

蔗糖代谢相关酶的研究进展

胡瑞芳, 姜 慧, 李 玥 莹

(沈阳师范大学 化学与生命科学学院, 辽宁 沈阳 110034)

摘 要:植物生长发育所需要的光合产物大部分以蔗糖的形式供应和运输,而与蔗糖合成密切相关的酶主要有3种:蔗糖磷酸合成酶、蔗糖合成酶转化酶。这3种酶对植物的生长发育有重要的影响,现对这3种酶的代谢及生理生化功能作以综述。

关键词:蔗糖磷酸合成酶;蔗糖合成酶;转化酶

中图分类号:Q 946.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)01-0167-04

植物生长发育所需要的光合产物大部分以蔗糖的形式供应和运输,与此同时蔗糖在植物体内还有多种其它的作用。它是大多数植物同化产物由“源”向“库”运输的主要形式;也是大多数果实糖分积累的主要形式,是果实品质形成的因子之一;它也是代谢调节因子,通过反馈作用调节一些酶的活性;同时蔗糖也是信号因子,诱导或阻碍某些基因的表达。总之植物体内蔗糖代谢对植物的生长发育起着重要的作用。在植物体内,与蔗糖代谢密切相关的酶主要有3种:蔗糖磷酸合成酶(Sucrose Phosphate Synthase, SPS)、蔗糖合成酶(Sucrose Synthase; SuSy E. C. 2. 4. 1. 13),转化酶(Invertase)、因此为了更好的了解蔗糖的代谢机理需要更加深入的了解这3种酶的分子与遗传特点。

第一作者简介:胡瑞芳(1987-),女,辽宁鞍山人,在读硕士,研究方向为基因工程与植物分子生物学。

责任作者:李玥莹(1966-),女,博士,教授,研究方向为基因工程与植物分子生物学。

基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(20092070);沈阳市科技局国际合作资助项目(1091241-6-00);辽宁“百千万人才工程”资助项目(2008921058)。

收稿日期:2011-10-31

1 蔗糖磷酸合成酶

1.1 蔗糖磷酸合成酶的基本性质

蔗糖磷酸合成酶(Sucrose Phosphate Synthase, SPS)是一种可溶性的酶,存在于细胞质中,是蔗糖合成系统中关键的限速酶^[1],该酶的活性最适 pH 为 7.0 左右。试验研究表明,SPS 是一种低丰度蛋白(不到可溶性蛋白的 0.1%),它催化 UDPG(尿苷二磷酸-葡萄糖)和 6-磷酸果糖,生成尿苷二磷酸(UDP)和 6-磷酸蔗糖(F6P),6-磷酸蔗糖可以经磷酸蔗糖酶(SPP)水解后形成蔗糖。最近研究表明,SPS 和 SPP 在植物体内形成一个复合体,因此 SPS 催化的反应基本上是不可逆的。

多数研究表明,SPS 是由 2 个或 4 个亚基构成的二聚体或四聚体。不同作物中纯化获得的 SPS,其亚基的分子量与亚基数量不同。Castleden 等^[2]将植物中的 SPS 分为 4 个家族,根据这个分类标准,A、B、C 家族在单子叶和双子叶植物中广泛存在,而 D 家族目前只在禾本科植物中被发现。目前,SPS 基因已从甜菜^[3]、苹果^[4]、马铃薯^[5]、甘蔗^[6]和棉花^[7]等多种植物中被克隆出来。随着研究材料范围的扩大和研究的深入,发现不同种植物体内不同类型的 SPS 分布不同,且相对含量不同,所起的作用也存在一些差异。但研究者对同一植

The Feasibility Study Report of Developing Lavender Industrial Agriculture Tourism

SONG Lei, CAO Jun, CAO Qing-chang

(Institute of Agriculture Intergration Development, Beijing Academy of Agriculture and Forestry, Beijing 100097)

Abstract: As living standards increasing, it is inevitable that people require higher standard service for the leisure facilities and tourism. In order to fulfill this requirement, there were appearing more than 10 leisure manors with the theme of lavender in Beijing area within a few years. The research about 6 manors were presented. The deficiency in these manors was analysed in details and the advice was presented for the development of lavender planting in Beijing area.

Key words: *Lavandula pedunculata*; planting; sightseeing manors; feasibility; Beijing

株中不同类型 SPS 所发挥的功能还是知之甚少的。

SPS 的表达不仅受光照、水分、CO₂ 浓度、温度等环境因子调节,还受植物生长调节物质的影响。许多植物叶片中的 SPS 活性在光照下增强,在黑暗条件下减弱。而 CO₂ 浓度提高或水分胁迫都可提高植物体内 SPS 的活性。

1.2 蔗糖磷酸合成酶的功能

植物生长发育所需要的光合产物大部分以蔗糖的形式供应和运输,而蔗糖磷酸合成酶不但是合成蔗糖的关键酶之一,还是光合产物向蔗糖和淀粉分配的关键调控点,所以它不但影响植物的生长发育,同时也影响光合作用产物的分配积累。

Seneweera 等^[8]对水稻研究表明,苗期叶中的 SPS 活性与植株的生长速度成正相关关系,而在过量表达 SPS 基因的转基因水稻^[9]、转基因烟草^[10]的研究中发现,转基因的株高明显比非转基因的植株高。在过量表达玉米 SPS 基因的转基因烟草植株^[12]的研究中,转基因烟草老叶的衰老被延迟。这些研究结果都表明,高活性的 SPS 对植物的生长和发育产生着积极的影响。

先前的大量研究表明,碳同化物在淀粉与蔗糖之间的分配直接受 SPS 活性大小的影响,SPS 活性与淀粉积累呈负相关,而与蔗糖积累呈正相关关系。而随后的研究者们将 SPS 基因转入马铃薯^[5]、烟草^[11]、棉花^[12]、水稻^[13]等植物的叶片中获得相应的转基因植株,这些转基因植株的叶片中的 SPS 的活性、蔗糖含量及蔗糖/淀粉比值都比非转基因植株的高。由此可见,SPS 对光合作用产物的分配积累有重要的影响。

SPS 对作物的品质和产量也产生着积极的影响。Laporte 等^[14]研究表明,在大田条件下转基因番茄要获得高产的最佳 SPS 活性应该是对照的 2 倍。SPS 通过影响光合产物的分配来影响作物的生长与发育,最终影响作物的产量和品质,但是并不是活性越高产量就越高。这可能是因为不仅是 SPS 活性影响着作物的产量,还有一些因素比如环境因素等也都影响着作物的产量。

2 蔗糖合成酶

2.1 蔗糖合成酶的基本性质

蔗糖合成酶(Sucrose Synthase; SuSy E. C. 2. 4. 1. 13)是植物蔗糖代谢关键酶中极其重要的一种酶,它是由分子质量约为 80~100 kd 的亚基构成的四聚体。已被证实在植物体内 SuSy 以可溶性及不溶性方式存在,前者在细胞质中,后者附着在细胞膜上。在大多数植物组织中, SuSy 有 2 种以上的同功酶,并且它们通常都有较高的氨基酸序列同源性和相似的生化性质。

蔗糖合成酶是一种可逆酶,其催化的反应是:蔗糖+UDP \rightleftharpoons 果糖+UDPG。虽然 SuSy 既能合成蔗糖又能分解蔗糖,但大多数学者认为 SuSy 的主要功能还

是分解蔗糖。该酶的降解活性受果糖和 UDPG 的抑制,合成活性受 UDG 的抑制,而这 2 种活性都受葡萄糖的抑制。一些离子对 SuSy 的活性也有影响,如 Mg²⁺ 是 SuSy 发挥活性必不可少的离子,但 Zn²⁺、Hg²⁺、Gu²⁺、Fe²⁺、Ni²⁺、Co²⁺ 对酶活性均有抑制作用^[15-16]。目前, SuSy 基因已经从拟南芥^[17]、柑橘^[18]、胡萝卜^[19] 和甘蔗^[20] 等作物中克隆出来。

2.2 蔗糖合成酶的功能

由于蔗糖合成酶具有分解和合成蔗糖的双重属性,所以在调控蔗糖代谢中起重要的作用,能影响植物的整个生长发育过程。通过对胡萝卜转化植株^[21]、转基因番茄^[22] 及 SuSy 抑制基因的棉花品系^[23] 的研究,发现 SuSy 基因影响植株的生长发育,但在不同品种的作物中是有差异的,它的表达具有发育和器官特异性。大量研究表明, SuSy 是影响库强的主要因子,而且还有调控果实输入蔗糖的多少和代谢蔗糖的能力。

逆境条件可以刺激叶片和其它器官中 SuSy 的活性和相应基因的表达。Iwona 等研究发现,拟南芥(含有 6 个 SuSy 基因)在低温和干旱胁迫下, SuS1 的转录水平增加,而 SuS2 mRNA 则在缺氧条件下被特异诱导。Jha A B 等^[24] 报道,经重金属砷处理的水稻幼苗 SuSy 的活性显著提高,为幼苗应对胁迫提供足够碳源。

Fisher 等^[25] 曾指出, SS 可能是蔗糖合成途径中的一个重要控制点,它的活性反映蔗糖生物合成途径的能力。目前大多数试验都表明,果实中的蔗糖含量与 SuSy 的相关系数要高于 SPS 的相关系数。

不同时期 SuSy 所起的作用不相同。Tanase 等^[26] 和 Komatsu 等^[27] 报道,在果实发育过程中,产生 2 种不同形式的 SuSy,即 SuSyI 和 SuSyII, SuSy1 在未成熟果实中主要起分解蔗糖的作用,特别在 0DPA 时分解活性最高,为细胞壁构建或为糖酵解提供底物;而 SuSy2 在成熟果实中对蔗糖起积累作用。

3 转化酶

3.1 转化酶的基本性质

转化酶(Invertase)又称蔗糖酶或 β -呋喃果糖苷酶。是与蔗糖代谢密切相关的一种酶,催化蔗糖不可逆水解成葡萄糖和果糖。

转化酶分为 3 类:酸性转化酶(Acid Invertase, AI)、中性转化酶(Neutral Invertase, NI)和碱性转化酶(Alkaline Invertase)。酸性转化酶又分为可溶性酸性转化酶(Soluble Acid Invertase, SAI)和细胞壁结合型酸性转化酶(Cell Wall-bound Invertase, CWI),前者主要存在于液泡中或细胞自由空间,为糖基化形式,其活性最适 pH 为酸性(4.5~5.0),调节植物组织中糖的积累和液泡中蔗糖利用。CWI 不可溶,也为糖基化形式,其活性

最适 pH 为酸性(4.5~5.5)^[31]。CWI 主要参与韧皮部质外体卸载时蔗糖的分解,以保持库-源之间蔗糖的浓度梯度。有报道认为 NI 和碱性 Inv 是同一种酶^[28],都存在于细胞质中,为非糖基化形式,其活性最适 pH 为中性或弱碱性(pH 7.0~8.0)^[31],在植物体内催化蔗糖分解为葡萄糖和果糖以满足植物对碳素和能量的需求,其活性通常较低。

SAI 和 CWI 具有相似的酶学特性,均为 β -呋喃果糖苷酶(β -fructofuranosidase)对蔗糖的亲合力最大(即 K_m 最小)^[29]。这 2 类转化酶活性都不同程度的受到一些重金属离子如 Ag^+ 、 Co^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 等的抑制作用^[30-31]。NI 和碱性 Inv 极不稳定,重金属离子对这 2 类酶的活性没有抑制作用。研究者推测这几种转化酶之间催化位点不同,而且没有抗原相似性^[32]。

许多研究已发现在高等植物组织中(包括源叶片、库叶片、果实及贮藏库器官)存在着多种 Inv 同功酶形式,但不同部位其含量不同。有研究表明,水稻叶片中转化酶的表达量比根、花药、幼穗中的表达要高^[33]。

3.2 转化酶的功能

转化酶的生理功能是非常复杂的,而且不同组织、不同的细胞及亚细胞中的功能也不同。

转化酶涉及生物和非生物胁迫的响应。有研究表明,在植物受伤部位细胞壁结合型酸性转化酶和可溶性酸性转化酶的活性都迅速增强^[34-35]。姜立智等人发现,水稻在盐处理和冷处理后,蔗糖转化酶基因的表达量均较对照的叶片有所升高。在胡萝卜和西红柿中,细胞壁和液泡蔗糖分解酶的活力在受伤的位点迅速升高,同时也伴随着己糖含量的升高^[36]。

转化酶参与植物的生长和器官建成,大量研究表明,转化酶活性较高的区域分布在分生组织和生长快速的组织或器官中^[37]。闫梅玲等^[38]发现在赤霞珠葡萄果实发育过程中,转化酶是调控糖分积累的关键酶,葡萄糖、果糖的积累主要受到转化酶的调控。在胡萝卜的组织培养中,酸性和碱性蔗糖转化酶的显著变化与细胞的分区密切相关^[39]。在体细胞发生过程中,碱性转化酶显著增加,酸性转化酶减少。而无胚胎发生的细胞正好相反,酸性转化酶的活性维持着较高的水平。因此,转化酶可能通过对代谢过程中糖分的分配调节在植物的生长发育过程中起着重要的作用。

转化酶影响果实中糖分组成。Klann 等^[40]研究表明,AI 反义基因转化的番茄果实中葡萄糖和果糖含量是对照的 50%,而蔗糖含量约为对照的 5 倍。Ohyama 等^[40]认为,转化酶活性受到了翻译转化酶基因表达的抑制,从而使番茄果实中蔗糖大量积累。

由于转化酶催化蔗糖分解为己糖,调节细胞内蔗糖与己糖的比率,所以它可能影响糖信号产生的多种代谢

途径。但目前这类报道不多。Sherson 等认为,CWI 决定从细胞外为细胞提供的是蔗糖还是己糖,胞外己糖的进入很可能作为一种信号调控细胞的分裂和分化。

4 结语

植物体内蔗糖代谢对植物的生长发育起着关键作用,对蔗糖代谢过程的研究,将有助于对植物生育及品质形成的了解。而植物体内蔗糖代谢是一个复杂的过程,是蔗糖代谢相关酶综合互作用的结果。而国内外的学者对 SPS、SS、Inv 这 3 种蔗糖代谢过程中的关键酶的研究也取得了可喜的成果,SPS 及 SS 基因已从多种植物中克隆出来,并且其遗传转化植株也有相关的研究。对于这些酶特性和功能的研究虽然取得了很大的进展,但仍有一些问题需要深入的探讨,例如对转化酶来说:为什么不同的亚细胞中有不同特性转化酶的存在,植物受到伤害时转化酶为什么升高,释放的蔗糖是否参与胁迫信号等。

近些年对于 3 种酶相互间的信号传递引起了关注,有学者指出,植物体内的蔗糖具有信号的功能,可能对库源关系起着调节作用。但糖信号以何种方式作用,怎么传递的目前都尚未清楚。揭示这些问题有利于从信号转导水平上阐述这 3 种酶对糖代谢的影响,以便用于未来农业中调节糖类的代谢及积累,得到最优化的植物。

参考文献

- [1] Huber S C. Role of sucrose-phosphate synthase in partitioning of carbon in leaves [J]. *Plant Physiol*, 1983, 71: 818-821.
- [2] Hesse H, Sonnewald U, Willmitzer L. Cloning and expression analysis of sucrose phosphate synthase from sugar beet (*Beta vulgaris* L) [J]. *Mol Gen Genet*, 1995, 247: 515-520.
- [3] Komatsu A, Takanokura Y, Omura M, et al. Cloning and molecular analysis of cDNAs encoding three sucrose phosphate synthase isoforms from a citrus fruit (*Citrus unshiu* Marc) [J]. *Mol Gen Genet*, 1996, 252: 346-351.
- [4] Atkinson R G, Perry J, Matsui T, et al. A stress, pathogenesis, and allergen-related cDNA in apple fruit is also ripening related [J]. *New Zealand J Crop Hort Sci*, 1996, 24: 103-107.
- [5] Tobias D J, Hirose T, Ishimaru K, et al. Elevated sucrose-phosphate synthase activity in source leaves of potato plants transformed with the maize SPS gene [J]. *Plant Prod Sci*, 1999(2): 92-99.
- [6] Sugiharto B, Sakakibara H, Sumadi S T. Differential expression of two genes for sucrose phosphate synthase in sugarcane; molecular cloning of the cDNAs and comparative analysis of gene expression [J]. *Plant Cell Physiol*, 1997, 38: 961-965.
- [7] Haigler C H, Holady S, Wu C F, et al. Transgenic cotton over expressing sucrose phosphate synthase produces higher quality fibers with increased cellulose content and has enhanced seed cotton yield; proceedings of Plant Biology 2000 (abstract no 477), July 15-19, San Diego, CA Rockville [C]. MD: American Society of Plant Physiologists, 2000.
- [8] Seneweera S P, Basra A S, Barlow E W, et al. Diurnal regulation of leaf blade elongation in rice by CO_2 [J]. *Plant Physiol*, 1995, 108: 1471-1477.
- [9] Ishimaru K, Ono K, Kashiwagi T. Identification of a new gene

controlling plant height in rice using the candidate-gene strategy [J]. *Planta*, 2004, 218:388-395.

[10] Park J Y, Canam T, Kang K Y, et al. Over-expression of an arabidopsis family A sucrose phosphate synthase (SPS) gene alters plant growth and fibre development [J]. *Transgenic Res*, 2008, 17:181-192.

[11] Baxter C T, Feyer C H, Turner J, et al. Elevated sucrose-phosphate synthase in transgenic tobacco sustains photosynthesis in older leaves and alters development [J]. *J Exp Bot*, 2003, 54:1813-1820.

[12] Haigler C H, Singh B, Zhang D S, et al. Transgenic cotton over-producing spinach sucrose phosphate synthase showed enhanced leaf sucrose synthesis and improved fiber quality under controlled environmental conditions [J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 63(6):815-832.

[13] Miswar B, Sugiharto, Soedarsono J, et al. Transformasi gen sucrose phosphate synthase (SoSPS1) menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* Untuk meningkatkan sintesis sukrosa pada tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L) [J]. *Berk Penel Hayati*, 2007(12):137-143.

[14] Laporte M M, Galagan J A, Prash A L, et al. Promoter strength and tissue specificity effects on growth of tomato plants transformed with maize sucrose-phosphate synthase [J]. *Planta*, 2001, 212:817-822.

[15] 卢合全, 沈法富, 刘凌霄, 等. 植物蔗糖合成酶功能与分子生物学研究进展[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(7):34-37.

[16] Elling L. Effect of metal ions on sucrose synthase from rice grains—a study on enzyme inhibition and enzyme topography [J]. *Glycobiology*, 1995, 5(2):201-206.

[17] Haouazine T, Tymowska L, Takvorian A, et al. Characterization of two members of the Arabidopsis thaliana gene family, coding for sucrose synthase [J]. *Gene*, 1997, 197:239-251.

[18] Akira K, Takaya M, Kazuhiko K, et al. Analysis of Sucrose Synthase genes in citrus suggests different roles and phylogenetic relationships [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53:61-71.

[19] Sebkova V, Unger C, Hardegger M. Biochemical, physiological and molecular characterization of sucrose synthase from *Daucus carota* [J]. *Plant Physiol*, 1995, 108:75-83.

[20] Lingle S E, Dyer J M. Cloning and expression of sucrose synthase-1cDNA from sugarcane [J]. *Plant Physiol*, 2001, 158:129-131.

[21] Tang G Q, Sturm A. Antisense repression of sucrose synthase in carrot affect growth rather than sucrose partitioning [J]. *Plant Molecular Biology*, 1999, 41:465-479.

[22] D'aoust M A, Yelle S, Nguyen-quoc B. Antisense inhibition of tomato fruit sucrose synthase decreases fruit setting and the sucrose unloading capacity of young fruit [J]. *Plant Cell*, 1999, 11(12):2407-2418.

[23] Ruan Y L, Danny J, Llewellyn R T. Suppression of sucrose synthase gene expression repression cotton fiber cell initiation, elongation, and seed development [J]. *Plant Cell*, 2003(15):952-964.

[24] Jha A B, Dubey R S. Carbohydrate metabolism in growing rice seedlings under arsenic toxicity [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161:101-108.

[25] Fisher D B, Wang N. Sucrose Concentration Gradients along the Post-Phloem Transport Pathway in the Maternal Tissues of Developing Wheat Grains [J]. *Plant Physiol*, 1995, 109:587-592.

[26] Tanase K, Yamaki S. Purification and characterization of two sucrose synthase isoforms from Japanese pear fruit [J]. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41:408-414.

[27] Komatsu A. Analysis of sucrose synthase genes in citrus suggests different roles and phylogenetic relationships [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53:61-67.

[28] Sturm A. Invertases Primary Structures, Functions, and Roles in Plant Development and Sucrose Partitioning [J]. *Plant Physiol*, 1999, 121:1-7.

[29] Isla M I, Vattuone M A, Ordóñez R M, et al. Invertase activity associated with the walls of *Solanum tuberosum* tubers [J]. *Phytochemistry*, 1999, 50:525-534.

[30] Ranwala A P, Iwanami S S, Masuda H. Acid and neutral invertases in the mesocarp of developing muskmelon *Cucumis melo* L. cv. Princefruit [J]. *Plant Physiol*, 1991, 96:881-886.

[31] 王永章, 王小芳, 张大鹏. 苹果果实转化酶种类和特性研究[J]. *中国农业大学学报*, 2001(5):9-14.

[32] 潘秋红, 王大鹏. 植物转化酶的种类、特性与功能[J]. *植物生理学通讯*, 2004, 4(6):275-280.

[33] 姜立智, 林长发, 梁宗锁, 等. 水稻蔗糖转化酶基因的克隆及其功能的初步探讨[J]. *复旦学报(自然科学版)* 2003, 42(4):588-592.

[34] Koch K E. Carbohydrate-modulated gene expression in plant [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol*, 1996, 47:509-540.

[35] Benhamou N, Genier J, Chrispeels M J. Accumulation of β -fructosidase in the cell wall of tomato roots following infection by fungal wilt pathogen [J]. *Plant Physiol*, 1991, 97:739-750.

[36] Sturm A, Tang G Q. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning [J]. *Trends in Plant Science*, 1999, 4(10):401-407.

[37] Estruch J J, Beltran J P. Changes in invertase activities precede ovary growth induced by gibberellic acid in *Pisum sativum* [J]. *Physiol Plant*, 1991, 81:319-326.

[38] 闫梅玲, 王振平, 范永, 等. 蔗糖代谢相关酶在赤霞珠葡萄果实糖积累中的作用[J]. *果树学报*, 2010, 27(5):703-707.

[39] Tan G Q, Lüscher M, Sturm A. Antisense repression of vacuolar and cell wall invertase in transgenic carrot alter early plant development and sucrose partitioning [J]. *Plant Cell*, 1999(11):177-189.

[40] Klann E M, Hall Bradford, Bennett A B. Antisense acid invertase (TIV1) gene alters soluble sugar composition and size in transgenic tomato fruit [J]. *Plant Physiol*, 1996, 112:1321-1330.

Research Advance on Sucrose Synthesize Enzymes

HU Rui-fang, JIANG Hui, LI Yue-ying

(College of Chemical and Life Sciences, Shenyang Normal University, Shenyang, Liaoning 110034)

Abstract: Sucrose is the primary form of photosynthesis product in the plant growth to supply and transportation. SPS, SS and Inv are three of the key enzymes regulating sucrose synthesize in plants and play an important role in plant growth. In this article metabolism, physiological and biological functions of the three enzymes were reviewed.

Key words: sucrose phosphate synthase; sucrose synthase; invertase