

· 特邀综述 ·

## 植物激素糖基化修饰研究进展

张桂芝, 林继山, 李燕洁, 侯丙凯\*

山东大学生命科学学院, 植物细胞工程与种质创新教育部重点实验室, 济南 250100

**摘要** 植物激素对植物的生长发育有重要的调节作用。由于激素的作用依赖于其浓度, 所以植物内源活性激素的水平必须受到严格控制, 而糖基化修饰被认为是调控激素活性水平的重要方式之一。随着植物激素糖基化修饰相关糖基转移酶基因不断被克隆与鉴定, 多种植物激素的糖基化修饰机制和功能作用逐渐被揭示。该文重点介绍了近年来植物生长素、细胞分裂素、脱落酸、油菜素内酯、水杨酸、茉莉酸等植物激素的糖基转移酶活性鉴定与功能研究进展。同时, 对植物激素糖基化修饰领域存在的问题和发展前景进行了讨论。

**关键词** 糖基化, 糖基转移酶, 激素, 植物生长发育

张桂芝, 林继山, 李燕洁, 侯丙凯 (2014). 植物激素糖基化修饰研究进展. 植物学报 49, 515–523.

糖基化修饰现象普遍存在于植物体内。糖基转移酶催化这种修饰反应, 它将活化的糖连接到不同的受体分子上, 如蛋白、核酸、寡糖、脂和小分子等, 形成糖苷键。糖基化修饰的产物包括糖蛋白、糖脂以及多种多样的小分子糖苷或糖酯化合物(如花色苷、黄酮糖苷、激素的糖苷或糖酯等)。植物细胞内的许多亲脂性小分子均可被糖基化修饰(Lim and Bowles, 2004)。植物分子的糖基化产物与原来未被修饰时的受体分子具有不同的生物学功能。一般认为, 糖基化修饰改变了这些分子的生物活性、水溶性、稳定性、在细胞内和整体植株中的运输特性、亚细胞定位以及与信号受体的相互识别和结合特性, 另外通过糖基化修饰还能降低或去除内源和外源物质的毒性(Lim and Bowles, 2004)。因此认为, 糖基化修饰影响植物生长发育的众多方面, 是调节细胞代谢平衡的重要机制(Bowles et al., 2005, 2006)。本文主要对糖基转移酶多基因家族的分类和植物激素糖基转移酶活性鉴定与功能进行了简要综述, 并对当前植物激素糖基化修饰领域存在的问题和研究前景进行了讨论。

### 1 植物的糖基转移酶

植物中最早被鉴定的糖基转移酶基因是诺贝尔奖获得者McClintock发现的控制玉米(*Zea mays*)种子黑

色素沉积的*Bronze1*基因, 后证实该基因编码产生黄酮糖苷的糖基转移酶(Mackenzie et al., 1997)。随着生物信息学以及分子生物学的快速发展, 目前已经克隆并鉴定了多种植物的糖基转移酶基因。

#### 1.1 糖基转移酶多基因家族的分类

国际上一般将利用尿嘧啶核苷二磷酸-糖(UDP-sugar)作为糖供体的糖基转移酶统一归为糖基转移酶超家族。将糖基转移酶中序列同源性大于40%的划分到同一家族, 每个家族用阿拉伯数字编号, 其中编号71–100的家族属于植物糖基转移酶。同一个家族中序列同源性大于60%的划分到一个亚家族, 不同的亚家族用大写英文字母A、B、C等表示。亚家族字母后面加上一个阿拉伯数字就可以表示一个特定的糖基转移酶(Mackenzie et al., 1997; Coutinho et al., 2003)。2013年5月, 按照所催化底物的性质和序列相关性, 生物界存在的糖基转移酶被划分为94个家族(<http://www.cazy.org/GlycosylTransferases.html>)。其中家族1(family 1)包含的成员数量最多, 且与植物的关系最密切。

#### 1.2 植物糖基转移酶家族1的特点

糖基转移酶家族1中48.3%的糖基转移酶C末端有44

收稿日期: 2013-07-17; 接受日期: 2013-11-15

基金项目: 国家自然科学基金(No.91217301)和教育部高等学校博士学科点专项基金(No.20120131110023)

\* 通讯作者。E-mail: bkhou@sdu.edu.cn

个氨基酸的保守序列, 这一保守序列被称为C末端保守区或PSPG盒(plant secondary product glycosyl-transferase box)或特征基序(signature motif)。尿嘧啶二磷酸-糖基转移酶(UDP-glycosyl transferase, UGT)通常用来表示含有C末端保守区的糖基转移酶。其中拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)家族1的糖基转移酶绝大部分都含有C末端保守序列, 只有3个例外(Paquette et al., 2003)。这些酶的C末端氨基酸保守序列被认为与UDP的结合相关, 其N端序列变异较大, 与不同底物的识别有关。通常它们的底物是带有-OH、-COOH、-NH<sub>2</sub>、-SH或C-C基团的亲脂性小分子(Lim and Bowles, 2004)。UDP-糖是植物糖基转移酶家族1最常用的核苷糖, 其中单糖的种类有多种。UDP-葡萄糖(UDP-Glc)是最常用的糖供体, 除此以外, 家族1中有些糖基转移酶以UDP-鼠李糖、UDP-半乳糖、UDP-木糖或UDP-葡萄糖醛酸等作为糖供体(Bowles et al., 2005)。第1个完成基因组测序的高等双子叶植物是拟南芥, 目前对其糖基转移酶的研究比较透彻, 已经发现了大约120个家族1的糖基转移酶成员。这些糖基转移酶按其同源性又被分成14个组(Li et al., 2001)。部分糖基转移酶已经明确了催化活性或在植物体内的生物学功能, 其中植物激素相关的糖基转移酶尤其受到重视。

## 2 植物激素的糖基化修饰

植物激素在细胞分裂与伸长、组织器官的生长与分化、开花与结实、成熟与衰老、休眠与萌发以及离体组织培养等方面, 分别或相互协调地调控植物的生长与发育。由于激素作用的灵活性和多样性依赖于其浓度与动态平衡, 因此, 为了保证植物正常生长发育以及更好地适应环境, 植物内源激素水平必须受到严格控制。许多机制可以调节植物内源激素的动态平衡, 如激素的生物合成、降解、转运或与其它分子形成缀合物等。植物激素的糖基化修饰是指激素与糖分子形成缀合物的过程, 它被认为是调节植物内源活性激素水平的重要方式(Wang, 2009)。目前普遍认为, 植物激素的糖基化修饰是植物激素失活的一种形式, 并通过与糖基化产物的协同作用最终调节植物的生长发育。依据激素生物特性的不同, 大多数激素的糖基化修饰是可逆的, 也有些激素的糖基化修饰是不可逆

的, 如细胞分裂素嘌呤环上N<sup>7</sup>-和N<sup>9</sup>-位置的糖基化(Hou et al., 2004)。随着研究的开展, 多种植物激素糖基转移酶的基因已被克隆和鉴定(表1), 激素糖基化修饰的机制也逐渐被揭示。这些研究为深入理解植物激素的作用机理奠定了重要理论基础。

### 2.1 生长素的糖基化修饰

生长素(auxin)是一类重要的植物内源激素。在细胞水平上, 生长素可刺激形成层细胞分裂, 刺激枝的细胞伸长, 抑制根细胞生长, 促进木质部、韧皮部细胞分化, 参与细胞壁的形成和核酸代谢, 最终调节植物生长及形态建成。植物活性生长素吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)与吲哚-3-丁酸(indole-3-butyric acid, IBA)的浓度和分布通过合成、失活、运输过程被严格调控(Korasick et al., 2013)。其中生长素的糖基化被认为是一种重要的调控内源生长素水平的方式(Woodward and Bartel, 2005)。

IAGLU是在玉米中首个被发现的IAA糖基转移酶, 催化IAA生成吲哚乙酰糖酯(Szerszen et al., 1994)。在玉米中生长素的糖基化是生长素复合物合成途径的第1步, 因此IAGLU有可能影响植物内源生长素的含量变化, 进而影响植物的生长发育。在拟南芥中过表达玉米IAGLU(Ludwig-Müller et al., 2005), 结果显示, 虽然生长素糖酯含量明显增加, 但其自由态IAA含量没有明显变化。有趣的是, 植物过表达体仍然出现了生长素缺陷的表型: 过表达体幼苗的根生长受到抑制, 而成苗较野生型叶片变小, 莲座叶直径变小, 叶片卷曲。这可能暗示了IAGLU催化的糖酯在植物中是有活性的。培养过表达体时体外施加生长素, 发现内源生长素糖酯含量明显增加, 但生长素前体天门冬氨酰生长素和谷氨酰胺生长素的含量却降低了, 说明IAGLU的过表达打破了生长素合成途径的稳态, 从而最终影响植物的表型。Jackson等(2001)首次鉴定了拟南芥中生长素的糖基转移酶UGT84B1, 其重组蛋白在体外能够糖基化生长素形成相应的糖酯, 对IAA和IBA的催化活性分别达159和112 mkat·kg<sup>-1</sup>; 并证明UGT84B2、UGT75B1、UGT75B2三个糖基转移酶针对IAA也有微弱活性。Jackson等继续进行UGT84B1转基因植物的研究, 提取过表达体植物蛋白, 针对IAA反应, 发现酶促反应产物1-O-吲哚乙酰糖酯生成量较野生型明显增高。

**表1** 已发现的激素相关糖基转移酶**Table 1** Hormone related glycosyltransferases so far identified

植物	酶	激素	催化产物	转基因植物表型	参考文献
拟南芥	UGT84B1	生长素	IAA糖酯 IBA糖酯	转基因拟南芥矮化, 分枝多, 叶皱, 根的向地性减弱	Jackson et al., 2001, 2002
	UGT74E2	生长素	IBA糖酯	转基因拟南芥矮化, 分枝多, 叶紧凑, 抗非生物胁迫	Tognetti et al., 2010
	UGT74D1	生长素	IBA糖酯 IAA糖酯	-	Jin et al., 2013a
	UGT76C1	细胞分裂素	细胞分裂素糖苷	转基因拟南芥无明显表型, 对外源细胞分裂素弱敏感	Hou et al., 2004; Wang et al., 2013
	UGT76C2	细胞分裂素	细胞分裂素糖苷	转基因拟南芥无明显表型, 对外源细胞分裂素弱敏感	Hou et al., 2004; Wang et al., 2011
	UGT85A1	细胞分裂素	tZ糖苷 Dihydrozeatin糖苷	转基因拟南芥对外源细胞分裂素弱敏感	Hou et al., 2004; Jin et al., 2013b
	UGT71B6	脱落酸	ABA糖酯	转基因拟南芥在萌发后生长阶段对ABA相对弱敏感, 离体叶片失水率高于野生型	Priest et al., 2005, 2006
	UGT73C5	油菜素内酯	BR糖苷	转基因拟南芥植株严重矮化, 叶子小, 叶柄短, 育性低	Poppenberger et al., 2005
玉米	UGT73C6	油菜素内酯	BR糖苷	转基因拟南芥植株矮化, 叶子小, 叶柄短, 育性低	Husar et al., 2011
	UGT74F1	水杨酸	SA糖苷	双敲除体 $ugt74f1/ugt76b1$ 的抗病性显著增强	Lim et al., 2002; Noutoshi et al., 2012
	UGT74F2	水杨酸	SA糖苷/糖酯	转基因拟南芥对病原菌更敏感且抗性明显减弱	Lim et al., 2002
	UGT76B1	水杨酸	SA糖酯	双敲除体 $ugt74f1/ugt76b1$ 的抗病性显著增强	Noutoshi et al., 2012
	AtJGT1	茉莉酸	JA糖酯	-	Song, 2005
	IAGLU	生长素	IAA糖酯	转基因拟南芥叶子小而卷曲, 根受抑制	Szerszen et al., 1994; Ludwig-Müller et al., 2005
	cis-ZOG1	细胞分裂素	cZ糖苷	-	Martin et al., 2001b
	cis-ZOG2	细胞分裂素	cZ糖苷	-	Veach et al., 2003
水稻	cZOGT1	细胞分裂素	cZ糖苷 cZ-riboside糖苷	转基因水稻较矮小, 延缓衰老, 冠根数目减少	Sakakibara et al., 2012
	cZOGT2	细胞分裂素	cZ糖苷 cZ-riboside糖苷	转基因水稻较矮小, 延缓衰老, 冠根数目减少	Sakakibara et al., 2012
	cZOGT3	细胞分裂素	cZ糖苷 cZ-riboside糖苷 tZ糖苷 tZ-riboside糖苷	叶子延缓衰老, 冠根数目减少	Sakakibara et al., 2012
	OsSGT1	水杨酸	SA糖苷	基因沉默后抗病性增强	Song et al., 2008, 2009
	ZOX1	细胞分裂素	tZ糖苷 Dihydrozeatin糖苷	-	Martin et al., 1999a
	ZOG1	细胞分裂素	tZ糖苷 Dihydrozeatin糖苷	转基因玉米茎矮细, 叶片狭窄, 雄穗可结种子	Dixon et al., 1989; Martin et al., 1999b; Rodó et al., 2008

相应地, 外源添加IAA时, 植物过表达体内1-O-吲哚乙酰糖酯的含量较野生型明显增高。实验证明了UGT84B1针对植物内源活性生长素存在与体外一致的酶活性。在植物表型方面, 拟南芥过表达体较野生型产生了一系列生长素缺乏的表型: 莲座叶皱褶、卷曲, 叶片中脉往往发育异常, 叶柄变短, 株高随UGT84B1表达量的升高而降低, 根的生长失去向地性等。这些结果说明生长素的糖基化修饰对于植物的生长发育有重要作用(Jackson et al., 2002)。

随后, Tognetti等(2010)从拟南芥中鉴定了IBA的糖基转移酶UGT74E2, 并证明了拟南芥UGT74E2通过糖基化IBA调节植物的形态建成以及对干旱和盐胁迫的应答。通过生化分析发现UGT74E2对IBA有很强的底物偏好性, 因此其几乎不催化IAA的糖基化。通过检测植物内源激素的含量变化, 证明UGT74E2在植物体内仍保持对IBA的催化专一性。同时发现, 过表达体植株除了糖基化产物IBA-glc浓度增加以外, 自由态的IBA也有增加, IAA的水平也发生了改变。而这些内源生长素及缀合物浓度的改变, 打破了激素的稳态, 导致过表达体产生了一系列表型, 如植株较野生型矮, 分枝变多, 莲座叶形态改变等, 并显著提高了过表达体对干旱胁迫及盐胁迫的耐受性(Tognetti et al., 2010)。这说明糖基化修饰可能是通过影响激素的动态平衡来调节植物对激素的反应以及植物的生长发育过程。

最近, 我们鉴定了1个新的生长素糖基转移酶UGT74D1。通过体外生化特征分析, 发现UGT74D1除了能够比较偏爱地糖基化修饰IBA以外, 还能糖基化修饰IAA、吲哚-3-丙酸(indole-3-propionic acid, IPA)及萘乙酸(naphthalene acetic acid, NAA)等生长素(Jin et al., 2013a)。该基因在拟南芥中过表达以后, 导致转基因植物表型发生明显变化, 与UGT84B1和UGT74E2的转基因植物相比在表型上既有相同, 又有不同之处(未发表数据)。在植物体内同时存在3个负责生长素的糖基转移酶基因, 推测它们除了在催化的底物上各有偏好性以外, 可能这几个生长素糖基化修饰的基因在功能上各有分工。

## 2.2 细胞分裂素的糖基化修饰

细胞分裂素(cytokinin)参与众多植物的生长发育过程, 起着重要的生理调节作用, 如抑制叶片衰老、吸

引养分运输、参与顶端优势、调节花及果实发育以及种子发芽等。糖基化是细胞分裂素的重要修饰方式(Mok and Mok, 2001)。细胞分裂素的糖基化主要有O-糖基化和N-糖基化2种形式。一般来说, 细胞分裂素的N-糖基化使该激素永久失活, 激素的活性无法逆转; 而O-糖基化使激素暂时失活, 在一定条件下可通过去糖基化而恢复细胞分裂素活性。

在细胞分裂素糖基化修饰中, 阐释得最多的是细胞分裂素O-糖基转移酶。从菜豆(*Phaseolus vulgaris*) (Martin et al., 1999a)中分离了一个O-木糖糖基转移酶ZOX1; 从棉豆(*Phaseolus lunatus*)(Martin et al., 1999b)中分离了一个O-葡萄糖糖基转移酶ZOG1。在识别细胞分裂素底物时, 2个酶均表现出较高的专一性: 仅糖基化反式玉米素和二氢玉米素, 不识别顺式玉米素及任何玉米素核苷(Dixon et al., 1989; Martin et al., 1999a, 1999b)。Northern分析结果表明, 两基因在未成熟的种子中高水平表达, 而在其它营养组织中低水平表达。分别将组成型启动子(35S)和诱导型启动子(Tet)启动的ZOG1基因表达载体转入烟草(*Nicotiana tabacum*), 结果显示, 在转基因植株中当ZOG1的表达量增高时, 其内源的玉米素O-葡萄糖糖苷含量也相应增加(Martin et al., 2001a)。ZOG1在玉米中过表达后, 出现了很多细胞分裂素缺乏的特征, 如茎秆矮细, 叶片狭窄, 分生组织变小, 根系更为发达(Rodó et al., 2008)。有趣的是, 在玉米过表达体的雄穗上竟然长出了种子。这些研究结果说明了反式玉米素的O-糖基转移酶在植物体内发挥作用的复杂性, 因此还需要开展更多的工作以阐明O-糖基转移酶的作用与调控机制。

顺式玉米素O-糖基转移酶(*cis*ZOG1)也已从玉米中分离出, 它催化顺式玉米素发生O-糖基化(Martin et al., 2001b)。*cis*ZOG1和ZOG1在DNA和氨基酸水平上的同源性分别为60%和40%。反式与顺式特异性酶的存在进一步说明细胞分裂素代谢受到精细的调控。随后, Veach等(2003)又在玉米中克隆到另外一个顺式玉米素O-糖基转移酶基因*cis*ZOG2。分析表明*cis*ZOG2和*cis*ZOG1在DNA和氨基酸水平上的同源性分别为97.8%和98.3%, 两酶具有相同的最适pH和催化活性。Meek等(2008)通过定点突变改变了ZOG1的氨基酸序列, 研究了对ZOG1蛋白起关键作用的氨基酸位点。此外, Hou等(2004)在拟南芥中也鉴定出

3个细胞分裂素O-糖基转移酶(UGT85A1、UGT73C5和UGT73C1), 并讨论了它们的体外催化性质。

Jin等(2013b)研究了细胞分裂素O-糖基转移酶UGT85A1的生理学作用, 发现在添加反式玉米素的培养基中培养的拟南芥过表达体表现出主根较长、侧根数目较多、叶绿素含量较低等对细胞分裂素相对不敏感的表型特征。同时, 过表达体内反式玉米素O-糖昔含量比野生型拟南芥增加了4~6倍, 说明UGT85A1基因在植物体内发挥着细胞分裂素O-糖基化修饰的作用。对UGT85A1基因表达模式的分析表明, 该基因的作用具有明显的组织和发育阶段特异性, UGT85A1主要在萌发的种子以及幼苗时期表达, 表达部位集中在子叶、下胚轴、主根基部及根尖。该项研究加深了人们对植物体内糖基化修饰调控细胞分裂素活性水平的理解(Jin et al., 2013b)。

日本科学家Sakakibara等(2012)从水稻(*Oryza sativa*)中鉴定了顺式玉米素O-糖基转移酶基因cZOGT1、cZOGT2和cZOGT3。这三个酶优先催化顺式玉米素和玉米素核昔, 其中只有cZOGT3对反式玉米素和反式玉米素核昔同时具有较高的酶活性。在水稻中过表达cZOGT1和cZOGT2, 其过表达植株较矮, 初生根较长, 叶子的颜色较深, 衰老延缓, 冠根数目减少; 而cZOGT3的过表达体没有出现明显表型。通过测定过表达体的内源细胞分裂素糖昔含量, 表明cZOGT1和cZOGT2过表达体中细胞分裂素-O-糖昔cZOG、cZRP<sub>s</sub>OG、tZOG和tZROG含量明显升高; 而cZOGT3过表达体中cZOG和cZRP<sub>s</sub>OG含量没有明显变化, 只有tZOG和tZROG含量明显升高。这些结果说明植物内源细胞分裂素的含量及存在形式发生了变化, 从而影响到植物的生长发育。传统观点认为, 玉米素的主要活性形式为反式玉米素, 而顺式玉米素的活性较低。该项研究工作证明了顺式玉米素对水稻的生长发育有重要的生理学影响。

除了细胞分裂素O-糖基化修饰以外, 有关N-糖基化修饰也有一些重要研究进展。Hou等(2004)通过筛选拟南芥中105个糖基转移酶, 鉴定了细胞分裂素的2个N-糖基转移酶——UGT76C1和UGT76C2。这2个酶能够催化所有细胞分裂素在嘌呤环的N<sup>7</sup>-和N<sup>9</sup>-位置上发生糖基化, 形成相应的N-糖昔, 但不能催化在嘌呤环的N<sup>3</sup>-位置上发生糖基化。研究显示, N<sup>7</sup>-位置比N<sup>9</sup>-位置具有更高的糖基化修饰效率。随后, Wang

等(2011, 2013)分析了UGT76C2和UGT76C1在植物体内的生理学作用, 发现细胞分裂素N-糖昔含量在*ugt76c2*或*ugt76c1*突变体中较野生型明显降低; 而在过表达体中较野生型明显升高, 说明UGT76C2和UGT76C1在植物体内可糖基化修饰细胞分裂素, 形成相应的N-糖昔。有趣的是, 无论是突变体还是过表达体, 其体内自由态细胞分裂素水平均未发生明显改变。用外源细胞分裂素处理突变体和过表达体, 与野生型相比, 突变体表现出对细胞分裂素更加敏感的表型; 而过表达体对细胞分裂素相对不敏感。这些研究说明了UGT76C2/UGT76C1能将外源施加的细胞分裂素糖基化并使其失活, 从而参与内源细胞分裂素动态平衡调节以及植物对细胞分裂素的响应。

### 2.3 脱落酸的糖基化修饰

脱落酸(abscisic acid, ABA)是植物五大类激素之一, 具有促进植物器官脱落、抑制细胞分裂与伸长、促进种子休眠、引起气孔关闭、调节种子胚发育等作用。同时脱落酸是植物对逆境胁迫的防卫机制成员之一。ABA通过逆境信号的转导, 启动植物体内的应激反应, 提高植物抵御各种逆境因子胁迫的能力(Nambara and Marion-Poll, 2005)。

Lim等(2005)首次鉴定了拟南芥脱落酸糖基转移酶UGT71B6, 发现拟南芥中虽然有多个糖基转移酶均可修饰ABA, 但只有UGT71B6能够糖基化修饰植物天然存在的(+)-ABA。随后, Priest等(2006)通过转基因拟南芥揭示了该基因在植物体内的作用。拟南芥超量表达UGT71B6导致脱落酸糖酯(ABA-GE)的大量积累, 而脱落酸的代谢物菜豆酸(phaseic acid, PA)以及二氢菜豆酸(dihydrophaseic acid, DPA)的含量明显降低, 但自由态的ABA没有明显变化。糖基化产物的积累影响了植物的生长。在含有高浓度葡萄糖的培养基上, 过表达体可生长出绿色子叶, 与ABA缺陷型植株(aba3)一致; 而野生型子叶不能变绿。在培养基上外源添加ABA, 使过表达体子叶转绿的比例介于外源添加ABA结构类似物PBI-413(可以被UGT71B6快速糖基化)和PBI-514(不能被UGT71B6糖基化)之间, 说明子叶转绿的差异是由于UGT71B6的高表达所致。实验进一步证明了UGT71B6可以糖基化内源ABA。同时, 过表达体产生了一系列与逆境胁迫相关的表型, 如离体叶子失水率明显高于野生型, 表型与

*aba3*相似等。该研究探明了脱落酸的糖基化作用对植物生长发育的影响,为阐释其详细作用机制奠定了基础。

#### 2.4 油菜素内酯的糖基化修饰

油菜素内酯(brassinosteroids, BRs)被认为是继生长素、细胞分裂素、赤霉素、脱落酸、乙烯之后的第六大激素,在植物的生长发育中起重要作用。其作用包括促进细胞的伸长和分裂、暗形态发生、维管分化、生殖发育和种子萌发等(Bishop and Koncz, 2002)。

UGT73C5是第一个被发现的拟南芥油菜素内酯的糖基转移酶,催化油菜素内酯(BL)和油菜素甾酮(CS)在C-23位形成23-O-糖苷。拟南芥 $UGT73C5$ 过表达体呈现明显的BR缺陷性表型,如植株严重矮化,叶子变小,叶柄变短等。这些表型能够被外源施加的BR所逆转。过表达体的自由态BRs的含量降低,而苗期油菜素内酯的糖苷含量却显著增加。如果利用RNAi技术沉默 $UGT73C5$ ,则无法检测到BR的糖苷形式(Poppenberger et al., 2005)。

UGT73C6是另一个被发现的拟南芥油菜素内酯的糖基转移酶,同样能催化油菜素内酯和油菜素甾酮形成23-O-糖苷。拟南芥 $UGT73C6$ 过表达体同样有BR缺陷性表型,叶片深绿且外形像白菜叶,叶柄较短,晚花,育性降低等。 $UGT73C6$ 的过表达也能使BR糖苷含量增加(Husar et al., 2011)。但是 $UGT73C6$ 的突变体中并未发现BR糖基化形式发生改变,其原因很可能是 $UGT73C6$ 的功能被 $UGT73C5$ 弥补。油菜素内酯糖基化修饰的研究说明,糖基化在调控油菜素内酯水平以及调节植物生长发育方面有重要作用。

#### 2.5 水杨酸的糖基化修饰

水杨酸(salicylic acid, SA)是继5大类经典激素后被公认的又一类激素。SA在植物中具有重要的生理作用,是植物参与逆境反应的重要信号分子。SA的主要作用之一是参与植物对病原菌的防御反应,将病害和创伤信号传递到植物的其它部分引起系统获得性抗性(Dempsey et al., 2011)。拟南芥 $UGT74F1$ 、 $UGT74F2$ 和 $UGT76B1$ 已被鉴定具有SA糖基化修饰活性;水稻的OsSGT1也被鉴定具有SA糖基化修饰活性(Lim et al., 2002; Song et al., 2008, 2009)。 $UGT74F1$ 、 $UGT74F2$ 和OsSGT1都可以催化SA生成O-糖苷。除

此之外, $UGT74F2$ 还可以催化SA生成糖酯,而 $UGT76B1$ 只催化SA生成糖酯。Noutoshi等(2012)发现拟南芥双敲除体 $ugt74f1/ugt76b1$ 的抗病性显著增强;而 $UGT74F2$ 的过表达体对病原菌更敏感且抗性明显减弱。以上结果表明水杨酸的糖基化修饰参与了植物的抗病反应。

#### 2.6 茉莉酸的糖基化修饰

茉莉酸(jasmonic acid, JA)是广泛存在于高等植物体内的一种新型植物生长调节物质,在抑制植物生长、萌发、促进衰老、提高抗性等方面发挥重要生理作用(Stintzi et al., 2001; Ishiguro et al., 2001)。目前更多的研究表明,茉莉酸(酯)类物质是与抗性密切相关的植物生长物质,特别是它作为内源信号分子参与植物在机械伤害、病虫害等条件下的抗逆反应。另外,它还与生长素互作共同调节植物的生长发育(Grunewald et al., 2009)。Song(2005)报道拟南芥的糖基转移酶基因 $AtJGT1$ (实际上与 $UGT74D1$ 是同一基因)能够在体外糖基化修饰茉莉酸,但该基因在植物体内能否影响茉莉酸的动态平衡以及植物的生长发育仍缺乏实验证据。我们的研究表明 $UGT74D1$ 同时也是生长素的糖基转移酶,它能高效地糖基化修饰IBA、IPA、IAA等生长素类物质。该基因的超量表达引起转基因拟南芥叶子表型发生明显改变(Jin et al., 2013a)。这些研究结果说明 $UGT74D1$ 在介导茉莉酸和生长素相互作用方面有重要意义。

### 3 问题与展望

模式植物拟南芥的激素糖基转移酶大多已被发现,如生长素的 $UGT84B1$ 、 $UGT74E2$ 和 $UGT74D1$ ;细胞分裂素的 $UGT76C1$ 和 $UGT76C2$ (细胞分裂素的N-糖基转移酶)以及 $UGT85A1$ 、 $UGT73C5$ 和 $UGT73C1$ (细胞分裂素的O-糖基转移酶);油菜素内酯的 $UGT73C5$ 和 $UGT73C6$ ;水杨酸的 $UGT74F1$ 、 $UGT74F2$ 和 $UGT76B1$ 等。从已有研究结果可以看出,同一种激素往往有不同的多个糖基转移酶负责其糖基化修饰,它们之间的关系目前还不太清楚。推测同一激素的不同糖基转移酶可能发挥作用的部位不同,或者它们在不同的外界环境条件下发挥作用,通过相互配合和相互协调,使植物内源激素处于适当的水平上,确保植物的

生长发育正常进行。这一推论还需要进一步验证。

植物激素中除了气体分子乙烯以外, 其它多数激素, 如生长素、细胞分裂素、脱落酸、油菜素内酯、水杨酸、茉莉酸等相关的糖基转移酶基因均已被鉴定。然而, 目前唯一没有被鉴定的是赤霉素的糖基转移酶基因。实际上, 自从20世纪60年代以来, 赤霉素的糖基化修饰产物就相继从多种植物中被发现, 说明赤霉素糖基化修饰现象在植物中普遍存在。尽管早期的植物学家曾经从植物的蛋白提取物中检测到赤霉素糖基转移酶活性, 但迄今尚未纯化出该酶, 也没有鉴定出赤霉素的糖基转移酶基因。这已成为赤霉素研究领域近半个世纪以来悬而未决的重要科学问题。我们相信, 随着激素糖基化修饰研究的不断深入, 赤霉素的糖基转移酶基因终将被发现, 赤霉素糖基化修饰的生理学意义也终将被揭示。

虽然目前多种激素的糖基转移酶已被鉴定, 但总体研究深度不够, 大多仍然停留在糖基转移酶催化活性鉴定以及酶的生化特征分析水平上, 只有部分激素的糖基转移酶从植物遗传学角度开展了基因功能研究。另外, 有些激素的糖基转移酶基因的突变体或过表达体没有明显的表型变化, 这是否反映了这些酶只在特定的环境条件下才发挥作用? 如果是这样, 它们与外界环境又是怎样相互作用的? 激素的糖基转移酶基因受哪些上游基因调控? 它是否能够影响其它基因的表达? 这些问题还有待深入细致的研究。

激素的糖基化修饰对于调控植物生长发育以及抗逆反应都具有重要作用, 因此, 激素修饰的研究对于作物改良也将具有重要意义。然而, 目前国际上针对激素糖基化修饰的研究大多是在模式植物拟南芥中开展的, 而在其它植物(特别是重要农作物)中尚缺少类似的研究。如能针对某种重要农作物(如水稻或玉米等)开展大规模的激素糖基化修饰功能基因研究, 鉴定出不同激素的糖基转移酶基因, 并确定它们相应的功能, 从而得到有重要应用价值的修饰基因(特别是调控生长发育和防御反应), 则对于通过基因工程进行农作物改良有实际意义。我们期望将来激素的糖基化修饰研究能够在农作物遗传改良中发挥重要作用。

## 参考文献

Bishop GJ, Koncz C (2002). Brassinosteroids and plant

steroid hormone signaling. *Plant Cell* **14**(Suppl), S97–S110.

- Bowles DJ, Isayenkova J, Lim EK, Poppenberger B** (2005). Glycosyltransferases, managers of small molecules. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 254–263.
- Bowles D, Lim EK, Poppenberger B, Vaistij FE** (2006). Glycosyltransferases of lipophilic small molecules. *Annu Rev Plant Biol* **57**, 567–597.
- Coutinho PM, Deleury E, Davies GJ, Henrissat B** (2003). An evolving hierarchical family classification for glycosyltransferases. *J Mol Biol* **328**, 307–317.
- Dempsey DA, Vlot AC, Wildermuth MC, Klessig DF** (2011). Salicylic acid biosynthesis and metabolism. *Arabidopsis Book* **9**, e0156.
- Dixon DC, Martin RC, Mok MC, Shaw G, Mok DWS** (1989). Zeatin glycosylation enzymes in *Phaseolus*. *Plant Physiol* **90**, 1316–1321.
- Grunewald W, Vanholme B, Pauwels L, Plovie E, Inze D, Gheysen G, Goossens A** (2009). Expression of the *Arabidopsis* jasmonate signaling repressor JAZ1/TIFY10A is stimulated by auxin. *EMBO Rep* **10**, 923–928.
- Hou B, Lim EK, Higgins GS, Bowles DJ** (2004). N-glucosylation of cytokinins by glycosyltransferases of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* **279**, 47822–47832.
- Husar S, Berthiller F, Fujioka S, Rozhon W, Khan M, Kalaiyanan F, Elias L, Higgins GS, Li Y, Schuhmacher R, Kraska R, Seto H, Vaistij FE, Bowles D, Poppenberger B** (2011). Overexpression of the UGT73C6 alters brassinosteroid glucoside formation in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol* **11**, 51.
- Ishiguro S, Kawai-Oda A, Ueda J, Nishida I, Okada K** (2001). The *DEFECTIVE IN ANOTHER DEHISCENCE1* gene encodes a novel phospholipase A1 catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscence, and flower opening in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **13**, 2191–2209.
- Jackson RG, Kowalczyk M, Li Y, Higgins G, Ross J, Sandberg G, Bowles DJ** (2002). Over-expression of an *Arabidopsis* gene encoding a glucosyltransferase of indole-3-acetic acid: phenotypic characterisation of transgenic lines. *Plant J* **32**, 573–583.
- Jackson RG, Lim EK, Li Y, Kowalczyk M, Sandber G, Hoggett J, Ashford DA, Bowles DJ** (2001). Identification and biochemical characterization of an *Arabidopsis* indole-3-acetic acid glucosyltransferase. *J Biol Chem* **276**, 4350–4356.
- Jin SH, Ma XM, Ha P, Wang B, Sun YG, Zhang GZ, Li YJ,**

- Hou BK** (2013a). UGT74D1 is a novel auxin glycosyltransferase from *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* **8**, e61705.
- Jin SH, Ma XM, Kojim M, Sakakibara H, Wang YW, Hou BK** (2013b). Overexpression of glucosyltransferase UGT-85A1 influences *trans*-zeatin homeostasis and *trans*-zeatin responses likely through O-glucosylation. *Planta* **237**, 991–999.
- Korasick DA, Enders TA, Strader LC** (2013). Auxin biosynthesis and storage forms. *J Exp Bot* **64**, 2541–2555.
- Kudo T, Makita N, Kojima M, Tokunaga H, Sakakibara H** (2012). Cytokinin activity of *cis*-zeatin and phenotypic alterations induced by overexpression of putative *cis*-zeatin-O-glucosyltransferase in rice. *Plant Physiol* **160**, 319–331.
- Li Y, Baldauf S, Lim EK, Bowles DJ** (2001). Phylogenetic analysis of the UDP-glycosyltransferase multigene family of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* **276**, 4338–4343.
- Lim EK, Bowles DJ** (2004). A class of plant glycosyltransferases involved in cellular homeostasis. *EMBO J* **23**, 2915–2922.
- Lim EK, Doucet CJ, Hou BK, Jackson RG, Abrams SR, Bowles DJ** (2005). Resolution of (+)-abscisic acid using an *Arabidopsis* glycosyltransferase. *Tetrahedron Asymm* **16**, 143–147.
- Lim EK, Doucet CJ, Li Y, Elias L, Worrall D, Spencer SP, Ross J, Bowles DJ** (2002). The activity of *Arabidopsis* glycosyltransferases toward salicylic acid, 4-hydroxybenzoic acid, and other benzoates. *J Biol Chem* **277**, 586–592.
- Ludwig-Müller J, Walz A, Slovin JP, Epstein E, Cohen JD, Dong WQ, Town CD** (2005). Overexpression of maize *IAGLU* in *Arabidopsis thaliana* alters plant growth and sensitivity to IAA but not IBA and 2,4-D. *J Plant Growth Regul* **24**, 127–141.
- Mackenzie PI, Owens IS, Burchell B, Bock KW, Bairoch A, Bélanger A, Fournel-Gigleux S, Green M, Hum DW, Iyanagi T, Lancet D, Louisot P, Magdalou J, Chowdhury JR, Ritter JK, Schachter H, Tephly TR, Tipton KF, Nebert DW** (1997). The UDP glycosyltransferase gene superfamily: recommended nomenclature update based on evolutionary divergence. *Pharmacogenetics* **7**, 255–269.
- Martin RC, Mok DWS, Smets R, van Onckelen HA** (2001a). Development of transgenic tobacco harboring a zeatin O-glucosyltransferase gene from *Phaseolus*. *In Vitro Cell-Dev Biol* **37**, 354–360.
- Martin RC, Mok MC, Habben J, Mok DWS** (2001b). A maize cytokinin gene encoding an O-glucosyltransferase specific to *cis*-zeatin. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 5922–5926.
- Martin RC, Mok MC, Mok DWS** (1999a). A gene encoding the cytokinin enzyme zeatin O-xylosyltransferase of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol* **120**, 553–557.
- Martin RC, Mok MC, Mok DWS** (1999b). Isolation of a cytokinin gene, ZOG1, encoding zeatin O-glucosyltransferase from *Phaseolus lunatus*. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 284–289.
- Meek L, Martin RC, Shan XY, Karplus PA, Mok DWS, Mok MC** (2008). Isolation of legume glycosyltransferases and active site mapping of the *Phaseolus lunatus* zeatin O-glucosyltransferase ZOG1. *J Plant Growth Regul* **27**, 192–201.
- Mok DWS, Mok MC** (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **52**, 89–118.
- Nambara E, Marion-Poll A** (2005). Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annu Rev Plant Biol* **56**, 165–185.
- Noutoshi Y, Okazaki M, Kida T, Nishina Y, Morishita Y, Ogawa T, Suzuki H, Shibata D, Jikumaru Y, Hanada A, Kamiya Y, Shirasu K** (2012). Novel plant immune-priming compounds identified via high-throughput chemical screening target salicylic acid glucosyltransferases in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **24**, 3795–3804.
- Paquette S, Möller BL, Bak S** (2003). On the origin of family 1 plant glycosyltransferases. *Phytochemistry* **62**, 399–413.
- Poppenberger B, Fujioka S, Soeno K, George GL, Vaistij FE, Hiranuma S, Seto H, Takatsuto S, Adam G, Yoshida S, Bowles D** (2005). The UGT73C5 of *Arabidopsis thaliana* glucosylates brassinosteroids. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**, 15253–15258.
- Priest DM, Ambrose SJ, Vaistij FE, Elias L, Higgins GS, Ross ARS, Abrams SR, Bowles DJ** (2006). Use of the glucosyltransferase UGT71B6 to disturb abscisic acid homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **46**, 492–502.
- Rodó AP, Brugiére N, Vankova R, Malbeck J, Olson JM, Haines SC, Martin RC, Habben JE, Mok DWS, Mok MC** (2008). Over-expression of a zeatin O-glucosylation gene in maize leads to growth retardation and tasselseed formation. *J Exp Bot* **59**, 2673–2686.
- Song JT** (2005). Biochemical characterization of an *Arabidopsis* glucosyltransferase with high activity toward jasmonic acid. *J Plant Biol* **48**, 422–428.
- Song JT, Koo YJ, Park JB, Seo YJ, Cho YJ, Seo HS, Choi**

- YD** (2009). The expression patterns of AtBSMT1 and AtSAGT1 encoding a salicylic acid (SA), methyltransferase and a SA glucosyltransferase, respectively, in Arabidopsis plants with altered defense responses. *Mols Cells* **28**, 105–109.
- Song JT, Koo YJ, Seo HS, Kim MC, Do Choi Y, Kim JH** (2008). Overexpression of AtSGT1, an Arabidopsis salicylic acid glucosyltransferase, leads to increased susceptibility to *Pseudomonas syringae*. *Phytochemistry* **69**, 1128–1134.
- Stintzi A, Weber H, Reymond P, Browse J, Farmer EE** (2001). Plant defense in the absence of jasmonic acid: the role of cyclopentenones. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 12837–12842.
- Szerszen JB, Szczyglowski K, Bandurski RS** (1994). *Iaglu*, a gene from *Zea mays* involved in conjugation of growth hormone indole-3-acetic acid. *Science* **265**, 1699–1701.
- Tognetti VB, Van Aken O, Morreel K, Vandebroucke K, van de Cotte B, de Clercq I, Chiwocha S, Fenske R, Prinsen E, Boerjan W, Genty B, Stubbs KA, Inzé D,**
- Van Breusegem F** (2010). Perturbation of indole-3-butryic acid homeostasis by the UDP-glucosyltransferase UGT74E2 modulates Arabidopsis architecture and water stress tolerance. *Plant Cell* **22**, 2660–2679.
- Veach YK, Martin RC, Mok DWS, Malbeck J, Vankova J, Mok MC** (2003). O-glucosylation of *cis*-zeatin in maize. Characterization of genes, enzymes, and endogenous cytokinins. *Plant Physiol* **131**, 1374–1380.
- Wang J, Ma XM, Kojima M, Sakakibara H, Hou BK** (2011). N-glucosyltransferase UGT76C2 is involved in cytokinin homeostasis and cytokinin response in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* **52**, 2200–2213.
- Wang J, Ma XM, Kojima M, Sakakibara H, Hou BK** (2013). Glucosyltransferase UGT76C1 finely modulates cytokinin responses via cytokinin N-glucosylation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol Biochem* **65**, 9–16.
- Wang XQ** (2009). Structure, mechanism and engineering of plant natural product glycosyltransferases. *FEBS Lett* **583**, 3303–3309.
- Woodward AW, Bartel B** (2005). Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann Bot* **95**, 707–735.

## Research Advances in the Glycosylation of Plant Hormones

Guizhi Zhang, Jishan Lin, Yanjie Li, Bingkai Hou<sup>\*</sup>

Key Laboratory of Plant Cell Engineering and Germplasm Innovation, Ministry of Education, School of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, China

**Abstract** Plant hormones play important roles in regulating plant growth and development. Because hormone responses are usually concentration-dependent, endogenous hormone levels must be tightly controlled. Glycosylation may be one of the important modifications modulating active hormone levels. With the cloning and identification of glycosyltransferases genes involved in glycosylation of plant hormones, the mechanism and roles of glycosylation of different plant hormones were gradually revealed. This review focuses on recent research progress in understanding enzyme activities and biological functions of glycosyltransferases for auxins, cytokinins, abscisic acids, brassinosteroids, salicylic acid and jasmonic acid. We discuss remaining questions to be answered and prospects for hormone glycosylation study.

**Key words** glycosylation, glycosyltransferases, hormones, plant growth and development

**Zhang GZ, Lin JS, Li YJ, Hou BK** (2014). Research advances in the glycosylation of plant hormones. *Chin Bull Bot* **49**, 515–523.

\* Author for correspondence. E-mail: bkhou@sdu.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)