

植物 MYB 转录因子调控 苯丙烷类生物合成研究

穆红梅¹, 杜秀菊², 张秀省¹, 张敏¹, 曹兴¹

(1. 聊城大学 农学院, 山东 聊城 252059; 2. 聊城大学 生命科学院, 山东 聊城 252059)

摘要:植物苯丙烷类化合物和人类生活密切相关,可用于生产医药、染料、农药、香料等。但是其生物合成也是非常复杂的过程,严格受到植物细胞内基因表达时间和空间的调控。该研究总结了植物苯丙烷类物质的生物合成途径及参与植物苯丙烷类物质合成调控的转录因子,重点阐述了 MYB 转录因子调控木质素的生物合成过程、R2R3MYB 转录因子调控黄酮醇及花青素的生物合成过程,并提出了植物苯丙烷类物质代谢研究存在的问题,以期对苯丙烷类化合物的研究和利用提供理论参考。

关键词:MYB; 转录因子; 苯丙素类化合物; 类黄酮; 花青素

中图分类号:Q 943.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)24-0171-04

植物苯丙烷类物质在植物中普遍存在,这类次生代谢产物以羟基芳香环为共同特征,有数千种不同的化学结构形式,包括总黄酮、黄酮醇、香豆素、木质素、花青素以及单宁等苯类化合物^[1]。这些化合物对植物生长与发育有重要作用,并在植物应答逆境胁迫中发挥重要的作用,作为植物抗毒素、抗逆保护因子、花和果实颜色、细胞构成、信号传导分子^[2]。它们同时与人类生活密切相关,可用于生产医药、染料、农药、香料、香水、保健品。此外,次生代谢产物决定人类食品质量的重要方面(食品的味道、颜色和气味),并且植物色素是重要的观赏植物和决定花卉的多样性。植物苯丙烷类生物合成是一个高耗能和不可逆过程,许多发育和环境因素,例如光、激素、昼夜节律、糖含量、逆境、病虫害和机械伤害等都会影响其生物合成。在过去的 10 年里,许多参与苯丙烷类生物合成的 MYB 转录因子已确定和被证明。研究植物苯丙烷类物质的代谢途径、提高植物苯丙烷类次生代谢物质产量,一直是一个非常有意义的植物育种目标。

1 植物苯丙烷类物质的生物合成途径

多数苯丙烷类物质为苯丙素衍生聚合物,通过苯丙

烷途径合成(图 1)。起始反应是 L-苯丙氨酸经苯丙氨酸解氨酶(PAL)催化生成肉桂酸,经肉桂酸羟化酶(C4H)催化形成 p-香豆酸, p-香豆酸经 4-香豆酰-CoA 合成酶(4CL)催化形成 4-香豆酸辅酶 A。在 4-香豆酸辅酶 A 处有 3 条分支途径,途径一:4-香豆酸辅酶 A 经肉桂酰辅酶 A 还原酶(CCR)催化成香豆醛、再经肉桂醇脱氢酶(CAD)催化生成香豆醇,后生成木质素的 H 型单体(对羟基苯基)或者经由 p-香豆酰酯 3'-羟化酶(C3'H)基因,咖啡酰辅酶 A 3-O-甲基转移酶(CCoAOMT)基因、肉桂酰辅酶 A 还原酶(CCR)、肉桂醇脱氢酶(CAD)基因催化生成木质素的 G 型(愈创木基)和 S 型(紫丁香基)单体;途径二:4-香豆酸辅酶 A 进一步反应形成查尔酮、黄烷酮、总黄酮;途径三:4-香豆酸辅酶 A 与丙二酰辅酶 A 在查耳酮合酶(CHS)的催化作用下生成柚苷配基查耳酮,在查耳酮异构酶(CHI)催化下生成柚苷配基。柚苷配基在黄酮醇 3'-羟化酶(F3'H)作用下与黄烷酮结合生成二氢黄酮醇,在二氢黄酮醇-4 还原酶(DFR)催化下生成无色花青素,经过无色花青素双加氧酶(LDOX)催化生成花青素,进一步反应生成花色素甙、浓缩单宁。

2 植物苯丙烷类物质的转录调控

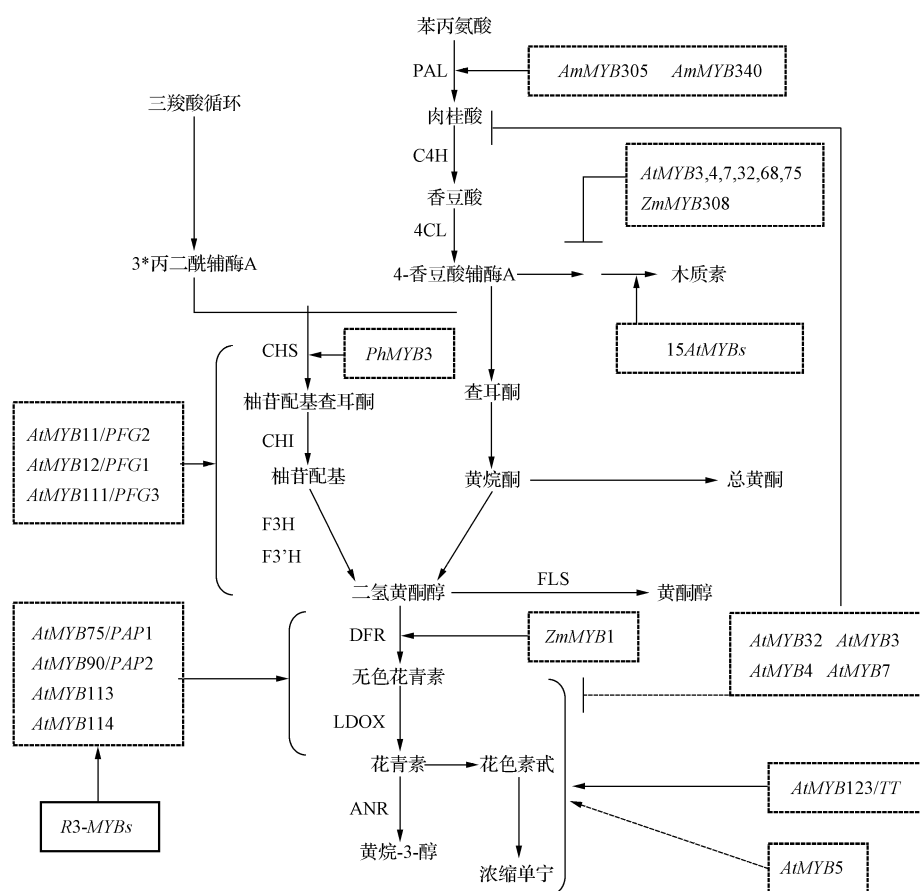
2.1 参与植物苯丙烷类物质合成调控的转录因子

拟南芥调控网络数据库 (AGRIS) 和 转录因子数据库 (TRANSFAC) 数据表明,能与 MYB 转录因子结合的基因启动子中顺式作用元件有: MBSI ((T/C)AAC(G/T)G(A/C/T)(A/C/T)), MBSII (AGTTAGTTA), MBSIIG ((C/T)ACC(A/T)A(A/C)C)^[3]。许多 R2R3 MYB 转

第一作者简介:穆红梅(1974-),女,博士,高级实验师,现主要从事园林和资源植物的生物技术等研究工作。E-mail: muhongmei74@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31301802);山东省教育厅自然科学基金资助项目(ZR2011CL010)。

收稿日期:2015-08-11



注: *AmMYB305*, *AmMYB340* 为来自金鱼草的 MYB 类转录因子; *ZmMYB1*, *ZmMYB 308* 为来自玉米的 MYB 类转录因子; *PhMYB3* 为来自矮牵牛的 MYB 类转录因子; *AtMYB3*, 4, 5 等为来自拟南芥的 MYB 类转录因子。实线箭头表示促进该反应; 虚线箭头表示为公认的规则, 非箭头表示阻遏该反应。15 *AtMYBs* 包括 *AtMYB20*, 26, 42, 43, 46, 52, 54, 58, 61, 63, 69, 83, 85, 99, 103。

图1 R2R3-MYB 类转录因子调控植物类黄酮生物合成途径^[7,23-45]

录因子识别富含 AC 的 DNA 结合域。

启动子和凝胶阻滞分析表明, 苯丙烷合成途径的催化酶基因的启动子部位大都具有 AC 富集基序, 这些 AC 富集基序可以与 MYB 转录因子 DNA 结合域结合, 从而被 MYB 转录因子激活^[4-7]。例如在苯丙氨酸解氨酶(PAL)基因、4-香豆酰-CoA 合成酶(4CL)基因、p-香豆酰酯 3'-羟化酶(*C3'H*)基因, 木质素合成途径中的咖啡酰辅酶 A 3-O-甲基转移酶(*CCoAOMT*)基因、肉桂酰辅酶 A 还原酶(*CCR*)、肉桂醇脱氢酶(*CAD*)基因的启动子中都具有 AC 富集基序, 可以与 MYB 转录因子相结合, 受 MYB 转录因子的调控。

在其它植物例如玉米、金鱼草、矮牵牛等的苯丙烷类代谢途径中也发现 R2R3MYB 转录因子有着类似的调控功能。通过结合位点的选择试验和 EMSAs 对玉米 P 蛋白(参与类黄酮生物合成的 R2R3MYB)的研究表明, 玉米 P 类 MYB 转录因子调控玉米胚乳中 4-香豆酰辅酶 A 合成黄烷酮, 玉米 C1、AN2 类 MYB 转录因子调控玉米中花青素的生物合成。

2.2 MYB 转录因子调控木质素的生物合成

近年来, 通过对拟南芥、玉米、金鱼草和矮牵牛等植物中黄酮类分支途径的生化和遗传学研究, 发现了一系列 R2R3-MYB 转录因子作为调节蛋白广泛参与植物苯丙烷类次生代谢合成途径的调控。金鱼草的转录因子 *AmMYB305* 和 *AmMYB340* 存在竞争互作共表达现象, 通过内部协调机制共同调控苯丙烷代谢途径中 PAL 的合成。

MYB 家族基因在木质素生物合成中有诱导、催化、阻遏等多重作用^[8]。 *AtMYB26/MS35* 调控次生壁在花药中沉积^[9]。 *AtMYB46/MYB83* 可以激活整个次生细胞壁生物合成, 正向调节纤维和维管束形成过程中的木质素生物积累, 促进纤维素和木聚糖沉积^[10]。 *AtMYB58*、*AtMYB63*、*AtMYB85* 在纤维和维管束形成过程中促进木质素生物合成^[11]。 *AtMYB52*、*AtMYB54* 和 *AtMYB69*、*AtMYB103* 正向调节纤维细胞中细胞壁的增厚。有研究表明 *AtMYB52*、*AtMYB54* 和 *AtMYB69* 调节木质素、木聚糖和纤维素生物合成, *AtMYB103* 调节纤维素生物

合成^[12]。AtMYB61 在促进木质素积累的过程中具有多效性的作用^[13]、同时能调控粘液生产^[14]和和气孔孔径^[15], 这表明它可能通过调节碳分配与上游不同的代谢途径相连。

AtMYB3、AtMYB4、AtMYB7、AtMYB32、AtMYB68 和 AtMYB75 编码转录阻遏物, 负性调控木质素的生物合成^[16]。AtMYB4 调控紫外诱导的芥子酸酯的生物合成, 而 AtMYB32 调节花粉壁组成^[17]。而 AtMYB68 抑制根中木质素积累。

2.3 R2R3MYB 转录因子调控黄酮醇、花青素的生物合成

查耳酮合酶(CHS)、查尔酮异构酶(CHI)、黄酮羟化酶(F3H)、黄酮醇 3'-羟化酶(F3'H)、黄酮醇合成酶(FLS)催化黄酮醇生物合成, 有研究表明矮牵牛中的 *phMYB3* 转录因子调控查耳酮合成酶基因(CHS)的表达^[18]。

研究表明在拟南芥中 AtMYB11/PFG1、AtMYB12/PFG1 和 AtMYB111/PFG3 在所有组织中控制黄酮醇生物合成, DUBOS 等^[11]根据 R2R3MYB 的氨基酸序列, 将其归类为 7 亚组。

拟南芥中 AtMYB75/PAP1、AtMYB90/PAP2、AtMYB113 和 AtMYB114 控制植物营养组织花青素生物合成, DUBOS 等^[11]将其归类为第 6 亚组。AtMYB123/TT2 控制拟南芥种皮中原花青素生物合成(proanthocyanidins), 参与拟南芥根发育的调控^[21]。近年来有研究表明有一类小 R3-MYB 转录因子, 参与植物叶片中表皮细胞分化、调控花青素的积累^[22]。

在玉米、矮牵牛中也发现有调控花青素生物合成的 R2R3MYB 转录因子。玉米 P 类 MYB 转录因子调控玉米胚乳中 4-香豆酸辅酶 A 合成黄烷酮, 玉米 C1、AN2 类 MYB 转录因子调控玉米中花青素的生物合成。玉米中的 *ZmMYB1* 调控玉米花青素合成途径中二氢黄酮醇到无色花青素的生物合成(即调控 *DFR* 基因的表达)。在矮牵牛的花中 MYB 转录因子 AN2 促进花青素的生物合成。但是与玉米中的 C1 类 MYB 转录因子不同的是 AN2 不调控矮牵牛早期花青素合成步骤。同时研究发现玉米中的 *ZmMYB38* 转录因子阻遏玉米中 C1 类转录因子的表达^[23]。

3 研究展望

在植物次生代谢中, 木质素和花青素是目前研究较为深入的苯丙烷类物质生物合成途径。研究表明, 植物次生代谢产物合成是非常复杂的过程, 严格受到植物细胞内基因表达时间和空间的调控, 主要由结构基因和调节基因 2 类基因控制。其中, 结构基因直接编码与苯丙烷类物质生物合成有关的各种酶类(如 PAL、C4H、4CL 等), 而调节基因则是控制结构基因表

达强度和表达方式的一类基因。植物对其生长发育调控的方式有很多种, 其中一种重要方式就是转录因子(transcription factor, TF)在转录水平上的调控。

同时植物苯丙烷类物质还会受到环境因子所调控, 例如有研究表明花色苷能够被光照、低温、盐胁迫、真菌、蔗糖、营养等环境因子所调控^[24], 木质素受到蔗糖、昼夜节律、光照等因子调控^[2]。

目前人们对苯丙烷类物质生物合成的转录调控网络有了更深入的认识。已经确定许多来自不同基因家族和不同的物种的转录因子参与了该过程(例如 *bHLH*、*NAC*、*R2R3MYB* 等)。有很多研究证明富含 AC 的顺式作用元件参与调控木质素、花青素等苯丙烷类物质合成的基因表达。通过分析苯丙烷类物质结构基因的启动子区域, 发现存在能对 Ca^{2+} 、蔗糖、光照、真菌病害等作出应答的顺式元件, 而且有大量潜在的 *NAC*、*R2R3-MYB* 和 *bHLH* 因子结合位点, 这些位点的序列和距离转录起始位点的距离都不同^[25]。这表明单个基因也可能受到多个不同 *NAC*、*R2R3-MYB* 和 *bHLH* 转录因子的调控。这么复杂而且精密的调控必然涉及到多个转录因子或者调控转录因子的因子。

目前关于植物苯丙烷类物质代谢还有一些问题需要明晰: ①环境因子例如激素、糖、逆境等刺激木质素、类黄酮等苯丙烷类物质生物合成的响应机制尚不明晰。植物体内激素、糖、逆境等合成、运输和信号网络十分复杂, 以至于很难区分是在初生还是次生代谢阶段对苯丙烷类物质的合成发挥作用; 找到响应激素、糖、逆境等刺激的植物体内苯丙烷类物质合成的调节器对于提高苯丙烷类物质含量、理解苯丙烷类物质合成和其它生物过程的关系至关重要。②一些能使苯丙烷类物质等转录激活物生物改性的物质是未知的。二磷酸腺苷核糖多聚化(Poly-ADP-Ribosylation)是否有影响苯丙烷类物质的生物合成的转录调控, 或木质素催化物的 MAPK 磷酸化是否催化木质素的生物合成尚未明确。③由图 1 中可发现一些苯丙烷类物质的生物合成基因既可以被催化也可以被阻遏, 表明植物体内苯丙烷类物质的生物合成存在有一个未知的微调转录的机制, 提供了额外的灵活性, 用来控制催化剂和阻遏物共同的目标。这需要对苯丙烷类物质和植物生理途径之间的关系有进一步的认识。

参考文献

- [1] BOUDET A M. Evolution and current status of research in phenolic compounds[J]. *Phytochemistry*, 2007, 68: 2722-2735.
- [2] ZHAO Q, DIXON R A. Transcriptional networks for lignin biosynthesis: more complex than we thought? [J]. *Trends in Plant Science*, 2011, 16: 227-233.
- [3] PROUSEA M B, CAMPBELL M M. The interaction between MYB proteins and their target DNA binding sites[J]. *Biochemical et Biophysica*

Acta, 2012, 1819: 67-77.

- [4] PATZLAFF A, NEWMAN L J, DUBOS C, et al. Characterisation of Pt MYB1, an R2R3-MYB from pine xylem[J]. Plant Mol Biol, 2003, 53: 597-608.
- [5] ZHOU J, LEE C, ZHONG R, et al. MYB58 and MYB63 are transcriptional activators of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2009, 21: 248-266.
- [6] LEAGAY S, LACOMBE E, GOICOECHEA M, et al. Molecular characterization of EgMYB1, a putative transcriptional repressor of the lignin biosynthetic pathway[J]. Plant Sci, 2007, 173: 542-549.
- [7] LACOMBE E, van D J, BOERJAN W, et al. Characterization of cis-elements required for vascular expression of the cinnamoyl CoA reductase gene and for protein-DNA complex formation[J]. Plant J, 2000, 23: 663-676.
- [8] GRAY J, CAPPARRÉS-RUIZ D, GROTEWOLD E. Grass phenylpropanoids; Regulate before using! [J]. Plant Science, 2012, 184: 112-120.
- [9] ZHOU J, LEE C, ZHONG R, et al. MYB58 and MYB63 are transcriptional activators of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2009, 21: 248-266.
- [10] PRESTON J, WHEELER J, HEAZLEWOOD J, et al. AtMYB32 is required for normal pollen development in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2004, 40: 979-995.
- [11] DUBOS C, LE G J, BAUDRY A, et al. MYB12 is a new regulator of flavonoids biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2008, 55: 940-953.
- [12] JIN H, COMINELLI E, BAILEY P, et al. Transcriptional repression by AtMYB4 controls production of UV-protecting sunscreens in *Arabidopsis*[J]. EMBO J, 2000, 19: 6150-6161.
- [13] ZHONG R, LEE C, ZHOU J, et al. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2008, 20: 2763-2782.
- [14] FENG C, ANDREASSON E, MATTSON O, et al. *Arabidopsis* MYB68 in development and responses to environmental cues[J]. Plant Sci, 2004, 167: 1099-1107.

1099-1107.

- [15] ZHONG R, RICHARDSON E A, YE Z H. The MYB46 transcription factor is a direct target of SND1 and regulates secondary wall biosynthesis in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2007, 19: 2776-2792.
- [16] GONZALEZ A, MENDENHALL J, HUO Y, et al. TTG1 complex MYBs, MYB5 and TT2, control outer seed coat differentiation[J]. Dev Biol, 2009, 325: 412-421.
- [17] PRESTON J, WHEELER J, HEAZLEWOOD J, et al. AtMYB32 is required for normal pollen development in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2004, 40: 979-995.
- [18] MARTIN C, PAZ-ARES J. MYB transcription factors in plants[J]. Trends Genet, 1997, 13(2): 67-73.
- [19] STRACKE R, ISHIHARA H, HUEP G, et al. Differential regulation of closely related R2R3-MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the *Arabidopsis thaliana* seedling[J]. Plant J, 2007, 50: 660-677.
- [20] LEPINIEC L, DEBEAUJON I, ROUTABOUL J M, et al. Genetics and biochemistry of seed flavonoids[J]. Annu Rev Plant Biol, 2006, 57: 405-430.
- [21] 刘忠丽, 丛悦玺, 荀维超, 等. ATMYB123 和 ATKOR1 基因参与拟南芥根发育的调控[J]. 西北植物学报, 2012, 32(1): 42-47.
- [22] NEMIE-FEYISSA D, OLAFSDOTTIR S M, HEIDARI B, et al. Nitrogen depletion and small R3-MYB transcription factors affecting anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* leaves[J]. Phytochemistry, 2014, 98: 34-40.
- [23] SOLANO R, NIETO C, AVILA J, et al. Dual DNA binding specificity of a petal epidermis-specific MYB transcription factor (MYB-Ph3) from *Petunia hybrida*[J]. EMBO J, 1995, 14: 1773-1784.
- [24] 张龙, 李卫华, 姜淑梅, 等. 花色苷生物合成与分子调控研究进展[J]. 园艺学报, 2008, 35(6): 909-916.
- [25] COLLOP R, EVEN S, COIOVA-TSOLOVA V, et al. Expression of the grape dihydroflavonol gene and analysis of its promoter region[J]. J Exp Bot, 2002, 53: 1397-1409.

Study on Plants MYB Transcription Factors Regulate Biological Synthesis of Phenylpropanoid Metabolism

MU Hongmei¹, DU Xiuju², ZHANG Xiusheng¹, ZHANG Min¹, CAO Xing¹

(1. College of Agriculture, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059; 2. College of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059)

Abstract: Phenylpropanoids of plants (flavonoids or anthocyanin) are closely related to human life, and can be used in the production of medicine, dye, pesticide, and perfumes. But the process of its biosynthesis is very complex, strictly regulated by temporal and spatial gene expression in plant cells. In this review the biosynthetic pathway and the transcription factors involved in the regulation of the synthesis of plant phenylpropanoids were summarized. The regulation of MYB transcription factor in the lignin biosynthesis, and R2R3MYB transcription factors in the biosynthesis of flavonoids and anthocyanins biosynthesis were described in this paper. And the problems on the metabolism of phenylpropanoids in plants were put forward. The information was helpful for the research and utilization of phenylpropanoids in plants.

Keywords: MYB; transcription factors; phenylpropanoids; flavonoids; anthocyanin