

· 专题论坛 ·

植物细胞壁木聚糖的生物合成及其应用

郭彦君¹, 陈枫¹, 罗敬文¹, 曾为², 许文亮^{1*}

¹华中师范大学生命科学学院, 遗传调控与整合生物学湖北省重点实验室, 武汉 430079

²浙江农林大学林业与生物技术学院, 亚热带森林培育国家重点实验室, 杭州 311300

摘要 木聚糖是广泛存在于各类植物细胞壁中的半纤维素, 对植物生长发育至关重要。许多研究表明, 细胞壁中木聚糖的含量和结构对生物质的加工特性有显著影响。因此, 理解木聚糖的生物合成机制有助于利用基因工程手段对细胞壁进行改良。近10年来, 在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)以及重要粮食和经济作物中鉴定出许多参与木聚糖生物合成的基因。该文综述了相关研究进展, 并探讨了木聚糖生物合成基因在生物质能及相关领域的潜在应用价值。

关键词 细胞壁, 木聚糖, 生物合成, 遗传改良

郭彦君, 陈枫, 罗敬文, 曾为, 许文亮 (2023). 植物细胞壁木聚糖的生物合成及其应用. 植物学报 58, 316–334.

作为地球上最丰富的生物质贮存库, 植物细胞壁具有支撑和保护的功能, 决定细胞的形态和机械特征, 同时感受细胞外信号, 对植物生长发育至关重要。数千年来, 细胞壁为人类食物、服装、建筑、动物饲料以及能源等提供原料。植物的细胞壁可分为初生壁和次生壁2类。所有植物细胞都具有初生壁, 初生壁是细胞分裂后期细胞板形成后沉积的细胞壁, 主要由纤维素、半纤维素和果胶组成, 具有一定的延展性。次生壁只存在于某些特化的细胞中, 如具有输水功能的木质部导管分子。次生壁沉积于初生壁和质膜之间, 比初生壁厚, 主要由纤维素、半纤维素和木质素组成(Kumar et al., 2016)。

木聚糖是细胞壁中主要的半纤维素, 可以通过氢键与纤维素结合, 通过氢键和共价键与木质素和果胶结合, 参与细胞壁的形成, 决定细胞壁的物理性质(Tan et al., 2013; Broxterman and Schols, 2018; Kang et al., 2019; Terrett and Dupree, 2019; Gao et al., 2020a)。木聚糖与人类的日常生活息息相关。例如, 黑麦(*Secale cereale*)和小麦(*Triticum aestivum*)中的阿拉伯木聚糖影响面包的加工工艺、品质和营养价值等(宋晓庆和董海洲, 2004); 玉米纤维麸皮阿拉伯木聚糖可作为食品添加剂、加厚剂、稳定剂、成膜

剂及乳化剂(刘妍等, 2015)。作为被子植物次生壁中含量仅次于纤维素的多糖, 木聚糖对植物的生长发育至关重要。许多研究表明, 严重缺乏木聚糖的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)突变体生长受阻, 细胞壁中木糖含量降低, 表现不规则木质部(irregular xylem, IRX)的表型, 而且植株异常矮小, 其原因可能是木聚糖的减少影响植物次生壁中纤维素微纤维的正确捆绑和排列(Brown et al., 2007; Crowe et al., 2021)。在生物能源领域, 木聚糖与纤维素微纤维的交联互作可降低纤维素酶对纤维素的可及性, 阻碍纤维素的降解(Smith et al., 2017)。近年来, 越来越多的研究表明, 通过操纵木聚糖生物合成相关基因来改变细胞壁中木聚糖的含量或结构, 可以改变细胞壁的性质, 从而对植物的生长发育或生物质的加工特性产生影响(Smith et al., 2017; Oliveira et al., 2019; Bryant et al., 2020; Qaseem and Wu, 2020)。因此, 全面了解木聚糖生物合成机制, 有助于利用分子生物学技术改良作物品质, 满足现代社会的发展需求。

我们之前对模式植物拟南芥木聚糖合成基因进行了综述(秦丽霞等, 2011)。本文将对近年来在模式植物拟南芥及其它物种中木聚糖合成相关基因的最新研究进展进行总结, 并探讨这些研究成果潜在的应

收稿日期: 2022-02-21; 接受日期: 2022-06-23

基金项目: 国家自然科学基金(No.31671735, No.31970516)和湖北洪山实验室开放课题(No.2021hszd014)

* 通讯作者。E-mail: wenliangxu@ccnu.edu.cn

用价值。

1 木聚糖的结构与分类

木聚糖的主链绝大多数是由木糖(xylose, Xyl)通过 β -1,4糖苷键连接成的糖链(Peña et al., 2007), 在某些藻类中发现了 β -1,4或 β -1,4-1,3混合连接的主链(Deniaud et al., 2003)。根据主链上取代基的不同, 可将木聚糖分为3种, 即葡糖醛酸木聚糖(glucuronoxylan, GX)、阿拉伯木聚糖(arabinoxylan, AX)和葡糖醛酸阿拉伯木聚糖(glucuronoarabinoxylan, GAX)(图1)。葡糖醛酸木聚糖主要存在于双子叶植物以及一些非禾本科单子叶植物的次生壁中(Teleman et al., 2000; Peña et al., 2016)。阿拉伯木聚糖主要存在于单子叶禾本科植物的谷粒中(McCleary et al., 2015; Pellny et al., 2020)。葡糖醛酸阿拉伯木聚糖存在于双子叶植物的初生壁以及单子叶禾本科植物的营养组织和裸子植物(除买麻藤门外)的细胞壁中(Verbruggen et al., 1998; Busse-Wicher et al., 2016)。

裸子植物、双子叶植物和部分单子叶植物的木聚糖主链末端存在1个由木糖、鼠李糖(rhamnose, Rha)和半乳糖醛酸(galacturonic acid, GalA)组成的还原

末端序列(reducing end sequence, RES): β -D-Xyl-(1,3)- α -L-Rha-(1,2)- α -D-GalA-(1,4)-D-Xyl, 而单子叶禾本科植物的木聚糖不存在该还原末端(Peña et al., 2007, 2016; Lee et al., 2009a)。目前RES的功能未知, 其可能是木聚糖合成的起始引物, 也可能是终止结构(Smith et al., 2017)。

木聚糖主链的木糖残基2-O位点常被葡糖醛酸(glucuronic acid, GlcA)或4-O-甲基葡糖醛酸(methylated glucuronic acid, MeGlcA)修饰, 拟南芥GX约有1/10的木糖残基被GlcA/MeGlcA(统称[Me]GlcA)所修饰(Lee et al., 2012; Urbanowicz et al., 2012)。

被子植物、苔藓植物和蕨类植物的木聚糖主链的木糖残基在2-O和3-O位点可单独或同时发生乙酰化, 而裸子植物(除买麻藤门外)的木聚糖未发生乙酰化(Teleman et al., 2000; Busse-Wicher et al., 2016)。木聚糖的阿拉伯糖侧链上也可发生乙酰化(Zhang et al., 2019)。乙酰化对于维持木聚糖与纤维素稳定的交联状态具有重要意义(Qaseem and Wu, 2020)。

单子叶禾本科植物木聚糖主链的木糖残基在3-O位点常发生 α -1,3-阿拉伯呋喃糖(arabinofuranose, Ara f)修饰, 有时在2-O位点存在 β -1,2-Xyl修饰(Zhong et al., 2018b)。GAX主链的木糖残基在2-O位

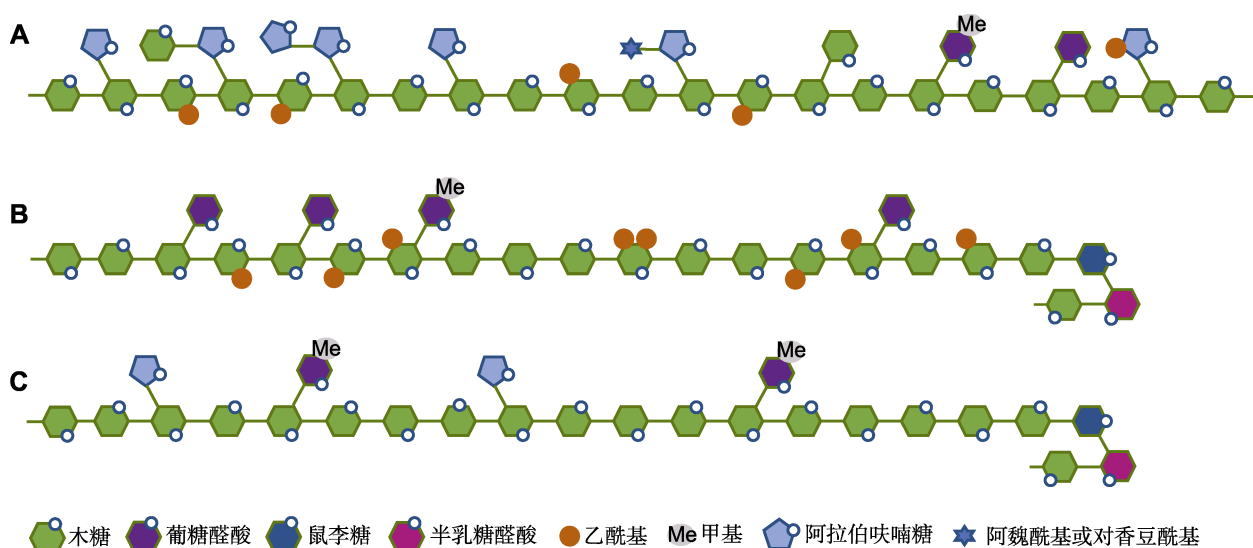


图1 木聚糖结构示意图(参考Zhong et al., 2019; Zhang et al., 2021)

(A) 单子叶禾本科植物中的葡糖醛酸阿拉伯木聚糖; (B) 双子叶植物及一些非禾本科单子叶植物中的葡糖醛酸木聚糖; (C) 裸子植物中的葡糖醛酸阿拉伯木聚糖

Figure 1 Generalized structures of xylan (refer to Zhong et al., 2019; Zhang et al., 2021)

(A) Glucuronoarabinoxylan in the plants of Poaceae; (B) Glucuronoxylan in dicot and some non-Poaceae monocotyledonous plants; (C) Glucuronoarabinoxylan in gymnosperm

点还会被[Me]GlcA修饰(Gao et al., 2020a)。Araf侧链进一步在其2-O位点被另一个Araf或Xyl取代, 组成 α -(1,3)-Araf- α -(1,2)-Araf或 α -(1,3)-Araf- β -(1,2)-Xyl二糖侧链(Peña et al., 2016)。主链上的 α -1,3-Araf侧链可被羟基肉桂酸(阿魏酸) (ferulic acid, FA)或对香豆酸(*p*-coumaric acid, *p*CA)修饰(Hatfield et al., 2017)。

2 木聚糖生物合成相关基因

拟南芥中的木聚糖主链在高尔基体中间膜囊(*medial cisternae*)的边缘(*margin*)和穿孔区(*fenestration*)合成, 在反式膜囊(*trans cisternae*)的边缘积累, 使膜囊变肿大, 最后在反式高尔基体网络(*trans-Golgi net-*

work, TGN)中被包裹成大的分泌囊泡, 以出芽的方式向细胞壁运输, 到达细胞壁后, 木聚糖与纤维素微纤维交联(Meents et al., 2019)。木聚糖生物合成相关基因通常分为参与主链、还原末端、侧链(葡萄糖醛酸残基和阿拉伯呋喃糖基)的合成和修饰(甲基化和乙酰化等) 4类。

2.1 双子叶模式植物拟南芥木聚糖生物合成相关基因

拟南芥中GX生物合成过程如图2所示。核苷酸糖(如UDP-Xyl、UDP-GlcA和UDP-Araf)、乙酰辅酶A以及S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)是GX合成的前体(Meents et al., 2018)。

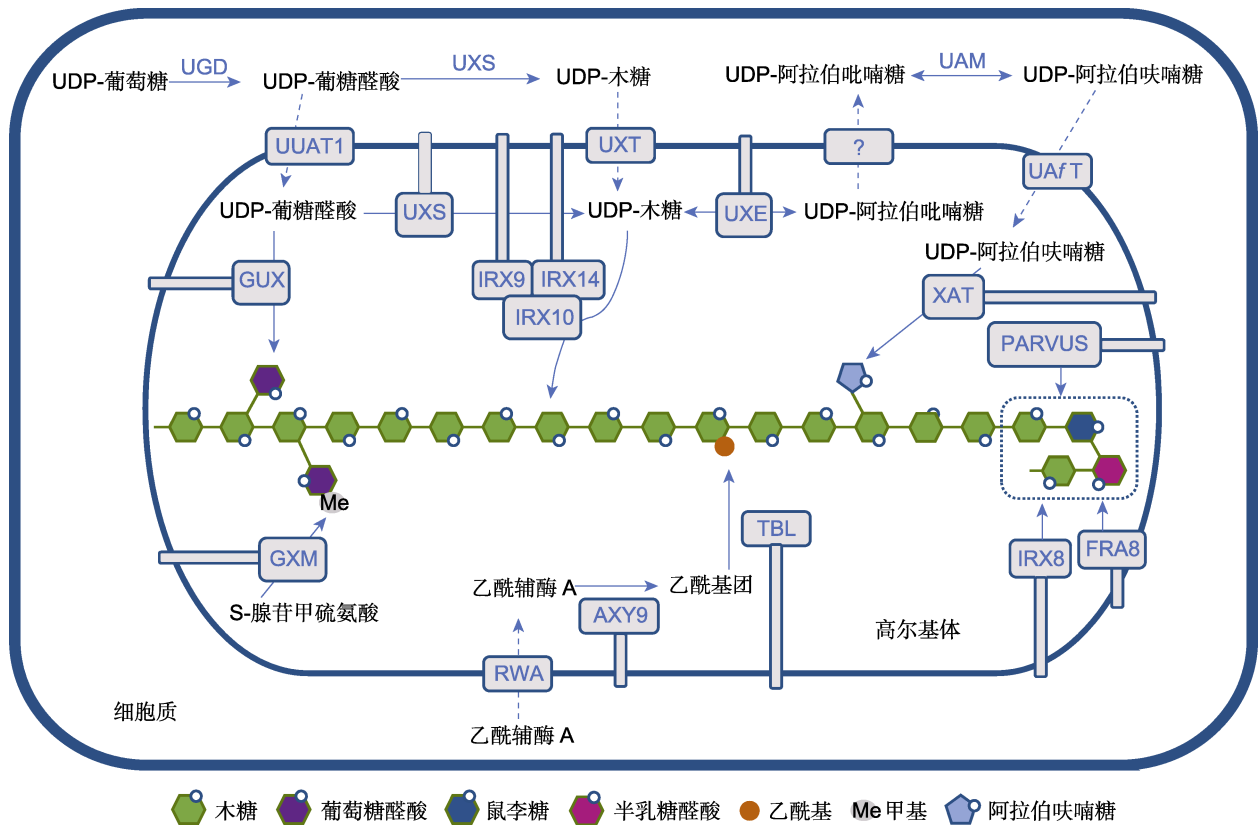


图2 木聚糖生物合成示意图(参考Qaseem and Wu, 2020)

UGD: UDP-葡萄糖脱氢酶; UXS: UDP-木糖合成酶; UAM: UDP-阿拉伯糖变位酶; UUAT1: UDP-糖醛酸转运蛋白; UXT: UDP-木糖转运蛋白; UATf: UDP-阿拉伯糖转运蛋白; UXE: UDP-木糖差向异构酶。虚线箭头表示转运过程, 实线箭头表示化学反应过程, 问号表示未知。

Figure 2 Schematic diagram of xylan biosynthesis (refer to Qaseem and Wu, 2020)

UGD: UDP-Glc dehydrogenase; UXS: UDP-Xyl synthase; UAM: UDP-Ara mutase; UUAT1: UDP-Uronic acid transporter 1; UXT: UDP-Xyl transporter; UATf: UDP-Araf transporter; UXE: UDP-Xyl epimerase. Dotted arrows show the transport process, the solid arrows show the chemical reaction process, question mark indicates unknown.

在细胞质中, UDP-Glc脱氢酶(UDP-Glc dehydrogenase, UGD)以UDP-Glc为底物, 催化其形成UDP-GlcA, 然后通过UDP-糖醛酸转运蛋白UUAT1将UDP-GlcA转运到高尔基体(Kuang et al., 2016; Saez-Aguayo et al., 2017)。细胞质或高尔基体中的UDP-GlcA均能在UDP-Xyl合成酶(UDP-Xylose synthase, UXS)的催化下转变为UDP-Xyl (Bar-Peled and O'Neill, 2011), 用于木聚糖主链合成。值得注意的是, 用于主链合成的UDP-Xyl主要在细胞质中合成, 其原因为胞质定位的UXS3、UXS5和UXS6同时突变导致木质部塌陷、木聚糖含量显著下降, 与木聚糖缺陷突变体表型相似。而高尔基体定位的UXS1、UXS2和UXS4同时突变则无明显的生长和木聚糖合成缺陷表型(Zhong et al., 2017b)。胞质中合成的UDP-Xyl通过UDP-Xyl转运蛋白(UDP-Xyl transporter, UXT) (主要是UXT1)运送到高尔基体, 进而作为GX主链延伸的物质基础(Zhao et al., 2018)。

高尔基体中的UDP-Xyl通过高尔基体定位的UDP-Xyl差向异构酶(UDP-Xyl epimerase, UXE)合成UDP-arabinopyranose (Arap) (Burget et al., 2003)。UDP-Arap可能通过转运蛋白进入细胞质, 在定位于细胞质的UDP-Ara变位酶(UDP-Ara mutase, UAM)催化下合成UDP-Araf, 随后通过UDP-Araf转运蛋白(UDP-Araf transporter, UAFT)运送到高尔基体, 用于木聚糖上阿拉伯糖基取代(Rautengarten et al., 2017)。用于木聚糖乙酰基取代的底物是乙酰辅酶A。乙酰辅酶A来源广泛, 它可以在不同的细胞器(如微体和线粒体)中合成并转移到胞质, 胞质中的乙酰辅酶A可能通过RWA (reduced wall acetylation)蛋白转移至高尔基体(Manabe et al., 2013)。

在拟南芥中, 直接参与GX主链合成的基因有来自糖基转移酶GT43家族的*IRX9*和*IRX14*、GT47家族的*IRX10*以及它们各自的同源基因*IRX9L (I9H)*、*IRX14L (I14H)*和*IRX10L*。这些基因的突变体常出现植株矮小、木质部塌陷不规则、GX含量减少及GX主链变短的表型(Brown et al., 2007, 2009; Wu et al., 2009; Urbanowicz et al., 2014)。IRX10和IRX10L的木糖转移酶活性已通过体外表达实验得到验证(Jensen et al., 2014; Urbanowicz et al., 2014)。IRX9(L)和/或IRX14(L)在木聚糖合酶复合物中可能是辅助蛋白, 起基础结构作用(Zeng et al., 2016)。

GT47家族的*FRA8/IRX7*及其冗余同源物*F8H*、GT8家族的*IRX8 (GAUT12)*和*PARVUS (GATL1)*参与RES合成。它们的突变体常出现植株矮小、木质部不规则、GX含量减少及缺少RES的表型(Zhong et al., 2005; Peña et al., 2007; Lee et al., 2007, 2009b)。

木聚糖主链上的葡萄糖醛酸取代由GT8家族基因*GUX1-5*负责, 这些基因编码的蛋白以UDP-GlcA为前体, 催化GlcA与主链的连接(Rennie et al., 2012; Bromley et al., 2013)。GUX1以6个及以上间隔的方式修饰木聚糖主链形成主要区域, 这是木聚糖GlcA修饰的主要方式。GUX2以紧密(7个以下木糖残基)间隔的方式修饰主链形成次要区域(Bromley et al., 2013)。

木聚糖主链上的GlcA取代基可以继续发生4-O-甲基取代, 此过程由含有DUF579结构域的葡萄糖醛酸甲基转移酶(glucuronoxylan methyltransferase, GXM) GXM1/2/3催化, 它们特异地将甲基从SAM转移到GlcA侧链的4-O位点(Lee et al., 2012; Urbanowicz et al., 2012)。

乙酰化是一种广泛存在于细胞壁聚合物中的修饰方式, 木葡聚糖、木聚糖及果胶等多聚物上均存在乙酰化修饰, 且修饰位点具有多样性(Gille and Pauly, 2012)。因此需要众多乙酰化酶和去乙酰化酶参与调控。目前发现3类参与木聚糖乙酰化的基因, 分别是*RWA*、*TBL (trichome birefringence-like)*和*AXY9 (altered xyloglucan 9)*。拟南芥中有4个*RWA*类基因(*RWA1-4*), 它们可能编码转运蛋白, 将乙酰辅酶A从细胞质转运至高尔基体, 但是其活性有待检测(Lee et al., 2011a; Manabe et al., 2013)。TBL类蛋白直接催化木聚糖乙酰化, 特异地向主链木糖残基的2-O和(或)3-O位点添加乙酰基。拟南芥中有9个参与木聚糖乙酰化的TBL蛋白, 即TBL3和TBL28-35, 它们均含有TBL结构域和DUF231结构域(Yuan et al., 2016a, 2016b; Zhong et al., 2017a)。TBL29(又称*ESK1*或*XOAT1*)是第1个被报道参与木聚糖乙酰化的基因。体外实验证实TBL29是乙酰基转移酶(Xiong et al., 2013; Yuan et al., 2013; Urbanowicz et al., 2014)。Lunin等(2020)证明TBL29只能催化木糖残基的2-O位点发生乙酰化, 2-O位点的乙酰基可以迁移到3-O位点, 从而在2-O和3-O位点都产生单乙酰化。不同于RWA和TBL, AXY9是一个特殊的乙酰化相关酶, 它在多糖乙酰化中具有广泛作用。axy9突变体中

木聚糖和木葡聚糖的乙酰基含量均有所下降(Schultink et al., 2015)。目前尚不清楚AXY9的作用机理。生化实验显示, 重组的AXY9无乙酰基转移酶活性, 推测它可能是将乙酰基从乙酰辅酶A转移至TBL蛋白的媒介(Zhong et al., 2018d)。

关于木聚糖去乙酰化的研究尚处于起步阶段。目前仅发现禾本科水稻(*Oryza sativa*)有2个GDSL酯酶家族的蛋白具有木聚糖去乙酰化酶的功能。其一是BS1 (brittle leaf sheath 1), 催化木聚糖主链2-O和3-O位点的去乙酰化(Zhang et al., 2017); 另一个是DARX1 (deacetylase on arabinosyl side chain of arabinoxylan 1), 从木聚糖的阿拉伯糖残基侧链上切除乙酰基(Zhang et al., 2019)。双子叶植物中还未鉴定到木聚糖去乙酰化酶基因。值得注意的是, 虽然目前只鉴定到2个去乙酰化酶, 但GDSL酯酶家族有很多成员, 因此可能存在相同数量的去乙酰化酶和乙酰化酶, 以维持细胞壁聚合物的乙酰化特性(Zhang et al., 2019)。

拟南芥DUF579家族的IRX15 (L)也参与木聚糖合成, 它们的突变体具有典型的木聚糖合成缺陷表型, 其确切功能尚不清楚(Brown et al., 2011; Jensen et al., 2011)。

2.2 单子叶禾本科植物木聚糖生物合成相关基因

单子叶植物木聚糖生物合成的研究主要集中在禾本科, 如水稻和小麦。二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*)是单子叶模式植物, 但对其木聚糖合成基因的研究还不够深入。

2.2.1 禾本科植物木聚糖主链合成相关基因

与双子叶植物类似, 单子叶禾本科植物木聚糖主链的合成也需要GT43和GT47家族基因。二穗短柄草GT43家族基因*BdGT43A* (*Bradi5g24290*)是拟南芥IRX14的同源基因, 参与阿拉伯木聚糖主链合成(Whitehead et al., 2018)。*BdGT43A* RNAi沉默株系木聚糖的链长无显著变化, 但其含量降低, 单糖分析显示木糖和阿拉伯糖含量显著降低。有趣的是, *BdGT43A* RNAi植株的生长未受影响, 同时其生物量具有较高的消化率, 提示其可能成为提高作物秸秆消化率的良好靶点(Whitehead et al., 2018)。二穗短柄草中另一个IRX14的同源基因*BdGT43B2* (*Bradi1g-33320*)也参与木聚糖的生物合成。*BdGT43B2*的

CRISPR突变体植株在幼苗期发育不良并导致死亡, 免疫荧光显示木聚糖含量减少。实验表明二穗短柄草幼苗初生壁中的木聚糖对其正常生长发育至关重要(Petrik et al., 2020)。

小麦胚乳细胞壁的主要成分是阿拉伯木聚糖, 约占细胞壁总多糖的70%。小麦籽粒水提物(water-extractable, WE-AX)是饮食结构中可溶性膳食纤维的来源, 也是酿酒工业的重要原料。WE-AX黏度是影响各种加工过程的关键性状, 其很大程度取决于胚乳AX的性质。在小麦胚乳中表达量最高的IRX14、IRX9和IRX10的同源基因分别为*TaGT43_1*、*TaGT43_2*和*TaGT47_2*, 它们是胚乳中最有可能参与木聚糖主链合成的基因(Pellny et al., 2012)。通过分析从小麦黄化幼苗中纯化的具有木聚糖合酶活性的蛋白, 发现*TaGT43_1* (*TaGT43-4*)是该木聚糖合酶复合物的关键组分(Jiang et al., 2016)。下调*TaGT43_1*、*TaGT43_2*或*TaGT47_2*对小麦胚乳AX产生显著影响, 使AX的数量减少且链长变短, WE-AX黏度降低, 更易提取(Freeman et al., 2016; Wilkinson et al., 2021)。Pellny等(2020)证实*TaGT43_2*在小麦基因组中对应的3个同源基因*TaGT43_2A*、*TaGT43_2B*和*TaGT43_2D* (均命名为*TaIRX9b*)功能冗余地参与小麦胚乳AX主链合成。在*TaIRX9b*功能缺失三突变体小麦品系的胚乳中, AX含量降至对照的65%, 分子量减小且链长变短, WE-AX黏度降低50%–80%, 更易提取, 但包括胚乳在内的所有细胞的大小和形状并未发生改变, 这是酿酒工业所追求的优良性状(Pellny et al., 2020)。

此外, 水稻GT43蛋白被证实参与木聚糖主链合成。OsGT43A/E可以回补拟南芥*irx9*突变体的表型, OsGT43J可以回补*irx14*突变体的表型(Lee et al., 2014)。水稻GT47家族的OsIRX10 (LOC_Os01g70-200)的基因敲除突变株中, 木聚糖含量减少, 但糖化效率更高(Chen et al., 2013)。最近, OsIRX10被证实具有介导木聚糖主链合成起始和延伸的双重活性。体外实验表明, 水稻IRX10可以在无低聚木糖受体的情况下启动木聚糖的从头合成, 这是目前发现的第1个参与木聚糖合成起始的蛋白。水稻中有6个IRX10类蛋白, 它们的突变体中, 木质部导管上纹孔周围的纤维素纳米纤丝排列紊乱、孔径变大, 水分和养分运输能力及叶片蒸腾势等生理指标下降(Wang et al., 2022)。水稻FC18编码胞质定位的UDP-Xyl合成酶

OsUXS3, 水稻 $fc18$ 突变体的木糖水平降低, 木聚糖含量减少, 说明FC18催化生成的UDP-Xyl参与木聚糖的生物合成。此外, $fc18$ 突变体中纤维素含量减少, 结晶度下降, 生物质消化率提高(Ruan et al., 2022)。

综上所述, 禾本科植物木聚糖主链合成基因对植物的生长发育至关重要, 并有望成为基因靶点, 培育用于生产乙醇和动物饲料的新品种。

2.2.2 禾本科植物木聚糖主链上阿拉伯糖基取代相关基因

水稻和小麦GT61家族成员参与木聚糖主链上 α -1,3-阿拉伯糖基取代。在小麦胚乳中, 当GT61家族的TaXAT1 (xylan arabinosyltransferase 1)表达量降低时, 木聚糖主链上的阿拉伯糖基取代大大降低(Anders et al., 2012)。正常情况下, 拟南芥细胞壁的木聚糖不存在阿拉伯糖基取代, 当小麦和水稻的GT61家族成员TaXAT1/2和OsXAT2/3在拟南芥中异源表达时, 拟南芥的木聚糖主链上出现阿拉伯糖基取代(Anders et al., 2012)。最近, OsXAT4/5/6/7及其在玉米(Zea mays)、高粱(Sorghum bicolor)、二穗短柄草和柳枝稷(Panicum virgatum)中的同源物ZmXAT1/2、SbXAT1、BdXAT1和PvXAT1/2/3的木聚糖阿拉伯糖基转移酶活性得到证实, 说明禾本科中XAT蛋白具有功能保守性(Zhong et al., 2021)。

一些GT61成员具有木糖基转移酶活性。例如, 禾本科中XYXT (xylan xylosyltransferase)蛋白OsXYXT1、ZmXYXT1、SbXYXT1、BdXYXT1和PvXYXT1/2均可将木糖残基添加到木聚糖主链上, 形成木糖侧链(Zhong et al., 2018b, 2021)。水稻OsXAX1 (xylosyl arabinosyl substitution of xylan 1)介导木糖向阿拉伯糖基侧链的添加。有趣的是, 水稻xax1突变体中羟基肉桂酸的含量也减少(Chiniquy et al., 2012)。通过详细比较xax1突变体中含有羟基肉桂酸组分的木聚糖侧链的含量, 表明OsXAX1的功能是将被羟基肉桂酸修饰的阿拉伯糖基添加到木聚糖主链, 而不是将木糖添加到阿拉伯糖基侧链(Feijao et al., 2022)。

2.2.3 禾本科植物木聚糖主链上葡萄糖醛酸取代相关基因

葡萄糖醛酸侧链是区分GAX和AX的标识。目前对于禾本科植物中将GlcA添加到木聚糖主链的蛋白研究很

少, 仅在水稻中发现OsGUX1参与这一过程, 但尚未进行酶活检测(Gao et al., 2020a)。OsGUX1表达降低后, 细胞壁水解物中葡萄糖醛酸、木糖、阿拉伯糖和葡萄糖的含量均显著下降, 水稻叶片中叶绿素含量升高; 过表达OsGUX1则产生相反的表型(Gao et al., 2020a)。此外, 禾本科植物中负责木聚糖GlcA侧链发生4-O-甲基取代的基因尚不明确。

2.2.4 禾本科植物木聚糖乙酰化和去乙酰化相关基因

水稻OsTBL1和OsTBL2 (AtTBL34的同源物)是木聚糖乙酰基转移酶。ostb1单突变体和tbl1/tbl2双突变体对水稻叶枯病菌更敏感, 表明木聚糖乙酰化修饰影响水稻的抗病性(Gao et al., 2017)。水稻中另外14个蛋白(OsXOAT1–14)也被证实是参与木聚糖乙酰化的乙酰基转移酶, 其中OsXOAT1和OsXOAT7可以回补拟南芥木聚糖乙酰化突变体esk1的表型, 这14个OsXOATs在体外均具有乙酰化酶活性(Zhong et al., 2018a)。

水稻BS1可催化木聚糖主链2-O和3-O位点的去乙酰化反应。bs1突变体中, 木聚糖的过度乙酰化破坏了次生壁结构, 使水稻生长迟缓, 株高降低, 小穗和分蘖数减少, 生物量减少。然而, bs1细胞壁能分解产生更多的糖, 可能的原因之一是突变改变了细胞壁的结构, 增加了水解酶的可及性(Zhang et al., 2017)。水稻中另一个去乙酰化酶DARX1可以从木聚糖的阿拉伯糖残基侧链上切除乙酰基。darx1突变体与bs1突变体的表型相似, 木聚糖的过度乙酰化破坏了次生壁结构, 导致细胞壁机械强度降低, 叶片下垂, 节间更易折断, 株高略有降低(Zhang et al., 2019)。这些发现可为培育高机械强度的作物提供改良策略。

2.2.5 禾本科植物木聚糖上羟基肉桂酸取代相关基因

羟基肉桂酸(阿魏酸, FA)和对香豆酸(pCA)是禾本科植物细胞壁多聚物上特有的修饰。FA主要通过酯键与AX或GAX上的阿拉伯糖残基相连, 在木聚糖链之间或木聚糖与木质素间起交联作用。与FA相比, pCA在阿拉伯糖残基上的添加量较少。BAHD (BEAT、AHCT、HCBT和DAT)家族的植物特异性酰基-辅酶A依赖的酰基转移酶负责阿拉伯糖侧链上FA和pCA的添加(Hatfield et al., 2017)。水稻OsAT10 (LOC_Os-

06g39390)是首个被发现的BAHD家族酰基转移酶。在水稻中过表达 *OsAT10*, FA减少60%, *pCA*增加300%, 生物质的糖化产率提高20%–40%, 但水稻的生长发育未受影响(Bartley et al., 2013)。在柳枝稷中过表达水稻 *OsAT10*, 可将糖化效率提高40%, 同时对柳枝稷的生长不产生负面影响(Li et al., 2018)。

狗尾草(*Setaria viridis*)和二穗短柄草中的BAHD-01参与AX的阿魏酰化。下调*SvBAHD01*使AX上的FA显著降低, *pCA*增加, 木质素含量无明显变化; 下调*BdBAHD01*使FA含量略微下降, 木质素含量无明显变化, 糖化效率提高(de Souza et al., 2018)。下调甘蔗(*Saccharum officinarum*) *SacBAHD01* (*SvBAHD-01*的同源基因)同样降低茎中FA的含量, 提高糖化效率(de Souza et al., 2019)。

二穗短柄草*BdBAHD05* (*BdAT1*)的过表达使FA含量增加; 下调该基因使FA含量下降(Buanafina et al., 2016)。然而下调狗尾草*SvBAHD05* (*BdBAHD05*的同源基因)后, 叶、茎和根中AX上的*pCA*水平下降, 而FA含量无明显变化, 说明二穗短柄草和狗尾草的BAHD05存在功能分化。值得注意的是, *SvBAHD05*下调后, 狗尾草的生物量糖化效率有所提高(Mota et al., 2021)。

以上研究表明, 改变禾本科植物细胞壁中的FA或*pCA*含量可以减弱生物质的顽固性, 从而提高生物质的糖化效率。因此, 改变牧草生物量中的FA或*pCA*含量是提高生物燃料产量或动物饲料消化率的较优策略。对BAHD酰基转移酶功能的理解有助于挖掘牧草作物改良的新靶点。

2.3 木本植物木聚糖生物合成相关基因

木聚糖占被子植物木材总生物量的19%–35%, 占裸子植物木材总生物量的7%–14%。木聚糖维持了木材的机械强度, 但降低了木质纤维素生物质的利用效率。因此, 解析木本植物木聚糖生物合成相关基因, 在不影响植物生长的前提下改变细胞壁中木聚糖的含量或结构, 是利用基因工程手段进行木质纤维素生物质改良的研究方向。

2.3.1 木本植物木聚糖主链生物合成相关基因

毛果杨(*Populus trichocarpa*)有7个GT43家族成员。进化分析表明, *PtrGT43A/B*、*PtrGT43E/F/G*和*PtrGT-*

*43C/D*分别与拟南芥*IRX9*、*IRX9L*和*IRX14*位于同一亚支(Ratke et al., 2015)。*PtrGT43A/B/E*可以回补拟南芥*irx9*突变体的表型, *PtrGT43C/D*可以回补拟南芥*irx14*突变体的表型, 表明*PtrGT43A/B/E*和*PtrGT-43C/D*分别与*IRX9*和*IRX14*具有相似的功能, 它们很可能参与毛果杨木聚糖主链合成(Lee et al., 2011b)。

杂种白杨(*P. alba* × *tremula*) *PoGT43B*可以回补拟南芥*irx9*突变体植株矮小、次生壁较薄和木糖含量较低的表型(Zhou et al., 2007)。通过RNAi下调*PoGT43B*, *PoGT43B* RNAi株系木材的细胞壁厚度和木聚糖含量降低, 木材消化率分析表明, 纤维素酶使其释放更多的葡萄糖(Lee et al., 2011b)。在另一项研究中, 通过RNAi同时下调杂种白杨(*P. tremula* × *tremuloides*)中的GT43A–D, 木聚糖中木糖残基和还原末端的比值较野生型低10%, 说明它们参与主链合成(Ratke et al., 2018)。有趣的是, 这些基因表达水平降低, 却有利于杨树的生长, 使植株变高, 且木材的分解效率提高(Ratke et al., 2018), 这些都是工业生产期望的表型。因此, 适度降低木聚糖主链合成基因的表达, 但不需要完全敲除它们, 可能是今后改造木质纤维素生物质的一种可行方案。

2.3.2 木本植物木聚糖还原末端生物合成相关基因

在杂种白杨中, 拟南芥FRA8的同源物*PoGT47C*参与葡糖醛酸木聚糖RES的合成(Zhou et al., 2006; Lee et al., 2009a)。杂种白杨的*PoGT47C* RNAi株系木材次生壁变薄, 导管变形, GX含量下降。用核磁共振技术对GX进行结构分析, 发现杂种白杨GX也具有RES, 且RES的丰度在RNAi株系中显著下降(Lee et al., 2009a)。 *PoGT47C* RNAi转基因木材经纤维素酶消化后产生的葡萄糖比野生型木材多, 表明GX的减少降低了木材对纤维素酶分解的抑制作用, 提高了木材消化率(Lee et al., 2009a)。

杂种白杨*PoGT8E*和*PoGT8F*是拟南芥PARVUS的功能同源物, 也参与RES的合成(Lee et al., 2009c)。 *PoGT8E*和*PoGT8F*可以回补拟南芥*parvus*突变体中次生壁变薄、GX含量下降及RES缺失的表型(Lee et al., 2009c)。

杂种白杨*PoGT8D* (拟南芥*IRX8*的同源基因)不能回补拟南芥*irx8*突变体的表型(Zhou et al., 2007), 但下调*PoGT8D*会产生RES和木聚糖含量减少以及

细胞壁变薄等类似*irx8*突变体的表型,而木材消化率无明显变化(Lee et al., 2011b)。毛果杨中有2个拟南芥*IRX8/GAUT12*的同源基因:*PtrGT8D1*和*PtrGT8D2*(又称*PtGAUT12.1*或*PtGAUT12.2*)。通过RNAi的方式同时下调*PtrGT8D1*和*PtrGT8D2*导致木聚糖含量减少,木质素增多,纤维细胞的细胞壁变薄,纤维素含量基本不变,但未见拟南芥*irx8*中不规则木质部和植株矮小的表型出现在*PtrGT8D1/D2* RNAi株系中(Li et al., 2011)。美洲黑杨(*P. deltoides*)中也有*IRX8/GAUT12*的2个同源基因:*PdGAUT12.1*和*PdGAUT12.2*。正在分化的木质部中*PdGAUT12.1*的表达量是*PdGAUT12.2*的8倍,*PdGAUT12.1*可以回补*irx8*突变体的表型,而*PdGAUT12.2*只能部分回补(Biswal et al., 2015)。通过RNAi单独下调*PdGAUT12.1*,美洲黑杨的GX和果胶含量降低,木质素含量不变,而*PdGAUT12.1* RNAi株系的生物量和总糖释放量均增加;过表达*PtGAUT12.1*则产生相反的效果,这为降低木聚糖水平以提高糖化效率提供了更多证据(Biswal et al., 2015, 2018)。以上研究表明,与RES合成有关的基因在改善杨树生物能源原料性能方面潜力巨大。

2.3.3 木本植物木聚糖主链上葡萄糖醛酸取代相关基因

去除木聚糖GlcA取代的拟南芥*gux*突变体在糖化过程中比野生型多释放30%以上的葡萄糖和700%以上的木糖,所得乙醇是野生型的2倍。考虑到软木和硬木的木聚糖都具有GlcA侧链,因此去除木本植物木聚糖上的GlcA取代可能是提高木材生物质糖化效率的一种策略(Lyczakowski et al., 2017)。在裸子植物云杉(*Picea glauca*)中发现PgGUX具有葡萄糖醛酸转移酶活性(Lyczakowski et al., 2017),是一个有应用潜力的遗传改良靶标。

在毛果杨中,绝大多数木聚糖GlcA侧链发生甲基化(Lee et al., 2011b), *PtrGXM1-4* (*PtrDUF579-1-4*)负责这一过程,它们将甲基转移至已添加到木糖主链的GlcA残基上。当*PtrDUF579-3*的表达受到抑制时,杨树细胞壁中木聚糖GlcA侧链数量减少,GlcA侧链的甲基化水平下降,木材更易被消化(Song et al., 2016)。

2.3.4 木本植物木聚糖乙酰化相关基因

硬木木聚糖主链的C-2和/或C-3位置有70%会发生乙

酰化,而软木木聚糖主链通常缺乏乙酰化(Pawar et al., 2013)。已证实毛果杨中有12个基因(*PtrXOAT1-12*)参与调控木聚糖乙酰化的乙酰基转移酶(Zhong et al., 2018c)。木聚糖乙酰化可以提高植物耐热性、机械强度和疏水性(de Carvalho et al., 2020)。因此,适度提高木本植物木聚糖的乙酰化程度可使木材更适用于建筑及家具制造等行业。

将从黑曲霉(*Aspergillus niger*)中分离出的木聚糖乙酰酯酶基因*AnAXE1*转入杂种白杨(*P. tremula* × *tremuloides*),可适度降低杂种白杨细胞壁中木聚糖的乙酰化程度,使糖化作用得到增强而植物生长不受影响(Pawar et al., 2017)。因此,若以木材生物质作为第2代生物能源目标,可以适当降低乙酰化程度。上述单子叶禾本科植物和木本植物木聚糖合成相关基因及应用详见表1。

2.4 植物非典型细胞壁结构中的木聚糖生物合成相关基因

一些十字花科和车前科植物的种皮外层细胞在发育过程中合成和分泌大量的黏液质多糖,其在种子遇水后膨胀并释放,形成透明胶状物质包裹在种子周围。黏液质虽然不是细胞壁,但其组分与细胞壁相似,一般由果胶、半纤维素和纤维素组成,是研究多糖生物合成和修饰的理想系统。*IRX7*、*IRX14*和*MUM5/MUCI21* (*MUCILAGE MODIFIED 5/MUCILAGE-RELATED 21*)参与拟南芥种子黏液质中木聚糖的生物合成(Hu et al., 2016a, 2016b; Ralet et al., 2016)。*MUM5/MUCI21*属于GT61家族,可能是木糖基转移酶,负责将Xyl侧链添加至木聚糖骨架,但其酶活尚未得到验证(Ralet et al., 2016)。这些基因的改变导致拟南芥黏液质中木聚糖含量显著降低,黏液质对种子的黏附能力出现严重缺陷。因此,木聚糖具有维持拟南芥黏液质正常结构的作用。

车前草(*Plantago ovata*)种子黏液质中的木聚糖是阿拉伯木聚糖(Phan et al., 2016)。通过对车前草黏液质的转录本进行分析,发现高表达*IRX10*同源物(Jensen et al., 2013),通过烟草叶片瞬时表达和体外酶活分析证实了*PoIRX10_4*的木聚糖木糖基转移酶活性(Jensen et al., 2014)。值得注意的是,车前草黏液质中的*IRX10*同源物与双子叶植物*IRX10*差异

表1 不同物种木聚糖生物合成基因及应用

Table 1 Xylan biosynthesis genes in different species and their applications

物种	基因	功能	应用	参考文献
二穗短柄草(<i>Brachypodium distachyon</i>)	<i>BdGT43A/B2</i>	参与主链合成	提高生物质消化率	Whitehead et al., 2018; Petrik et al., 2020
	<i>BdBAHD01/05</i>	参与羟基肉桂酸取代	ND	Buanafina et al., 2016; de Souza et al., 2018
小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	<i>TaGT43_1/2, TaGT47_2</i>	参与主链合成	获得更易提取的小麦籽粒水提物	Jiang et al., 2016; Pellny et al., 2020; Wilkinson et al., 2021
	<i>TaXAT1/2</i>	阿拉伯糖基转移酶	获得更易提取的小麦籽粒水提物	Anders et al., 2012
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	<i>OsGT43A/B/E/J</i>	参与主链合成	ND	Lee et al., 2014
	<i>OsIRX10</i>	参与主链合成	提高生物质消化率	Chen et al., 2013; Wang et al., 2022
	<i>OsGUX1</i>	葡糖醛酸转移酶	改变叶绿素含量	Gao et al., 2020a
	<i>OsXAT2/3/4/5/6/7</i>	阿拉伯糖基转移酶	ND	Zhong et al., 2021
	<i>OsXAX1</i>	不明确	提高生物质消化率	Chiniquy et al., 2012; Feijao et al., 2022
	<i>OsXYXT1</i>	向主链添加木糖侧链	ND	Zhong et al., 2018b
	<i>OsTBL1/2</i>	参与主链乙酰化	增强抗病性	Gao et al., 2017
	<i>OsXOAT1-14</i>	参与主链乙酰化	ND	Zhong et al., 2018a
	<i>OsBS1</i>	参与主链去乙酰化	提高机械强度	Zhang et al., 2017
	<i>OsDARX1</i>	参与阿拉伯糖残基侧链去乙酰化	提高机械强度	Zhang et al., 2019
	<i>OsAT10</i>	参与羟基肉桂酸取代	提高生物质消化率	Bartley et al., 2013
	<i>OsFC18</i>	合成UDP-木糖	提高生物质消化率	Ruan et al., 2022
狗尾草(<i>Setaria viridis</i>)	<i>SvBAHD01/05</i>	参与羟基肉桂酸取代	提高生物质消化率	de Souza et al., 2018; Mota et al., 2021
甘蔗(<i>Saccharum officinarum</i>)	<i>SacBAHD01</i>	参与羟基肉桂酸取代	提高生物质消化率	de Souza et al., 2019
杨树(<i>Populus spp.</i>)	<i>PtrGT43A/B/C/D/E/F/G</i>	参与主链合成	提高生物质消化率	Lee et al., 2011b; Ratke et al., 2015, 2018
	<i>PoGT47C</i>	参与还原末端合成	提高生物质消化率	Lee et al., 2009a
	<i>PoGT8D/E/F</i>	参与还原末端合成	ND	Lee et al., 2009c, 2011b
	<i>Pt/PdGAUT12</i>	参与还原末端合成	提高生物质消化率	Biswal et al., 2015, 2018
	<i>PtrGXM1-4</i>	甲基转移酶	提高生物质消化率	Song et al., 2016
	<i>PtrXOAT1-12</i>	乙酰基转移酶	ND	Zhong et al., 2018c
云杉(<i>Picea glauca</i>)	<i>PgGUX</i>	葡糖醛酸转移酶	ND	Lyczakowski et al., 2017
陆地棉(<i>Gossypium hirsutum</i>)	<i>GhGT43A1/C1</i>	参与主链合成	ND	Li et al., 2014
	<i>GhGT47A1</i>	参与主链合成	ND	Chen et al., 2020
	<i>GhGT47B1/B2</i>	参与还原末端合成	ND	Chen et al., 2020

ND: 尚未确定。ND: Not determined.

较大, IRX9和IRX14同源物的表达水平很低(Jensen et al., 2013), 说明黏液质和次生壁两种不同结构的木聚糖其主链合成方式可能不同。RNA-Seq和qRT-PCR结果显示, 在车前草黏液质形成过程中, GT61家族成员大量表达且呈动态变化, 说明黏液质木聚糖侧链的取代可能需要多个GT61家族蛋白参与(Phan et al., 2016; Tucker et al., 2017)。

2.5 低等植物木聚糖生物合成相关基因与维管植物的进化

低等植物中也存在木聚糖, 如非维管苔藓植物小立碗藓(*Physcomitrella patens*)和无种子维管蕨类植物江南卷柏(*Selaginella moellendorffii*)。小立碗藓的木聚糖结构与拟南芥相似, 其 β -1,4连接的木糖骨架可被GlcA取代, 但不含MeGlcA取代和RES (Kulkarni et

al., 2012)。江南卷柏的木聚糖主链也由 β -1,4糖苷键连接的木糖残基构成, 但其仅有MeGlcA取代。江南卷柏和小立碗藓的木聚糖也是在2-O和3-O位点上发生乙酰化(Haghighat et al., 2016)。

小立碗藓中存在所有拟南芥糖基转移酶的同源物, 包括合成GX主链所需的IRX9、IRX10和IRX14。小立碗藓PpIRX10 (PpGT47A)可部分回补拟南芥*irx10/irx10l*双突变体的表型, 表明它与拟南芥IRX10功能相似, 但其敲除突变体未出现可观察到的表型, 表明在正常条件下PpIRX10并非小立碗藓生长发育所必需。相反, 拟南芥*irx10*和*irx10/irx10l*突变体都具有明显的表型, 表明拟南芥IRX10在生长发育中具有重要作用。基于此, 推测维管植物的进化与IRX10基因家族功能的显著变化或适应有关(Hörnblad et al., 2013)。之后, PpIRX10的木糖基转移酶活性通过烟草叶片瞬时表达和体外酶活分析得到证实(Jensen et al., 2014)。此外, 小立碗藓PpGT43A是拟南芥IRX9的功能同源基因, 表明GT43基因在木聚糖主链生物合成中的募集在陆地非维管植物中就已经出现(Haghighat et al., 2016)。

江南卷柏GT43家族的SmGT43A和SmGT43B可以分别回补拟南芥*irx9*和*irx14*突变体的表型, 说明它们与江南卷柏木聚糖主链合成有关, 表明参与无种子维管植物和有种子维管植物木聚糖主链生物合成的2个功能上无冗余的GT43基因具有进化保守性(Haghighat et al., 2016)。SmGXM编码木聚糖甲基转移酶, 能够将甲基添加到木聚糖的GlcA侧链上(Haghighat et al., 2016)。此外, 对藻类木聚糖合成酶的鉴定表明, 藻类和维管植物细胞壁的生物合成之间存在功能同源性(Jensen et al., 2018)。

3 木聚糖生物合成的转录调控

植物次生壁的生物合成由NAC及MYB等转录因子组成的层级网络所调控。第1层级是NAC类转录因子, 如NST1、SND1/NST3、VND6和VND7; 第2层级是MYB类转录因子MYB46/MYB83, 它们可以直接或间接地调控次生壁的合成, 是主开关转录因子, 在其下游还有一些转录因子, 特异性地调控某些基因的表达(Nakano et al., 2015; 张雨等, 2020)。木聚糖作为次生壁半纤维素的主要成分, 其合成受该层级网络中的

转录因子调控。已有证据表明, 位于第1层级的SND1和VND7、第1层级的直接靶标MYB46/MYB83以及MYB46的直接靶标KNAT7可以调控拟南芥木聚糖的合成(图3)。

体外实验表明, SND1和VND7可显著提高IRX10、IRX14L和PARVUS的表达, 其通过直接结合IRX10、IRX14L和PARVUS启动子上的次生壁NAC结合元件SNBE (secondary wall NAC binding element)发挥调控作用(Zhong et al., 2010)。EMSA和ChIP实验表明, MYB46/MYB83可以通过直接结合FRA8、IRX8、IRX9和IRX14启动子上的M46RE元件(MYB46-responsive cis-regulatory element)正调控它们在拟南芥花序茎中的表达(Zhong and Ye, 2012; Kim et al., 2014)。KNAT7也正调控拟南芥细胞壁木聚糖的合成。转录激活实验表明, KNAT7可增强IRX9、IRX10、IRX14L和FRA8启动子的活性; EMSA实验证实它与IRX9启动子直接结合(He et al., 2018)。研究表明, KNAT7正调控拟南芥种子黏液质中木聚糖的合成, 其直接激活黏液质中IRX14和MUM5的表达(Wang et al., 2020)。

在杨树中也发现类似的调控方式。杨树中参与木聚糖主链合成的PtrGT43A/B可被次生壁转录开关因子PxtMYB021和PNAC085正调控。PxtMYB021和PNAC085分别是拟南芥MYB46和NST1的同源物, PxtMYB021通过直接结合PtrGT43A/B启动子上的AC元件激活其表达(Ratke et al., 2015)。研究人员从棉纤维中分离了36个可能参与棉纤维次生壁合成的R2R3-MYB转录因子(Huang et al., 2019, 2021)。转录激活分析显示, GhMYB46_D13和GhMYB46_D9激活棉花GhGT43A1和GhGT47A1启动子活性(未发表资料)。

由于木聚糖的合成过程复杂, 需要精细调控, 因此除上述转录因子外, 还有一些其它转录因子, 有待继续发掘研究。

4 总结与展望

在过去10多年中, 木聚糖作为细胞壁的重要组分备受关注, 相关研究取得了较大进展。通过基因工程手段操纵木聚糖主链、还原末端、乙酰化、侧链合成相关基因和木聚糖合成前体相关基因, 或调控木聚糖合

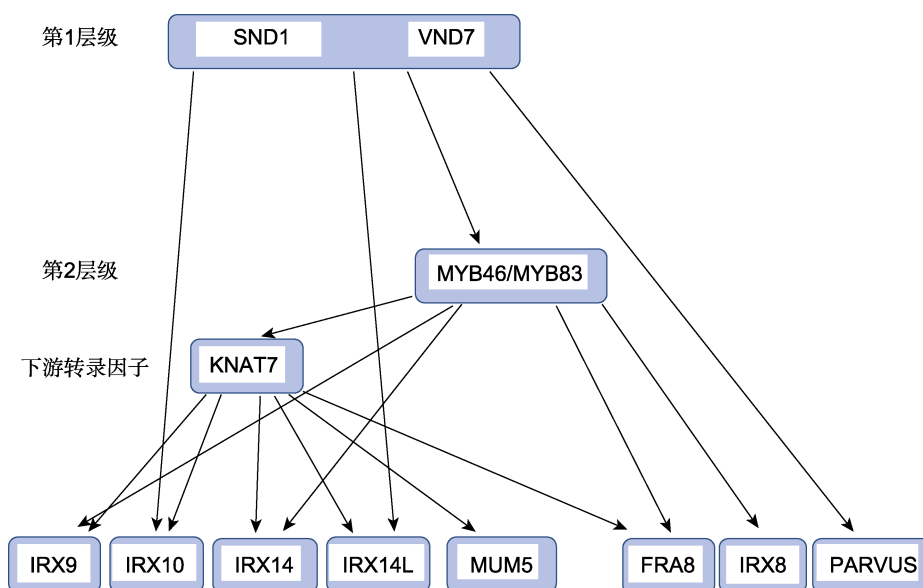


图3 木聚糖生物合成的转录调控示意图

Figure 3 Schematic diagram depicting the transcriptional regulation of xylan biosynthesis

成的转录因子,可以在一定程度上改变木聚糖的含量或结构,进而使细胞壁的物理化学性质发生改变,以满足人类需求。值得注意的是,木聚糖主链合成、糖基取代和乙酰化修饰并非完全独立的过程,它们之间互相影响。例如,*esk1*突变体中木聚糖不仅出现乙酰化程度降低,还出现[Me]GlcA取代增加,且乙酰化程度降低导致木聚糖葡萄糖醛酸转移酶GUX1的位置特异性被破坏,木聚糖上[Me]GlcA的均匀分布模式改变(Grantham et al., 2017)。因此,在利用遗传手段操纵木聚糖进行细胞壁改良时,需要综合考虑多方面因素。

截至目前,关于木聚糖合成的主要进展均从模式植物中获得,这些合成基因的功能在其它植物中的保守性尚不明确。以世界上最重要的天然纺织纤维生产原料棉花为例,我们对陆地棉(*Gossypium hirsutum*)的棉纤维木聚糖合成相关基因进行了全基因组分析,得到55个木聚糖合成候选基因,回补实验表明GhGT43A1和GhGT43C1可以分别回补拟南芥*irx9*和*irx14*突变体的表型,在野生型拟南芥中过表达GhGT43A1或GhGT43C1均可使次生壁中木聚糖含量增加,这说明GhGT43A1和GhGT43C1分别与IRX9和IRX14功能相似,即参与木聚糖主链合成(Li et al., 2014)。此外, GhGT47A1可以回补*irx10*突变体的表

型, GhGT47B1和GhGT47B2可以部分回补*fra8*突变体的表型,说明GhGT47A1可能参与棉纤维木聚糖的主链合成, GhGT47B1和GhGT47B2可能参与棉纤维木聚糖的RES合成(Chen et al., 2020)。GhGT47B RNAi株系的棉纤维中木聚糖含量下降,纤维素含量减少,棉纤维长度变短,细胞壁变薄,断裂比强度和伸长率降低(未发表资料),说明木聚糖含量和棉纤维品质密切相关。同时发现,棉花中没有拟南芥IRX8的同源物,提示棉纤维可能采用不同的机制合成RES。在棉花中还鉴定到2个GT61家族基因Gh_A12G2720和Gh_D12G2537。其中, Gh_A12G2720在棉花的茎和花后20天棉纤维中优势表达,且与次生壁合成相关基因共表达; Gh_D12G2537在花后20天棉纤维中优势表达,且与棉花木聚糖主链合成候选基因共表达,说明它们可能参与木聚糖的合成。系统进化分析表明, Gh_D12G2537与OsXAT3的亲缘关系最近,暗示其可能具有阿拉伯糖基转移酶功能(Chen et al., 2020)。同时提示:与拟南芥细胞壁木聚糖不同,棉纤维细胞壁中木聚糖主链上可能存在阿拉伯糖基修饰。研究表明,不同物种的木聚糖合成具有一定的保守性,但也存在物种特异性,不同物种其木聚糖结构可能有差异。因此对木聚糖的研究需要从模式植物转向其它经济作物,以满足人类改良细胞壁的需求。

近10多年来,通过遗传与生化相结合的方法,鉴定了许多参与木聚糖合成的酶(Rennie and Scheller, 2014)。在研究木聚糖合成基因的突变体、基因沉默、基因敲除或过表达植株与对照植株的木聚糖差异时,常使用木聚糖特异性抗体LM10和LM11进行免疫荧光定量分析,比较木聚糖含量,用一维核磁共振技术和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术检测木聚糖水解后产生的木寡糖结构,判断木聚糖主链上的修饰和RES是否发生变化(Zhong et al., 2019)。上述研究虽然使木聚糖的生物合成过程逐渐明晰,但还不能很好地解释木聚糖如何影响细胞壁的功能。近年来,随着超高分辨激光共聚焦显微成像、原子力显微成像及多维核磁共振技术的引入,细胞壁中木聚糖的构象及其与其它细胞壁组分的交联方式得到表征,对木聚糖的研究从细胞级深入到纳米级,这有助于理解木聚糖在细胞壁中的功能及操纵木聚糖改良细胞壁(Kang et al., 2019; Gao et al., 2020b; Zhang et al., 2021; Wang et al., 2022)。

关于木聚糖的生物合成仍有许多问题悬而未决。首先,木聚糖主链合成机制有待阐明。如果将木聚糖主链合成分为起始、延伸和终止3个阶段,目前,我们仅对其起始和延伸阶段有了一定的认识。延伸木聚糖主链的蛋白在不同物种间具有一定的保守性,均为IRX10或其同源物,这些蛋白可以将木糖残基从UDP-Xyl转移到低聚木糖受体上,形成 β -1,4糖苷键,延伸木聚糖主链(Jensen et al., 2014; Urbanowicz et al., 2014; Wang et al., 2022)。对于木聚糖主链起始和终止的问题,需要分物种进行讨论。双子叶植物、裸子植物和一些非禾本科单子叶植物的木聚糖主链末端存在RES结构,目前RES的功能尚不清楚,推测其可能作为主链合成的起始物或者终止物参与木聚糖的合成(Smith et al., 2017)。单子叶禾本科植物的木聚糖主链末端无RES结构,因此,RES在起始或终止阶段的必要性有待考查。研究表明,禾本科植物水稻中的IRX10不仅可以延伸木聚糖主链,也可以起始木聚糖合成(Wang et al., 2022)。但体外实验表明,拟南芥IRX10不能起始木聚糖合成(Urbanowicz et al., 2014)。因此,不同物种中木聚糖的起始方式可能存在差异,需要深入研究。其次,我们已经鉴定出大量参与木聚糖合成的糖基转移酶,它们之间的协作机制(如主链与侧链合成基因之间的关系)有待探明。研究

表明GT43和GT47家族蛋白可以互相协作,形成木聚糖合酶复合物来合成木聚糖主链。通过免疫共沉淀分离得到的小麦TaGT43-4、TaGT47-13和TaGT75-4蛋白复合物可以合成GAX(Zeng et al., 2010)。单子叶植物芦笋(*Asparagus officinalis*)中AoIRX9、AoIRX10和AoIRX14A也被证实通过形成复合物参与木聚糖合成,若复合物中缺失某个蛋白,木聚糖合成将受阻(Zeng et al., 2010)。但其它家族蛋白之间的协作关系尚不明确。最后,结构复杂的木聚糖可能还存在一些未知的合成基因,需要深入解析其生物合成调控机制。木聚糖在不同植物中的含量不同,结构也有差异,它们与其它细胞壁组分的交联变化会影响细胞壁的性质,以上问题均有待深入研究。

根据已经解析的木聚糖结构,我们发现木聚糖的结构比较复杂,不同物种、不同组织中的木聚糖结构可能存在差异,在研究木聚糖的生物合成及应用时,不能忽略木聚糖的结构差异。目前,对聚糖大小、序列、分支和连接的表征往往依赖于质谱和核磁共振成像技术,需要对这些间接的信息进行整合以重建聚糖结构(Lundborg et al., 2011)。近年来,将质量选择和软着陆电喷雾离子束沉积及低温扫描隧道显微镜成像相结合的亚纳米真空成像技术,可对多种寡糖在亚纳米分辨率下可视化,直接观察其分子的连接方式,为研究糖类的结构和功能提供了新的手段(Wu et al., 2020)。在今后的研究中,若能将遗传分析、生化分析与先进的显微技术相结合,从多角度理解木聚糖的结构、合成和功能,将会取得更大进展。

参考文献

- 刘妍,邱爽,陈浩,庞晓晗,辰巳英三,殷丽君(2015). 玉米纤维胶的制备和特性研究进展. 中国食物与营养 21(6), 33–37.
- 秦丽霞,张德静,李龙,李学宝,许文亮(2011). 参与植物细胞壁半纤维素木聚糖合成的糖基转移酶. 植物生理学报 47, 831–839.
- 宋晓庆,董海洲(2004). 黑麦阿拉伯木聚糖的结构、性质与营养功能. 中国食物与营养 (2), 28–29, 58.
- 张雨,赵明洁,张蔚(2020). 植物次生细胞壁生物合成的转录调控网络. 植物学报 55, 351–368.
- Anders N, Wilkinson MD, Lovegrove A, Freeman J, Tryfona T, Pellny TK, Weimar T, Mortimer JC, Stott K, Baker

- JM, Defoin-Platel M, Shewry PR, Dupree P, Mitchell RA** (2012). Glycosyl transferases in family 61 mediate arabinofuranosyl transfer onto xylan in grasses. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, 989–993.
- Bar-Peled M, O'Neill MA** (2011). Plant nucleotide sugar formation, interconversion, and salvage by sugar recycling. *Annu Rev Plant Biol* **62**, 127–155.
- Bartley LE, Peck ML, Kim SR, Ebert B, Manisseri C, Chiniquy DM, Sykes R, Gao LF, Rautengarten C, Vega-Sánchez ME, Benke PI, Canlas PE, Cao PJ, Brewer S, Lin F, Smith WL, Zhang XH, Keasling JD, Jentoff RE, Foster SB, Zhou JZ, Ziebell A, An G, Scheller HV, Ronald PC** (2013). Overexpression of a BAHD acyltransferase, OsAT10, alters rice cell wall hydroxycinnamic acid content and saccharification. *Plant Physiol* **161**, 1615–1633.
- Biswal AK, Atmodjo MA, Pattathil S, Amos RA, Yang XH, Winkeler K, Collins C, Mohanty SS, Ryno D, Tan L, Gelineo-Albersheim I, Hunt K, Sykes RW, Turner GB, Ziebell A, Davis MF, Decker SR, Hahn MG, Mohnen D** (2018). Working towards recalcitrance mechanisms: increased xylan and homogalacturonan production by overexpression of *GalacturonosylTransferase12* (*GAUT-12*) causes increased recalcitrance and decreased growth in *Populus*. *Biotechnol Biofuels* **11**, 9.
- Biswal AK, Hao ZY, Pattathil S, Yang XH, Winkeler K, Collins C, Mohanty SS, Richardson EA, Gelineo-Albersheim I, Hunt K, Ryno D, Sykes RW, Turner GB, Ziebell A, Gjersing E, Lukowitz W, Davis MF, Decker SR, Hahn MG, Mohnen D** (2015). Downregulation of *GAUT12* in *Populus deltoides* by RNA silencing results in reduced recalcitrance, increased growth and reduced xylan and pectin in a woody biofuel feedstock. *Biotechnol Biofuels* **8**, 41.
- Bromley JR, Busse-Wicher M, Tryfona T, Mortimer JC, Zhang ZN, Brown DM, Dupree P** (2013). GUX1 and GUX2 glucuronyltransferases decorate distinct domains of glucuronoxylan with different substitution patterns. *Plant J* **74**, 423–434.
- Brown D, Wightman R, Zhang ZN, Gomez LD, Atanassov I, Bukowski JP, Tryfona T, McQueen-Mason SJ, Dupree P, Turner S** (2011). *Arabidopsis* genes *IRREGULAR XYLEM* (*IRX15*) and *IRX15L* encode DUF579-containing proteins that are essential for normal xylan deposition in the secondary cell wall. *Plant J* **66**, 401–413.
- Brown DM, Goubet F, Wong VW, Goodacre R, Stephens E, Dupree P, Turner SR** (2007). Comparison of five xylan synthesis mutants reveals new insight into the mechanisms of xylan synthesis. *Plant J* **52**, 1154–1168.
- Brown DM, Zhang ZN, Stephens E, Dupree P, Turner SR** (2009). Characterization of *IRX10* and *IRX10-like* reveals an essential role in glucuronoxylan biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant J* **57**, 732–746.
- Broxterman SE, Schols HA** (2018). Characterisation of pectin-xylan complexes in tomato primary plant cell walls. *Carbohydr Polym* **197**, 269–276.
- Bryant ND, Pu YQ, Tschaplinski TJ, Tuskan GA, Muchero W, Kalluri UC, Yoo CG, Ragauskas AJ** (2020). Transgenic poplar designed for biofuels. *Trends Plant Sci* **25**, 881–896.
- Buanafina MMD, Fescemyer HW, Sharma M, Shearer EA** (2016). Functional testing of a PF02458 homologue of putative rice arabinoxylan feruloyl transferase genes in *Brachypodium distachyon*. *Planta* **243**, 659–674.
- Burget EG, Verma R, Mølhøj M, Reiter WD** (2003). The biosynthesis of L-arabinose in plants: molecular cloning and characterization of a Golgi-localized UDP-D-xylose 4-epimerase encoded by the *MUR4* gene of *Arabidopsis*. *Plant Cell* **15**, 523–531.
- Busse-Wicher M, Li A, Silveira RL, Pereira CS, Tryfona T, Gomes TCF, Skaf MS, Dupree P** (2016). Evolution of xylan substitution patterns in gymnosperms and angiosperms: implications for xylan interaction with cellulose. *Plant Physiol* **171**, 2418–2431.
- Chen F, Guo YJ, Chen L, Gan XL, Liu M, Li J, Xu WL** (2020). Global identification of genes associated with xylan biosynthesis in cotton fiber. *J Cotton Res* **3**, 25.
- Chen XW, Vega-Sánchez ME, Verhertbruggen Y, Chiniquy D, Canlas PE, Fagerström A, Prak L, Christensen U, Oikawa A, Chern M, Zuo SM, Lin F, Auer M, Willats WGT, Bartley L, Harholt J, Scheller HV, Ronald PC** (2013). Inactivation of *OsIRX10* leads to decreased xylan content in rice culm cell walls and improved biomass saccharification. *Mol Plant* **6**, 570–573.
- Chiniquy D, Sharma V, Schultink A, Baidoo EE, Rautengarten C, Cheng K, Carroll A, Ulvskov P, Harholt J, Keasling JD, Pauly M, Scheller HV, Ronald PC** (2012). XAX1 from glycosyltransferase family 61 mediates xylosyltransfer to rice xylan. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, 17117–17122.
- Crowe JD, Hao PC, Pattathil S, Pan H, Ding SY, Hodge DB, Jensen JK** (2021). Xylan is critical for proper bundling and alignment of cellulose microfibrils in plant secondary cell walls. *Front Plant Sci* **12**, 737690.

- De Carvalho DM, Marchand C, Berglund J, Lindström ME, Vilaplana F, Sevastyanova O (2020). Impact of birch xylan composition and structure on film formation and properties. *Holzforschung* **74**, 184–196.
- De Souza WR, Martins PK, Freeman J, Pellny TK, Michaelson LV, Sampaio BL, Vinecky F, Ribeiro AP, Da Cunha BADB, Kobayashi AK, De Oliveira PA, Campanha RB, Pacheco TF, Martarello DCI, Marchiosi R, Ferrarese-Filho O, Dos Santos WD, Tramontina R, Squina FM, Centeno DC, Gaspar M, Braga MR, Tiné MAS, Ralph J, Mitchell RAC, Molinari HBC (2018). Suppression of a single *BAHD* gene in *Setaria viridis* causes large, stable decreases in cell wall feruloylation and increases biomass digestibility. *New Phytol* **218**, 81–93.
- De Souza WR, Pacheco TF, Duarte KE, Sampaio BL, De Oliveira Molinari PA, Martins PK, Santiago TR, Formighieri EF, Vinecky F, Ribeiro AP, Da Cunha BADB, Kobayashi AK, Mitchell RAC, De Sousa Rodrigues Gambetta D, Molinari HBC (2019). Silencing of a *BAHD* acyltransferase in sugarcane increases biomass digestibility. *Biotechnol Biofuels* **12**, 111.
- Deniaud E, Quemener B, Fleurence J, Lahaye M (2003). Structural studies of the mix-linked $\beta(1\rightarrow3)/\beta(1\rightarrow4)$ -D-xylans from the cell wall of *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *Int J Biol Macromol* **33**, 9–18.
- Feijao C, Morreel K, Anders N, Tryfona T, Busse-Wicher M, Kotake T, Boerjan W, Dupree P (2022). Hydroxycinnamic acid-modified xylan side chains and their cross-linking products in rice cell walls are reduced in the *Xylosyl arabinosyl substitution of xylan 1* mutant. *Plant J* **109**, 1152–1167.
- Freeman J, Lovegrove A, Wilkinson MD, Saulnier L, Shewry PR, Mitchell RAC (2016). Effect of suppression of arabinoxylan synthetic genes in wheat endosperm on chain length of arabinoxylan and extract viscosity. *Plant Biotechnol J* **14**, 109–116.
- Gao DW, Sun WQ, Wang DW, Dong HL, Zhang R, Yu SB (2020a). A xylan glucuronosyltransferase gene exhibits pleiotropic effects on cellular composition and leaf development in rice. *Sci Rep* **10**, 3726.
- Gao Y, Lipton AS, Wittmer Y, Murray DT, Mortimer JC (2020b). A grass-specific cellulose-xylan interaction dominates in sorghum secondary cell walls. *Nat Commun* **11**, 6081.
- Gao YP, He CW, Zhang DM, Liu XL, Xu ZP, Tian YB, Liu XH, Zang SS, Pauly M, Zhou YH, Zhang BC (2017). Two trichome birefringence-like proteins mediate xylan acetylation, which is essential for leaf blight resistance in rice. *Plant Physiol* **173**, 470–481.
- Gille S, Pauly M (2012). O-acetylation of plant cell wall polysaccharides. *Front Plant Sci* **3**, 12.
- Grantham NJ, Wurman-Rodrich J, Terrett OM, Lyczakowski JJ, Stott K, Iuga D, Simmons TJ, Durand-Tardif M, Brown SP, Dupree R, Busse-Wicher M, Dupree P (2017). An even pattern of xylan substitution is critical for interaction with cellulose in plant cell walls. *Nat Plants* **3**, 859–865.
- Haghighat M, Teng Q, Zhong RQ, Ye ZH (2016). Evolutionary conservation of xylan biosynthetic genes in *Selaginella moellendorffii* and *Physcomitrella patens*. *Plant Cell Physiol* **57**, 1707–1719.
- Hatfield RD, Rancour DM, Marita JM (2017). Grass cell walls: a story of cross-linking. *Front Plant Sci* **7**, 2056.
- He JB, Zhao XH, Du PZ, Zeng W, Beahan CT, Wang YQ, Li HL, Bacic A, Wu AM (2018). KNAT7 positively regulates xylan biosynthesis by directly activating *IRX9* expression in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol* **60**, 514–528.
- Hörnblad E, Ulfstedt M, Ronne H, Marchant A (2013). Partial functional conservation of *IRX10* homologs in *Physcomitrella patens* and *Arabidopsis thaliana* indicates an evolutionary step contributing to vascular formation in land plants. *BMC Plant Biol* **13**, 3.
- Hu RB, Li JL, Wang XY, Zhao X, Yang XW, Tang Q, He G, Zhou GK, Kong YZ (2016a). Xylan synthesized by *irregular xylem 14 (IRX14)* maintains the structure of seed coat mucilage in *Arabidopsis*. *J Exp Bot* **67**, 1243–1257.
- Hu RB, Li JL, Yang XW, Zhao X, Wang XY, Tang Q, He G, Zhou GK, Kong YZ (2016b). Irregular xylem 7 (*IRX7*) is required for anchoring seed coat mucilage in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* **92**, 25–38.
- Huang JF, Chen F, Guo YJ, Gan XL, Yang MM, Zeng W, Persson S, Li J, Xu WL (2021). GhMYB7 promotes secondary wall cellulose deposition in cotton fibres by regulating *GhCesA* gene expression through three distinct *cis*-elements. *New Phytol* **232**, 1718–1737.
- Huang JF, Guo YJ, Sun QW, Zeng W, Li J, Li XB, Xu WL (2019). Genome-wide identification of R2R3-MYB transcription factors regulating secondary cell wall thickening in cotton fiber development. *Plant Cell Physiol* **60**, 687–701.
- Jensen JK, Busse-Wicher M, Poulsen CP, Fangel JU, Smith PJ, Yang JY, Peña MJ, Dinesen MH, Martens HJ, Melkonian M, Wong GKS, Moremen KW, Wilkerson CG, Scheller HV, Dupree P, Ulvskov P, Urbanowicz

- cz BR, Harholt J** (2018). Identification of an algal xylan synthase indicates that there is functional orthology between algal and plant cell wall biosynthesis. *New Phytol* **218**, 1049–1060.
- Jensen JK, Johnson N, Wilkerson CG** (2013). Discovery of diversity in xylan biosynthetic genes by transcriptional profiling of a heteroxylan containing mucilaginous tissue. *Front Plant Sci* **4**, 183.
- Jensen JK, Johnson NR, Wilkerson CG** (2014). *Arabidopsis thaliana* IRX10 and two related proteins from psyllium and *Physcomitrella patens* are xylan xylosyltransferases. *Plant J* **80**, 207–215.
- Jensen JK, Kim H, Cocuron JC, Orler R, Ralph J, Wilkerson CG** (2011). The DUF579 domain containing proteins IRX15 and IRX15-L affect xylan synthesis in *Arabidopsis*. *Plant J* **66**, 387–400.
- Jiang N, Wiemels RE, Soya A, Whitley R, Held M, Faik A** (2016). Composition, assembly, and trafficking of a wheat xylan synthase complex. *Plant Physiol* **170**, 1999–2023.
- Kang X, Kirui A, Widanage MCD, Mentink-Vigier F, Cosgrove DJ, Wang T** (2019). Lignin-polysaccharide interactions in plant secondary cell walls revealed by solid-state NMR. *Nat Commun* **10**, 347.
- Kim WC, Kim JY, Ko JH, Kang H, Han KH** (2014). Identification of direct targets of transcription factor MYB46 provides insights into the transcriptional regulation of secondary wall biosynthesis. *Plant Mol Biol* **85**, 589–599.
- Kuang BQ, Zhao XH, Zhou C, Zeng W, Ren JL, Ebert B, Beahan CT, Deng XM, Zeng QY, Zhou GK, Doblin MS, Heazlewood JL, Bacic A, Chen XY, Wu AM** (2016). Role of UDP-glucuronic acid decarboxylase in xylan biosynthesis in *Arabidopsis*. *Mol Plant* **9**, 1119–1131.
- Kulkarni AR, Peña MJ, Avci U, Mazumder K, Urbanowicz BR, Pattathil S, Yin YB, O'Neill MA, Roberts AW, Hahn MG, Xu Y, Darvill AG, York WS** (2012). The ability of land plants to synthesize glucuronoxylans predates the evolution of tracheophytes. *Glycobiology* **22**, 439–451.
- Kumar M, Campbell L, Turner S** (2016). Secondary cell walls: biosynthesis and manipulation. *J Exp Bot* **67**, 515–531.
- Lee C, Teng Q, Huang WL, Zhong RQ, Ye ZH** (2009a). Down-regulation of PoGT47C expression in poplar results in a reduced glucuronoxylan content and an increased wood digestibility by cellulase. *Plant Cell Physiol* **50**, 1075–1089.
- Lee C, Teng Q, Huang WL, Zhong RQ, Ye ZH** (2009b). The F8H glycosyltransferase is a functional paralog of FRA8 involved in glucuronoxylan biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* **50**, 812–827.
- Lee C, Teng Q, Huang WL, Zhong RQ, Ye ZH** (2009c). The poplar GT8E and GT8F glycosyltransferases are functional orthologs of *Arabidopsis* PARVUS involved in glucuronoxylan biosynthesis. *Plant Cell Physiol* **50**, 1982–1987.
- Lee C, Teng Q, Zhong RQ, Ye ZH** (2011a). The four *Arabidopsis* REDUCED WALL ACETYLATION genes are expressed in secondary wall-containing cells and required for the acetylation of xylan. *Plant Cell Physiol* **52**, 1289–1301.
- Lee C, Teng Q, Zhong RQ, Ye ZH** (2011b). Molecular dissection of xylan biosynthesis during wood formation in poplar. *Mol Plant* **4**, 730–747.
- Lee C, Teng Q, Zhong RQ, Yuan YX, Haghighat M, Ye ZH** (2012). Three *Arabidopsis* DUF579 domain-containing GXM proteins are methyltransferases catalyzing 4-O-methylation of glucuronic acid on xylan. *Plant Cell Physiol* **53**, 1934–1949.
- Lee C, Teng Q, Zhong RQ, Yuan YX, Ye ZH** (2014). Functional roles of rice glycosyltransferase family GT43 in xylan biosynthesis. *Plant Signal Behav* **9**, e27809.
- Lee C, Zhong RQ, Richardson EA, Himmelsbach DS, McPhail BT, Ye ZH** (2007). The PARVUS gene is expressed in cells undergoing secondary wall thickening and is essential for glucuronoxylan biosynthesis. *Plant Cell Physiol* **48**, 1659–1672.
- Li GT, Jones KC, Eudes A, Pidatalla VR, Sun J, Xu F, Zhang CC, Wei T, Jain R, Birdseye D, Canlas PE, Baidoo EEK, Duong PQ, Sharma MK, Singh S, Ruan DL, Keasling JD, Mortimer JC, Loqué D, Bartley LE, Scheller HV, Ronald PC** (2018). Overexpression of a rice BAHD acyltransferase gene in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) enhances saccharification. *BMC Biotechnol* **18**, 54.
- Li L, Huang JF, Qin LX, Huang YY, Zeng W, Rao Y, Li J, Li XB, Xu WL** (2014). Two cotton fiber-associated glycosyltransferases, GhGT43A1 and GhGT43C1, function in hemicellulose glucuronoxylan biosynthesis during plant development. *Physiol Plant* **152**, 367–379.
- Li QZ, Min DY, Wang JPY, Peszlen I, Horvath L, Horvath B, Nishimura Y, Jameel H, Chang HM, Chiang VL** (2011). Down-regulation of glycosyltransferase 8D genes in *Populus trichocarpa* caused reduced mechanical strength and xylan content in wood. *Tree Physiol* **31**, 226–236.
- Lundborg M, Fontana C, Widmalm G** (2011). Automatic structure determination of regular polysaccharides based

- solely on NMR spectroscopy. *Biomacromolecules* **12**, 3851–3855.
- Lunin VV, Wang HT, Bharadwaj VS, Alahuhta M, Peña MJ, Yang JY, Archer-Hartmann SA, Azadi P, Himmel ME, Moremen KW, York WS, Bomble YJ, Urbanowicz BR (2020). Molecular mechanism of polysaccharide acetylation by the *Arabidopsis* xylan O-acetyltransferase XOA T1. *Plant Cell* **32**, 2367–2382.
- Lyczakowski JJ, Wicher KB, Terrett OM, Faria-Blanc N, Yu XL, Brown D, Krogh KBRM, Dupree P, Busse-Wicher M (2017). Removal of glucuronic acid from xylan is a strategy to improve the conversion of plant biomass to sugars for bioenergy. *Biotechnol Biofuels* **10**, 224.
- Manabe Y, Verherbruggen Y, Gille S, Harholt J, Chong SL, Pawar PMA, Mellerowicz EJ, Tenkanen M, Cheng K, Pauly M, Scheller HV (2013). REDUCED WALL ACETYLATION proteins play vital and distinct roles in cell wall O-acetylation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **163**, 1107–1117.
- McCleary BV, McKie VA, Draga A, Rooney E, Mangan D, Larkin J (2015). Hydrolysis of wheat flour arabinoxylan, acid-debranched wheat flour arabinoxylan and arabinoxyloligosaccharides by β -xylanase, α -L-arabinofuranosidase and β -xylosidase. *Carbohydr Res* **407**, 79–96.
- Meents MJ, Motani S, Mansfield SD, Samuels AL (2019). Organization of xylan production in the Golgi during secondary cell wall biosynthesis. *Plant Physiol* **181**, 527–546.
- Meents MJ, Watanabe Y, Samuels AL (2018). The cell biology of secondary cell wall biosynthesis. *Ann Bot* **121**, 1107–1125.
- Mota TR, De Souza WR, Oliveira DM, Martins PK, Sampaio BL, Vinecky F, Ribeiro AP, Duarte KE, Pacheco TF, Monteiro NDV, Campanha RB, Marchiosi R, Vieira DS, Kobayashi AK, Molinari PAD, Ferrarese-Filho O, Mitchell RAC, Molinari HBC, Dos Santos WD (2021). Suppression of a BAHD acyltransferase decreases *p*-coumaroyl on arabinoxylan and improves biomass digestibility in the model grass *Setaria viridis*. *Plant J* **105**, 136–150.
- Nakano Y, Yamaguchi M, Endo H, Rejab NA, Ohtani M (2015). NAC-MYB-based transcriptional regulation of secondary cell wall biosynthesis in land plants. *Front Plant Sci* **6**, 288.
- Oliveira DM, Mota TR, Salatta FV, Marchiosi R, Gomez LD, McQueen-Mason SJ, Ferrarese-Filho O, Dos Santos WD (2019). Designing xylan for improved sustainable biofuel production. *Plant Biotechnol J* **17**, 2225–2227.
- Pawar PMA, Derba-Maceluch M, Chong SL, Gandla ML, Bashar SS, Sparrman T, Ahvenainen P, Hedenström M, Özparpucu M, Rüggeberg M, Serimaa R, Lawoko M, Tenkanen M, Jönsson LJ, Mellerowicz EJ (2017). *In muro* deacetylation of xylan affects lignin properties and improves saccharification of aspen wood. *Biotechnol Biofuels* **10**, 98.
- Pawar PMA, Koutaniemi S, Tenkanen M, Mellerowicz EJ (2013). Acetylation of woody lignocellulose: significance and regulation. *Front Plant Sci* **4**, 118.
- Pellny TK, Lovegrove A, Freeman J, Tosi P, Love CG, Knox JP, Shewry PR, Mitchell RAC (2012). Cell walls of developing wheat starch endosperm: comparison of composition and RNA-seq transcriptome. *Plant Physiol* **158**, 612–627.
- Pellny TK, Patil A, Wood AJ, Freeman J, Halsey K, Plummer A, Kosik O, Temple H, Collins JD, Dupree P, Berry S, Shewry PR, Lovegrove A, Phillips AL, Mitchell RAC (2020). Loss of *TaIRX9b* gene function in wheat decreases chain length and amount of arabinoxylan in grain but increases cross-linking. *Plant Biotechnol J* **18**, 2316–2327.
- Peña MJ, Kulkarni AR, Backe J, Boyd M, O'Neill MA, York WS (2016). Structural diversity of xylans in the cell walls of monocots. *Planta* **244**, 589–606.
- Peña MJ, Zhong RQ, Zhou GK, Richardson EA, O'Neill MA, Darvill AG, York WS, Ye ZH (2007). *Arabidopsis irregular xylem 8* and *irregular xylem 9*: implications for the complexity of glucuronoxylan biosynthesis. *Plant Cell* **19**, 549–563.
- Petrik DL, Tryfona T, Dupree P, Anderson CT (2020). BdGT43B2 functions in xylan biosynthesis and is essential for seedling survival in *Brachypodium distachyon*. *Plant Direct* **4**, e00216.
- Phan JL, Tucker MR, Khor SF, Shirley N, Lahnstein J, Beahan C, Bacic A, Burton RA (2016). Differences in glycosyltransferase family 61 accompany variation in seed coat mucilage composition in *Plantago* spp. *J Exp Bot* **67**, 6481–6495.
- Qaseem MF, Wu AM (2020). Balanced xylan acetylation is the key regulator of plant growth and development, and cell wall structure and for industrial utilization. *Int J Mol Sci* **21**, 7875.
- Ralet MC, Crepeau MJ, Vigouroux J, Tran J, Berger A, Salle C, Granier F, Botran L, North HM (2016). Xylans provide the structural driving force for mucilage adhesion

- to the *Arabidopsis* seed coat. *Plant Physiol* **171**, 165–178.
- Ratke C, Pawar PMA, Balasubramanian VK, Naumann M, Duncranz ML, Derba-Maceluch M, Gorzsás A, Endo S, Ezcurra I, Mellerowicz EJ** (2015). *Populus* GT43 family members group into distinct sets required for primary and secondary wall xylan biosynthesis and include useful promoters for wood modification. *Plant Biotechnol J* **13**, 26–37.
- Ratke C, Terebieniec BK, Winstrand S, Derba-Maceluch M, Grahn T, Schiffthaler B, Ulvcróna T, Özparpucu M, Rüggeberg M, Lundqvist SO, Street NR, Jönsson LJ, Mellerowicz EJ** (2018). Downregulating aspen xylan biosynthetic GT43 genes in developing wood stimulates growth via reprogramming of the transcriptome. *New Phytol* **219**, 230–245.
- Rautengarten C, Birdseye D, Pattathil S, McFarlane HE, Saez-Aguayo S, Orellana A, Persson S, Hahn MG, Scheller HV, Heazlewood JL, Ebert B** (2017). The elaborate route for UDP-arabinose delivery into the Golgi of plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**, 4261–4266.
- Rennie EA, Hansen SF, Baidoo EEK, Hadi MZ, Keasling JD, Scheller HV** (2012). Three members of the *Arabidopsis* glycosyltransferase family 8 are xylan glucuronosyltransferases. *Plant Physiol* **159**, 1408–1417.
- Rennie EA, Scheller HV** (2014). Xylan biosynthesis. *Curr Opin Biotechnol* **26**, 100–107.
- Ruan N, Dang ZJ, Wang MH, Cao LY, Wang Y, Liu ST, Tang YJ, Huang YW, Zhang Q, Xu Q, Chen WF, Li FC** (2022). *FRAGILE CULM 18* encodes a UDP-glucuronic acid decarboxylase required for xylan biosynthesis and plant growth in rice. *J Exp Bot* **73**, 2320–2335.
- Saez-Aguayo S, Rautengarten C, Temple H, Sanhueza D, Ejsmentewicz T, Sandoval-Ibañez O, Doñas D, Parra-Rojas JP, Ebert B, Lehner A, Mollet JC, Dupree P, Scheller HV, Heazlewood JL, Reyes FC, Orellana A** (2017). UAT1 is a Golgi-localized UDP-uronic acid transporter that modulates the polysaccharide composition of *Arabidopsis* seed mucilage. *Plant Cell* **29**, 129–143.
- Schultink A, Naylor D, Dama M, Pauly M** (2015). The role of the plant-specific ALTERED XYLOGLUCAN 9 protein in *Arabidopsis* cell wall polysaccharide O-acetylation. *Plant Physiol* **167**, 1271–1283.
- Smith PJ, Wang HT, York WS, Peña MJ, Urbanowicz BR** (2017). Designer biomass for next-generation biorefineries: leveraging recent insights into xylan structure and biosynthesis. *Biotechnol Biofuels* **10**, 286.
- Song DL, Gui JS, Liu CC, Sun JY, Li LG** (2016). Suppression of *PtrDUF579-3* expression causes structural changes of the glucuronoxylan in *Populus*. *Front Plant Sci* **7**, 493.
- Tan L, Eberhard S, Pattathil S, Warder C, Glushka J, Yuan CH, Hao ZY, Zhu X, Avci U, Miller JS, Baldwin D, Pham C, Orlando R, Darvill A, Hahn MG, Kieliszewski MJ, Mohnen D** (2013). An *Arabidopsis* cell wall proteoglycan consists of pectin and arabinoxylan covalently linked to an arabinogalactan protein. *Plant Cell* **25**, 270–287.
- Teleman A, Lundqvist J, Tjerneld F, Stålbrand H, Dahlman O** (2000). Characterization of acetylated 4-O-methylglucuronoxylan isolated from aspen employing ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy. *Carbohydr Res* **329**, 807–815.
- Terrett OM, Dupree P** (2019). Covalent interactions between lignin and hemicelluloses in plant secondary cell walls. *Curr Opin Biotechnol* **56**, 97–104.
- Tucker MR, Ma C, Phan J, Neumann K, Shirley NJ, Hahn MG, Cozzolino D, Burton RA** (2017). Dissecting the genetic basis for seed coat mucilage heteroxylan biosynthesis in *Plantago ovata* using gamma irradiation and infrared spectroscopy. *Front Plant Sci* **8**, 326.
- Urbanowicz BR, Peña MJ, Moniz HA, Moremen KW, York WS** (2014). Two *Arabidopsis* proteins synthesize acetylated xylan *in vitro*. *Plant J* **80**, 197–206.
- Urbanowicz BR, Peña MJ, Ratnaparkhe S, Avci U, Backe J, Steet HF, Foston M, Li HJ, O'Neill MA, Ragauskas AJ, Darvill AG, Wyman C, Gilbert HJ, York WS** (2012). 4-O-methylation of glucuronic acid in *Arabidopsis* glucuronoxylan is catalyzed by a domain of unknown function family 579 protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, 14253–14258.
- Verbruggen MA, Spronk BA, Schols HA, Beldman G, Voragen AGJ, Thomas JR, Kamerling JP, Vliegenthart JFG** (1998). Structures of enzymically derived oligosaccharides from sorghum glucuronoarabinoxylan. *Carbohydr Res* **306**, 265–274.
- Wang H, Yang HL, Wen Z, Gao CX, Gao YH, Tian YB, Xu ZP, Liu XL, Persson S, Zhang BC, Zhou YH** (2022). Xylan-based nanocompartments orchestrate plant vessel wall patterning. *Nat Plants* **8**, 295–306.
- Wang YP, Xu Y, Pei SQ, Lu MM, Kong YZ, Zhou GK, Hu RB** (2020). KNAT7 regulates xylan biosynthesis in *Arabidopsis* seed-coat mucilage. *J Exp Bot* **71**, 4125–4139.
- Whitehead C, Garrido FJO, Raymond M, Simister R, Distelfeld A, Atienza SG, Piston F, Gomez LD, McQueen-Mason SJ** (2018). A glycosyl transferase family 43 protein involved in xylan biosynthesis is associated with straw digestibility in *Brachypodium distachyon*. *New Phytol* **218**,

- 974–985.
- Wilkinson MD, Kosik O, Halsey K, Walpole H, Evans J, Wood AJ, Ward JL, Mitchell RAC, Lovegrove A, Shewry PR** (2021). RNAi suppression of xylan synthase genes in wheat starchy endosperm. *PLoS One* **16**, e0256350.
- Wu AM, Rihouey C, Seveno M, Hörnblad E, Singh SK, Matsunaga T, Ishii T, Lerouge P, Marchant A** (2009). The *Arabidopsis* IRX10 and IRX10-LIKE glycosyltransferases are critical for glucuronoxylan biosynthesis during secondary cell wall formation. *Plant J* **57**, 718–731.
- Wu X, Delbianco M, Anggara K, Michnowicz T, Pardo-Vargas A, Bharate P, Sen S, Pristl M, Rauschenbach S, Schlickum U, Abb S, Seeberger PH, Kern K** (2020). Imaging single glycans. *Nature* **582**, 375–378.
- Xiong GY, Cheng K, Pauly M** (2013). Xylan O-acetylation impacts xylem development and enzymatic recalcitrance as indicated by the *Arabidopsis* mutant *tbl29*. *Mol Plant* **6**, 1373–1375.
- Yuan YX, Teng Q, Zhong RQ, Ye ZH** (2013). The *Arabidopsis* DUF231 domain-containing protein ESK1 mediates 2-O- and 3-O-acetylation of xylosyl residues in xylan. *Plant Cell Physiol* **54**, 1186–1199.
- Yuan YX, Teng Q, Zhong RQ, Ye ZH** (2016a). Roles of *Arabidopsis* TBL34 and TBL35 in xylan acetylation and plant growth. *Plant Sci* **243**, 120–130.
- Yuan YX, Teng Q, Zhong RQ, Ye ZH** (2016b). TBL3 and TBL31, two *Arabidopsis* DUF231 domain proteins, are required for 3-O-monoacetylation of xylan. *Plant Cell Physiol* **57**, 35–45.
- Zeng W, Jiang N, Nadella R, Killen TL, Nadella V, Faik A** (2010). A glucurono (arabino) xylan synthase complex from wheat contains members of the GT43, GT47, and GT75 families and functions cooperatively. *Plant Physiol* **154**, 78–97.
- Zeng W, Lampugnani ER, Picard KL, Song LL, Wu AM, Farion IM, Zhao J, Ford K, Doblin MS, Bacic A** (2016). Asparagus IRX9, IRX10, and IRX14A are components of an active xylan backbone synthase complex that forms in the Golgi apparatus. *Plant Physiol* **171**, 93–109.
- Zhang BC, Gao YH, Zhang LJ, Zhou YH** (2021). The plant cell wall: biosynthesis, construction, and functions. *J Integr Plant Biol* **63**, 251–272.
- Zhang BC, Zhang LJ, Li F, Zhang DM, Liu XL, Wang H, Xu ZP, Chu CC, Zhou YH** (2017). Control of secondary cell wall patterning involves xylan deacetylation by a GD-SL esterase. *Nat Plants* **3**, 17017.
- Zhang LJ, Gao CX, Mentink-Vigier F, Tang L, Zhang DM, Wang SG, Cao SX, Xu ZP, Liu XL, Wang T, Zhou YH, Zhang BC** (2019). Arabinosyl deacetylase modulates the arabinoxylan acetylation profile and secondary wall formation. *Plant Cell* **31**, 1113–1126.
- Zhao XH, Liu N, Shang N, Zeng W, Ebert B, Rautengarten C, Zeng QY, Li HL, Chen XY, Beahan C, Bacic A, Heazlewood JL, Wu AM** (2018). Three UDP-xylose transporters participate in xylan biosynthesis by conveying cytosolic UDP-xylose into the Golgi lumen in *Arabidopsis*. *J Exp Bot* **69**, 1125–1134.
- Zhong RQ, Cui DT, Dasher RL, Ye ZH** (2018a). Biochemical characterization of rice xylan O-acetyltransferases. *Planta* **247**, 1489–1498.
- Zhong RQ, Cui DT, Phillips DR, Sims NT, Ye ZH** (2021). Functional analysis of GT61 glycosyltransferases from grass species in xylan substitutions. *Planta* **254**, 131.
- Zhong RQ, Cui DT, Phillips DR, Ye ZH** (2018b). A novel rice xylosyltransferase catalyzes the addition of 2-O-xylosyl side chains onto the xylan backbone. *Plant Cell Physiol* **59**, 554–565.
- Zhong RQ, Cui DT, Ye ZH** (2017a). Regiospecific acetylation of xylan is mediated by a group of DUF231-containing O-acetyltransferases. *Plant Cell Physiol* **58**, 2126–2138.
- Zhong RQ, Cui DT, Ye ZH** (2018c). A group of *Populus trichocarpa* DUF231 proteins exhibit differential O-acetyltransferase activities toward xylan. *PLoS One* **13**, e0194532.
- Zhong RQ, Cui DT, Ye ZH** (2018d). Xyloglucan O-acetyltransferases from *Arabidopsis thaliana* and *Populus trichocarpa* catalyze acetylation of fucosylated galactose residues on xyloglucan side chains. *Planta* **248**, 1159–1171.
- Zhong RQ, Cui DT, Ye ZH** (2019). Secondary cell wall biosynthesis. *New Phytol* **221**, 1703–1723.
- Zhong RQ, Lee C, Ye ZH** (2010). Global analysis of direct targets of secondary wall NAC master switches in *Arabidopsis*. *Mol Plant* **3**, 1087–1103.
- Zhong RQ, Peña MJ, Zhou GK, Nairn CJ, Wood-Jones A, Richardson EA, Morrison III WH, Darvill AG, York WS, Ye ZH** (2005). *Arabidopsis* FRAGILE FIBER 8, which encodes a putative glucuronyltransferase, is essential for normal secondary wall synthesis. *Plant Cell* **17**, 3390–3408.
- Zhong RQ, Teng Q, Haghighat M, Yuan YX, Furey ST, Dasher RL, Ye ZH** (2017b). Cytosol-localized UDP-xylose synthases provide the major source of UDP-xylose for the biosynthesis of xylan and xyloglucan. *Plant Cell Physiol*

siol **58**, 156–174.

Zhong RQ, Ye ZH (2012). MYB46 and MYB83 bind to the SMRE sites and directly activate a suite of transcription factors and secondary wall biosynthetic genes. *Plant Cell Physiol* **53**, 368–380.

Zhou GK, Zhong RQ, Himmelsbach DS, McPhail BT, Ye ZH (2007). Molecular characterization of PoGT8D and

PoGT43B, two secondary wall-associated glycosyltransferases in poplar. *Plant Cell Physiol* **48**, 689–699.

Zhou GK, Zhong RQ, Richardson EA, Morrison III WH, Nairn CJ, Wood-Jones A, Ye ZH (2006). The poplar glycosyltransferase GT47C is functionally conserved with *Arabidopsis Fragile Fiber 8*. *Plant Cell Physiol* **47**, 1229–1240.

The Biosynthesis of Plant Cell Wall Xylan and Its Application

YanJun Guo¹, Feng Chen¹, Jingwen Luo¹, Wei Zeng², Wenliang Xu^{1*}

¹Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology, School of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430079, China; ²State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, College of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China

Abstract Xylan is a major component of hemicellulose that widely present in the cell walls of various types of plants and is essential for the growth and development of plants. Many studies have shown that the content and structure of xylan in the cell wall have a significant impact on the processing characteristics of biomass. Hence, understanding the mechanism of xylan biosynthesis will enable us to modify the cell wall through genetic engineering. During last decade, many genes involved in xylan biosynthesis have been characterized in the model plant *Arabidopsis* and some important grain and cash crops. This article reviews these recent findings and discusses the potential applications of xylan biosynthesis genes in biomass energy and related fields.

Key words cell wall, xylan, biosynthesis, genetic improvement

Guo YJ, Chen F, Luo JW, Zeng W, Xu WL (2023). The biosynthesis of plant cell wall xylan and its application. *Chin Bull Bot* **58**, 316–334.

* Author for correspondence. E-mail: wenliangxu@ccnu.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)