

植物赤霉素信号转导途径中 *GAMYB* 基因及其在大豆中的研究

高 阳, 赵 琳, 李文滨

(东北农业大学 大豆研究所, 大豆生物学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要: 赤霉素 (gibberellins 或 gibberellic acid, GA) 作为植物生长的必需激素之一, 在植物生长发育的整个过程中发挥着至关重要的作用。近年来随着植物功能基因组学的发展和突变体的应用, 对赤霉素信号转导途径领域的研究取得了较大的进展, 并鉴定出了介入赤霉素信号转导过程的重要基因。其中, *GAMYB* 基因是赤霉素信号转导途径中一个重要的转录因子。该文综述了赤霉素信号转导途径及其中间组分, 以及转录因子 *GAMYB* 基因的研究进展。主要包括 *GAMYB* 基因的结构, 基因在生长发育中的作用和大豆中 *GAMYB* 基因的研究及展望。

关键词: 赤霉素信号转导; *GAMYB* 基因; 大豆

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2010)04-0717-04

Advances on the Study of *GAMYB* Gene in Gibberellin Signal Transduction in Soybean and Other Plants

GAO Yang, ZHAO Lin, LI Wen-bin

(Soybean Research Institute, Key Laboratory of Soybean Biology of Chinese Education Ministry, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: Gibberellin (GA) is a common plant hormone that plays an important role in the growth and development in higher plants. In recent years, the power of molecular genetics has dramatically advanced our understanding of all aspects of GA signaling. Many genes encoding GA response pathway components have been identified using *Arabidopsis* and cereal mutants. *GAMYB* is one of the key MYB transcription factor that is expressed in response to GA. In this paper, research on the GA signal transduction, GA response pathway components and transcription factor *GAMYB* were reviewed. It included the structure of *GAMYB*, its regulation mechanism in diverse developmental processes and research on *GAMYB* gene in soybean.

Key words: GA signal transduction; *GAMYB* gene; Soybean

赤霉素信号转导途径及其作用因子是最近几年来的研究热点。虽然目前为止还没有研究出完整 GA 信号转导途径的清晰路径, 但是随着模式植物拟南芥和水稻基因组测序完成以及相关基因突变体的大规模筛选, 已经克隆了部分 GA 信号转导途径中的作用因子, GA 信号转导的模式也已基本建立。*GAMYB* 基因是赤霉素 (GA) 信号转导途径中一个重要的促进因子, 在植物的种子萌发, 茎的伸长, 开花诱导和花药的发育过程中发挥着极其重要的作用^[1-2], 而大豆的开花时间、花的数量及花的育性, 严格控制着大豆的生育期及其产量, 研究赤霉素信号转导中 *GAMYB* 基因, 对大豆生育期性状的改良、花的育性和大豆赤霉素信号转导有着重要的理论意义和农业生产应用价值。

1 赤霉素调控模式研究进展

赤霉素作为一种重要的植物激素, 在植物生长发育的各个时期发挥着重要的作用。赤霉素的生理功能主要是依靠赤霉素在植物体内的信号转导来实现。目前虽然还没有完整的 GA 信号转导途径的清晰路径, 但是已分离得到了许多 GA 信号转导组分及其调节的组织特异性基因, GA 信号转导途径是由 GA 信号感应, GA 信号转导, 下游基因的表达三部分构成^[3]。

1.1 赤霉素受体

Sasaki 等^[4]在水稻中鉴定了一种 GA 不敏感的矮化突变体 *gid1*。*GID1* 基因编码一些丝氨酸水解酶, 包括酯酶, 脂肪酶和蛋白酶。分析 *gid1* 和 *slr1* 双突变体发现, *SLR1* 基因在 *GID1* 基因的下游。GA

收稿日期: 2010-03-20

基金项目: 大豆生物学教育部重点实验室开放基金资助项目 (SB08A04); 国家自然科学基金资助项目 (30971810); 大豆光周期、抗逆及抗病基因的克隆和功能验证资助项目 (2009ZX08009-0898)。

第一作者简介: 高阳 (1984-), 男, 在读硕士, 研究方向为大豆生物技术。E-mail: gaoyang_0909@yahoo.cn。

通讯作者: 李文滨, 教授, 博士生导师。E-mail: wenbinli@yahoo.com。

处理 *gid1* 突变体, SLR1 蛋白无法降解,但在野生型植株中能迅速降解^[5]。Ueguchi 等^[6]研究证明, GST-GID1 与具生物活性的 GA 有很强的亲和性,而 3 种 *gid1* 突变位点所对应的 GST-GID1 却没有 GA 结合活性。酵母双杂交实验表明, GID1 能与水稻的 DELLA 蛋白 SLR1 相作用。所以, GID1 在水稻中作为可溶性的受体介导 GA 信号传导, 它在与 GA 结合感知信号后, 将信号传递到 DELLA 蛋白, 从而诱发一系列下游反应。

1.2 赤霉素转导

GA 信号转导途径中各作用因子间的相互关系较为复杂。一般来说, GA 信号产生后先通过受体系统立即传递给 DELLA 蛋白, 然后向下游传递。已知 GA 信号可以影响 DELLA 蛋白的稳定性并诱导 DELLA 的降解。这种 GA 引导的去稳定化中, DELLA 结构域起到了决定性的作用。这种去稳定性的机制与泛素介导的蛋白酶体 (Ubiquitin-proteasome) 降解有关^[7]。随后分别在水稻和拟南芥中证明了 F-box 蛋白参与 GA 降解水稻 GID2 和拟南芥 SLY1 蛋白。Fleet 和 Sun^[2]研究表明, F-box 类蛋白是 E3 泛素连接酶复合体 SCF (Skp1-Cullin-F-box) 的一部分, 参与 GA 降解 DELLA 蛋白。GA 通过介导转录抑制因子 (如 DELLA 蛋白) 的泛素化降解, 从而引起相关基因的表达, 最终引起相应的生理生化反应^[2]。因此, 转录抑制因子及其泛素化降解乃是 GA 在转录水平上调控机制的核心。

1.3 赤霉素信号转导途径中的作用因子

根据在 GA 信号转导中是起正向调节或负向调节作用, 将与 GA 信号转导相关的基因分为正向作用因子 (positively acting components) 和反向作用因子 (negative acting components)。正向作用因子包括 *GAMYB*, *DWARF1*, *PHOR1*, *SLEEPY1*, *GID1*, *RSG*。反向作用因子包括 *RGA/GAI* 蛋白, *SPY*, *SHI*。GA 信号转导途径中负调控因子是调控机制的分子开关。

2 *GAMYB* 基因的研究概况

GAMYB 是受 GA 诱导的 MYB 类转录因子, 是 GA 信号应答途径中首个被鉴定出来的正向作用的因子。*GAMYB* 蛋白通过结合到 GA 应答基因的启动子上来诱导下游基因的表达^[8]。

2.1 *GAMYB* 的结构

目前, 已经在大麦^[9], 水稻^[10], 燕麦^[11], 拟南芥^[12]等植物中分离得到了其相应的 *GAMYB* 基因。*GAMYB* 基因同源率较高, 且具有高度保守的结构。MYB 结构域 (R2R3 DNA 结合结构域) 是一段约 51-

52 个氨基酸残基的肽段, 这些保守的氨基酸残基使得 *GAMYB* 结构域折叠成螺旋-转角-螺旋 (Helix-turn-Helix) 的结构^[13]。另外, 该基因有一些特殊的保守区域和结构, 包括 BOX1, BOX2, BOX3 区域和开放阅读框 3'端的一个内含子^[12]。Achard 等^[14]研究表明, *GAMYB* 基因受 microRNA 的调控, *GAMYB* 基因上存在 miR159 的结合位点。

2.2 *GAMYB* 基因在种子萌发中的研究

1995 年, Gubler 等^[9]研究 GA 对大麦 α -淀粉酶的作用时, 首次克隆了 *GAMYB* 基因, 并对其进行了深入的研究。研究发现, 在大麦种子萌发时, 糊粉层中 *HvGAMYB* 基因的表达量随着 GA 含量的上升而增加, α -淀粉酶的量也随之增加, 而这种作用会被 ABA 所抑制。随后发现 *HvGAMYB* 基因表达的时间在 α -淀粉酶基因表达之前, 证明 α -淀粉酶基因是 *HvGAMYB* 调控的下游基因。通过对 α -淀粉酶启动子功能分析发现, GARC 元件为 *HvGAMYB* 基因的结合元件, 它包括一个嘧啶盒, TAACAAA 序列和 TATCCAC 盒^[15-17]。Gubler 等^[8]研究表明, *HvGAMYB* 不仅能诱导 α -淀粉酶的表达, 也能诱导蛋白酶和葡聚糖酶基因的表达。Fiona 等^[13]在 GA 诱导的其它水解酶基因启动子上, 也相继发现了 GARE 元件和 TAACAAA-like 序列, 证明了 *HvGAMYB* 基因也能活化这类水解酶基因的表达。Raventos 等^[18]在大麦糊粉层中发现, *HvGAMYB* 受锌指蛋白 HRT 的抑制。Keita Sutoh 等^[19]在水稻中分离出了 *OsGAMYB* 基因, 验证了 *OsGAMYB* 基因在糊粉层 GA 信号传导的作用和 α -淀粉酶基因启动子上的结合序列。Sun 和 Gubler^[20]研究大麦糊粉层中的 GA 信号转导途径时, 发现 DELLA 蛋白的降解和 *GAMYB* 基因的表达时间有一定差距, 表明 *GAMYB* 基因可能不是 DELLA 蛋白的直接靶基因。Lee^[21]和 Tyler^[22]发现拟南芥 DELLA 家族中 RGL2 在萌发中是主要的抑制因子。

2.3 *GAMYB* 基因在开花诱导中的研究

GAMYB 基因不仅在糊粉层中表达, 在花的诱导, 茎的伸长和花药发育中也起着重要作用^[1]。Gocal^[11]等发现在燕麦花起始阶段的顶端分生组织中, *LtGAMYB* 的表达量随着 GA 含量的增加而增加。表明 *GAMYB* 介导的 GA 信号转导途径在花原基形成过程中发挥着重要作用。*LFY* 基因是双子叶植物中诱导开花的重要基因, 被认为是 GA 途径诱导开花的重要下游基因。Blazquez 研究表明, *LFY* 基因的表达受 GA 的上调^[23-24], 并且 *LFY* 基因启动子上至少有 2 个 MYB 的结合位点^[25], 从而验证了 *GAMYB* 结合到 *LFY* 基因启动子上来调控植物开花

的推测。Gregory 等^[12]在拟南芥中,鉴定出了 3 个 *GAMYB*-like 基因 (*MYB33*, *MYB65*, *MYB101*), 其中 *MYB33* 对花的形成起重要作用。研究表明, *MYB33* 能结合到花分生组织特异基因 *LFY* 的启动子上, 启动 *LFY* 基因的表达, 从而完成花的形成过程。Kaneko 等^[26]发现水稻 *OsGAMYB* 基因与燕麦 *LtGAMYB* 基因在花形成中的功能一致, 只在花分生组织中起作用, 而对营养生长向生殖生长过渡本身没有作用, 所以对开花时间的调控没有影响。Patrick 等^[14]发现 GA 调控植物开花的过程中存在一个 miRNA 的调控机制, 此调控机制为转录后调控。植物体表达出的 miR159 结合到 *GAMYB* 的结合位点上, 降解 *GAMYB* 基因, 从而抑制 *GAMYB* 的表达。

2.4 *GAMYB* 基因在花药发育中的研究

花药发育过程中同样存在一个与糊粉层类似的 GA 信号转导途径。Fiona 等^[27]通过 *HvGAMYB* 基因过量表达实验表明, 随着 *HvGAMYB* 基因表达量的上升, 花药长度变小, 颜色变浅。这种现象和过量施用 GA 的植株表型相似。当转基因大麦中 *HvGAMYB* 蛋白比野生大麦高 4 倍上, 出现雄性不育现象, 高 3 ~ 4 倍时, 育性下降。Kaneko 等^[26]发现水稻 *OsGAMYB* 基因缺失也能导致花药和花粉发育的异常。Millar 和 Gubler^[28]对拟南芥的研究表明, *MYB33* 和 *MYB65* 在控制花药发育上的功能是冗余的, 只有 *MYB33* 和 *MYB65* 共同缺失的突变体才会表现出雄性不育。这种突变体所造成的雄性不育现象是有条件限制的, 强光低温能恢复其育性, 即不育性为光温敏感型。通过对突变体和野生型花药发育的显微比较, 花药发育的减数分裂时期, 花药壁的绒毡层不能正常的凋亡, 因而不断膨大, 造成花粉粒无法在囊腔中正常发育, 从而造成雄性不育。花药发育过程中, *DELLA* 蛋白家族 *RGA*, *RGL1*, *RGL2* 对 GA 信号转导起重要作用^[22, 29]。Aya 等^[30]研究水稻发现, *CYP703A3* 基因缺失会造成乌氏体和花粉外壁形成上的缺陷。*OsGAMYB* 可能正是通过调控 *CYP703A3* 基因的表达, 促使绒毡层内乌氏体的形成来调控花药壁上绒毡层的生理凋亡, 从而使花药正常发育的。但拟南芥同源基因 *CYP703A2* 是否受 *GAMYB* 调控尚未得到证明。

3 *GAMYB* 基因在大豆中的研究

虽然近年来 GA 信号转导途径及其作用因子成为研究的热点, 但是对大豆中赤霉素信号转导途径和作用因子的研究鲜有报道。东北农业大学大豆生物学重点实验室利用抑制消减杂交技术筛选出

了 *GAMYB*-Binding Protein, 随后通过 RACE 技术克隆了大豆 *GAMYB* 基因的全长 cDNA 序列, 得到了该基因的编码区 (ORF), 5' 非编码区 (5' UTR) 和 3' 非编码区 (3' UTR)。通过大豆 *GAMYB* 基因与其它物种 *GAMYB*-like 基因比对, 发现大豆 *GAMYB* 基因与 大麦, 水稻, 拟南芥中的 *GAMYB*-like 基因同源率分别为 52.16%, 52.79%, 52.55%, 并得到了大豆该基因的 R2R3 DNA 结合结构域, BOX1, BOX2, BOX3 保守区域和 miR159 结合位点。利用氨基酸序列比对构建进化树, 发现双子叶植物大豆 *GAMYB* 基因与拟南芥的 *MYB33* 和 *MYB65* 的亲缘关系最近, 与其它单子叶植物的 *GAMYB*-like 基因亲缘关系较远。根据大豆 *GAMYB* 基因的 cDNA 序列设计引物, 分别得到了该基因编码区的全长序列和 5' 非编码区序列, 比对发现基因的编码区由 3 个外显子和 2 个内含子组成, 5' 非编码区内则含有多个内含子。通过在大豆基因组数据库中的比对, 预测了该基因的启动子序列。克隆启动子并构建了 GUS 表达载体, 采用农杆菌侵染烟草叶盘法, 验证了启动子的启动功能。将 *GAMYB*-GFP 重组质粒导入洋葱表皮细胞, 证明了该基因是核定位基因, 其表达在核内进行。

参考文献

- [1] Woodger F J, Millar A, Murry F, et al. The role of *GAMYB* transcription factors in GA-regulated gene expression[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2003, 22(2): 176-184.
- [2] Fleet C M, Sun T P. A DELLAcate balance: the role of gibberellin in plant morphogenesis[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(1): 77-85.
- [3] Huang Z G, Li L, Chen Z P, et al. SPINDLY and gibberellin signaling[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2005, 22(1): 100-106.
- [4] Sasaki A, Ashikari M, Ueguchi-Tanaka M, et al. Screening of rice GIBBERELLININSENSITIVE DWARF 1 mutants (GID1) [C]. *Proceedings of the 17th International Conference on Plant Growth Substances*, July 1-6 2001, Brno, Czech Republic.
- [5] Ueguchi-Tanaka M, Ashikari M, Itoh H, et al. Characterization of rice dwarf mutant, GIBBERELLIN-INSENSITIVE DWARF 1 (GID1) [C]. *Proceedings of the 17th International Conference on Plant Growth Substances*, July 1-6 2001, Brno, Czech Republic.
- [6] Ueguchi-tanaka M, Ashi K M, Nakajima M, et al. Gibberellin insensitive DWARF1 encodes a soluble receptor for gibberellin[J]. *Nature*, 2005, 437: 693-698.
- [7] Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sato Y, et al. The gibberellin signaling pathway is regulated by the appearance and disappearance of SLENDER RICE1 in nuclei[J]. *The Plant Cell*, 2002, 14: 57-70.
- [8] Gubler F, Raventos D, Keys M, et al. Target genes and regulatory domains of the *GAMYB* transcriptional activator in cereal aleurone[J]. *Plant Journal*, 1999, 17(1): 1-9.

- [9] Gubler F, Kalla R, Roberts J K, et al. Gibberellin-regulated expression of a myb gene in barley aleurone cells: evidence for myb transactivation of a high-pl α -amylase gene promoter [J]. The Plant Cell, 1995, 7(11):1879-1891.
- [10] Gubler F, Watts R J, Kalla R, et al. Cloning of a rice cDNA encoding a transcription factor homologous to barley GAMYB [J]. Plant Cell Physiology, 1997, 38(3):362-365.
- [11] Gocal G F W, Poole A T, Gubler F, et al. Long-day up-regulation of a GAMYB gene during *Lolium temulentum* inflorescence formation [J]. Plant Physiology, 1999, 119(4):1271-1278.
- [12] Gocal G F W, Sheldon C C, Gubler F, et al. GAMYB-like genes, flowering, and gibberellin signaling in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2001, 127:1682-1693.
- [13] Woodger F J, Millar A, Murray F, et al. The role of GAMYB Transcription factors in GA-Regulated gene expression [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2003, 22(2):176-184.
- [14] Achard P, Herr A, Baulcombe D C, et al. Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA [J]. Development, 2004, 131(14):3357-3365.
- [15] Gubler F, Jacobsen J V. Gibberellin-responsive elements in the promoter of a barley high-pl α -amylase gene [J]. The Plant Cell, 1992, 4(11):1435-1441.
- [16] Rogers J C, Lanahan M B, Rogers S W. The cis-acting gibberellin response complex in high-pl α -amylase promoters [J]. Plant Physiology, 1994, 105(1):151-158.
- [17] Skriver K, Olsen E L, Rogers J C, et al. cis-acting DNA elements responsive to gibberellin and its antagonist abscisic acid [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, 1997, 88:7266-7270.
- [18] Raventos D, Skriver K, Schlein M, et al. HRT, a novel zinc finger, transcriptional repressor from barley [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1998, 273:23313-23320.
- [19] Sutoh K, Yamauchi D. Two cis-acting elements necessary and sufficient for gibberellin-upregulated proteinase expression in rice seeds [J]. The Plant Journal, 2003, 34(5):635-645.
- [20] Sun T P, Gubler F. Molecular mechanism of gibberellin of signaling in plants [J]. Annual Review of Plant Biology, 2004, 55:197-223.
- [21] Lee S, Cheng H, King K E, et al. Gibberellin regulates Arabidopsis seed germination via RGL2, a GAI/RGA-like gene whose expression is up-regulated following imbibition [J]. Genes Development, 2002, 16:646-658.
- [22] Tyler L, Thomas S G, Hu J, et al. DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2004, 135:1008-1019.
- [23] Blázquez M A, Green R, Nilsson O, et al. Gibberellins promote flowering of Arabidopsis by activating the LEAFY promoter [J]. Plant Cell, 1998, 10:791-800.
- [24] Blázquez M A, Soowal L, Lee I, et al. LEAFY expression and flower initiation in Arabidopsis [J]. Development, 1997, 124:3835-3844.
- [25] Blázquez M A, Weigel D. Integration of floral inductive signals in Arabidopsis [J]. Nature, 2000, 404:889-892.
- [26] Kaneko M, Inukai Y, Ueguchi-Tanaka M, et al. Loss-of-function mutations of the rice GAMYB Gene impair α -amylase expression in aleurone and flower development [J]. The Plant Cell, 2004, 16(1):33-44.
- [27] Murray F, Kalla R, Jacobsen J, et al. A role for HvGAMYB in anther development [J]. The Plant Journal, 2003, 33:481-491.
- [28] Millar A A, Gubler F. The GAMYB-like genes, MYB33 and MYB65, are MicroRNA-regulated genes that redundantly facilitate anther development [J]. The Plant Cell, 2005, 17:705-721.
- [29] Cheng H, Qin L, Lee S, et al. Gibberellin regulates Arabidopsis floral development via suppression of DELLA protein function [J]. Development, 2004, 131:1055-1064.
- [30] Aya K, Ueguchi-Tanaka M, Kondo M, et al. Gibberellin modulates anther development in rice via the transcriptional regulation of GAMYB [J]. The Plant Cell, 2009, 21:1453-1472.

《中国种业》征订启事

《中国种业》是由农业部主管,中国农业科学院作物科学研究所和中国种子协会共同主办的全国性、专业性、技术性种业科技期刊。该刊系全国中文核心期刊、全国优秀农业期刊。

刊物目标定位:以行业导刊的面目出现,并做到权威性、真实性和及时性。覆盖行业范围:大田作物、蔬菜、花卉、林木、果树、草坪、牧草、特种种植、种子机械等,信息量大,技术实用。

读者对象:各级种子管理、经营企业的领导和技术人员,各级农业科研、推广部门人员,大中专农业院校师生,农村专业户和广大农业生产经营者。

月刊,大16开本,2011年将扩大版面,增加内容。每期8.00元,全年96.00元。国内统一刊号:CN 11-4413/S,国际标准刊号:ISSN 1671-895X,全国各地邮局均可订阅,亦可直接汇款至编辑部订阅,挂号需每期另加3元。

邮发代号:82-132

地址:(100081)北京市中关村南大街12号 中国农业科学院

电话:010-82105796(编辑部) 010-82105795(广告发行部)

传真:010-82105796 网址:www.chinaseedqks.cn

E-mail: chinaseedqks@sina.com chinaseedqks@163.com