

综述 Reviews

植物体内蔗糖转运蛋白的功能和调控

彭昌操, 赵小兰*

华南农业大学林学院, 热带亚热带林业生物技术实验室, 广州 510642

摘要: 蔗糖转运蛋白(sucrose transporter, SUT)负责蔗糖的跨膜运输, 在韧皮部介导的源-库蔗糖运输和为库组织供应蔗糖的生理活动中起关键作用。本文介绍植物体内蔗糖转运蛋白基因家族、细胞定位与功能调节以及高等植物的蔗糖感受机制的研究进展。

关键词: 蔗糖转运蛋白; 蔗糖; 跨膜转运

Function and Regulation of Plant Sucrose Transporter

PENG Chang-Cao, ZHAO Xiao-Lan*

College of Forestry, Laboratory of Bio-Technology of Tropical and Subtropical Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: The sucrose transporters (SUTs) involved in sucrose trans-membrane transportation play a crucial role in the phloem cell-to-cell distribution of sucrose throughout the plant source-sink. This paper introduces the research progresses on sucrose transporters cellular location, functional regulation and sensing mechanism of sugar in high plants.

Key words: sucrose transporter; sucrose; trans-membrane transportation

叶是高等植物同化碳源的主要器官。蔗糖是绿色植物光合作用碳同化物的主要转运形式之一。已有的生理及分子研究结果显示, 蔗糖转运受多重水平的生理器官调节, 以感受蔗糖浓度的变化, 其中最令人关注的问题之一是信号转导。根据酵母糖转运家族成员(糖信号)的分析, 人们推测植物糖转运蛋白家族在糖转运和代谢的信号转导过程中直接起作用(Barker 等 2000; Weise 等 2000; Reinders 等 2002a, 2002b)。

在植物体内, 蔗糖的运输依赖于作为蔗糖分子载体的蔗糖转运蛋白(sucrose transporters, SUTs), 又称蔗糖-H⁺共转运蛋白(sucrose-H⁺ co-transporters, SUCs) (Lemoine 2000; Williams 等 2000)。这是一类典型的膜结合蛋白分子, 广泛存在于高等植物的组织和细胞中, 能够利用细胞内外H⁺浓度梯度对蔗糖分子进行跨膜转运。根据氨基酸序列结构与特性的分析, 蔗糖转运蛋白属于MFS超家族(major facilitator super family)中的一员, 它们的序列高度保守, 是高疏水性蛋白, 含有12个跨膜结构域, 中间面向细胞质的部分有1个大的胞质环, 将蛋白分为各含6个跨膜结构域的2个半区, 即前半区和后半区。

近年来随着分子生物学的发展, 有关植物蔗糖转运蛋白的生理功能的研究取得了突破性进展。蔗糖转运蛋白编码基因的分离及其结构与功能的研究, 将有助于揭示植物碳同化物体内运输和代谢的分子本质。

1 蔗糖转运蛋白和 SUTs 家族

自Riesmeier等(1992)从菠菜中克隆到第1个植物蔗糖转运蛋白基因以来, 许多植物蔗糖转运蛋白基因相继从各种植物中得到克隆。Riesmeier等于1993年从马铃薯中克隆了蔗糖转运蛋白基因(*StSUT1*) (Riesmeier 等 1993)。上述2种植物的蔗糖转运蛋白似乎都是单基因编码。通过cDNA文库异源筛选, 从拟南芥克隆到2个不同蔗糖转运蛋白基因(*AtSUC1*、*AtSUC2*) (Sauer 和 Stolz 1994)。表1是已克隆到的主要的植物蔗糖转运蛋白基因及其在器官或组织中的定位。

收稿 2009-12-16 修定 2010-01-25

资助 国家自然科学基金(30771759, 30972388)、广东省自然科学基金团队项目(9351064201000002)和广东省自然科学基金重点项目(7118121)。

* 通讯作者(E-mail: xiaolanpeng@scau.edu.cn; Tel: 020-85280259)。

表1 植物蔗糖转运蛋白基因家族

植物种类	基因	蛋白登录号	氨基酸残基数	表达特异性	$K_m/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	参考文献
面罩花(<i>Alonsoa meridionalis</i>)	<i>AmSUT1</i>	AAF04295	502	韧皮部的汁液、花、根	1.8	Knop等2001
芹菜(<i>Apium graveolens</i>)	<i>AgSUT1</i>	AAC99332	512	韧皮部、根	0.139	Noiraud等2000
芹菜(<i>Apium graveolens</i>)	<i>AgSUT2A</i>	AAD45390	512	源叶、韧皮部、根		Noiraud等2000
芹菜(<i>Apium graveolens</i>)	<i>AgSUT2B</i>	AAD45391	512	源叶、韧皮部、根		Noiraud等2000
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtSUC1</i>	Q39232	513	花	0.45	Sauer和Stolz1994
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtSUC2</i>	Q39231	512	花、根、伴胞	0.53	Sauer和Stolz1994
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtSUC3</i>	O80605	594	筛管、保卫细胞、花	1.9	Schulze等2000
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtSUC4</i>	Q9FE59	510	伴胞	12 (pH 4)	
					6 (pH 5.5)	Weise等2000
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtSUC5</i>	Q9C8X2	512	遍在	1	Ludwig等2000
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtSUC6</i>	Q6A329	492	—		Sauer等2004
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtSUC7</i>	Q67YF8	491	花粉囊		Sauer等2004
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtSUT8</i>	Q9ZVK6	492	花、筛管	0.15	Sauer等2004
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtSUT9</i>	Q9FG00	491	花	0.5	Sauer等2004
甜菜(<i>Beta vulgaris</i>)	<i>BvSUT1</i>	CAA58730	523	—		
胡萝卜(<i>Daucus carota</i>)	<i>DcSUT1a</i>	CAA76367	501	—	0.5	Shakya和Sturm 1998
胡萝卜(<i>Daucus carota</i>)	<i>DcSUT1b</i>	CAA76368	501	—	0.5	Shakya和Sturm 1998
胡萝卜(<i>Daucus carota</i>)	<i>DcSUT2</i>	CAA76369	515	茎、根尖、花	0.5	Shakya和Sturm 1998
大麦(<i>Hordeum vulgare</i>)	<i>HvSUT1</i>	CAJ20123	523	果实	3.8	Sivitz等2005
大麦(<i>Hordeum vulgare</i>)	<i>HvSUT2</i>	CAB75881	506	液泡		Endler等2006
番茄(<i>Lycopersicon esculentum</i>)	<i>LeSUT1</i>	CAA57726	429	伴胞、筛管、韧皮部		Krügel等2008
番茄(<i>Lycopersicon esculentum</i>)	<i>LeSUT2</i>	AAG12987	604	筛管		Barker等2000
番茄(<i>Lycopersicon esculentum</i>)	<i>LeSUT4</i>	AAG09270	500	筛管	11.6	Weise等2000
苹果(<i>Malus domestica</i>)	<i>MdSUT1</i>	AY445915	499	果实、花、韧皮部 (本实验室未发表资料)	0.63	Fan等2009
烟草(<i>Nicotiana tabacum</i>)	<i>NtSUT1</i>	CAA57727	507	根、茎、花		Bürkle等1998
烟草(<i>Nicotiana tabacum</i>)	<i>NtSUT3</i>	AAD34610	521	—		Lemoine等1999
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	<i>OsSUT2</i>	BAC67163	501	—		Aoki等2003
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	<i>OsSUT3</i>	BAB68368	506	—		Aoki等2003
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	<i>OsSUT4</i>	BAC67164	595	—		Aoki等2003
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	<i>OsSUT5</i>	BAC67165	535	—		Aoki等2003
大车前(<i>Plantago major</i>)	<i>PmSUC1</i>	CAA59113	503	花、维管束、茎、根、 幼胚、伴胞	0.3	Gahrtz等1996
大车前(<i>Plantago major</i>)	<i>PmSUC2</i>	CAA53390	510	花、果实、伴胞	2	Gahrtz等1994
大车前(<i>Plantago major</i>)	<i>PmSUC3</i>	CAD58887	599	筛管	5.5	Barth等2003
蓖麻(<i>Ricinus communis</i>)	<i>RcSCR1</i>	CAA83436	533	子叶、根、下胚轴、 胚乳	2	Weig和Komor 1996
甘蔗(<i>Saccharum hybrid</i>)	<i>ShSUT1</i>	AAV41028	517	茎维管束	2	Rae等2005
马铃薯(<i>Solanum tuberosum</i>)	<i>StSUT1</i>	CAA48915	516	—	1	Riesmeier等1993
马铃薯(<i>Solanum tuberosum</i>)	<i>StSUT4</i>	AAG25923	488	筛管	11.6	Weise等2000
菠菜(<i>Spinacia oleracea</i>)	<i>SoSUT1</i>	CAA47604	525	韧皮部	1.5	Riesmeier等1992
小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	<i>TaSUT1A</i>	AAM13408	522	果实、种子		Aoki等2002
小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	<i>TaSUT1B</i>	AAM13409	522	果实、种子		Aoki等2002
小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	<i>TaSUT1D</i>	AAM13410	523	果实、种子		Aoki等2002
蚕豆(<i>Vicia faba</i>)	<i>VjSUT1</i>	CAB07811	523	荚、根、转移细胞	1.4	Weber等1997
葡萄(<i>Vitis inifera</i>)	<i>VvSUT1</i>	AAD55269	501	果实		Ageorges等2000
葡萄(<i>Vitis inifera</i>)	<i>VvSUC11</i>	AAF08329	501	种子、花、果实		Davies等1999
葡萄(<i>Vitis inifera</i>)	<i>VvSUC12</i>	AAF08330	612	种子、花、果实		Davies等1999
葡萄(<i>Vitis inifera</i>)	<i>VvSUC27</i>	AAF08331	505	种子、花、果实		Davies等1999
玉米(<i>Zea mays</i>)	<i>ZmSUT1</i>	BAA83501	521	—		Aoki等1999

—: 没有文献报道。

值得一提的是,许多植物蔗糖转运蛋白的基因克隆主要是基于对各种植物蔗糖转运蛋白基因保守序列的分析,特别是运用了酿酒酵母蔗糖转运蛋白基因的保守性序列。由于酿酒酵母不能直接吸收蔗糖,但能分泌一种胞外水解蔗糖的转化酶,然后由己糖运输蛋白吸收水解产物。据此 Riesmeier 等(1992)构建了1个酵母突变体(SUSY7/ura3),此种突变体不能分泌转化酶,但可表达一个源于植物编码的胞质蔗糖合成酶(sucrose synthase)的基因,致使酵母可以在胞内代谢蔗糖。这一突变体菌株与在酵母表达载体上构建的菠菜 cDNA 文库一起转化,转化体根据它们在以蔗糖为唯一碳源的培养基上的生长能力而被筛选出来。这样通过功能互补从菠菜和马铃薯中克隆出蔗糖运输蛋白基因 *SoSUT1* 和 *StSUT1* (Riesmeier 等 1992; 1993)。

到目前为止,所有已鉴定的蔗糖转运蛋白都是能量依赖的,同时对质子转运体敏感,说明蔗糖转运蛋白具有质子同向共转运体的功能。与单糖转运蛋白一样,有人用“双电压灯”法鉴定了蔗糖转运蛋白的蔗糖转运活性(Boorer 等 1996; Zhou 等 1997)。如糖甜菜叶片中 H^+ /蔗糖共转运的化学计量是 1:1 (Bush 1993)。因此,植物蔗糖转运蛋白的蔗糖转运动力学特性肯定与其具有高亲和力的质子共转运体有关(Maynard 和 Lucas 1982)。

不同高等植物蔗糖-质子同向转运蛋白的氨基酸序列显示出高度同源性,如 PmSUC1 与 AtSUC1 同源性为 63%; AtSUC1 与 AtSUC2 同源性为 77%。单糖转运蛋白间亦显示出较高的同源性,如 MST1 与 STP1 的同源性为 79%; STP1 与 STP4 的同源性为 63%。然而比较单糖转运蛋白同双糖转运蛋白的同源性时,其氨基酸序列的同源性平均只有 20%,尽管这 2 种蛋白同源性较低,其三级结构在膜上可能不会有如此大的差异(Smeekens 2000)。推测所有已克隆的植物蔗糖转运蛋白都有 12 个推测的跨膜区,据此认为,植物蔗糖转运蛋白的 C 端和 N 端都位于膜的胞质一侧(Davies 和 Zhang 1991)。

2 植物蔗糖转运蛋白的定位

采用质外体作为韧皮部装载途径的植物需要将蔗糖跨膜运输到韧皮部中,然后沿韧皮部长距离运输并完成韧皮部后运输过程,最终卸载到库器官(如果实)的薄壁细胞中。整个运输途径至少需要 5 种蔗糖转运蛋白(Lalonde 等 1999)。第 1 种蔗糖转运蛋白可能是一种易化蛋白(facilitator),负责将蔗糖从叶肉细胞释放到细胞壁中。Laloi 等(1993)曾

在生化水平上鉴定出这一类蔗糖外流系统。第 2 种蔗糖转运蛋白的功能是将蔗糖装载进韧皮部。第 3 种蔗糖转运蛋白在运输途径中负责将渗透出韧皮部的蔗糖重新吸收进韧皮部,如茎中的转运蛋白(Minchin 和 Thorpe 1987)。第 4 种是存在于库组织中的蔗糖转运蛋白,蔗糖韧皮部卸出可以通过这种蔗糖转运蛋白介导的跨膜运输或通过胞间连丝进行。Walker 等(1995)推测参与韧皮部卸出的蔗糖外流运输蛋白具有易化蛋白或质子反向转运蛋白的功能。蔗糖在库组织质外体中可通过蔗糖转运蛋白的介导而直接吸收到库细胞中或通过转化酶将蔗糖水解成葡萄糖、果糖,再以己糖形式通过己糖转运蛋白的介导而吸收到库细胞中。库细胞的液泡中还含有 1 种用于吸收蔗糖的 H^+ /蔗糖反向转运蛋白和 1 个用于释放蔗糖的单向转运蛋白(unipporter),这是蔗糖转运蛋白存在的第 5 种形式。

迄今,只有与质子偶联的蔗糖和单糖装载转运蛋白已在分子水平上得到鉴定,尚不清楚的是蔗糖卸载是否也与质子偶联,以及卸载转运蛋白是否在序列上与装载转运蛋白具有较大的同源性。负责装载的蔗糖转运蛋白是一种质子同向转运蛋白,既然可参与韧皮部蔗糖的装载,那么它应该存在于筛管/伴胞(sieve element/companion cell, SE/CC)复合体的质膜中。原位杂交证实,番茄 SUT1 基因 *LeSUT1* 的转录确实与韧皮部有关联(Riesmeier 等 1993),而且 *LeSUT1* 和 *AtSUC2* 的启动子还指导报告基因在根、茎和叶韧皮部中表达。因此, *SUT* 基因可能不仅在韧皮部装载中起作用,而且还能在沿运输途径回收筛管渗漏的蔗糖中起作用。光合同化物的长距离运输涉及众多成员的参与,但目前仅有 H^+ /蔗糖转运蛋白和单糖装载转运蛋白在分子水平得到鉴定。还不清楚的是蔗糖卸出是否也伴随有 H^+ ,或者是否存在与吸收转运蛋白相关联的释放转运蛋白(Ward 等 1998)。

蔗糖的长距离运输依靠具有蔗糖转运功能的蛋白质家族。转基因植物中蔗糖转运蛋白表达的比较分析表明,蔗糖转运蛋白 SUT1 对马铃薯和烟草植株中的蔗糖转运是必需的。同时, SUT1 定位于 SE 上也说明韧皮部装载发生于 SE 上,蔗糖可直接从质外体跨膜吸收到 SE 中。

应用免疫定位研究 SUCs 在细胞水平上的表达发现,用带有特异抗体的免疫荧光测得 SUC2 存在于大车前和拟南芥的伴胞中(Stadler 等 1995; Stadler 和 Sauer 1996)。而用荧光免疫和银强化的免疫金

染色(silver-enhanced immunogold staining)方法进行的免疫定位显示,烟草、马铃薯和番茄的SUT1存在于核已消失的SE质膜中(Kühn等1997)。比较大车前、拟南芥中与在烟草、马铃薯和番茄之中观察到的蔗糖载体定位的差异可能是各物种蔗糖卸出机制不同造成的。电镜下原位杂交实验的结果与SUT1蛋白在SE上的定位非常一致,即SUT1 mRNA主要定位在SE的胞间连丝入口处。

3 蔗糖转运蛋白的功能和调节

3.1 体内实验的证据 如果SUT1(高亲和力/低容量SUT)介导的蔗糖运输是韧皮部装载所不可缺少的,降低其运输活力将影响碳素的分配和光合作用。在SUT1反义植株中,叶片中的蔗糖含量是野生型的5~10倍,己糖含量甚至更高(Riesmeier等1994)。除此之外,SUT1反义植株生长速率明显减慢,出现叶皱缩、失绿、积累花色苷等现象(Kühn等1996)。测定反义植株中经切割后的碳水化合物外流量的结果表明,反义植株中韧皮部的运输活性显著降低(Kühn等1996)。在烟草植株中反义抑制SUT1也导致生长急剧减弱,叶片中碳水化合物大量积累,即使中度的反义抑制,其植株的其他部位也几乎检测不到新固定的 $^{14}\text{CO}_2$ (Bürkle等1998)。

目前仍不清楚反义抑制是否也影响SUTs基因家族中其他成员的表达。要完全分析蔗糖转运蛋白基因家族单一成员的作用,则需采用拟南芥中的“缺失”(knockout)突变体。用这种手段研究物质运输的可能性已经在 K^+ 通道的研究中得到证实(Chrispeels等1999),运用于蔗糖跨膜转运研究中也取得了一些进展(Sivitz等2007, 2008; Srivastava等2008)。

用离体细胞和质膜小泡(plasma membrane vesicles)进行的运输研究已经证实,蔗糖在植物体内的长距离运输过程中存在载体(运输蛋白)介导的质外体运输过程(Giaquinta 1977; Willams等1990)。已在马铃薯和烟草转基因植株中得到证实,蔗糖转运蛋白基因SUT1的表达阻遏后会抑制蔗糖的运输,这表明蔗糖转运蛋白对蔗糖的运输是不可缺少的。

蔗糖必须经韧皮部和韧皮部后卸载才能运输到果实、根、种子和其他库组织中。已经在这些组织中发现了蔗糖转运蛋白基因的表达,其中的一些基因显示出特殊的表达模式。如在大车前(*Plantago major*)中,SUT1在幼嫩的胚珠中表达;在蚕豆和豌豆子叶的传递细胞中检测到蔗糖转运蛋白基因的转录;胡萝卜*DcSUT2*(低亲和力/高容量

SUT)主要在正在发育中的直根韧皮部和木质部薄壁组织中表达。在葡萄中,蔗糖转运蛋白基因*VvSUC11*和*VvSUC12*的表达随浆果液泡中己糖的积累而增加,而*VvSUC27*则与之相反(Davies等1999)。这表明一些蔗糖转运蛋白还可能在果实糖的积累中直接起作用。有趣的是,这些蔗糖转运蛋白也在源叶中表达,暗示这些蔗糖转运蛋白可能具有参与韧皮部装载和卸出的双重功能。至于源组织中负责蔗糖从叶肉细胞卸载、并在库组织中负责蔗糖从韧皮部或韧皮部后卸载和涉及液泡中蔗糖暂时贮藏的蔗糖转运蛋白功能尚有待鉴定。

Lu和Bush(1998)用定点突变测定组氨酸残基在蔗糖运输反应中的结果表明,在拟南芥 H^+ -蔗糖同向转运蛋白中,只有位于AtSUC1第65位的组氨酸在各个种间是保守的。与野生型相比,His-65发生突变的蔗糖转运蛋白的运输活力起很大变化,当用精氨酸和赖氨酸取代组氨酸后蔗糖转运蛋白的最大蔗糖转运速率 V_{max} 提高815倍。由于表达这些突变体的 H^+ -蔗糖同向转运蛋白的细胞中蛋白水平并未发生改变,因此Lu和Bush(1998)认为His-65是参与蔗糖运输反应的一个限速步骤。Bush(1993)在此之前曾研究过依赖焦碳酸二乙酯(diethylpyrocarbonate, DEPC)失活的 H^+ -蔗糖同向转运蛋白,发现1个对DEPC敏感的组氨酸残基,它位于或接近于蔗糖结合位点。令人惊奇的是,His-65突变体不再对DEPC敏感。此外,Lu和Bush(1998)认为His-65位于 H^+ -蔗糖同向转运蛋白的第一个胞外环上,这提示环亚基在质子偶联的蔗糖运输中的作用也值得多加关注。

3.2 功能调节 植物同化物分配中的一个课题是了解光合产物在源库之间以及各个竞争库之间的分配是如何调节的。毫无疑问,蔗糖转运蛋白是整个碳水化合物分配体系中的调节点。如蚕豆子叶中蔗糖转运蛋白在传递细胞分化时表达,而对发育中的子叶用糖处理则抑制传递细胞分化和蔗糖转运蛋白基因的表达,这表明细胞分化和糖信号这2个过程是紧密偶联的(Weber等1997)。除了受细胞发育的调节之外,叶片中的蔗糖转运蛋白也受环境信号调节。如黑暗中烟草、马铃薯、番茄和胡萝卜叶片中蔗糖转运蛋白基因的转录减少,而定位在胡萝卜直根中的蔗糖转运蛋白基因转录则不受光照的影响(Kühn等1997; Shakya和Sturm1998)。Sakr等(1997)报道,切割造成的伤害和衰老均提高蔗糖转运蛋白基因的mRNA水平,但只有切割增加离体

质膜小泡中质子动力推动的蔗糖运输活力,而衰老对此几乎没有效应。与此相反的是,蛋白质酶联免疫吸附的测定结果证明,衰老增加存在于质膜上的蔗糖转运蛋白的量。这些实验结果暗示,蔗糖转运蛋白受转录和翻译后的水平调节。

Roblin等(1998)报道,冈田酸(okadaic acid,一种IIA蛋白磷酸脂酶抑制剂)处理甜菜叶组织后,其蔗糖运输活力下降。由于蔗糖转运蛋白中的蛋白质质量没有改变,从而说明蔗糖转运蛋白的运输活力直接受可逆的磷酸化作用的调节。

Chiou和Bush(1998)证明,蔗糖能特异地对蔗糖同向转运体的转录和翻译进行调节,而已糖等其他糖则不具备此调节作用。在甜菜成熟叶中存在一个依赖于蔗糖调节的蔗糖转运蛋白的信号转导途径。通过木质部蒸腾流饲喂蔗糖后,从叶中分离到的质膜小泡中的蔗糖转运蛋白活性降低。而丙氨酸和葡萄糖转运蛋白的活性对蔗糖没有响应。动力学分析表明,经蔗糖处理后,蔗糖转运蛋白的最大蔗糖吸收速率(V_{max})降低。RNA凝胶印迹分析结果也显示蔗糖转运蛋白 mRNA 水平随着其转运活性的下降而下降。而且,蔗糖转运蛋白依赖于蔗糖的变化是可逆的。于是推测这种蔗糖信号感受和传导途径是叶调节蔗糖转运活性的一种功能,可以适应胞外蔗糖浓度的不断变化。

由于蔗糖转运蛋白定位于沿蔗糖代谢途径的关键位置,因此必然存在一种有效的调节机制以直接控制蔗糖转运蛋白的开关,从而控制蔗糖的装载或卸载。所有这些证据说明,蔗糖运输通过各种大分子事件调节植物体内的同化物分配,而不是像先前人们认为的是源叶的合成活力和库中的分解活力决定了同化物的分配方向(Lalonde等1999; Braun和Slewinski 2009; Ma等2009)。

近来的实验证据表明,植物中存在蔗糖特异的影响转录和翻译的调节途径。这些途径包括蔗糖诱导 *patatin* 启动子和韧皮部特有的 *rolC* 基因(Smeekens 2000),蔗糖运输蛋白基因表达和运输活力受蔗糖阻遏等。不仅如此,蔗糖还特异地抑制拟南芥 *ATB2* 基因 mRNA 前导序列的翻译(Rook等1998)。又如马铃薯细胞中蔗糖合成酶基因的表达只能受蔗糖诱导,而不能受葡萄糖诱导(Fu和Park 1995),且这种诱导需要SnRK1(SNF1-相关蛋白激酶)活性,因为马铃薯块茎中反义 *SnRK1* 的表达常会导致蔗糖合成酶基因的表达显著下降(Purcell等1998)。

4 高等植物对蔗糖的感受机制

蔗糖和葡萄糖都可以引发基因调节的变化。由于蔗糖容易水解成葡萄糖和果糖,因此,蔗糖特有的信号效应难以阐明(Coruzzi和Zhou 2001)。迄今人们对高等植物中蔗糖信号传导及其转运分子机制知之甚少。

糖通过多种途径参与信号转导,已知的主要有4种:己糖激酶(hexokinase, HKX)信号系统、依赖己糖但不依赖己糖激酶(HKX)的信号系统、依赖膜的信号系统以及特殊的蔗糖信号系统。由于蔗糖可以调节许多基因的表达,因此人们对感受蔗糖的传感蛋白(sensor)的本质十分关注。

在大麦中,采用非代谢性的双糖进行的研究表明存在一个不同的双糖感受途径(Loreti等2000)。葡萄糖和蔗糖,一些双糖如半乳糖苷果糖(lactulose)、松二糖(turanose)能够阻遏赤霉素诱导的 α -淀粉酶基因表达。有趣的是,尽管葡萄糖促进的 α -淀粉酶的转录不稳定,但上面谈到的双糖对这些转录没有影响。显然,这些双糖的感受不同于葡萄糖。结构功能分析表明,双糖的果糖端是糖感受所必需的。生理与形态学证据证实,当以这些双糖饲喂大麦胚时,它们没有被大量代谢。因此排除了认为蔗糖在糖感受中可能参与下游代谢的观点。另一个实验表明,蔗糖诱导了大麦叶中参与果聚糖合成的关键酶6-SFT表达(sucrose fructan-6-fructosyl transferase)的活性及其基因表达。即使有海藻糖反应强抑制剂存在,海藻糖(trehalose)也能有效地增强6-SFT的活性及其基因表达,这就排除了海藻糖只有被降解成葡萄糖后才起作用的可能性。而且与海藻糖相比,葡萄糖和果糖对6-SFT的诱导能力要弱得多。这一证据再次表明蔗糖或双糖的感受不依赖于己糖。

作为一种模型酵母对人们揭开高等植物蔗糖转运的调节网络之谜可能有所帮助。酵母的双路(two-pronged)调节系统可确保对胞外环境中的糖供给与细胞内的“酶机器”(enzymatic machinery)之间相互协调(André 1995)。一是膜上的传感蛋白感知胞外糖浓度后可产生信号,从而调节糖运输活力;二是糖运输活力可决定进入细胞的糖流量(flux),随后产生胞内信号进一步用于调节过程。在酵母糖信号转导过程中,与酵母HXT-型己糖转运蛋白同源但多1个带信号功能C端伸展的葡萄糖受体SNF3和RGT2感受胞外葡萄糖浓度(Özcan和Johnston 1995; Özcan等1996a, 1996b, 1998)。

SNF3 和 RGT2 信号途径分别影响高亲和力/低容量和低亲和力/高容量的糖转运蛋白基因的表达。而将己糖进行磷酸化的己糖激酶HXK2可起到胞浆中糖信号的功能,调节与糖相关的酶或转运蛋白的基因转录。同时酵母糖转运蛋白还起糖传感器(sugar sensor)的作用。酵母中的传感蛋白与糖转运蛋白识别一样的底物,据此有人推测这可能是从转运蛋白上的一个信号亚基进化而来(Özcan 等 1998)。

Barker 等(2000)报道,植物SE蔗糖转运蛋白SUT2具有与酵母传感蛋白类似的功能,这可能对解释植物的蔗糖感受机制有所帮助。Reinders 等(2002b)也认为,SUT2的结构不同于其他SUTs,其N端有一延伸区(30个氨基酸),中心胞质环大约40个氨基酸。SUT2在结构上与酵母葡萄糖传感蛋白RGT2和SNF3类似,具有低密码子诱饵。在功能上,SUT2与SNF3及RGT2一样,缺少运输活力。在番茄中,LeSUT2分别与蔗糖运输蛋白LeSUT1(高亲和力)和LeSUT4(低亲和力)一同定位于SE中,而且通常在库组织中而不是源叶中高度表达。SUT2受蔗糖诱导,据此认为,它可能直接参与控制其他2个蔗糖转运蛋白的基因表达、转运活性以及mRNA与蛋白质之间的转换效率,从而对蔗糖穿过SE质膜的流量起调节作用。SUT2在酵母中低水平表达,含量较低。甚至SUT2可能是马铃薯块茎中淀粉含量的主要数量性状基因座(Baker 等 2000)。因此推测,SUT2可能具有蔗糖传感蛋白(sucrose sensor)的功能。很显然,要弄清楚植物中的蔗糖转运蛋白是否与酵母己糖转运蛋白一样具有糖传感蛋白功能,还需要更多令人信服的证据。

最近,我们采用分离泛素介导的酵母双杂交系统(split-ubiquitin yeast two-hybrid system)筛选到了苹果蔗糖转运蛋白和苹果山梨醇转运蛋白共同的作用因子——苹果细胞色素b5蛋白,糖转运蛋白-细胞色素b5复合体的结合程度调节糖的转运效率(Fan 等 2009)。蛋白激酶抑制剂和蛋白磷酸酶抑制剂星孢菌素和环孢菌素可抑制苹果蔗糖转运蛋白基因MdsUT1的表达,但并不引起蔗糖转运蛋白MdsUT1数量的变化。说明在蔗糖转运过程中蔗糖转运蛋白在转录和翻译后的水平上受多重调节(本实验室未发表资料)。

5 结语

综上所述,高等植物蔗糖的转运是一个十分复杂的过程,蔗糖转运蛋白由巨大的基因家族编码。

已经鉴定的蔗糖转运蛋白主要分为高亲和力/低容量转运体和低亲和力/高容量转运体两大类,它们通过偶联细胞膜中的H⁺-ATPase共同完成细胞内外的蔗糖跨膜转运,达到胞内外蔗糖浓度的平衡。迄今,蔗糖在植物韧皮部及韧皮部后卸载的机制仍不十分清楚。同时,果实糖积累与糖信号之间存在着千丝万缕的联系,蔗糖作为一种信号分子,不但对其在植物体内的库源关系起调控作用,而且与果实蔗糖转运蛋白基因的表达也有关系。但是,蔗糖信号从何时开始,以何种形式作用,以及如何受到调控,尚不清楚。鉴于拟南芥蔗糖转运蛋白家族(9种SUTs)中大部分成员的功能鉴定已经完成,采用其突变体并结合酵母双杂交技术研究蔗糖信号路径及其转运的调节不失为一条有效的途径。通过对蔗糖不敏感突变体的遗传学、形态学和分子生物学的研究,有望揭示蔗糖转运调控的信号组分以及糖分与植物细胞中其他信号途径的动态互作关系。相信随着植物蔗糖转运蛋白结构与功能关系的阐明,人们对蔗糖长距离运输与分配机制及其调控的了解是可能的。

参考文献

- Ageorges A, Issaly N, Picaud S, Delrot S, Romieu C (2000). Identification and functional expression in yeast of a grape berry sucrose carrier. *Plant Physiol Biochem*, 38: 177~185
- André B (1995). An overview of membrane transport proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 11: 1575~1611
- Aoki N, Hirose T, Scofield GN, Whitfield PR, Furbank RT (2003). The sucrose transporter gene family in rice. *Plant Cell Physiol*, 44: 223~232
- Aoki N, Hirose T, Takahashi S, Ono K, Ishimaru K, Ohsugi R (1999). Molecular cloning and expression analysis of a gene for a sucrose transporter maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Physiol*, 40: 1072~1078
- Aoki N, Whitfield P, Hoeren F, Scofield G, Newell K, Patrick J, Offler C, Clarke B, Rahman S, Furbank RT (2002). Three sucrose transporter genes are expressed in the developing grain of hexaploid wheat. *Plant Mol Biol*, 50: 453~462
- Barker L, Kühn C, Weise A, Schulz A, Gebhardt C, Hirner B, Hellmann H, Schulze W, Ward JM, Frommer WB (2000). SUT2, a putative sucrose sensor in sieve elements. *Plant Cell*, 12: 1153~1164
- Barth I, Meyer S, Sauer N (2003). PmSUC3: characterization of a SUT2/SUC3-type sucrose transporter from *Plantago major*. *Plant Cell*, 15: 1375~1385
- Boorer KJ, Loo DDF, Frommer WB, Wright EM (1996). Transport mechanism of the cloned potato H⁺/sucrose cotransporter StSUT1. *J Biol Chem*, 271: 25139~25144
- Braun DM, Slewinski TL (2009). Genetic control of carbon

- partitioning in grasses: roles of *sucrose transporters* and *tie-dyed* loci in phloem loading. *Plant Physiol*, 149: 71~81
- Bürkle L, Hibberd JM, Quick WP, Kühn C, Hirner B, Frommer WB (1998). The H⁺-sucrose cotransporter NtSUT1 is essential for sugar export from tobacco leaves. *Plant Physiol*, 118: 59~68
- Bush DR (1993). Inhibitors of the proton-sucrose symport. *Arch Biochem Biophys*, 307: 355~360
- Chiou TJ, Bush DR (1998). Sucrose is a signal molecule in assimilate partitioning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 4784~4788
- Chrispeels MJ, Crawford NM, Schroeder JI (1999). Proteins for transport of water and mineral nutrients across the membranes of plant cells. *Plant Cell*, 11: 661~675
- Coruzzi GM, Zhou L (2001). Carbon and nitrogen sensing and signaling in plants: emerging 'matrix effects'. *Curr Opin Plant Biol*, 4: 247~253
- Davies C, Wolf T, Robinson SP (1999). Three putative sucrose transporters are differentially expressed in grapevine tissues. *Plant Sci*, 147: 93~100
- Davies WJ, Zhang J (1991). Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 42: 55~76
- Endler A, Meyer S, Schelbert S, Schneider T, Weschke W, Peters SW, Keller F, Baginsky S, Martinoia E, Schmidt UG (2006). Identification of a vacuolar sucrose transporter in barley and *Arabidopsis* mesophyll cells by a tonoplast proteomic approach. *Plant Physiol*, 141: 196~207
- Fan RC, Peng CC, Xu YH, Wang XF, Li Y, Shang Y, Du SY, Zhao R, Zhang XY, Zhang LY et al (2009). Apple sucrose transporter SUT1 and sorbitol transporter SOT6 interact with cytochrome *b5* to regulate their affinity for substrate sugars. *Plant Physiol*, 150: 1880~1901
- Fu H, Park WD (1995). Sink- and vascular-associated sucrose synthase functions are encoded by different gene classes in potato. *Plant Cell*, 7: 1369~1385
- Gahrtz M, Schmelzer E, Stolz J, Sauer N (1996). Expression of the *PmSUC1* sucrose carrier gene from *Plantago major* L. is induced during seed development. *Plant J*, 9: 93~100
- Gahrtz M, Stolz J, Sauer N (1994). A phloem-specific sucrose-H⁺ symporter from *Plantago major* L. supports the model of apoplastic phloem loading. *Plant J*, 6: 697~706
- Giaquinta RT (1977). Possible role of pH gradient and membrane ATPase in the loading of sucrose into the sieve tubes. *Nature*, 267: 369~370
- Hirose T, Imaizumi N, Scofield GN, Furbank RT, Ohsugi R (1997). cDNA cloning and tissue specific expression of a gene for sucrose transporter from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol*, 38: 1389~1396
- Knop C, Voitsekhojskaja O, Lohaus G (2001). Sucrose transporters in two members of the Scrophulariaceae with different types of transport sugar. *Planta*, 213: 80~91
- Krügel U, Veenhoff LM, Langbein J, Wiederhold E, Liesche J, Friedrich T, Grimm B, Martinoia E, Poolman B, Kühn C (2008). Transport and sorting of the *Solanum tuberosum* sucrose transporter SUT1 is affected by posttranslational modification. *Plant Cell*, 20: 2497~2513
- Kühn C, Franceschi VR, Schulz A, Lemoine R, Frommer WB (1997). Macromolecular trafficking indicated by localization and turnover of sucrose transporters in enucleate sieve elements. *Science*, 275: 1298~1300
- Kühn C, Quick WP, Schulz A, Riesmeier TW, Sonnewald U, Frommer WB (1996). Companion cell-specific inhibition of the potato sucrose transporter SUT1. *Plant Cell Environ*, 19: 1115~1123
- Laloi M, Delrot S, M'Batchi B (1993). Characterization of sugar efflux from sugar beet leaf plasma membrane vesicles. *Plant Physiol Biochem*, 31: 731~741
- Lalonde S, Boles E, Hellmann H, Barker L, Patrick JW, Frommer WB, Ward JM (1999). The dual function of sugar carriers: transport and sugar sensing. *Plant Cell*, 11: 707~726
- Lemoine R, Bürkle L, Barker L, Sakr S, Kühn C, Regnacq M, Gaillard C, Delrot S, Frommer WB (1999). Identification of a pollen-specific sucrose transporter-like protein NtSUT3 from tobacco. *FEBS Lett*, 454: 325~330
- Lemoine R (2000). Sucrose transporters in plants: update on function and structure. *BBA-Biomembranes*, 1465: 246~262
- Loreti E, Alpi A, Perata P (2000). Glucose and disaccharide-sensing mechanisms modulate the expression of α -amylase in barley embryos. *Plant Physiol*, 123: 939~948
- Lu JMY, Bush DR (1998). His-65 in the proton-sucrose symporter is an essential amino acid whose modification with site-directed mutagenesis increases transport activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 9025~9030
- Ludwig A, Stolz J, Sauer N (2000). Plant sucrose-H⁺ symporters mediate the transport of vitamin H. *Plant J*, 24: 503~509
- Ma Y, Slewinski TL, Baker RF, Braun DM (2009). *Tie-dyed1* encodes a novel, phloem-expressed transmembrane protein that functions in carbohydrate partitioning. *Plant Physiol*, 149: 181~194
- Maynard JW, Lucas WJ (1982). A reanalysis of the two-component phloem loading system in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 69: 734~739
- Minchin PEH, Thorpe MR (1987). Measurement of unloading and reloading of photo-assimilates within the stem of bean. *J Exp Bot*, 38: 211~220
- Noiraud N, Delrot S, Lemoine R (2000). The sucrose transporter of celery. Identification and expression during salt stress. *Plant Physiol*, 122: 1447~1455
- Özcan S, Dover J, Johnston M (1998). Glucose sensing and signaling by two glucose receptors in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J*, 17: 2566~2573
- Özcan S, Dover J, Rosenwald AG, Wölfl S, Johnston M (1996a). Two glucose transporters in *Saccharomyces cerevisiae* are glucose sensors that generate a signal for induction of gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 12428~12432
- Özcan S, Johnston M (1995). Three different regulatory mechanisms enable yeast hexose transporter (*HXT*) genes to be induced by different levels of glucose. *Mol Cell Biol*, 15: 1564~1572
- Özcan S, Leong T, Johnston M (1996b). Rgt1p of *Saccharomyces*

- cerevisiae*, a key regulator of glucose-induced genes, is both an activator and a repressor of transcription. *Mol Cell Biol*, 16: 6419~6426
- Purcell PC, Smith AM, Halford NG (1998). Antisense expression of a sucrose non-fermenting-1-related protein kinase sequence in potato results in decreased expression of sucrose synthase in tubers and loss of sucrose-inducibility of sucrose synthase transcripts in leaves. *Plant J*, 14: 195~202
- Rae AL, Perroux JM, Grof CPL (2005). Sucrose partitioning between vascular bundles and storage parenchyma in the sugarcane stem: a potential role for the ShSUT1 sucrose transporter. *Planta*, 220: 817~825
- Reinders A, Schulze W, Thaminy S, Stagljar I, Frommer WB, Ward JM (2002a). Intra- and intermolecular interactions in sucrose transporters at the plasma membrane detected by the split-ubiquitin system and functional assays. *Structure*, 10: 763~772
- Reinders A, Schulze W, Kühn C, Barke L, Schulz A, Ward JM, Frommer WB (2002b). Protein-protein interactions between sucrose transporters of different affinities colocalized in the same enucleate sieve element. *Plant Cell*, 14: 1567~1577
- Riesmeier JW, Hirner B, Frommer WB (1993). Potato sucrose transporter expression in minor veins indicates a role in phloem loading. *Plant Cell*, 5: 1591~1598
- Riesmeier JW, Willmitzer L, Frommer WB (1992). Isolation and characterization of a sucrose carrier cDNA from spinach by functional expression in yeast. *EMBO J*, 11: 4705~4713
- Riesmeier JW, Willmitzer L, Frommer WB (1994). Evidence for an essential role of the sucrose transporter in phloem loading and assimilate partitioning. *EMBO J*, 13: 1~7
- Roblin G, Sakr S, Bonmort J, Delrot S (1998). Regulation of a plant plasma membrane sucrose transporter by phosphorylation. *FEBS Lett*, 424: 165~168
- Rook F, Gerrits N, Kortstee A, van Kampen M, Borrias M, Weisbeek P, Smeekens S (1998). Sucrose-specific signaling represses translation of the *Arabidopsis* *ATB2* bZIP transcription factor gene. *Plant J*, 15: 253~263
- Sakr S, Noubahni M, Bourbouloux A, Riesmeier J, Frommer WB, Sauer N, Delrot S (1997). Cutting, aging and expression of plant membrane transporters. *Biochim Biophys Acta*, 1330: 207~216
- Sauer N, Ludwig A, Knoblauch A, Rothe P, Gahrz M, Klebl F (2004). *AtSUC8* and *AtSUC9* encode functional sucrose transporters, but the closely related *AtSUC6* and *AtSUC7* genes encode aberrant proteins in different *Arabidopsis* ecotypes. *Plant J*, 40: 120~130
- Sauer N, Stolz J (1994). SUC1 and SUC2: two sucrose transporters from *Arabidopsis thaliana*; expression and characterization in baker's yeast and identification of the histidine-tagged protein. *Plant J*, 6: 67~77
- Schulze W, Weise A, Frommer WB, Ward JM (2000). Function of the cytosolic N-terminus of sucrose transporter AtSUT2 in substrate affinity. *FEBS Lett*, 485: 189~194
- Shakya R, Sturm A (1998). Characterization of source- and sink-specific sucrose/H⁺ symporters from carrot. *Plant Physiol*, 118: 1473~1480
- Sivitz AB, Reinders A, Johnson ME, Krentz AD, Grof CPL, Perroux JM, Ward JM (2007). *Arabidopsis* sucrose transporter AtSUC9. High-affinity transport activity, intragenic control of expression, and early flowering mutant phenotype. *Plant Physiol*, 143: 188~198
- Sivitz AB, Reinders A, Ward JM (2005). Analysis of the transport activity of barley sucrose transporter HvSUT1. *Plant Cell Physiol*, 46: 1666~1673
- Sivitz AB, Reinders A, Ward JM (2008). *Arabidopsis* sucrose transporter AtSUC1 is important for pollen germination and sucrose-induced anthocyanin accumulation. *Plant Physiol*, 147: 92~100
- Smeekens S (2000). Sugar-induced signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 51: 49~81
- Srivastava AC, Ganesan S, Ismail IO, Ayre BG (2008). Functional characterization of the *Arabidopsis* AtSUC2 sucrose/H⁺ symporter by tissue-specific complementation reveals an essential role in phloem loading but not in long-distance transport. *Plant Physiol*, 148: 200~211
- Stadler R, Brandner J, Schulz A, Gahrz M, Sauer N (1995). Phloem loading by the PmSUC2 sucrose carrier from *Plantago major* occurs into companion cells. *Plant Cell*, 7: 1545~1554
- Stadler R, Sauer N (1996). The *Arabidopsis thaliana* AtSUC2 gene is specifically expressed in companion cells. *Bot Acta*, 109: 299~306
- Walker NA, Patrick JW, Zhang WH, Fieuw S (1995). Efflux of photosynthate and acid from developing seed coats of *Phaseolus vulgaris* L.: a chemiosmotic analysis of pump-driven efflux. *J Exp Bot*, 46: 539~549
- Ward JM, Kühn C, Tegeder M, Frommer WB (1998). Sucrose transport in higher plants. *Int Rev Cytol*, 178: 41~71
- Weber H, Borisjuk L, Heim U, Sauer N, Wobus U (1997). A role for sugar transporters during seed development: molecular characterization of a hexose and a sucrose carrier in fava bean seeds. *Plant Cell*, 9: 895~908
- Weig A, Komor E (1996). An active sucrose carrier (Scr1) that is predominantly expressed in the seedling of *Ricinus communis* L. *J Plant Physiol*, 147: 685~690
- Weise A, Barker L, Kühn C, Lalonde S, Buschmann H, Frommer WB, Ward J (2000). A new subfamily of sucrose transporters, SUT4, with low affinity/high capacity is localized in enucleate sieve elements of plants. *Plant Cell*, 12: 1345~1355
- Williams LE, Nelson SJ, Hall JL (1990). Characterization of solute transport in plasma membrane vesicles isolated from cotyledons of *Ricinus communis* L. *Planta*, 182: 540~545
- Williams LE, Lemoine R, Sauer N (2000). Sugar transporters in higher plants—a diversity of roles and complex regulation. *Trends Plant Sci*, 5: 283~290
- Zhou J, Theodoulou F, Sauer N, Sanders D, Miller AJ (1997). A kinetic model with ordered cytoplasmic dissociation for SUC1, an *Arabidopsis* H⁺/sucrose cotransporter expressed in *Xenopus* oocytes. *J Membr Biol*, 159: 113~125