

高等植物牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸合成酶基因的研究进展

王中, 李锋, 金立锋, 王晨, 王燃*

中国烟草总公司郑州烟草研究院, 郑州450001

摘要: 牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸合成酶(GGPPS)在植物体内催化牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(GGPP)的合成, GGPP是萜类物质、类胡萝卜素、叶绿素及几个重要植物激素合成的前体物, 是联系植物体内多条重要次生代谢通路的节点物质。本文综述了植物GGPPS基因近年来的生物学功能研究进展和该基因家族的遗传分类情况, 以及GGPPS小亚基因的重要调控作用, 拟为深入研究植物GGPPS基因的生物学功能和萜类含量调控的遗传工程提供新认识和新思路。

关键词: 牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸合成酶; 萜类; 类胡萝卜素; 叶绿素; 小亚基

萜类化合物(terpenoids)是植物体内数量和结构变化最多的一类代谢物, 它们由异戊二烯单元组成, 包括单萜(monoterpene)、倍半萜(sesquiterpene)、二萜(diterpene)、三萜(triterpene)、四萜(tetraterpene)等各种类型, 广泛参与植物生长发育、光合作用、信号转导、环境适应及抗逆等各种生理过程, 发挥着重要的生物学功能(Bouvier等2005; Cazzonelli和Pogson 2010; Gershenzon和Dudareva 2007; Vranová等2011; Pulido等2012; Ruiz-Sola等2016)。所有的萜类物质都来源于五个碳原子结构的基本单元——异戊烯基焦磷酸(isopentenyl pyrophosphate, IPP)和它的烯丙基异构体二甲基烯丙基焦磷酸(dimethylallyl pyrophosphate, DMAPP), IPP和DMAPP可以在异戊烯基焦磷酸异构酶(isopentenyl pyrophosphate isomerase, IDI)的作用下相互转化。IPP/DMAPP可以通过两个途径合成, 即位于细胞质中的甲羟戊酸(mevalonic acid, MVA)途径和位于质体中的甲基赤藓醇-4-磷酸(methylerythritol phosphate, MEP)途径(Bouvier等2005; Cazzonelli和Pogson 2010; Pulido等2012)。

在植物体内, MEP途径合成IPP和DMAPP, 一分子IPP和一分子DMAPP在牻牛儿基焦磷酸合成酶(geranyl pyrophosphate synthase, GGPPS; 也可以称为异戊二烯转移酶)的作用下缩合生成牻牛儿基焦磷酸(geranyl pyrophosphate, GPP), GPP可以在单萜合成酶(monoterpene synthase)的作用下形成单萜类化合物。3分子IPP和一分子DMAPP在牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸合成酶(geranylgeranyl pyrophosphate synthase, GGPPS)的作用下即形成二十碳的化合物牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(geranylgeranyl

pyrophosphate, GGPP), GGPP继续被催化形成二萜和四萜类化合物(Beck等2013; Ruiz-Sola等2016)。GGPP不仅是二萜类和类胡萝卜素的前体物, 还是生育酚、脱落酸、独脚金内脂、赤霉素、质醌、叶绿醌等多萜合成的共同前体物(图1), 是植物多条重要次生代谢通路的节点(Bouvier等2005; Gershenzon和Dudareva 2007)。因此, GGPPS在植物生长发育过程中发挥着重要作用。GGPPS不仅存在于植物体内, 在细菌(Ohnuma等1994)、酵母(Jiang等1995)、昆虫(Hojo等2007)、真菌(Sandmann等1993)和动物体(Kainou等1999)内都有报道。

1 GGPPS基因的生物学功能

高等植物GGPPS节点上游的MVA和MEP途径上的催化酶基因多数都是单拷贝或者有少数同源基因, 而GGPPS有诸多的基因家族成员编码。根据其序列相似性可以将高等植物GGPPS分为5个亚家族, 但这5个亚家族的GGPPS基因可能起源于同一个祖先。自陆地植物出现后, GGPPS同源基因拷贝数量才开始增加。目前报道的编码GGPPS同源基因拷贝数最多的植物是拟南芥(*Arabidopsis thaliana*), 有12个AtGGPPS基因。与此同时, 绿藻类植物、苔藓类植物、裸子类植物和被子类植物的GGPPS基因也呈现出数量不断增加的特征, 具有谱系特征性扩张(lineage-specific expansion)事件

收稿 2018-01-30 修定 2018-03-19

资助 中国烟草总公司郑州烟草研究院科技项目(092013CZ0620)和河南省科技攻关项目(172102110153)。

致谢 南京大学生命科学学院卢山教授对本文的建议和指导。

* 通讯作者(wangranlj2010@163.com)。

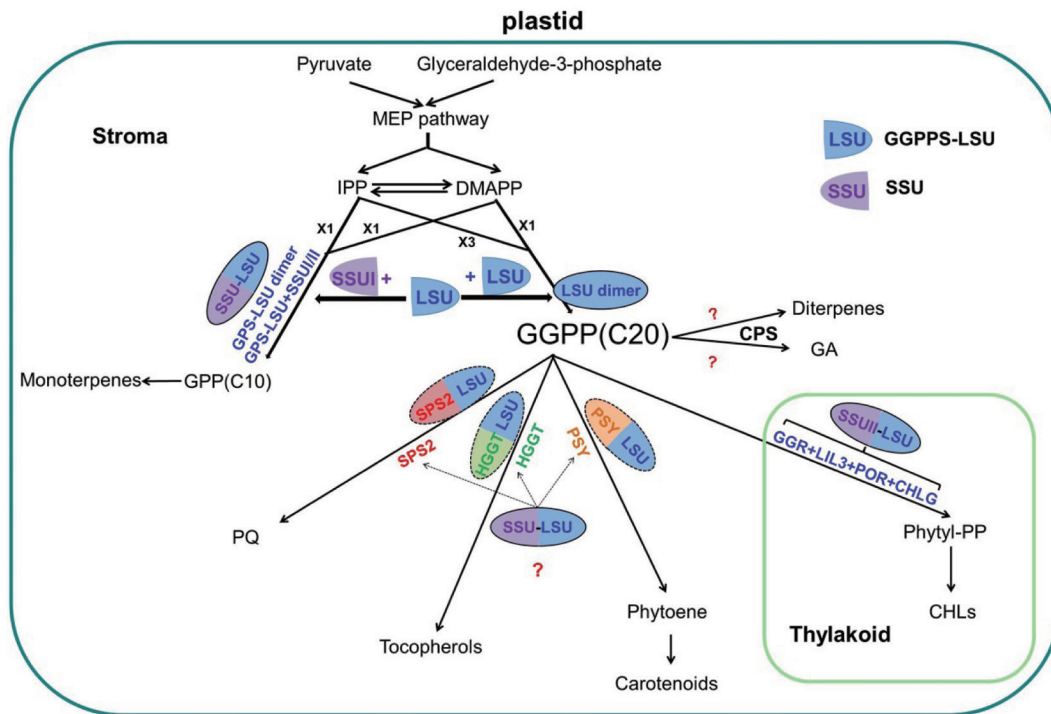


图1 植物GGPPS大亚基和小亚基调控植物萜类及下游代谢途径的机制模型

Fig.1 Mechanism model of plant GGPPS large and small subunits in regulating terpenes and downstream metabolic pathways

Carotenoids: 类胡萝卜素; CHLG: 叶绿素合成酶; CHLs: 叶绿素; CPS: *ent*-柯巴基焦磷酸合成酶; Diterpenes: 二萜类; DMAPP: 二甲基烯丙基焦磷酸; GA: 赤霉素; GGPP: 牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸; GGPPS: 牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸合成酶; GGR: 牻牛儿基牻牛儿基还原酶; Glyceraldehyde-3-phosphate: 甘油醛-3-磷酸; GPP: 牻牛儿基焦磷酸; GPS: 牻牛儿基焦磷酸合成酶; HGGT: 尿黑酸异戊二烯转移酶; IPP: 异戊烯基焦磷酸; LIL3: light-harvesting-like protein3; LSU: 大亚基; MEP pathway: 甲基赤藓醇-4-磷酸途径; Monoterpenes: 单萜类; Phytoene: 八氢番茄红素; Phytyl-PP: 植基焦磷酸; plastid: 质体; POR: 叶绿素原酯氧化还原酶; PQ: 质体醌; PSY: 八氢番茄红素合成酶; Pyruvate: 丙酮酸; SPS2: 茄呢基焦磷酸合成酶; SSU: 小亚基; Stroma: 质体基质; Thylakoid: 类囊体; Tocopherols: 生育酚类。

(Coman等2014)。同源基因数目的扩增必然会导致其生物学功能的分化和变化, 表征各同源基因的表达模式和亚细胞定位可以为基因功能研究提供线索和依据, 重要性不言而喻(Rodríguez-Concepción和Boronat 2002; Closa等2010; Ruiz-Sola等2016; Vranová等2013)。

许多植物中都陆续克隆鉴定出了GGPPS基因, 但是该基因的表达模式在不同植物间有明显的组织差异性。在已报道的被子植物中, GGPPS基因的表达主要集中在叶、花或者果实等地上部位。例如, 第一个植物GGPPS基因是Kuntz等(1992)在甜椒(*Capsicum annuum*)中克隆获得的, 并在大肠杆菌(*Escherichia coli*)中证实其具有催化合成GGPP的活性, 该基因主要在正在成熟的果实中被大量诱导表达, 对应酶活性也持续增强。而橡胶树(*Hevea brasiliensis*)、毛喉鞘蕊花(*Coleus forskohlii*)、

榛子(*Corylus avellana*)、丹参(*Salvia miltiorrhiza*)、人参(*Panax ginseng*)等双子叶植物中的GGPPS基因在叶片或花中的表达量显著高于其他组织器官(Takaya等2003; Engprasert等2004; Wang等2010; Kai等2010; Rahimi等2015)。而裸子植物银杏(*Ginkgo biloba*)的GGPPS基因在各个组织器官中都有表达, 但是在根部的表达量最高, 叶片中的表达量最低(Wang等2009)。同一植物中不同GGPPS同源基因的表达模式也不相同, 如拟南芥AtGGPPS11 (At4g36810)和AtGGPPS2 (At2g18620)基因在所有组织器官中都能检测到表达, 但是各组织中AtGGPPS11基因的表达量均显著高于AtGGPPS2基因; 其他同源基因则主要在根、种子或者花中特异表达(Beck等2013; Okada等2000)。虽然在不同植物中GGPPS基因集中在不同的组织部位表达, 但是它们的表达特征也有明显的共性, 即易受植物

激素诱导表达, 例如毛喉鞘蕊花、榛子、银杏、加拿大红豆杉(*Taxus canadensis*)中GGPPS基因的表达水平及相应酶活均受到茉莉酸甲酯的诱导(Engprasert等2004; Wang等2009, 2010; Hefner等1998); 丹参中的GGPPS基因可能受到水杨酸的诱导表达, 却被茉莉酸甲酯抑制表达(Kai等2010); 向日葵(*Helianthus annuus*) GGPPS基因在种子吸胀作用2 d后开始表达, 并且其表达水平受到脱落酸的抑制(Oh等2000)。普通烟草(*Nicotiana tabacum*)基因组中有9个GGPPS基因(李泽锋等2015), *NiGGPPS1*基因的表达受茉莉酸甲酯诱导, 而喷施生长素可以抑制该基因的表达; 其转基因RNA干扰(RNA interference, RNAi)株系叶片质体色素含量与野生型对照比较显著下降, 新黄质(neoxanthin)、紫黄质(violaxanthin)、 β -胡萝卜素(β -carotene)、叶绿素*a* (chlorophyll *a*)、叶绿素*b* (chlorophyll *b*)、叶黄素(lutein)等物质的含量都出现下降(魏攀等2016)。

除了表达模式差异外, 植物GGPPS同源蛋白的亚细胞定位也会出现明显的分化, 以适应各同源蛋白不同的生理功能。以GGPPS基因数目最多的拟南芥为例, 拟南芥基因组有12个GGPPS基因(*AtGGPPS1*~*AtGGPPS12*), 不同的AtGGPPS成熟蛋白质定位在不同的亚细胞器中, 并发挥各自的生物学功能。AtGGPPS1 (At1g49530)成熟蛋白质定位于线粒体中, AtGGPPS3 (At2g18640)和AtGGPPS4 (At2g23800)成熟蛋白质定位于内质网, 多数AtGGPPS成熟蛋白质包括AtGGPPS2 (At2g18620)、AtGGPPS6 (At3g14530)、AtGGPPS7 (At3g14550)、AtGGPPS8 (At3g20160)、AtGGPPS9 (At3g29430)、AtGGPPS10 (At3g32040)和AtGGPPS11 (At4g36810)都定位于叶绿体或者质体中, 而*AtGGPPS5* (At2g18620)是假基因(Beck等2013; Okada等2000)。AtGGPPS12在拟南芥中被命名为牻牛儿基牻牛儿基还原酶(geranylgeranyl reductase, GGR), 它不能单独催化GGPP的合成反应(Wang和Dixon 2009)。虽然拟南芥各AtGGPPS蛋白定位在不同的细胞器上, 但是研究发现AtGGPPS11在拟南芥众多的GGPPS成员中发挥着核心的生物学功能, 其活性与质体的主要萜类物质含量密切相关。同时进一步的研究发现AtGGPPS11能够与八氢番茄红素合成酶(phytoene synthase, PSY)、茄呢基焦磷酸合成酶(solaneyl pyrophosphate

synthase 2, SPS2)、GGR等萜类合成通路关键合成酶互相作用(图1), 进而直接影响相关萜类物质的合成(Beck等2013; Okada等2000; Ruiz-Sola等2016)。

植物GGPPS基因研究的例证表明, 该基因在调控植物萜类合成方面作用显著。尽管GGPPS基因家族各同源基因的表达模式、编码蛋白的亚细胞定位等存在明显的分化, 但仍有个别同源基因成员在萜类物质代谢过程中发挥着核心的调控作用。与此同时, GGPPS调控GGPP作为底物进入各个合成通路(如类胡萝卜素、叶绿素等合成通路)的机制也有待进一步深入研究。

2 GGPPS基因的遗传分类

植物GGPPS是一类聚戊烯合成酶(polyprenyl synthase), 具有典型的聚戊烯合成酶功能域, 它们通常含有两个富含天冬氨酸的结构域——FARM (a first aspartate rich motif) DDxxxxD (*x*是任意氨基酸, 下同)和SARM (a second aspartate rich motif) DDxxD, 两个结构域对于底物IPP和DMAPP的结合有重要作用, 决定了GGPPS的催化活性(Liang等2002; Liang 2009)。此外, FARM结构域上游第五个氨基酸的分子量大小决定GGPPS催化产物碳链的长短, 例如第五个氨基酸是分子量较大的甲硫氨酸时, GGPPS的催化产物是GGPP (C20); 而当第五个氨基酸为分子量较小的丙氨酸或丝氨酸时, GGPPS的催化产物是GFDP (geranylgeranyl pyrophosphate, C25) (Nagell等2015)。

GGPPS根据其序列特征和遗传进化分析能够分为5个亚类——Sub I~V。Sub I亚类的GGPPS来源于藻类, Sub II亚类的GGPPS来源于苔藓植物, Sub III亚类的GGPPS来源于裸子植物, Sub V亚类的GGPPS来源于被子植物(Coman等2014)。Sub I、Sub II和Sub V亚类的GGPPS除了含有FARM和SARM两个富含天冬氨酸的保守结构域外, 还通常含有1个CxxxC保守结构域(Okada等2000; Wang和Dixon 2009; Beck等2013)。但是Sub V亚类的GGPPS也有缺失CxxxC结构域的情况, 如拟南芥的AtPPPS (polyprenyl pyrophosphate synthase) (Hsieh等2011)。Sub III亚类的GGPPS含有更多的功能域, 包括FARM结构域、SARM结构域、一个CxxxC结

构域和一个CxxxS结构域,这种结构的变化直接导致其生物学功能的改变,该亚类GGPPS能够催化合成GPP和GGPP两类物质(Coman等2014; Schmidt等2010);同时,关键氨基酸S可以突变为C,譬如云杉(*Picea abies*)的PaIDS2含有两个CxxxC结构域,该酶只能催化合成GPP (Schmidt和Gershenzon 2008)。

Sub I、Sub II、Sub III和Sub V亚类的GGPPS通常被称为大亚基(large subunit, LSU),而Sub IV亚类的GGPPS则被称为小亚基(small subunit, SSU)。GGPPS LSU能够形成同源二聚体发挥生物学功能(Vandermoten等2009),也能够以异源二聚体的方式聚合SSU发生作用。SSU不能通过形成同源二聚体催化反应,只能与GGPPS大亚基或GPPS互相作用发挥生物学功能(Burke等1999; Tholl等2004; Wang和Dixon 2009; Zhou等2017)。SSU又可以分为两类,SSU I和SSU II (Wang和Dixon 2009)。与LSU比较,SSU I缺失FARM和SARM两个富含天冬氨酸的保守结构域,只含有两个CxxxC保守结构域(Tholl等2004);而SSU II含有FARM和两个CxxxC保守结构域,其SARM突变为DDxxE (E可变)(Burke等1999; Wang和Dixon 2009; Zhou等2017)。CxxxC保守结构域对于SSU与LSU结合形成异源二聚体有重要作用(Wang和Dixon 2009; Zhou等2017)。

3 GGPPS基因小亚基的功能解析

目前已报道的植物GGPPS功能研究多属于LSU的功能研究,而SSU的研究进展相对缓慢。因为SSU自身不具有催化活性,只能以异源二聚体的方式与GGPPS LSU或者GPPS聚合(图1),进而调节后两者的催化活性,改变GGPP和GPP的生物合成比例。第一个被报道的植物SSU来源于胡椒薄荷(*Mentha piperita*),属于SSU I类。单独的MpSSU I和MpGPPS LSU都没有催化活性,但是当两者形成异源二聚体后,能够产生活性催化GPP合成(Burke等1999)。此外,研究还表明MpSSU I能够在体外与裸子植物加拿大红豆杉和巨冷杉(*Abies grandies*)的GGPPS形成异源二聚体,催化GPP的合成,表明MpSSU I能够改变植物GGPPS催化产物的链长特性,即有利于将IPP更多地导向GPP的合成(Burke

和Croteau 2002)。植物体内实验也表明将胡椒薄荷MpSSU I在烟草中过表达时,可以明显增加烟草叶片提取物中GPP的含量,同时显著提高烟叶中单萜类物质的含量。但是转基因烟叶中类胡萝卜素的总含量没有明显变化,只是黄体素的含量增加, β -胡萝卜素的含量降低,同时赤霉素和细胞分裂素的含量也增加(Yin等2017)。除了胡椒薄荷外,SSU I还陆续在金鱼草(*Antirrhinum majus*)和仙女扇(*Clarkia breweri*)中被分离鉴定出来。AmSSU I和CbSSU I都能够在体外与胡椒薄荷MpGPPS LSU聚合,形成具有催化活性的GPPS。而且金鱼草AmSSU I也能够与自身的AmGPPS LSU形成异源的活性二聚体,主要催化GPP的合成,但是两个AmGPPS LSU也可以形成同源的二聚体,同源二聚体的催化产物主要是GGPP (Tholl等2004)。金鱼草AmSSU I基因在烟草中过表达结果进一步证实了SSU I类小亚基可以调控植物中GPP和GGPP的含量比例,进而改变萜类物质的合成流向。研究表明烟草GGPPS LSU能够形成同源二聚体,催化GGPP的合成,GGPP是二萜、四萜等类物质合成的关键前体物质。但是当AmSSU I在体内与烟草GGPPS LSU结合后,使后者表现出GPS的催化活性,促进了GPP的生物合成,而非GGPP。GPP是单萜类物质合成的重要前体,因此转基因烟草中单萜类物质含量增加,二萜、四萜甚至细胞质的倍半萜类等物质含量减少,生长受到抑制,叶片产生漂白现象(Orlova等2009)。更直观地反映SSU I生物学功能的实验是在啤酒花(*Humulus lupulus*)中完成的。研究表明单独HisSU I没有催化活性,而HiGPPS LSU能够单独催化产生GPP (26.9%)、FPP (4.9%)和GGPP (68.2%);当HisSU I与HiGPPS LSU形成异源二聚体之后,能够以IPP和DMAPP为底物合成GPP (59.5%)和GGPP (40.5%),并且异源二聚体的活性显著高于HiGPPS LSU自身的催化效率(Wang和Dixon 2009)。但是该异源二聚体若是以GPP和FPP为底物,则产物全部都是GGPP,这种现象在金鱼草和辣椒薄荷中并没有发生(Burke等1999; Burke和Croteau 2002)。综上所述,植物SSU I无论是与GGPPS LSU或者GPPS LSU结合都能够增强异源聚合体的GPPS催化特性,有利于GPP的合成。

目前SSU II类小亚基的研究主要集中在拟南

芥和水稻(*Oryza sativa*)中,但是两种植物中SSU II的生物学功能也不同。拟南芥AtGGPPS12属于SSU II类小亚基,它不能单独催化产生GGPP,但是能够与AtGGPPS11、AtGGPPS2或者HIGPPS LSU形成异源二聚体,催化产生GPP (Wang和Dixon 2009)。AtGGPPS2本身只催化产生GGPP,但是与AtGGPPS12形成异源二聚体后能够催化产生微量的GPP;类似地,AtGGPPS11也能够与AtGGPPS12形成异源二聚体,共同促进拟南芥花中单萜类物质的合成(Chen等2015)。AtGGPPS12并不能够与所有的LSU互相作用,譬如AtGGPPS6不能与AtGGPPS12形成二聚体(Wang和Dixon 2009)。拟南芥SSU II能够增强与GGPPS LSU或者是GPPS LSU聚合体GPPS的酶活性,促进GPP的合成。因此,拟南芥SSU II的生物学功能可能与SSU I类似,能够增强与GGPPS-LSU聚合体GPPS的酶活性,利于GPP的合成。

水稻OsGRP (Os02g44780)属于SSU II小亚基,能够在类囊体中与OsGGPPS1 (Os07g39270)蛋白组成异源二聚体(Zhou等2017)。体外蛋白活性及结晶实验结果表明OsGRP-OsGGPPS1异源二聚体比OsGGPPS1-OsGGPPS1同源二聚体的催化活性高7倍,产物中GGPP的百分比大幅提升。OsGGPPS1成熟蛋白质定位于叶绿体基质和类囊体,而OsGRP成熟蛋白质只存在于类囊体,两者的相互作用也只在类囊体中被检测到;OsGGPPS1对OsGRP的亲合力强于另外一个OsGGPPS1分子,因此在OsGRP存在情况下,OsGGPPS1更倾向于形成异源二聚体发挥功能(Zhou等2017)。而且OsGGPPS1和OsGRP异源二聚体发挥功能的时候应该是与OsGGR (geranylgeranyl reductase)、OsLIL3 (light-harvesting-like protein3)、OsPORB (protochlorophyllide oxidoreductase)和OsCHLG (chlorophyll synthase)形成蛋白质复合体(图1),这显示其可能参与调控叶绿素的合成,引导GGPP更多进入叶绿素合成途径;同时OsGRP与类胡萝卜素合成的第一个酶PSY、二萜合成的*ent*-柯巴基焦磷酸合成酶(*ent*-copalyl pyrophosphate synthase, CPS)和维生素E合成通路中的尿黑酸异戊二烯转移酶(homogentisate geranylgeranyl transferase, HGGT)没有相互作用,说明OsGRP并不直接参与调控类胡萝

卜素、二萜及维生素E合成的底物能量流。*osgrp*突变体植株的叶绿素含量大幅下降(42%~74%),类胡萝卜素下降幅度较小(18%~47%),甚至花药黄质(antheraxanthin)和玉米黄质(zeaxanthin)的含量还有略微增加;OsGRP基因过表达株系的叶绿素含量显著上升,胡萝卜素含量也出现略微下降,株高降低,OsGGPPS1蛋白质的含量没有出现变化,但是类囊体的OsGGPPS1蛋白质含量上升,说明水稻OsGRP通过调控GGPPS在同源和异源二聚体之间的分配间接调配后者在叶绿体基质和类囊体上的分布和酶活,以此调控叶绿素的合成,甚至影响类胡萝卜素的合成及含量(Zhou等2017)。该研究结果说明,水稻SSU II的生物学功能与之前的SSU I和SSU II的功能报道不同,通过调控GGPPS在同源和异源二聚体之间的分配,引导GGPP更多进入叶绿素合成途径。

4 展望

GGPP作为植物萜类物质合成的关键节点物质,可以在不同酶的催化下合成赤霉素、二萜类、四萜类胡萝卜素、脱落酸、独脚金内脂、生育酚、质醌和叶绿醌等植物生长所必需的重要有机物,与植物的生长发育、光合作用、信号转导、环境适应及抗逆等各种生理过程密切相关。因此,通过调控GGPPS、改变GGPP的含量或者下游导向性,就可以间接调控植物的萜类物质含量及相关的重要生理过程。伴随着基因组时代的到来和植物代谢组学技术的进步,不同植物GGPPS基因家族的遗传学特性和功能特性会逐渐揭开,GGPPS调控植物下游代谢途径的分子机制可能主要集中在两个方面(图1)。第一,GGPPS LSU的研究,尤其是具有多个GGPPS基因家族成员的植物,其各个成员与下游代谢通路第一个合成酶的相互作用机制仍然需要探索。第二,GGPPS SSU的研究,拟南芥和SSU II与水稻SSU II同属于一个亚家族,但是两者调控GGPPS LSU的分子机制却是不同的。在一些植物中甚至同时存在SSU I和SSU II,那么两类小亚基会如何影响上下游重要代谢途径,譬如对单萜、二萜、类胡萝卜素和叶绿素合成的调控机制;这些机制的解析对于以上述次生代谢物作为经济价值的作物改良非常重要,例如烟

草、蔬菜水果类、中药材和香料植物等等经济作物。综上所述,植物GGPPS基因的研究仍然需要不断地深入探索,这对于植物萜类及下游重要物质代谢调控的遗传工程有重要的理论和应用价值。

参考文献(References)

- Beck G, Coman D, Herren E, et al (2013). Characterization of the GGPP synthase gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 82: 393–416
- Bouvier F, Rahier A, Camara B (2005). Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids. *Prog Lipid Res*, 44: 357–429
- Burke C, Croteau R (2002). Interaction with the small subunit of geranyl pyrophosphate synthase modifies the chain length specificity of geranylgeranyl pyrophosphate synthase to produce geranyl pyrophosphate. *J Biol Chem*, 277: 3141–3149
- Burke C, Wildung MR, Croteau R (1999). Geranyl pyrophosphate synthase: cloning, expression, and characterization of this prenyltransferase as a heterodimer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 13062–13067
- Cazzonelli CI, Pogson BJ (2010). Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends Plant Sci*, 15: 266–274
- Chen Q, Fan D, Wang G (2015). Heteromeric geranyl (geranyl) diphosphate synthase is involved in monoterpene biosynthesis in *Arabidopsis* flowers. *Mol Plant*, 8 (9): 1434–1437
- Closa M, Vranová E, Bortolotti C, et al (2010). The *Arabidopsis thaliana* FPP synthase isozymes have overlapping and specific functions in isoprenoid biosynthesis, and complete loss of FPP synthase activity causes early developmental arrest. *Plant J*, 63: 512–525
- Coman D, Altenhoff A, Zoller S, et al (2014). Distinct evolutionary strategies in the GGPPS family from plants. *Front Plant Sci*, 5: 230
- Engprasert S, Taura F, Kawamukai M, et al (2004). Molecular cloning and functional expression of geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Coleus forskohlii* Briq. *BMC Plant Biol*, 4: 18
- Gershenzon J, Dudareva N (2007). The function of terpene natural products in the natural world. *Nat Chem Biol*, 3: 408–414
- Hefner J, Ketchum RE, Croteau R (1998). Cloning and functional expression of a cDNA encoding geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Taxus canadensis* and assessment of the role of this prenyltransferase in cells induced for taxol production. *Arch Biochem Biophys*, 360: 62–74
- Hojo M, Matsumoto T, Miura T (2007). Cloning and expression of a geranylgeranyl pyrophosphate synthase gene: insights into the synthesis of termite defence secretion. *Insect Mol Biol*, 16: 121–131
- Hsieh FL, Chang TH, Ko TP, et al (2011). Structure and mechanism of an *Arabidopsis* medium/long-chain-length prenyl pyrophosphate synthase. *Plant Physiol*, 155: 1079–1090
- Huang AC, Kautsar SA, Hong YJ, et al (2017). Unearthing a sesquiterpene biosynthetic repertoire in the Brassicaceae through genome mining reveals convergent evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: E6005–E6014
- Jiang Y, Proteau P, Poulter D, et al (1995). BTS1 encodes a geranylgeranyl pyrophosphate synthase in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 270: 21793–21799
- Kai G, Liao P, Zhang T, et al (2010). Characterization, expression profiling, and functional identification of a gene encoding geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Salvia miltiorrhiza*. *Biotechnol Bioproc Eng*, 15: 236–245
- Kainou T, Kawamura K, Tanaka K, et al (1999). Identification of the GGPS1 genes encoding geranylgeranyl pyrophosphate synthases from mouse and human. *Biochim Biophys Acta*, 1437: 333–340
- Kuntz M, Römer S, Suire C, et al (1992). Identification of a cDNA for the plastid-located geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Capsicum annuum*: correlative increase in enzyme activity and transcript level during fruit ripening. *Plant J*, 2 (1): 25–34
- Li Z, Wei P, Xia Y, et al (2015). Whole genome identification and analysis of tobacco GGPP synthase gene family. *Tob Sci Technol*, 48 (6): 1–8 (in Chinese with English abstract) [李泽锋, 魏攀, 夏玉珍等(2015). 烟草牻牛儿苗牻牛儿苗基焦磷酸合成酶基因家族的全基因组鉴定. *烟草科技*, 48 (6): 1–8]
- Liang PH (2009). Reaction kinetics, catalytic mechanisms, conformational changes, and inhibitor design for prenyltransferases. *Biochemistry*, 48: 6562–6570
- Liang PH, Ko TP, Wang AHJ (2002). Structure, mechanism and function of prenyltransferases. *Eur J Biochem*, 269: 3339–3354
- Lin J, Jin YJ, Zhou X, et al (2010). Molecular cloning and functional analysis of the gene encoding geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Jatropha curcas*. *Afr J Biotechnol*, 9 (23): 3342–3351
- Nagel R, Bernholz C, Vranová E, et al (2015). *Arabidopsis thaliana* isoprenyl pyrophosphate synthases produce the C₂₅ intermediate geranylgeranyl diphosphate. *Plant J*, 84: 847–859
- Oh SK, Kim IJ, Shin DH, et al (2000). Cloning, characterization, and heterologous expression of a functional geranylgeranyl pyrophosphate synthase from sunflower (*Helianthus annuus* L.). *J Plant Physiol*, 157: 535–542
- Ohnuma SI, Suzuki M, Nishino T (1994). Archaeobacterial ether-linked lipid biosynthetic gene. Expression cloning,

- sequencing, and characterization of geranylgeranyl-diphosphate synthase. *J Biol Chem*, 269 (20): 14792–14797
- Okada K, Saito T, Nakagawa T, et al (2000). Five geranylgeranyl pyrophosphate synthases expressed in different organs are localized into three subcellular compartments in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 122: 1045–1056
- Orlova I, Nagegowda DA, Kish CM, et al (2009). The small subunit of snapdragon geranyl pyrophosphate synthase modifies the chain length specificity of tobacco geranylgeranyl pyrophosphate synthase in planta. *Plant Cell*, 21: 4002–4017
- Pulido P, Perello C, Rodriguez-Concepcion M (2012). New insights into plant isoprenoid metabolism. *Mol Plant*, 5 (5): 964–967
- Rahimi S, Kim YJ, Devi BSR, et al (2015). Isolation and characterization of *Panax ginseng* geranylgeranyl-pyrophosphate synthase genes responding to drought stress. *Eur J Plant Pathol*, 142: 747–758
- Rodríguez-Concepción M, Boronat A (2002). Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics. *Plant Physiol*, 130: 1079–1089
- Ruiz-Sola MÁ, Coman D, Beck G, et al (2016). *Arabidopsis* GERANYLGERANYL PYROPHOSPHATE SYNTHASE 11 is a hub isozyme required for the production of most photosynthesis-related isoprenoids. *New Phytol*, 209: 252–264
- Sandmann G, Misawa N, Wiedemann M, et al (1993). Functional identification of *al-3* from *Neurospora crassa* as the gene for geranylgeranyl pyrophosphate synthase by complementation with *crt* genes, *in vitro* characterization of the gene product and mutant analysis. *J Photochem Photobiol B Biol*, 18: 245–251
- Schmidt A, Gershenzon J (2008). Cloning and characterization of two different types of geranyl pyrophosphate synthases from Norway spruce (*Picea abies*). *Phytochemistry*, 69: 49–57
- Schmidt A, Wächtler B, Temp U, et al (2010). A bifunctional geranyl and geranylgeranyl pyrophosphate synthase is involved in terpene oleoresin formation in *Picea abies*. *Plant Physiol*, 152: 639–655
- Shao J, Chen QW, Lv HJ, et al (2017). (+)-Thalianatriene and (–)-retigeranin B catalyzed by sesterterpene synthases from *Arabidopsis thaliana*. *Org Lett*, 19: 1816–1819
- Takaya A, Zhang YW, Asawatreratanakul K, et al (2003). Cloning, expression and characterization of a functional cDNA clone encoding geranylgeranyl pyrophosphate synthase of *Hevea brasiliensis*. *Biochim Biophys Acta*, 1625: 214–220
- Tholl D, Kish CM, Orlova I, et al (2004). Formation of monoterpenes in *Antirrhinum majus* and *Clarkia breweri* flowers involves heterodimeric geranyl pyrophosphate synthases. *Plant Cell*, 16: 977–992
- Vandermoten S, Haubruge É, Cusson M (2009). New insights into short-chain prenyltransferases: structural features, evolutionary history and potential for selective inhibition. *Cell Mol Life Sci*, 66: 3685–3695
- Vranová E, Coman D, Gruijssem W (2013). Network analysis of the MVA and MEP pathways for isoprenoid synthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 64: 665–700
- Vranová E, Hirsch-Hoffmann M, Gruijssem W (2011). AtIPD: a curated database of *Arabidopsis* isoprenoid pathway models and genes for isoprenoid network analysis. *Plant Physiol*, 156: 1655–1660
- Wang C, Chen Q, Fan D, et al (2016) Structural analyses of short-chain prenyltransferases identify an evolutionarily conserved GFPPS clade in Brassicaceae plants. *Mol Plant*, 9: 195–204
- Wang G, Dixon RA (2009). Heterodimeric geranyl(geranyl) pyrophosphate synthase from hop (*Humulus lupulus*) and the evolution of monoterpene biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106: 9914–9919
- Wang W, Chen M, Yang C, et al (2009). The geranylgeranyl pyrophosphate synthase gene from *Ginkgo biloba*: cloning, characterization and functional identification. *Afr J Biotechnol*, 8 (7): 1203–1210
- Wang Y, Miao Z, Tang K (2010). Molecular cloning and functional expression analysis of a new gene encoding geranylgeranyl pyrophosphate synthase from hazel (*Corylus avellana* L. Gasaway). *Mol Biol Rep*, 37: 3439–3444
- Wei P, Meng L, Chen Q, et al (2016). Cloning and functional analysis of geranylgeranyl pyrophosphate synthase gene *NtGGPPS1* from *Nicotiana tabacum*. *Tob Sci Technol*, 49 (4): 8–15 (in Chinese with English abstract) [魏攀, 孟利军, 陈千思等 (2016). 烟草牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸合成酶基因 *NtGGPPS1* 的克隆和功能分析. *烟草科技*, 49 (4): 8–15]
- Yin JL, Wong WS, Jang IC, et al (2017). Co-expression of peppermint geranyl pyrophosphate synthase small subunit enhances monoterpene production in transgenic tobacco plants. *New Phytol*, 213: 1133–1144
- Zhou F, Wang CY, Gutensohn M, et al (2017). A recruiting protein of geranylgeranyl pyrophosphate synthase controls metabolic flux toward chlorophyll biosynthesis in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: 6866–6871

Research progress of geranylgeranyl pyrophosphate synthase gene in higher plants

WANG Zhong, LI Feng, JIN Li-Feng, WANG Chen, WANG Ran*

Zhengzhou Tobacco Research Institute, China National Tobacco Corporation, Zhengzhou 450001, China

Abstract: In plants, geranylgeranyl pyrophosphate synthase (GGPPS) catalyzes geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) synthesis, which is the precursor of terpenoids, carotenoids, chlorophylls and several vital plant hormones, and also an important node in some secondary metabolic pathways. In this review, we summarize the research progress of plant GGPPS in recent years, focusing on biological functions of plant *GGPPS* genes, genetic classification of *GGPPS* gene family, and significant regulation roles of *GGPPS* subunit genes. This article could provide new insight and thought for further revealing biological functions of *GGPPS* genes and genetic engineering of terpenoids.

Key words: geranylgeranyl pyrophosphate synthase; terpenoids; carotenoid; chlorophyll; small subunit

Received 2018-01-30 Accepted 2018-03-19

This work was supported by Science Project of Zhengzhou Tobacco Research Institute (092013CZ0620), and Science and Technology Project of Henan Province (172102110153).

*Corresponding author (wangranlj2010@163.com).