

· 专题论坛 ·

拟南芥双功能酶SAL1生物学功能的研究进展

席红梅^{1,2}, 徐文忠¹, 麻密^{1*}

¹中国科学院植物研究所北方资源植物重点实验室, 北京 100093; ²中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049

摘要 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中与盐(salt)胁迫相关的基因SAL1所编码的蛋白是一种同时具有3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶和多磷酸肌醇1-磷酸酶活性的双功能酶。双功能酶SAL1最初被认定为逆境胁迫和脱落酸(ABA)信号响应途径的负调控因子,参与植物对逆境胁迫响应的调控。近年来,利用正向遗传学突变体表型筛选的方法,越来越多的研究表明SAL1有着广泛的生物学功能。该文综述了SAL1的结构、定位和功能的研究进展,介绍了SAL1对植物形态发育、矿质营养代谢、逆境响应以及植物激素信号调节等产生的影响及相关机制,并提出未来的研究方向。

关键词 双功能酶, 生物学功能, SAL1, 拟南芥

席红梅, 徐文忠, 麻密 (2016). 拟南芥双功能酶SAL1生物学功能的研究进展. 植物学报 51, 377–386.

盐(salt)胁迫相关基因SAL1最早是在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) cDNA酵母表达文库抗盐基因的筛选过程中被发现的,该基因的表达可增强酵母对锂(Li)盐的抗性,并可恢复蛋氨酸营养缺陷型酵母突变体*hal2*的生长(Quintero et al., 1996)。基于氨基酸序列比较, SAL1在大肠杆菌以及酵母中的同源蛋白具有3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶(3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase)活性,在哺乳动物中的同源蛋白具有多磷酸肌醇1-磷酸酶(inositol polyphosphate 1-phosphatase)活性。体外实验证实SAL1兼具上述2种酶的活性,是一种双功能酶(Quintero et al., 1996)。

3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶催化降解的底物为3'-磷酸腺苷-5'-磷酸(3'-phosphoadenosine 5'-phosphate, PAP)。PAP既可作为硫代谢的中间产物干扰硫代谢过程(Murguia et al., 1995, 1996; Quintero et al., 1996),也可通过抑制5'–3'核糖核酸外切酶XRN的活性抑制RNA沉默,从而实现对小RNA的降解以及基因表达的调控(Gy et al., 2007)。多磷酸肌醇1-磷酸酶的直接作用底物则为1,4-二磷酸肌醇(inositol 1,4-bisphosphate, Ins(1,4)-P₂)和1,3,4-三磷酸肌醇(inositol 1,3,4-trisphosphate, Ins(1,3,4)-P₃),这2种多磷酸肌醇分子的去磷酸化代谢又可影响信号分子1,4,5-三磷酸肌醇(inositol 1,4,5-triphosphate, IP₃)在细胞中的积累和含量,进而经IP₃-Ca²⁺信号途径调控

离子外排和生长素(auxin)极性运输等多种生理活动(Quintero et al., 1996; Zhang et al., 2011)。

许多实验室通过正向遗传学的方法分别筛选到多个不同的SAL1功能缺失突变体,并根据其表型赋予了这些突变体相应的名称。Xiong等(2001)利用受胁迫响应的基因RD29A启动子控制的荧光素酶报告基因筛选系统,筛选得到了ABA、低温及盐胁迫下RD29A基因启动子功能受到强烈诱导的突变体,并因突变体中荧光亮度增强而将其命名为*fiery1/fry1*,经进一步基因克隆发现FIERY1/FRY1即为SAL1。Lee等(1999)的研究发现,低温敏感突变体*hos2* (*high expression of osmotic stress-regulated gene 2*)中RD29A受低温的特异性诱导。后来Xiong等(2004)证实*hos2*是低温依赖型的SAL1功能变异突变体,变异蛋白SAL1 (A124V)的活性受低温强烈抑制,而在常温下不受影响。Gy等(2007)的研究发现, SAL1功能缺失突变可恢复RNA沉默关键蛋白AGO1 (Argonaute RISC Catalytic Component 1)功能弱化突变体中的转录后基因沉默(posttranscriptional gene silencing, PTGS),从而表明SAL1也是基因沉默的一个负调控因子。Rossel等(2006)还曾报道抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase 2, APX2)基因表达增强的突变体*alx8* (*altered APX2 expression*),并发现该突变体对干旱胁迫的耐受能力增强。此后Wilson

收稿日期: 2015-06-09; 接受日期: 2015-11-01

基金项目: 国家自然科学基金(No.31170164)

* 通讯作者。E-mail: mami@ibcas.ac.cn

等(2009)证实 *alx8* 也是 *SAL1* 的功能缺失突变体。Robles等(2010)发现叶片呈圆形的突变体 *ron1* (*the rounded leaves 1*) 中功能丧失的基因即为 *SAL1*。Rodriguez等(2010)的研究表明, 脂肪酸氧合反应速率增加的突变体 *fou8* (*fatty acid oxygenation up-regulated*) 也是 *SAL1* 功能缺失的突变体。Hirsch等(2011)证实他们所筛选得到磷酸转运蛋白 *PHT1;4* 基因表达增强的突变体中所缺失的基因也为 *SAL1*。此外, Zhang等(2011)还证明他们所筛选得到的可抑制 *PIN1* 蛋白积累的突变体 *supo* (*suppressors of PIN1 overexpression*) 也是 *SAL1* 功能缺失突变体。图1综合了以上突变体的突变位点。具体信息见表1。

这些研究表明, *SAL1* 广泛参与植物的形态发生与个体发育、矿质营养代谢、逆境信号响应和激素信号调控等生理过程。因此, 深入了解和研究 *SAL1* 在这些生理过程中的作用与机理, 不仅可揭示不同生理过程之间的共同调控和相互作用, 而且有助于深入阐明这些生理过程的调控机制。

1 *SAL1* 的结构、定位及功能

SAL1 (At5g63980) 基因组全长 2 122 bp, 含有 7 个外显子, 6 个内含子, 其 cDNA 的开放阅读框长为 1 059 bp, 最初推测其编码长为 353 个氨基酸残基, 大小为

37.5 kDa 的蛋白(Quintero et al., 1996)。后续的研究发现 *SAL1* 的 N 端还具有一段含 54 个氨基酸残基的质体定位信号肽。因此, 当包含信号肽时, *SAL1* 蛋白的大小为 43 kDa (Chen et al., 2011)。

SAL1 在拟南芥生长发育的整个过程中都有表达。就其组织定位而言, 除了在气孔细胞和花粉中没有表达之外, 在根、茎、叶、花和种子的其它各个部位均有表达。就亚细胞定位而言, *SAL1* 可能定位于多种细胞器。Kim 和 von Arnim (2009) 通过在洋葱 (*Allium cepa*) 表皮细胞中瞬时表达 *FRY1-YFP*, 发现 *SAL1/FRY1* 定位于细胞质和细胞核中, 但在质体中没有发现其定位。Chen 等(2011)采用类似的方法, 即在洋葱表皮细胞中瞬时表达或在拟南芥中稳定表达 *FRY1-GFP*, 却发现 *SAL1/FRY1* 的定位与其 N 端的信号肽相关。当 N 端不带信号肽时, *SAL1/FRY1* 定位于细胞质和细胞核中; 当 N 端带有信号肽时, *SAL1/FRY1* 定位于叶绿体或根中的质体以及一些未知的小细胞器中。有趣的是, 无论信号肽存在与否, *SAL1/FRY1* 均可恢复 *fry1* 叶片圆形锯齿状及植株矮小的表型。当 N 端缺失信号肽时, 恢复的效果更加明显。除此之外, 他们还对拟南芥叶绿体基质蛋白质组的数据进行了分析, 结果显示 *SAL1/FRY1* 定位于叶绿体中。而 Estavillo 等(2011)通过观察拟南芥细胞或原生质体中 *SAL1-GFP* 的荧光以及采用免疫印记的方法, 认为

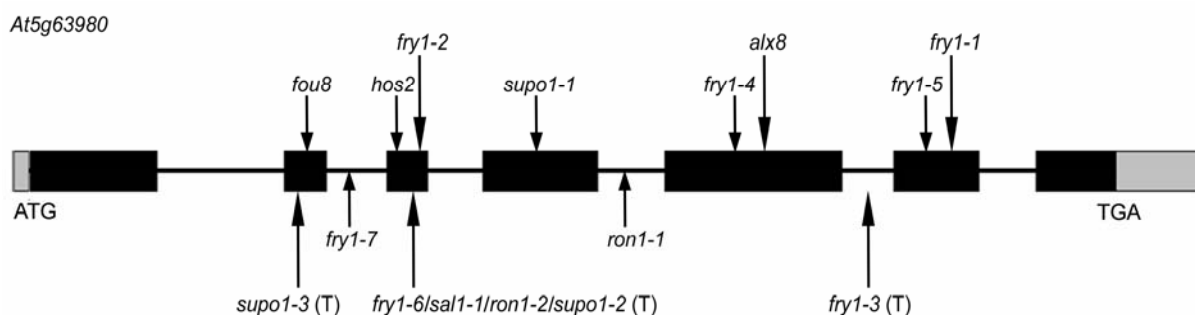


图1 *SAL1* 功能缺失突变体的突变位点(改自 Xiong et al., 2004; Wilson et al., 2009; Hirsch et al., 2011)

灰色方框表示非编码区, 黑色方框表示外显子, 直线表示内含子。ATG 和 TGA 分别表示起始密码子和终止密码子。*SAL1* 不同位点的突变体以小写斜体字母表示, 突变的位置如箭头所示。T-DNA 插入突变以括号中的大写字母 T 表示。

Figure 1 Schematic illustration of various *SAL1* loss-of-function mutants (modified from Xiong et al., 2004; Wilson et al., 2009; Hirsch et al., 2011)

In schematic representation of *SAL1* genomic structure, 5'UTR and 3'UTR are indicated by grey boxes, exons are indicated by black boxes, introns are indicated by lines. The initiation codon and stop codon are represented by ATG and TGA respectively. Various *SAL1* loss-of-function mutants are indicated by italic lowercase words, and their locations are indicated by arrows. T-DNA insertional mutants are indicated by capital T in the bracket.

表1 SAL1功能缺失突变体的详细信息
Table 1 Detail information of SAL1 loss-of-function mutants

突变体	种子编号	生态型	突变位点	生长以及生理表型	基因表达及生化特点	参考文献
<i>frv1-1</i>	CS24933	C24	第6个外显子中核苷酸突变g1500a, 使得该蛋白在341位色氨酸处提前终止	对ABA、低温、盐、甘露醇和PEG处理敏感性增强	胁迫响应基因受ABA、低温、盐以及PEG处理的诱导表达; ABA处理下植株中IP ₃ 的含量增多	Xiong et al., 2001
<i>frv1-2</i>		C24	第3个外显子中核苷酸突变g546a, 造成氨基酸突变E126A	未检测	胁迫响应基因受ABA、低温、盐以及PEG处理的诱导表达	
<i>frv1-3</i>		C24	第5个内含子中1328核苷酸处T-DNA插入	未检测		
<i>frv1-4</i>		Col-0	第5个外显子中核苷酸突变, 使得该蛋白在203位谷氨酰胺处提前终止	叶片褶皱, 叶缘圆形; 花期晚	可恢复ago1突变体对小RNA的沉默降解	Gy et al., 2007
<i>frv1-5</i>		Col-0	第5个外显子中核苷酸突变, 使得该蛋白在260位谷氨酰胺处提前终止			
<i>frv1-6</i>	SALK_02	Col-0	第3个外显子中T-DNA插入突变, 使得该蛋白在71位氨基酸处提前终止	叶片褶皱, 幼叶叶缘圆形, 成年叶叶缘呈锯齿状, 叶脉异常, 叶柄短; 花期晚; 抗性增强	茉莉酸合成初级步骤脂氧化反应速率增加	Gy et al., 2007
<i>sal1-1</i>	0882					Wilson et al., 2009
<i>ron1-2</i>						Rodríguez et al., 2010
<i>supo1-2</i>						Robles et al., 2010
<i>frv1-7</i>		Ws	第2个内含子中核苷酸突变g559a, 改变了选择性剪接过程	主根及侧根短, 侧根少; 叶片褶皱, 幼叶叶缘圆形, 成年叶叶缘呈锯齿状, 叶脉异常, 叶柄短; 花期晚; 抗旱性增强	磷饥饿响应基因 <i>PH1.4</i> 持续稳定高水平表达	Zhang et al., 2011
<i>hos2</i>	CS24939	C24	第3个外显子中核苷酸突变c541t, 造成氨基酸突变A124V	抗性增强	胁迫响应基因受到低温处理的特异性诱导表达; 冷胁迫相关基因的诱导表达增强	Lee et al., 1999
<i>alx8</i>	CS66977	Col-0	第5个外显子中核苷酸突变, 造成氨基酸突变G217D	抗旱性增强	高光胁迫响应基因 <i>APX2</i> 持续高水平表达; 胁迫响应基因以及相关转录因子上调; 渗透保护物质如多胺类和糖类含量增多; ABA含量增多	Xiong et al., 2004
<i>fou8</i>		Col-0	第2个外显子中核苷酸突变g531a, 改变了选择性剪接过程	叶片卷曲, 叶柄变短; 花期变晚		Rossel et al., 2006
<i>ron1-1</i>		Ler	第4个内含子中核苷酸g突变a, 改变了选择性剪接过程	侧根少, 根毛长, 莲座叶数目多, 不闭合的叶脉增多; 抽苔开花晚, 花序短, 顶端优势丢失	生长素信号响应基因 <i>DR5</i> 在根中的表达量增多, 叶中的表达量减少; 肌醇以及生长素合成前体的含量增加	Wilson et al., 2009
<i>supo1-1</i>		Col-0	第340位的g核苷酸缺失, 造成移码突变, 使得蛋白在第4个外显子处提前终止	根长变短, 根分生组织中细胞分裂速度降低, 侧根发育变慢, 根分生组织细胞垂直分裂异常; 子叶中不连续叶脉增多, 锯齿状莲座叶	生长素向尖端的运输增强, 可恢复PIN1超表达突变体中根的向地性生长; 植株中IP ₃ 以及Ca ²⁺ 含量增加	Robles et al., 2010
<i>supo1-3</i>	SALK_151367	Col-0	第2个外显子, T-DNA插入突变体			Zhang et al., 2011

SAL1定位于叶绿体和线粒体中。

SAL1既可经其3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶活性催化PAP的降解,也可通过其多磷酸肌醇1-磷酸酶活性促进多磷酸肌醇信号分子的代谢降解。体外实验表明,SAL1的3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶活性是多磷酸肌醇1-磷酸酶活性的3倍(Quintero et al., 1996),但其在植物体内主要的作用底物还不清楚。近年来,一些致力于研究叶绿体对细胞核信号调控的研究者倾向于认为SAL1在体内的作用底物是PAP而不是多磷酸肌醇分子(Chen et al., 2011)。

拟南芥中还有4个基因与SAL1有较高的同源性,即SAL2、SAL3、SAL4和AHL (*Arabidopsis HAL2-like*)。这些基因在大多数器官中都有表达,其中以SAL1和AHL的表达量最高。SAL2兼具3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶活性和多磷酸肌醇1-磷酸酶活性,而AHL与酵母中HAL2/MET22一样只有3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶活性而没有多磷酸肌醇1-磷酸酶活性(Kim and von Arnim, 2009; Chen et al., 2011)。为了确定SAL1调控某一生理活动所依赖的酶活性种类,并进一步探究其下游可能的分子作用机制,研究者在SAL1功能缺陷突变体中表达AHL或MET22,从而巧妙地选择性恢复SAL1双功能酶之一,即3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶的活性(Kim and von Arnim, 2009; Chen and Xiong, 2010; Rodriguez et al., 2010; Chen et al., 2011; Hirsch et al., 2011)。此外,遗传性降低PAP的含量以消减3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶活性缺失引发的效应也可达到相同的目的(Rodriguez et al., 2010; Chen et al., 2011)。事实上,这2种方法经常搭配使用,相互佐证。

2 SAL1对植物形态发育的影响

SAL1对植物的形态发育有着强烈而广泛的影响。SAL1功能缺失突变体的叶形态发生了明显的变化:其幼嫩的莲座叶褶皱且叶缘呈圆形,成熟的莲座叶边缘有锯齿;叶片不对称,偏厚且叶柄变短,叶的表面不平滑,游离不闭合的叶脉数量增多;叶的内部结构中维管束的分布不规律,叶肉细胞形态发生改变,栅栏组织的轮廓不够分明且细胞中叶绿体的体积变小等(Wilson et al., 2009; Robles et al., 2010; Zhang et al., 2011)。同时,SAL1也强烈地影响根的生长发育,

SAL1功能缺失突变体的主根和侧根变短,侧根数目减少,且侧根发生对生长素的敏感性降低(Chen and Xiong, 2010; Robles et al., 2010; Hirsch et al., 2011)。此外,SAL1功能缺失突变体的开花时间也明显晚于野生型(Kim and von Arnim, 2009)。

SAL1对植物形态建成及生长发育的影响主要与3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶的活性有关。SAL1功能缺失突变体中莲座叶(Kim and von Arnim, 2009; Chen et al., 2011)和根形态发育的突变表型(Chen and Xiong, 2010; Hirsch et al., 2011)以及花期晚的特征(Kim and von Arnim, 2009)均可以通过表达仅含有3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶活性的AHL或MET22得以恢复。PAP对XRN活性的抑制(Gy et al., 2007)也可在一定程度上解释SAL1对植物形态和发育过程的调控。XRN功能缺失突变体如 $xrn4$ 和 $xrn2xrn3xrn4$ 与SAL1功能缺失突变体侧根生长的表型相同(Chen and Xiong, 2010; Hirsch et al., 2011)。 $xrn2xrn3$ 与 $fry1-6$ 叶柄短、胚轴短和花期晚的表型相同(Kim and von Arnim, 2009)。

此外,SAL1功能缺失突变体植株生长缓慢,主花序小,花序分支多且缺乏顶端优势。这些性状可能与生长素信号响应异常相关。

3 SAL1对矿质营养代谢的影响

3.1 磷代谢

磷酸转运蛋白基因PHT1;4 (*Pi high affinity transporter 1;4*)本应受到磷缺乏条件的诱导表达,而在SAL1功能缺失突变体 $fry1-7$ 的根中,PHT1;4却呈持续性高水平表达,表明SAL1对磷代谢具有一定的调控作用。在 $fry1-7$ 突变体中,PHT1;4的异常表达、根形态变化和抗旱性增强的突变特性均可通过表达AHL得以恢复,表明SAL1对这些过程的调控与其3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶对PAP的催化降解相关。然而,SAL1对PHT1;4表达的调控与其对根形态和抗旱性调控的机制仍有所区别: $xrn2xrn3xrn4$ 突变体具有与 $fry1-7$ 突变体类似的根形态和抗旱性,但PHT1;4的表达却与 $fry1-7$ 中的不同;嫁接野生型接穗可以恢复 $fry1-7$ 中根的形态和抗旱性,却无法恢复 $fry1-7$ 中PHT1;4的持续性表达。这些结果意味着SAL1对磷代谢响应的调控既与PAP对XRN活性的抑制无关,也

不受叶中信号的远距离调控。Hirsch等(2011)认为 *fry1-7* 中磷饥饿诱导基因持续表达可能是一个局部效应, *SAL1* 缺失使PAP向AMP和Pi的转化受阻, 导致局部游离磷的含量降低从而诱发磷饥饿响应。

3.2 硫代谢

SAL1 的作用底物PAP与硫代谢密切相关。当外界的 SO_4^{2-} 进入细胞后, 首先在ATP的作用下活化为5'-腺苷磷酸硫酸(adenosine-5'-phosphosulfate, APS), APS在ATP的作用下进一步活化为3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸(3'-phospho-adenosine 5'-phosphosulfate, PAPS) (Lee et al., 2012)。在大肠杆菌和酵母中, PAPS经PAPS还原酶的作用产生含硫有机化合物, 从而实现硫的同化还原并产生PAP。在植物中, PAPS经磺基转移酶的作用将磺基转移至底物上并产生PAP。PAP既可抑制PAPS还原酶的活性, 也可抑制磺基转移酶的活性(Lee et al., 2012)。

SAL1 在大肠杆菌和酵母中的同源蛋白为CysQ和HAL2, 当其功能缺失后, 突变体中硫的同化还原受阻, 因而呈半胱氨酸或蛋氨酸营养缺陷性生长 (Neuwald et al., 1992; Glaser et al., 1993; Murguia et al., 1995, 1996; Quintero et al., 1996)。 *hal2* 酵母突变体蛋氨酸营养缺陷性生长的表型可通过表达 *SAL1* 或其同源基因 *SAL2* 或 *AHL* 得以恢复 (Gil-Mascarell et al., 1999)。由于植物的硫还原同化途径不同, *SAL1* 功能缺失突变体中有机硫的合成并没有受到明显影响, 其生长也不需要额外添加蛋氨酸(Xiong et al., 2001)。但磺基转移反应却显著受 *SAL1* 功能缺失影响, β -硫代葡萄糖苷(glucosinolates)作为磺基转移反应的产物之一, 在 *fou8* 中含量明显降低, 而其合成前体脱硫硫苷(desulfo-glucosinolate precursors)则显著积累(Lee et al., 2012)。此外, *fou8* 还表现出与硫饥饿响应相符的一系列特征, 如硫还原相关基因的调控表达、硫饥饿标志性基因的上调、APS还原酶(APR)活性的上调以及硫酸盐和谷胱甘肽含量的降低等。Lee等(2012)认为 *fou8* 对硫饥饿的响应是由植物体内硫酸盐含量的减少触发的, 并推测 *fou8* 中硫酸盐含量的降低与PAP的积累相关。

此外, *fou8* 中硫、钾和锌3种矿质营养元素的含量都显著低于野生型(Lee et al., 2012), 但 *SAL1* 对钾和锌矿质营养代谢的影响目前还未见相应的研究

报道。

4 SAL1对植物响应环境信号的调控

SAL1 在植物响应多种环境信号, 如高盐、低温、干旱以及光刺激等过程中都发挥重要的调控作用。

4.1 高盐胁迫信号响应

Quintero等(1996)发现, 表达 *SAL1* 可增强酵母对锂盐的抗性。 *SAL1* 在酵母中的同源蛋白HAL2曾被认为是盐毒害作用的靶标。盐离子通过抑制HAL2的活性, 使其作用底物PAP积累, 进而通过对硫同化还原的阻碍而对植物产生伤害(Glaser et al., 1993; Murguia et al., 1995, 1996)。然而, 在植物中 *SAL1* 似乎并不是盐毒害作用的靶标。一方面, 在 *hos2* 突变体中, *SAL1* 变异蛋白对锂盐和钠盐的敏感性显著降低, 但 *hos2* 植株对盐的抗性却没有相应增强(Xiong et al., 2004); 另一方面, 过表达 *SAL1* 也不能增强拟南芥对钠盐和锂盐的抗性, 且拟南芥中PAP的含量也没有在盐处理时发生积累(Chen et al., 2011)。

目前, 关于 *SAL1* 功能缺失突变体对盐胁迫抗性的研究结果尚存有分歧。Xiong等(2001)曾报道 *fry1* 对盐处理的抗性降低了。Rossel等(2006)却提出 *alx8* 对氯化钠处理没有明显的抗性。而Chen等(2011)的研究则表明 *fry1* 对盐处理的抗性有轻微增强。

4.2 低温胁迫响应

SAL1 功能缺失突变体 *fry1* 以及 *hos2* 对低温胁迫的耐受能力和抗寒锻炼能力都降低了, 并且低温胁迫相关基因以及 *RD29A* 胁迫响应基因在低温条件下受诱导的程度增强了(Lee et al., 1999; Xiong et al., 2001, 2004)。这些研究表明, *SAL1* 在低温胁迫信号响应过程中起着负调控作用。Chen等(2011)发现, 虽然 *fry1* 中 *RD29A* 启动子受低温的强烈诱导表达源于PAP的积累, 但是低温处理下植株中PAP的含量并没有明显增加(Chen et al., 2011)。这些结果反映出 *SAL1* 调控低温胁迫响应的分子机理还有待进一步研究。

4.3 干旱胁迫响应

SAL1 功能缺失时的拟南芥突变体对干旱胁迫的抗性显著增强(Rossel et al., 2006; Wilson et al., 2009;

Estavillo et al., 2011; Hirsch et al., 2011)。另一方面, Manmathan等(2013)发现抑制小麦(*Triticum aestivum*) *SAL1*同源基因的表达还可增强小麦的抗旱性。以上结果表明, *SAL1*功能缺失或受损均可增强植物的抗旱性, 意味着*SAL1*对植物的抗旱性起着负调控作用。

*SAL1*对植物抗旱性调控的分子机理与其3'(2'), 5'-二磷酸核苷酸酶对PAP的催化降解及PAP对XRN活性的抑制相关。*xrn2xrn3xrn4*突变体与*SAL1*功能缺失突变体一样也具有抗旱性(Hirsch et al., 2011), 并且干旱处理可增加植株中PAP的含量(Estavillo et al., 2011)。依据Estavillo等(2011)提出的假说: *SAL1*活性受到干旱胁迫的抑制使叶绿体中PAP的含量增加, PAP经细胞质转移到细胞核中, 通过抑制XRN2和XRN3对mRNA的降解而促进胁迫相关基因和转录因子的表达。在*SAL1*功能缺失突变体中, PAP发生积累并促使胁迫相关基因的表达持续性上调, 从而使抗旱性增强。此外, *SAL1*功能缺失突变体中渗透保护类物质(如多胺类和糖类物质)的积累以及ABA含量的增多也可在一定程度上解释抗旱性的增强(Wilson et al., 2009)。

4.4 光信号响应

光信号作为一种重要的环境因子, 对于植物的生长发育和形态建成具有重要的意义, 而过高强度的光则会对植物造成伤害。

Kim和von Arnim (2009)的研究表明, *SAL1*功能缺失突变体对光的敏感性增强, 其叶柄和下胚轴变短, 该突变表型在红光下增强, 但在远红光和蓝光下减弱, 在黑暗下消失。而*SAL1*功能缺失突变体下胚轴变短的表型可通过突变光信号相关基因*HY5*得以恢复(Chen and Xiong, 2011), 由此表明*SAL1*参与光信号对植物形态建成的调控。此外, 光信号对开花时间的调控也受到*SAL1*的影响。*SAL1*功能缺失突变体在短日照条件下, 莲座叶萌生的速度变慢, 开花时间延后; 在长日照条件下, 开花相关基因*FT*的表达降低且开花推迟(Kim and von Arnim, 2009)。在高光处理下, *SAL1*功能缺失突变体中高光胁迫响应基因*APX2*的表达显著增强, 且对高光胁迫的抗性也增加(Rossel et al., 2006; Wilson et al., 2009; Estavillo et al., 2011)。

*SAL1*对光信号响应途径的调控可能与对干旱调控的分子机理相似, 与3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶活性及PAP对XRN活性的抑制相关。表达*AHL*可恢复*fry1-6*受光信号调控的叶柄短、胚轴短和开花时间晚等突变表型, 而且*xrn2xrn3*双突变体具有与*fry1-6*类似的突变表型(Kim and von Arnim, 2009)。

5 *SAL1*对植物激素信号的调控

5.1 脱落酸

*SAL1*功能缺失突变体对脱落酸(ABA)的敏感性增强(Xiong et al., 2001; Chen and Xiong, 2011), 且ABA响应基因的表达上调(Xiong et al., 2001; Robles et al., 2010), 表明*SAL1*是ABA信号途径的负调控因子。

Xiong等(2001)认为*SAL1*对ABA信号的调控与*SAL1*多磷酸肌醇1-磷酸酶的功能相关。因为在ABA处理下, *fry1*中IP₃的含量高于野生型。而Chen等(2011)推测*SAL1*对ABA信号通路的调控与PAP对RNA沉默的影响有关。其原因是突变*ABH1* (ABA信号支路中与mRNA代谢相关的因子)可恢复降低*fry1*中胁迫响应基因*RD29A*对ABA处理的强烈响应的表型, 但突变*ABI1* (ABA信号通路的另一因子)则没有类似的效果。

5.2 生长素

*SAL1*在生长素信号响应途径中发挥重要作用。*SAL1*功能缺失突变体具有与生长素信号缺陷突变体相似的表型, 如生长缓慢、叶脉形态异常和顶端优势缺失等(Chen and Xiong, 2010; Robles et al., 2010; Zhang et al., 2011)。*SAL1*功能缺失可加强生长素突变体*axr1* (*auxin resistant 1*)和*hve* (*hemivenata-1*)中叶脉异常的性状(Robles et al., 2010)及生长素极性运输突变体*pin1*中子叶数目异常的性状(Zhang et al., 2011)。*SAL1*功能缺失突变体中生长素信号响应报告基因*DR5::GUS*的表达降低、分布异常且对生长素的响应(Chen and Xiong, 2010; Robles et al., 2010)及侧根生长对生长素的敏感性均降低(Chen and Xiong, 2010)。

Chen和Xiong (2010)认为*SAL1*对生长素信号途径的影响与其3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶的活性及PAP

对XRN活性的抑制相关, 其原因是表达MET22可恢复*fry1*突变体侧根生长对生长素的响应, 并且*xrn4*的侧根表型与*fry1*类似。而Zhang等(2011)的研究结果显示, SAL1对由PIN蛋白极性分布介导的生长素极性运输的调控与其多磷酸肌醇1-磷酸酶活性及IP₃和Ca²⁺信号相关。其原因是增加IP₃或Ca²⁺的含量可产生与SAL1功能缺失突变体类似的表型, 而降低IP₃或Ca²⁺的含量则可逆转SAL1功能缺失所引发的表型。

5.3 茉莉酸

SAL1功能缺失突变体*fou8*中茉莉酸(JA)前体合成的关键步骤——脂氧化合成反应的速率增加, 脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)的表达增加, 茉莉酸的含量升高, 并且过表达SAL1可降低LOX的表达及活性, 表明SAL1在茉莉酸的合成过程中起负调控作用(Rodriguez et al., 2010)。此外, SAL1还参与对茉莉酸信号响应的调控。一方面, SAL1本身的表达受茉莉酸甲酯的上调; 另一方面, SAL1功能缺失突变体中受茉莉酸甲酯下调的基因上调表达, 而且突变体根的生长对茉莉酸甲酯的敏感性略强于野生型(Robles et al., 2010)。SAL1对茉莉酸合成的调控与其3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶活性相关, 表达MET22或降低*fou8*中PAP的含量均可降低LOX的活性(Rodriguez et al., 2010)。SAL1对茉莉酸信号响应的调控机制尚不清楚。

5.4 乙烯及油菜素内酯

SAL1对乙烯(ethylene)及油菜素内酯(brassinolide)的信号响应也具有一定的调控作用。SAL1功能缺失突变体对乙烯的敏感性降低, *fry1*下胚轴和根长受乙烯合成前体ACC处理的抑制程度以及顶端弯钩的程度均小于野生型, 并且突变乙烯信号途径相关的基因EBF1和EBF2可恢复*fry1*突变体对乙烯的响应, 表明SAL1参与调控乙烯信号响应(Chen and Xiong, 2010)。SAL1对油菜素内酯信号响应的调控则体现在SAL1功能缺失和油菜素内酯对基因表达相反的调控趋势。受油菜素内酯诱导上调的基因在SAL1功能缺失突变体*ron1-1*中的表达下调, 而受油菜素内酯诱导下调的基因在*ron1-1*中的表达上调(Robles et al., 2010)。目前, SAL1对乙烯和油菜素内酯信号途径的

调控机理尚不清楚。

6 结语

SAL1双功能酶在拟南芥的生长发育以及对外界信号的应答等生理过程中都发挥着重要的调控作用。SAL1所具有的3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶活性催化代谢PAP/PAPS的功能对拟南芥根和叶的形态建成、开花时间、逆境胁迫响应基因的表达以及逆境(如干旱和高光)抗性基因等的调控密切相关; 而多磷酸肌醇1-磷酸酶活性催化代谢Ins(1,4)-P₂/Ins(1,3,4)-P₃的功能与生长素信号响应途径的调控紧密相关。此外, 还有一些生理过程, 如脱落酸和生长素信号响应等受到3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶和多磷酸肌醇1-磷酸酶的共同调控(图2)。

在我们所关注的植物逆境胁迫响应和调控方面, SAL1不仅参与调控胁迫响应基因的表达, 其对磷、硫代谢甚至植物激素信号响应等生理过程的影响也极为深远。在已报道的研究中, SAL1功能缺失突变体对低温胁迫的抗性降低, 对干旱和高光胁迫的抗性增强, 但SAL1是否影响植物对其它胁迫的抗性目前仍不清楚。SAL1对胁迫相关基因的调控表达、对硫代谢以及IP₃-Ca²⁺信号通路产生的影响启示我们: SAL1还可能调控植物对重金属(如镉)抗性的响应, 因为镉胁迫响应与硫代谢及钙信号的调控密切相关。本实验室研究表明, SAL1功能缺失可通过对内质网应激响应的影响显著地增强拟南芥对镉的抗性。此研究不仅表明SAL1对重金属镉胁迫响应具有调控作用, 还揭示了植物体中镉的毒害机制, 进而为阐明SAL1影响植物抗逆性机制拓宽了思路。此外, 我们还发现, 除了镉抗性的改变, SAL1功能缺失突变体对其它重金属(如砷、铜和锌)的抗性均显著增强, 其潜在机制尚待进一步研究。

值得注意的是, SAL1对植物逆境胁迫响应的调控还有不少问题值得关注和研究。首先, SAL1是否调控拟南芥对其它各类未经研究的逆境因子的抗性? 既然SAL1功能缺失突变体对低温胁迫的抗性降低, 那么对高温胁迫的抗性又如何? SAL1调控JA的合成代谢, 而JA在植物应对生物胁迫响应中发挥着重要作用, 那么SAL1是否也会影响植物对生物胁迫的抗性? 其次, 已有迹象表明SAL1在乙烯及油菜素内酯

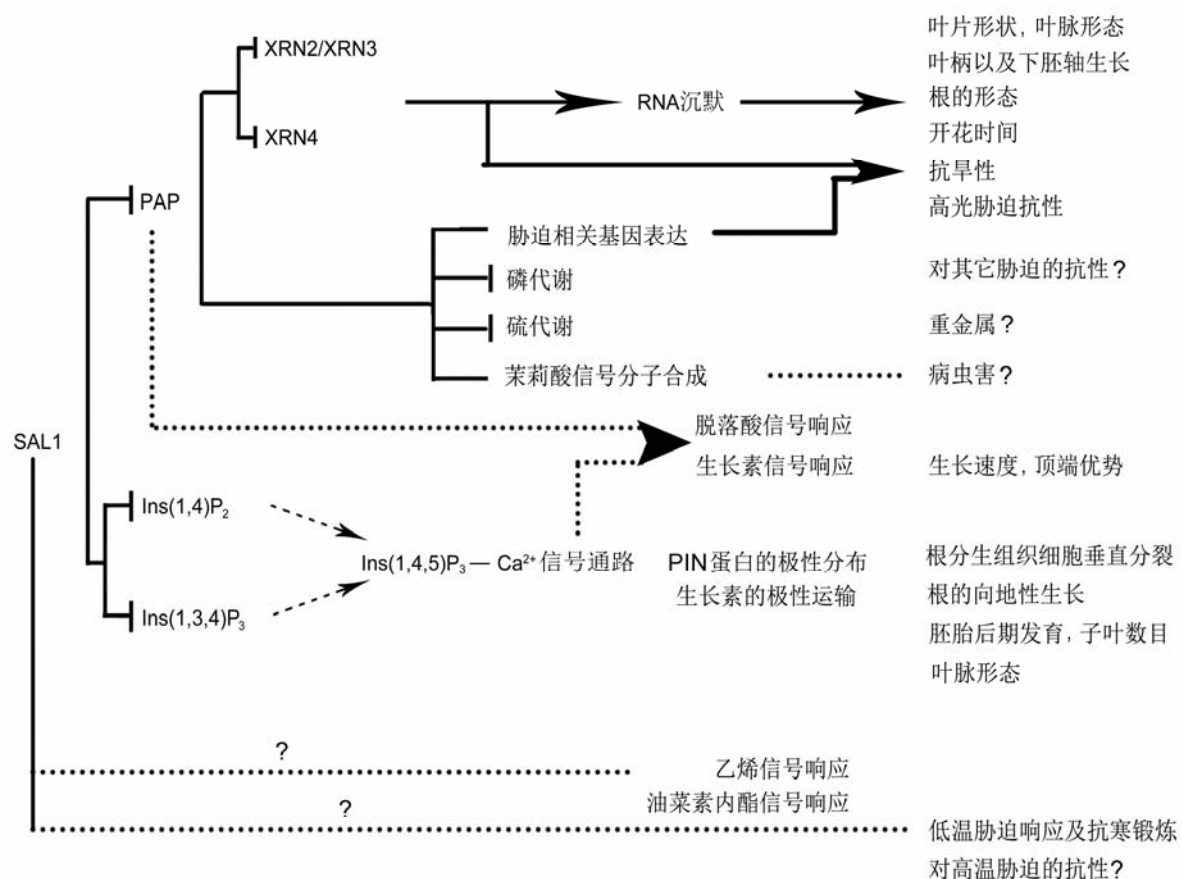


图2 SAL1双功能酶对植物生理过程的调控模式

SAL1双功能酶通过催化PAP或Ins(1,4)P₂/Ins(1,3,4)P₃的降解参与调控植物的各项生理活动。PAP既可作用于XRN核酸外切酶的活性抑制RNA沉默过程,也可调控基因表达以及矿质营养元素和植物激素的代谢,从而影响植物生长发育及环境应答的多项生理过程。Ins(1,4)P₂/Ins(1,3,4)P₃则可通过Ins(1,4,5)P₃-Ca²⁺信号通路影响植物激素信号响应并调控植物的生长发育。某些生理过程如激素信号响应则受PAP和Ins(1,4)P₂/Ins(1,3,4)P₃的共同调控。图中箭头表示促进作用,竖线表示抑制作用,虚线表示可能作用但缺乏直接证据,问号表示尚未研究的问题。

Figure 2 Scheme of involvement of SAL1 bifunctional enzyme in plant physiological processes

Bifunctional enzyme SAL1 is involved in regulation of plant physiological processes through catabolism of PAP or Ins(1,4)P₂/Ins(1,3,4)P₃. PAP could either negatively regulate RNA silencing through inhibition of the XRN activity, or affect gene expression, mineral nutrient metabolism or plant hormone responses, thus consequently regulate various physiological processes. Ins(1,4)P₂/Ins(1,3,4)P₃ affect plant growth and development mainly by influencing on the Ins(1,4,5)P₃-Ca²⁺ signaling pathway and plant hormone response regulation. Certain biological processes, such as plant hormone responses, are under coregulation of PAP and Ins(1,4)P₂/Ins(1,3,4)P₃. Of the schematic diagram, arrows indicate positive regulation, vertical lines indicate negative regulation, dash lines mean lack of direct evidence and question marks represent questions waiting to be answered.

的信号响应过程中也发挥着调控作用,但这与SAL1对植物逆境胁迫响应的调控有何关联还不清楚,其具体的调控机制尚待研究。此外,SAL1对不同逆境因子信号途径的影响不同,如SAL1功能缺失突变体对低温胁迫的抗性降低,但对干旱和高光胁迫的抗性却增

强了。这启示我们或许可按照SAL1功能缺失突变体抗性改变的不同,将逆境胁迫因子划分出不同的类别,以推进各种胁迫信号通路的研究。例如,将抗性都增强的干旱、高光和镉铜锌砷等重金属胁迫划为一组,参考借鉴其中某一胁迫因子信号通路研究的思路

去探索发现其它胁迫信号途径中的调控元件。事实上, Rossel等(2006)已借助SAL1功能缺失突变体揭示了干旱和高光胁迫信号响应途径中的互作关系。

幸运的是, 目前已有种类繁多的SAL1功能缺失突变体(图1)可供验证以上猜想。不仅如此, 还有SAL1双功能酶之一——3'(2'),5'-二磷酸核苷酸酶的功能受到选择性恢复的材料(表达MET22或AHL的SAL1功能缺失突变体材料), 或内源PAP含量遗传性降低的突变体材料, 从而使研究SAL1对各生物过程调控的分子机理变得相对容易。未来对SAL1双功能酶生物学功能的不断探索和全面分析不仅有助于解析植物对某一环境因子响应的调控机理, 而且对不同环境信号通路之间互作机理的研究具有指导意义。

参考文献

- Chen H, Xiong L (2010). The bifunctional abiotic stress signaling regulator and endogenous RNA silencing suppressor FIERY1 is required for lateral root formation. *Plant Cell Environ* **33**, 2180–2190.
- Chen H, Xiong L (2011). Genetic interaction of two abscisic acid signaling regulators, HY5 and FIERY1, in mediating lateral root formation. *Plant Signal Behav* **6**, 123–125.
- Chen H, Zhang B, Hicks LM, Xiong L (2011). A nucleotide metabolite controls stress-responsive gene expression and plant development. *PLoS One* **6**, e26661.
- Estavillo GM, Crisp PA, Pornsiriwong W, Wirtz M, Collinge D, Carrie C, Giraud E, Whelan J, David P, Javot H, Brearley C, Hell R, Marin E, Pogson BJ (2011). Evidence for a SAL1-PAP chloroplast retrograde pathway that functions in drought and high light signaling in Arabidopsis. *Plant Cell* **23**, 3992–4012.
- Gil-Masarell R, Lopez-Coronado JM, Belles JM, Serrano R, Rodriguez PL (1999). The Arabidopsis HAL2-like gene family includes a novel sodium-sensitive phosphatase. *Plant J* **17**, 373–383.
- Glaser HU, Thomas D, Gaxiola R, Montrichard F, Surdinkerjan Y, Serrano R (1993). Salt tolerance and methionine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* involve a putative phosphatase gene. *EMBO J* **12**, 3105–3110.
- Gy I, Gasciolli V, Laressergues D, Morel JB, Gombert J, Proux F, Proux C, Vaucheret H, Mallory AC (2007). Arabidopsis FIERY1, XRN2, and XRN3 are endogenous RNA silencing suppressors. *Plant Cell* **19**, 3451–3461.
- Hirsch J, Misson J, Crisp PA, David P, Bayle V, Estavillo GM, Javot H, Chiarenza S, Mallory AC, Maizel A, Declerck M, Pogson BJ, Vaucheret H, Crespi M, Desnos T, Thibaud MC, Nussaume L, Marin E (2011). A novel *fry1* allele reveals the existence of a mutant phenotype unrelated to 5'→3' exoribonuclease (XRN) activities in *Arabidopsis thaliana* roots. *PLoS One* **6**, e16724.
- Kim BH, von Arnim AG (2009). FIERY1 regulates light-mediated repression of cell elongation and flowering time via its 3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase activity. *Plant J* **58**, 208–219.
- Lee BR, Huseby S, Koprivova A, Chételat A, Wirtz M, Mugford S, Navid E, Brearley C, Saha S, Mithen R, Hell R, Farmer E, Kopriva S (2012). Effects of *fou8/fry1* mutation on sulfur metabolism: is decreased internal sulfate the trigger of sulfate starvation response? *PLoS One* **7**, e39425.
- Lee H, Xiong L, Ishitani M, Stevenson B, Zhu JK (1999). Cold-regulated gene expression and freezing tolerance in an *Arabidopsis thaliana* mutant. *Plant J* **17**, 301–308.
- Manmathan H, Shaner D, Snelling J, Tisserat N, Lapitan N (2013). Virus-induced gene silencing of *Arabidopsis thaliana* gene homologues in wheat identifies genes conferring improved drought tolerance. *J Exp Bot* **64**, 1381–1392.
- Murguia JR, Belles JM, Serrano R (1995). A salt-sensitive 3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase involved in sulfate activation. *Science* **267**, 232–234.
- Murguia JR, Belles JM, Serrano R (1996). The yeast HAL2 nucleotidase is an *in vivo* target of salt toxicity. *J Biol Chem* **271**, 29029–29033.
- Neuwald AF, Krishnan BR, Brikun I, Kulakauskas S, Suziedelis K, Tomcsanyi T, Leyh TS, Berg DE (1992). *cysQ*, a gene needed for cysteine synthesis in *Escherichia coli* K-12 only during aerobic growth. *J Bacteriol* **174**, 415–425.
- Quintero FJ, Garciadeblas B, Rodriguez-Navarro A (1996). The SAL1 gene of Arabidopsis, encoding an enzyme with 3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase and inositol polyphosphate 1-phosphatase activities, increases salt tolerance in yeast. *Plant Cell* **8**, 529–537.
- Robles P, Fleury D, Candela H, Cnops G, Alonso-Peral MM, Anami S, Falcone A, Caldana C, Willmitzer L, Ponce MR, Van Lijsebettens M, Micol JL (2010). The *RON1/FRY1/SAL1* gene is required for leaf morphogene-

sis and venation patterning in Arabidopsis. *Plant Physiol* **152**, 1357–1372.

Rodriguez VM, Chetelat A, Majcherczyk P, Farmer EE (2010). Chloroplastic phosphoadenosine phosphosulfate metabolism regulates basal levels of the prohormone jasmonic acid in Arabidopsis leaves. *Plant Physiol* **152**, 1335–1345.

Rossel JB, Walter PB, Hendrickson L, Chow WS, Poole A, Mullineaux PM, Pogson BJ (2006). A mutation affecting *ASCORBATE PEROXIDASE 2* gene expression reveals a link between responses to high light and drought tolerance. *Plant Cell Environ* **29**, 269–281.

Wilson PB, Estavillo GM, Field KJ, Pornsiriwong W, Carroll AJ, Howell KA, Woo NS, Lake JA, Smith SM, Harvey Millar A, von Caemmerer S, Pogson BJ (2009). The nucleotidase/phosphatase SAL1 is a negative regu-

lator of drought tolerance in Arabidopsis. *Plant J* **58**, 299–317.

Xiong L, Lee B, Ishitani M, Lee H, Zhang C, Zhu JK (2001). FIERY1 encoding an inositol polyphosphate 1-phosphatase is a negative regulator of abscisic acid and stress signaling in Arabidopsis. *Genes Dev* **15**, 1971–1984.

Xiong L, Lee H, Huang R, Zhu JK (2004). A single amino acid substitution in the Arabidopsis FIERY1/HOS2 protein confers cold signaling specificity and lithium tolerance. *Plant J* **40**, 536–545.

Zhang J, Vanneste S, Brewer PB, Michniewicz M, Grones P, Kleine-Vehn J, Lofke C, Teichmann T, Bielach A, Cannoot B, Hoyerova K, Chen X, Xue HW, Benkova E, Zazimalova E, Friml J (2011). Inositol trisphosphate-induced Ca^{2+} signaling modulates auxin transport and PIN polarity. *Dev Cell* **20**, 855–866.

Advances in Biological Function of Arabidopsis Bifunctional Enzyme SAL1

Hongmei Xi^{1,2}, Wenzhong Xu¹, Mi Ma^{1*}

¹Key Laboratory of Plant Resources, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; ²College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract SAL1 was previously identified as a negative regulator of stress and abscisic acid (ABA) signaling that mediates the Arabidopsis response to adverse environmental stresses. Forward genetic methods have produced a growing body of evidence showing that SAL1 has wide biological functions. Here we review the structure, location and function of SAL1 and its effect on plant morphology and development, mineral nutrition, response to adverse environmental conditions and plant hormone-signaling response in Arabidopsis. We discuss possible future directions that might provide valuable information for further research on SAL1.

Key words bifunctional enzyme, biological function, SAL1, Arabidopsis

Xi HM, Xu WZ, Ma M (2016). Advances in biological function of Arabidopsis bifunctional enzyme SAL1. *Chin Bull Bot* **51**, 377–386.

* Author for correspondence. E-mail: mami@ibcas.ac.cn