散粉。另一种雄花序则为典型的雄花序突变体, 其花药的形态及发育、减数分裂及雄配子体形成均严重异常, 越冬后枯死, 花药不开裂, 导致败育。经分析发现, 3个基因在突变雄花序中下调表达, 包括*plmme160*(cellulose synthase, 纤维素合酶)、*Bplmme15*(MAP kinase, MAP激酶)、*Bplmme29*(ubiquitin-conjugating enzyme, 泛素结合酶)。因此, 他们认为, 该纤维素合酶(*plmme160*)与白

桦雄花的发育有关。

#### 4 结语与展望

细胞壁是植物细胞的重要结构, 在植物的构架、形态建成和功能的行使中发挥重要作用。此外, 在植物管胞和纤维等细胞的发育过程中, 细胞壁具有次生加厚的修饰过程, 从而起到对植物的支撑作用。次生加厚的主要物质是纤维素和木质素。纤维素是构成细胞壁的基本物质, 木质素是细胞壁次生加厚的主要物质, 能增加细胞壁的机械强度和对病原体的抵抗强度<sup>[57]</sup>。因此, 有关植物细胞壁合成与修饰分子调控机制的研究一直是植物发育生物学热点领域之一。目前已有研究证明, 初生、次生细胞壁形成过程中, 纤维素合成涉及不同纤维素合酶<sup>[57-58]</sup>。纤维素合酶基因由一个庞大的基因家族构成, 不同组织或不同细胞壁发育时期, 由不同的纤维素合酶参与合成不同类型的纤维素, 在纤维素合成过程中每个纤维素合酶彼此相关、协同作用<sup>[58]</sup>。如*CsI*基因编码半纤维素多糖合成所需的聚糖合成酶, 其中*CsIA*基因涉及甘露聚糖的合成, *CsIC*基因编码催化木葡聚糖的骨架的延长; *CsIF*和*CsIH*负责 $\beta$ -(1-3,1-4)-D-葡聚糖的合成, 尽管这些*CsI*基因已经被分离, 但其他的*CsI*基因(包括*CsID*基因)的具体功能尚不清楚。目前, 已有几个*CsID*基因的突变体已被分析, 大多数突变体影响根须、花粉管、木质部的极性生长, 但拟南芥*CsID1*和*CsID4*突变体严重影响花粉的萌发和花粉管的生长<sup>[59-60]</sup>。然而, 这两个基因如何影响花粉管的生长及细胞壁的沉积目前尚不清楚。近年来, 随着基因组学研究的进展, 植物纤维素合酶的研究取得了突破性的进展, 但有关纤维素合酶基因的分子调控机制以及*CsI*在花粉发育中的确切功能尚不明确。

本课题组前期利用RNA Seq技术分析了甘蓝核雄性不育(genic male sterility, *GMS*)两用系中不育株系和可育株系花蕾转录组的差异, 挖掘出两个类纤维素合酶基因(*CsID*), 经RT-PCR检测其在可育系花粉中特异表达, 但其在甘蓝花粉发育中的具体功能尚不明确。深入研究其在花粉发育中的功能, 阐释纤维素合酶基因、类纤维素合酶在花粉及花药发育中的功能、相互关系及其分子机制具有重要意义。当前基因组学、转录组学研究的快速进展, 将会极大地促动对纤维素合酶及其相似蛋白在植物生长、

生殖发育中的确切功能、纤维素合酶的调控关系的探究的进程, 进而为深入探讨植物细胞壁的生物合成机制奠定基础。目前对纤维素合酶基因的确切功能和不同的纤维素合酶的相互作用关系尚未研究清楚, 揭示不同纤维素合酶的确切功能及其作用机制还有待于进一步的深入研究。

#### 参考文献 (References)

- 1 李春秀. 毛白杨纤维素合成酶基因的克隆及功能鉴定(博士论文). 中国林业科学研究院[Li Chunxiu. Cloning and characterization of cellulose synthase from poplar (*Populus tomentosa* Carr.) Chinese Academy of Forestry], 2005.
- 2 高艳, 陈光辉, 陈秀娟, 谢丽琼. 植物细胞壁纤维素生物合成的调控. 生物技术通报(Gao Yan, Chen Guanghui, Chen Xiujian, Xie Liqiong. Regulation of cellulose biosynthesis in plant cell wall. Biotechnology Bulletin) 2014; 2014(1): 1-7.
- 3 Somerville C. Cellulose synthesis in higher plants. Annu Rev Cell Dev Biol 2006; 22: 53-78.
- 4 Bessueille L, Vincent B. A survey of cellulose biosynthesis in higher plants. Plant Biotechnol 2008; 25: 315-322.
- 5 Gueniero Q, Fugelstad J, Bulone V. What do we really know about cellulose biosynthesis in higher plants. J Integr Plant Biol 2010; 52(2): 161-75.
- 6 邵付菊, 李学宝. 植物纤维素生物合成及其相关酶类. 细胞生物学杂志(Tai Fujun, Li Xuebao. Cellulose biosynthesis in plant and the enzymes involved in it. Chinese Journal of Cell Biology) 2004; 26(5): 490-4.
- 7 李益, 胡尚连, 卢学琴, 蒋瑶, 黄胜雄, 李向前. 植物纤维素合成酶基因的进化分析. 华北农学报[Li Yi, Hu Shanglian, Lu Xueqin, Jiang Yao, Huang Shengxiong, Li Xiangqian. Evolution analysis of the plant cellulose synthase (CesA) gene family. Acta Agric Boreali Sin] 2008; 23(2): 101-5.
- 8 王颖, 杨鹏, 于娅, 赵冰, 郭仰东. 利用全测序基因组数据对被子植物纤维素合成酶基因的进化分析. 植物遗传资源学报(Wang Ying, Yang Peng, Yu Ya, Zhao Bing, GuoYangdong. Genome-wide comparative analysis of angiosperm cellulose synthase gene. Journal of Plant Genetic Resources) 2010; 11(2): 179-85.
- 9 阮维程, 潘婷, 季孔庶. 马尾松纤维素合成酶基因*PmCesA1*的克隆及其分析. 分子植物育种(Ruan Weicheng, Pan Ting, Ji Kongshu. Cloning and analysis on *PmCesA1* gene encoding *Pinus massoniana* cellulose synthase. Molecular Plant Breeding) 2015; 13(4): 861-70.
- 10 朱乾浩, 汪若海. 高等植物纤维素合成的最新研究进展. 生命科学(Zhu Qianhao, Wang Ruohai. Recent progress on cellulose synthesis in higher plants. Chinese Bulletin of Life Sciences) 2000; 12(5): 210-3.
- 11 孟成生, 王志伟, 张俊红, 韩改英. 棉花与拟南芥纤维素合成酶基因家族的生物信息学比较. 贵州农业科学(Meng Chengshen, Wang Zhiwei, Zhang Junhong, Han Gaiying. Bioinformatic comparison of the cellulose synthase gene family of cotton and *Arabidopsis thaliana*. Guizhou Agricultural Sciences) 2012; 40(7): 39-41.
- 12 魏建华, 宋艳茹. 植物纤维素合酶基因研究进展. 植物学通报

- (Wei Jianhua, Song Yanru. Advances of studies on plant cellulose synthase. Chinese Bulletin of Botany) 2002; 19(6): 641-9.
- 13 朱煜, 谭梦月, 邹爱兰, 张文举, 戚金亮, 杨永华. 拟南芥、水稻和毛果杨中CesA基因的进化和表达分析. 南京林业大学学报(自然科学版)[Zhu Yu, Tan Mengyue, Zou Ailan, Zhang Wenju, Qi Jinliang, Yang Yonghua. Phylogenetic and expression analysis of CesA genes in *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* and *Populus trichocarpa*. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)] 2013; 37(3): 11-6.
  - 14 刘长斌, 薛永常, 聂会忠. 高等植物纤维素合酶超家族. 生命的化学(Liu Changfu, Xue Yongchang, Nie Huizhong. Chemistry of life cellulose synthase superfamily in higher plant. Chemistry of Life) 2007; 27(6): 533-5.
  - 15 周晓霞, 王景余, 王兴智. 植物纤维素合成酶基因的研究进展. 遗传(Zhou Xiaofu, Wang Jingyu, Wang Xingzhi. Research progress of cellulose synthase genes in higher plant. HEREDITAS) 2002; 24(3): 376-8.
  - 16 张智俊, 杨洋, 何沙娥, 罗淑萍, 刘志伟. 毛竹纤维素合成酶基因PeCesA的克隆及组织表达谱分析. 园艺学报(Zhang Zhijun, Yang Yang, He Shae, Luo Shuping, Liu Zhiwei. Cloning and expression characterization of the cellulose synthase gene PeCesA from Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*) shoot. Acta Horticulturae Sinica) 2010; 37(9): 1485-92.
  - 17 Pear JR, Kawagoe Y, Schreckengost WE, Delmer DP, Stalker DM. Higher plants contain homologs of the bacterial CelA genes encoding the catalytic subunit of cellulose synthesis. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93(25): 12637-42.
  - 18 Richmond TA, Somerville CR. The cellulose synthase superfamily. Plant Physiol 2000; 124(2): 495-8.
  - 19 程曦, 郝怀庆, 彭励. 植物细胞壁中纤维素合成的研究进展. 热带亚热带植物学报(Cheng Xi, Hao Huaiqing, Peng Li. Recent progresses on cellulose synthesis in cell wall of plants. Journal of Tropical and Subtropical Botany) 2011; 19(3): 283-90.
  - 20 Richmond TA, Somerville CR. The cellulose synthase superfamily. Plant Physiol 2000; 124(2): 495-8.
  - 21 Holland N, Holland D, Helentjaris T, Dhugga KS, Xoconostle-Cazares B, Delmer DP. A comparative analysis of the plant cellulose synthase (CesA) gene family. Plant Physiol 2000; 123(4): 1313-23.
  - 22 Tanaka K, Murata K, Yamazaki M, Onosato K, Miyao A, Hirochika H. Three distinct rice cellulose synthase catalytic subunit genes required for cellulose synthesis in the secondary wall. Plant Physiol 2003; 133(1): 73-83.
  - 23 Burton RA, Shirley NJ, King BJ, Harvey AJ, Fincher GB. The CesA gene family of barley quantitative analysis of transcripts reveals two groups of coexpressed genes. Plant Physiol 2004; 134(1): 224-36.
  - 24 李青青, 王旭歌, 钟甲丽, 李旺. 纤维素酶系基因的克隆与序列分析. 江苏农业科学(Li Qingqing, Wang Xuge, Zhong Jiali, Li Wang. Cloning and sequence analysis of cellulase genes. Jiangsu Agricultural Sciences) 2016; 44(3): 40-3.
  - 25 李英, 陈仲, 李昊, 郭斌, 王佳, 安新民. 毛白杨蔗糖合酶基因PtSUS1的克隆及其表达模式分析. 中国细胞生物学学报(Li Ying, Chen Zhong, Li Hao, Guo Bin, Wang Jia, An Xinmin. Cloning and expression patterns of *PtSUS1* in *Populus tomentosa*. Chinese Journal of Cell Biology) 2012; 34(3): 240-9.
  - 26 Suzuki S, Li L, Sun YH, Chiang VL. The cellulose synthase gene superfamily and biochemical functions of xylem-specific cellulose synthaselike genes in *Populus trichocarpa*. Plant Physiol 2006; 142(3): 1233-45.
  - 27 Fagard M, Hofte H, Vernhettes S. Cell wall mutants. Plant Physiol Biochem 2000; 38: 15-25.
  - 28 金成. 水稻类纤维素酶基因OsCSLF6的功能研究(硕士论文). 华中农业大学(Jin Cheng. Functional analysis of a cellulose synthase-like gene OsCSLF6 in rice. Hua Zhong Agricultural University), 2013.
  - 29 Taylor, Laurie S, Turner SR. Multiple cellulose synthase catalytic subunits are required for cellulose synthesis in *Arabidopsis*. Plant Cell 2000; 12(12): 2529-39.
  - 30 Fagard M, Desnos T, Desprez T, Goubet F, Refregier G, Mouille Q, et al. Procuste1 encodes a cellulose synthase required for normal cell elongation specifically in roots and dark-grown hypocotyls of *Arabidopsis*. Plant Cell 2000; 12(12): 2409-24.
  - 31 Desprez T, Juraniec M, Crowell EF, Jouy H, Pochylova Z, Parcy F, et al. Organization of cellulose synthase complexes involved in primary cell wall synthesis in *Arabidopsis thaliana*. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104(39): 15572-7.
  - 32 Ellis C, Turner JG. The *Arabidopsis* mutant *cevl* has constitutively active jasmonate and ethylene signal pathways and enhanced resistance to pathogens. Plant Cell 2001; 13(5): 1025-33.
  - 33 Cano-Delgado A, Penfield S, Smith C, Catley M, Bevan M. Reduced cellulose synthesis invokes lignification and defense responses in *Arabidopsis thaliana*. Plant J 2003; 34(3): 351-362.
  - 34 Beeckman T, Przemeczek GK, Stamatiou Q, Lau R, Tenyn N, De Rycke R, et al. Genetic complexity of cellulose synthase A gene function in *Arabidopsis* embryogenesis. Plant Physiol 2002; 130(4): 1883-93.
  - 35 Persson S, Paredes A, Carroll A, Palsdottir H, Doblin M, Poindexter P, et al. Genetic evidence for three unique components in primary cell-wall cellulose synthase complexes in *Arabidopsis*. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104(39): 15566-71.
  - 36 Taylor NG. Cellulose biosynthesis and deposition in higher plants. New Phytol 2008; 178(2): 239-52.
  - 37 Brown DM, Zeef LA, Ellis J, Goodacre R, Turner SR. Identification of novel genes in *Arabidopsis* involved in secondary cell wall formation using expression profiling and reverse genetics. Plant Cell 2005; 17(8): 2281-95.
  - 38 Timmers J, Vernhettes S, Desprez T, Vincken JP, Visser RG, Trindade LM. Interactions between membrane-bound cellulose synthases involved in the synthesis of the secondary cell wall. Febs Lett 2009; 583(6): 978-82.
  - 39 Burton RA, Wilson SM, Hrmova M, Harvey AJ, Shirley NJ, Medhurst A, et al. Cellulose synthase-like *CsIF* genes mediate the synthesis of cell wall (1,3;1,4)- $\beta$ -D-glucans. Science 2006; 311(5769): 1940-2.
  - 40 Burton RA, Gibeault DM, Bacic A. Virus-induced silencing of a plant cellulose synthase gene. Plant Cell 2000; 12(5): 691-705.
  - 41 Yoshikawa T, Eiguchi M, Hibara K, Ito J, Nagato Y. Rice *SLENDER LEAF 1* gene encodes cellulose synthase-like D4 and is specifically expressed in M-phase cells to regulate cell proliferation. J Exp Bot 2013; 64(7): 2049-61.
  - 42 Suzuki S, Li LQ, Sun YH, Chang VL. The cellulose synthase gene superfamily and biochemical functions of xylem-specific

- cellulose synthase-like genes in *Populus trichocarpa*. *Plant Physiol* 2006; 142(3): 1233-45.
- 43 Dwivany FM, Yulia D, Burton RA, Shirley NJ, Wilson SM, Fincher GB, *et al*. The CELLULOSE-SYNTHASE LIKE C (CSLC) family of barley includes members that are integral membrane proteins targeted to the plasma membrane. *Mol Plant* 2009; 2(5): 1025-39.
- 44 Li M, Xiong Q, Li R, Cui J, Tang D, Zhang B, *et al*. Rice cellulose synthase-like D4 is essential for normal cell-wall biosynthesis and plant growth. *Plant J* 2009; 60(6): 1055-1069.
- 45 易蓉, 田志坚, 黄丽华, 刘峰, 郭清泉, 张学文. 苧麻纤维素合成酶基因cDNA的功能分析. *湖南农业大学学报(自然科学版)* [Yi Rong, Tian Zhi Jian, Huang Lihua, Liu Feng, Guo Qingquan, Zhang Xuwen. Function analysis of cellulose synthase gene cDNA of ramie. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*] 2009; 35(1): 13-6.
- 46 Wang X, Cnops G, Vanderhaeghen R, de Block S, van Montagu M, van Lijsebettens M. *AtCSLD3*, a cellulose synthase-like gene important for root hair growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2001; 126(2): 575-86.
- 47 Hazen SP, Scott-Craig JS, Walton JD. Cellulose synthase-like genes of rice. *Plant Physiol* 2002; 128(2): 336-40.
- 48 Samuga A, Joshi C P. Cloning and characterization of cellulose synthase-like gene, *PtrCSLD2* from developing xylem of aspen trees. *Physiol Plantarum* 2004; 120(4): 631-41.
- 49 Fan XP, Yang CY, Klisch D, Ferguson A, Bhaellero RP, Niu XW, *et al*. ECHIDNA protein impacts on male fertility in *Arabidopsis* by mediating trans-golgi network secretory trafficking during anther and pollen development. *Plant Physiol* 2014; 164(3): 1338-49.
- 50 Liu XL, Liu LF, Niu QK, Xia C, Yang KZ, Li R, *et al*. Male gametophyte defective 4 encodes a rhamnogalacturonan II xylosyltransferase and is important for growth of pollen tubes and roots in *Arabidopsis*. *Plant J* 2011; 65(4): 647-60.
- 51 Doblin MS, De Melis L, Newbigin E. Pollen tubes of *Nicotiana glauca* express two genes from different  $\beta$ -glucan synthase families. *Plant Physiol* 2001; 125(4): 2040-52.
- 52 Yoshikawa T, Eiguchi M, Hibara K, Ito J, Nagato Y. Rice *SLENDER LEAF 1* gene encodes cellulose synthase-like D4 and is specifically expressed in M-phase cells to regulate cell proliferation. *J Exp Bot* 2013; 64(7): 2049-61.
- 53 Li M, Xiong GY, Li R, Cui JJ, Tang D, Zhang BC, *et al*. Rice cellulose synthase-like D4 is essential for normal cell-wall biosynthesis and plant growth. *Plant J* 2009; 60(6): 1055-69.
- 54 Wu C, Fu YP, Hu GC, Si HM, Cheng SH, Liu WZ. Isolation and characterization of a rice mutant with narrow and rolled leaves. *Planta* 2010; 232(2): 313-24.
- 55 Hunter CT, Kirienko DH, Sylvester AW, Peter GF, McCarty DR, Koch KE. Cellulose synthase-like D1 is integral to normal cell division, expansion, and leaf development in maize. *Plant Physiol* 2012; 158(2): 708-24.
- 56 刘雪梅, 刘瀛, 宋福南, 邢磊, 戴超, 杨传平. 白桦雄花突变体早期发育差异表达基因的cDNA-AFLP分析. *林业科学* [Liu Xuemei, Liu Ying, Song Funan, Xing Lei, Dai Chao, Yang Chuanping. Differential expression analysis of transcripts at early developmental stage of male inflorescence mutant of white birch (*Betula platyphylla*.) by cDNA-AFLP. *Scientia Silvae Sinicae*] 2012; 48(5): 20-8.
- 57 靳振明, 平宝哲, 沈浩珺, 杜淮清, 李瑞乾, 朱璐, 等. 水稻脆秆突变体bc-s1的表型分析和基因定位. *植物学报* (Jin Zhenmin, Ping Baozhe, Shen Haojun, Du Huaiqing, Li Ruiqian, Zhu Lu, *et al*. Characterisation and gene mapping of a brittle culm mutant bc-s1 in rice. *Chinese Bulletin of Botany*) 2016; 51(2): 167-74.
- 58 吴建忠. 亚麻*LusiCesA1*上调基因表达研究. *东北农业大学学报* (Wu Jianzhong. Study on gene up-regulation expression of *LusiCesA1* in flax. *Journal of Northeast Agricultural University*) 2016; 47(3): 44-51.
- 59 Bernal AJ, Yoo CM, Mutwil M, Jensen JK, Hou G, Blaukopf C, *et al*. Functional analysis of the cellulose synthase-like genes *CSLD1*, *CSLD2*, and *CSLD4* in tip-growing *Arabidopsis* cells. *Plant Physiol* 2008; 148(3): 1238-53.
- 60 Wang W, Wang L, Chen C, Xiong GY, Tan XY, Yang KZ, *et al*. *Arabidopsis CSLD1* and *CSLD4* are required for cellulose deposition and normal growth of pollen tubes. *J Exp Bot* 2011; 62(14): 161-77.