

· 特邀综述 ·

植物糖生物学研究进展

尹恒, 王文霞, 赵小明*, 杜昱光*

中国科学院大连化学物理研究所辽宁省碳水化合物重点实验室, 大连 116023

摘要 自1988年糖生物学概念提出以来, 国内外科学家在动物、微生物领域取得了大量的研究成果, 但植物糖生物学的研究进展较慢, 目前少见系统的专著或综述。该文围绕植物正常生长时糖信号、逆境时糖信号、糖蛋白及其糖链、重要糖基转移酶及植物凝集素等植物糖生物学的主要问题, 全面阐述植物糖生物学的各个研究分支, 并介绍各领域的最新研究进展。提出了植物糖生物学的概念, 并将其定义为研究植物与糖类互作机制及植物体内糖(糖链与糖分子)结构及生物学功能的科学。

关键词 糖蛋白, 糖基转移酶, 凝集素, 植物糖生物学, 糖信号

尹恒, 王文霞, 赵小明, 杜昱光 (2010). 植物糖生物学研究进展. 植物学报 45, 521–529.

糖类是生物体的重要组成成分, 在自然界中分布广泛, 含量丰富。但直到20世纪上半叶, 糖类仍被视为是缺乏生物特异性的一类惰性化合物, 只是作为代谢能量来源或充当结构保护材料(如植物细胞壁和昆虫的外壳), 在生物体内功能较少。由于糖类物质结构复杂、糖链分析技术缺乏, 科学家们对其研究关注不多, 使得糖类的研究远远落后于另2种生物大分子——核酸和蛋白质。

20世纪70年代以来, 随着糖链解析技术水平的提高以及分子生物学的发展, 尤其是人、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 等模式生物基因组测序的完成, 围绕糖类物质的研究工作日渐增多。越来越多的证据表明, 糖类物质全面参与了生物的生殖发育、生长、应激等过程, 是很多生理和病理过程中分子识别的决定因素。最初, 这些围绕糖的研究工作被认为是糖化学的一个分支, 但很快其中大量的生物学工作远远超出了糖化学的范畴, 因此科学家们提出了糖生物学的概念, 而随着研究内容的进一步深入, 糖生物学也不能完全涵盖糖在生物领域的最新研究进展。1988年, 生化领域的著名杂志《生物化学年评》发表了英国牛津大学 Rademacher 等人题为“糖生物学 (Glycobiology)”的一篇综述文章 (Rademacher et al., 1988), 标志着糖生物学这一学科的正式诞生。此后,

围绕着糖链结构及糖的生物学功能, 科学家们在糖链与疾病的关系、天然产物中糖的分离提纯以及功能糖的制备与应用等方面进行了大量的工作, 取得了一定进展。2001年, *Science* 杂志汇编了 Hurlley 等人的7篇综述和6篇简介, 以《灰姑娘的马车来了》为题编辑了一期“糖和糖生物学”专辑, 对糖生物学最新的研究成果及前景进行了综述和展望, 从而将糖生物学的研究推向了一个新的高度 (Hurlley et al., 2001)。2006年, *Nature* 杂志也推出了糖化学与糖生物学的专辑, 全面介绍了糖生物学领域的研究进展。我国糖生物学的开展与国际接轨较快, 1995年金城等人将糖生物学概念引入中国 (金城和张树政, 1995), 此后, 我国科学家在糖生物合成和糖链功能解析等领域取得了一定进展。

广义糖生物学的含义是: 研究自然界中广泛分布的糖(糖链或聚糖)的结构、生物合成和生物学意义。但有关糖类结构和生物合成的研究也是已有学科糖化学和糖生物化学的主要研究内容之一, 所以糖生物学研究和讨论的对象更多地聚焦在一些重要的功能糖、生物体内糖缀合物的生物学功能上。实际上, 糖生物学的研究焦点是糖类和其它分子的关系, 有一种观点认为, 蛋白质和糖类的相互作用是糖生物学的基础 (王克夷, 2009)。目前糖生物学的工作多围绕动物、

收稿日期: 2010-01-18; 接受日期: 2010-03-23

基金项目: 863 计划 (No.2006AA10A213, No.2007AA091601) 和中国科学院知识创新工程重要方向项目 (No. KSCX2-YW-G-041)

* 通讯作者。E-mail: zxm@dicp.ac.cn; dyguang@gmail.com

微生物展开,从1988年到2009年12月底,在Web of Science上可查阅到与糖生物学相关的文献968篇,而其中与植物相关的文献仅有80篇(第1篇文章发表于1993年,图1),目前关于植物糖生物学(Plant Glycobiology)尚无系统的专著或综述文章问世。本实验室从1996年以来,持续开展植物糖生物学方面的研究工作。本文依据实验室的前期工作基础,结合查阅到的相关文献报道,以研究方向为纲,对植物糖生物学进行简要的介绍,希望能够抛砖引玉,吸引更多相关领域的专家进军植物糖生物学,共同开拓“生物化学中最后一个重大前沿领域”(1993年首届“糖工程”会议上,著名糖生物学家、会议主持人Hart语)(张树政,1999)。

1 植物正常发育过程中的单糖信号

植物通过光合作用将太阳能转化成化学能,并将二氧化碳和水转化为单糖,单糖在此过程中作为呼吸底物为植物生长发育提供能量和代谢中间产物。近年来研究发现葡萄糖等单糖在植物体内除了提供能量外,还可作为信号分子,通过调节相关基因的表达和酶的活性,在植物生命过程中起重要调控作用(王玉华等,2004; Hanson and Smeekens, 2009)。如在种子萌发时,己糖信号可通过调控细胞分裂加快胚发育速度(Riou-Khamlichi et al., 2000);在种苗发育早期,葡萄糖信号通过己糖激酶1与生长素、脱落酸和乙烯等植物激素协同作用(Rolland et al., 2006),从而抑制植物下胚轴伸长、子叶绿化、子叶伸展和枝条发育。在成年植物的生长期,糖信号可调控植物的器官形成

和叶片形态(Hanson et al., 2001)。糖信号也涉及植物的生殖,研究发现提高拟南芥地上部分的蔗糖含量可以加快其在黑暗条件下的开花,这种控制是通过调控花分生组织特异基因的表达来实现的(Ohto et al., 2001)。

2 植物在逆境时的糖信号

植物细胞与动物细胞的最显著区别在于其具有一层细胞壁,细胞壁成分的90%左右为多糖,这些多糖主要是纤维素、半纤维素和果胶类,构成这些多糖的单糖单元主要有 β -D-葡萄糖、半乳糖醛酸、甘露糖和阿拉伯糖等。细胞壁作为植物的第1道防御层,在植物应对外界生物和非生物胁迫时起到重要的作用,而糖类是实现其主要功能的主要因子。在病原菌与植物的相互作用过程中,一系列糖基水解酶活力被激发,将病原菌与植物细胞壁上的多糖降解为寡糖片段,而极微量的寡糖就可以激发植物产生强烈的抗病反应(图2)。针对寡糖的这些功效,Albersheim在1985年首次提出了寡糖素(oligosaccharins)概念,认为某些有生物活性的寡糖能够刺激植物的系统反应,具有调控植物生长、发育、繁殖和免疫等方面的功能(Albersheim and Darvill, 1985)。

研究发现寡糖素对数十种作物上的百余种病害有很好的防治效果,最新研究表明其主要是通过激活植物自身免疫从而实现抗性,本实验室提出了寡糖植物疫苗的概念(赵小明和杜昱光,2008)。寡糖植物疫苗在植物中的作用机制大致如下:糖信号通过膜上的识别受体转入胞内,经过质膜蛋白的可逆磷酸化、离

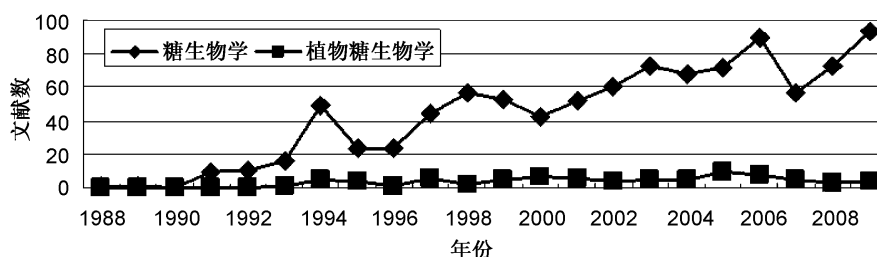


图1 基于Web of Science的糖生物学文献统计

Figure 1 Statistics of glycobiology literatures based on Web of Science

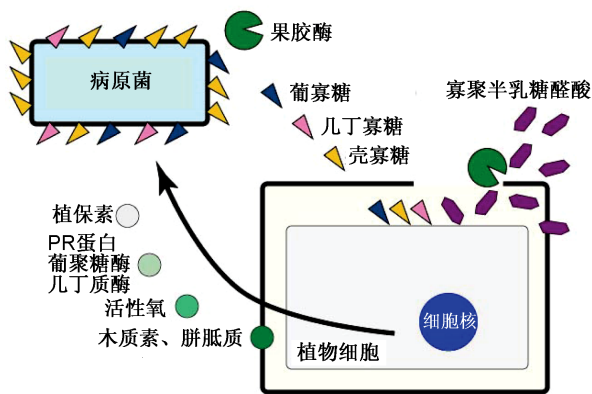


图2 植物与病原菌互作中产生的寡糖素信号(http://www.gak.co.jp/FCCA/glycoword/SA-A01/SA-A01_E.html)

Figure 2 Oligosaccharide signaling in plant-pathogen interactions (http://www.gak.co.jp/FCCA/glycoword/SA-A01/SA-A01_E.html)

子通道变化、质膜去极化、活性氧和一氧化氮爆发、植物激素(水杨酸、茉莉酸、乙烯等)产生、丝裂原活化蛋白激酶信号通路激活等一系列信号转导和放大过程,调控相关防卫基因的表达,促进抗性次生代谢产物积累,诱导抗性反应产生,从而最终有效地抵抗病原物侵染(Garcia-Brugger et al., 2006)。

在此基础上,科学家们还发现,许多糖类物质具有促进植物生长、提高产品品质和抵御自然灾害(如冷冻、干旱)的功效。如来源于海带中的海藻酸及其寡糖在白菜、烟草等多种作物上有良好的促进生长作用。最新的研究发现,来源于海洋虾蟹壳的壳寡糖用于苹果、梨、芒果和葡萄等水果时,具有良好的抗冻、保花护果及改善品质的效果。这些寡糖类物质因为其绿色天然、安全高效和环境友好等特点,被认为是一种新型的农用制剂,在我国的绿色农业生产中将发挥重要作用。

在根瘤菌与豆科植物的互作过程中存在一种特殊的糖类信号——结瘤因子(nod factor)。结瘤因子是根瘤菌在宿主植物根系分泌的类黄酮的作用下合成并分泌的脂几丁寡糖(lipochito-oligosaccharide)信号分子,一般由一个3–5个N-乙酰氨基葡萄糖组成的糖骨架及其非还原端C₂上的一条脂肪酸链构成,在根

瘤菌与植物的共生固氮过程中起重要作用。结瘤因子被植物中的特定受体“结瘤因子结合蛋白”识别(Geurts and Bisseling, 2002),再激活Ca²⁺介导的信号转导途径,最终诱导宿主植物根毛变形、皮层细胞分裂及结瘤素基因表达等一系列反应从而实现功能(Geurts et al., 2005)。结瘤因子上几丁寡糖骨架的长度、脂肪酸的结构以及还原端和非还原端的化学修饰都会影响结瘤因子的活性(D'Haese and Holsters, 2002),这也说明了糖信号的复杂性和特异性。

3 植物糖蛋白

生物体内有1/3以上的蛋白质是糖蛋白,糖蛋白功能是目前动物糖生物学研究中最活跃的领域。糖蛋白被定义为由糖链与蛋白质分子共价相连构成的一类复合物,这些糖链被称为寡糖链(oligosaccharide chain)或聚糖(glycan),由少则1个、多则数百个糖基连成。构成植物糖蛋白的主要糖基有半乳糖、N-乙酰氨基葡萄糖、甘露糖、阿拉伯糖和木糖等。

植物糖蛋白广泛存在于细胞壁、细胞膜和细胞质中,包括许多酶、凝集素、结构蛋白质、贮藏蛋白质以及受体,在植物的种子萌发、幼苗生长、生殖和应激等生命过程中均起重要的作用。目前已鉴定得到多个重要的植物糖蛋白家族,如富含羟脯氨酸糖蛋白(与植物诱抗相关)和阿拉伯半乳糖蛋白(在被子植物受精过程中起作用)等。尤其是细胞表面糖蛋白,往往是最先接受外界信号的受体,负责细胞与外界的信息交换,所以科学家们更重视细胞表面糖蛋白的功能研究。2006年,日本的Shibuya实验室鉴定得到了几丁寡糖在水稻(*Oryza sativa*)质膜上的受体蛋白CEBiP,结构分析表明此受体是一个具有11个糖基化位点的糖蛋白,电泳分析显示CEBiP由35 kDa的蛋白质和40 kDa的糖链组成(Kaku et al., 2006)。而其它一些激发子鞭毛蛋白等的受体也是糖蛋白(Chinchilla et al., 2006)。

糖蛋白中蛋白质是生理功能的主要担负者,而糖链则对蛋白质的功能起辅助修饰作用,糖链对蛋白质功能的主要影响实际上是通过影响蛋白质的整体构象实现的。糖蛋白中糖链的作用有2大类:分子内的作用(如蛋白质的正确折叠、细胞内定位等)和分子间的作用(如细胞粘附和结合病原体等)。研究发现糖链

结构组成的微小差异也会导致其功能的显著差异,糖链功能与其单糖组成和数目、排列顺序和构型、糖链的长短及连接位置均有紧密联系。但糖链的结构复杂(如由3个不同核苷酸残基或3个不同氨基酸残基组成的直链分子只有6种可能的序列,而由3个己糖基组成的聚糖,其可能的序列有1 056–27 648种),研究难度很大;而且同样结构的糖链连接在不同蛋白上其功能不同;即使是在同一个蛋白上,其在生物体的不同部位和不同的发育阶段也有不同的功能。因而对于植物糖蛋白上各类糖链的特定功能,目前还没有发现较好的规律,对糖链的生物学作用仍只能逐个单独研究。另外,植物糖蛋白上糖链的结构分析也是植物糖生物学的一个重要研究分支,目前通常使用高效液相色谱(HPLC)和质谱串联技术进行糖链结构解析,首先通过对糖链进行柱前衍生带上紫外或荧光基团后经由HPLC分离,得到纯化的糖链样品后再利用电喷雾质谱或飞行质谱进行结构解析(王仲孚等, 2006)。但由于植物体系比较复杂,对植物中糖蛋白糖链的结构解析与功能研究报道很少(Seveno et al., 2008)。日本的Kimura实验室在此方面进行了大量的工作,1997年,他们结合荧光标记、高效排阻液相色谱和离子喷雾串联质谱等多种手段鉴定了大豆(*Glycine max*)种子中8个贮藏蛋白质上的糖链结构,此后,科学家们仅对烟草(*Nicotiana tabacum*)、花生(*Arachis hypogaea*)和番茄(*Lycopersicon esculentum*)等植物中的少数糖蛋白成功进行了糖链结构解析(Kimura et al., 2008)。值得一提的是,1995年,我国上海有机化学研究所的田庚元研究员也曾利用全水解和部分酸水解、甲基化分析、CC、CC/MS、 ^1H 和 ^{12}C -NMR等方法解析了枸杞子(*Lycium barbarum*)中糖蛋白的糖链结构(田庚元等, 1995)。

4 糖基转移酶

糖蛋白是通过蛋白质的糖基化组装实现的,而糖基化过程则通过多种糖基转移酶完成——在肽链合成的同时或合成后,在糖基转移酶的催化下,糖链被连接到肽链的特定糖基化位点上。糖基转移酶具有高度的底物专一性,即同时对糖基的供体和受体具有专一性。对糖基转移酶进行研究,是糖基化研究的第一步,有助于了解蛋白质上的寡糖链,为揭示糖链及糖蛋白

功能奠定基础。因此,对糖基转移酶的研究成为糖生物学的一个重要分支,而由于其研究手段相对较多,也是目前糖生物学中开展最好的研究领域。下文简要介绍几类重要的糖基转移酶。

4.1 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶(N-acetylglucosaminyl-transferase, GnT)

糖蛋白中糖链通过还原端的N-乙酰氨基葡萄糖(GlcNAc)以 β -1,4糖苷键与蛋白质肽链上Asn-XXX-Ser/Thr序列(XXX为除脯氨酸以外的氨基酸)中Asn残基上的氨基(-NH₂)相连,被称为N-糖链。真核细胞中N-糖链的合成途径高度保守,其第1步合成由GnT完成。1999年,Strasser等依据动物GnT保守区序列设计简并引物,从烟草文库中分离到编码GnT的基因GnTI(Strasser et al., 1999),这也是植物中第1个被鉴定的GnT基因。随后利用同样的方法从拟南芥、马铃薯(*Solanum tuberosum*)中分离和鉴定出一系列GnT基因,这些基因与动物GnT基因均有较高的序列相似性。后续研究发现GnTI定位于植物的内质网和高尔基体(Saint-Jore-Dupas et al., 2006),而减弱了GnTI活力的植株并不对其下游的其它糖基转移酶活力构成影响(Strasser et al., 2004),说明植物体内具有GnTI的功能类似物。

4.2 多肽N-乙酰氨基半乳糖转移酶(polypeptide-N-acetylgalactosaminyltransferase, ppGalNAc)

O-连接糖链有多种形式,在动物中研究最深入的是O-乙酰氨基半乳糖(O-GalNAc)连接糖链,该糖链通过还原端的N-乙酰氨基半乳糖(GalNAc)以 β -1,4糖苷键与蛋白质肽链上Ser或Thr的氧原子连接。ppGalNAc催化O-GalNAc连接糖链合成的第1步,将UDP-GalNAc上的GalNAc基团转移至多肽链上特定序列中的Ser或Thr的羟基上,从而合成GalNAc-O-Ser/Thr糖蛋白片段。但植物中与O-GalNAc连接糖链相关的研究十分罕见,仅有2篇报道:1999年Kishimoto等人报道水稻的谷蛋白中含有O-GalNAc连接糖链(Kishimoto et al., 1999);最近Kilcoyne等(2009)发现在醇溶的水稻蛋白中也存在O-GalNAc连接的糖蛋白,但尚未鉴定出此蛋白质。目前研究者尚未得到植物中的任何ppGalNAc基因,这也将是今后开展植物糖生物学研究的一个较好切入点。

4.3 O-乙酰氨基葡萄糖糖基转移酶(O-GlcNAc transferase, OGT)

与前述2种糖基化多发生在内质网和高尔基体不同,近年来在细胞核和细胞质中发现存在另一种O连接N-乙酰氨基葡萄糖糖基化(O-GlcNAc)过程。O-GlcNAc糖基化修饰在细胞内分布广泛,指通过OGT将单个N-GlcNAc添加到蛋白质的Ser或Thr残基上。这种作用与蛋白磷酸化作用类似,O-GlcNAc修饰很可能通过改变蛋白的细微结构或形成空间位阻从而抑制该肽链临近位置的磷酸化,从而共同参与转录调控、信号转导等生命活动。这种被称作“阴阳调控”的关系在全细胞水平和特定蛋白的特定位点上都已得到验证(Hart et al., 1995)。

美国明尼苏达大学的Olszewski研究组长期从事植物中OGT酶的研究工作。1996年他们首先从拟南芥中克隆得到了植物中的第1个OGT基因——*SPINDLY(SPY)*(Jacobsen et al., 1996)。*SPY*与动物的OGT具有较高的同源性,含有34肽重复序列,由作为信号域的TRP结构域和催化功能域2部分组成。*SPY*蛋白在植物细胞质与细胞核部位都有出现,但大部分出现在后者,而它不具有明显的核定位信号,因此与其它具有核定位信号的蛋白相互作用可能是*SPY*定位于细胞核的原因。在此之后,大麦(*Hordeum vulgare*)、矮牵牛(*Petunia hybrida*)、番茄和水稻中的OGT基因也被陆续发现,它们与拟南芥*SPY*均具有较高同源性,说明O-GlcNAc修饰在植物中极度保守。最初研究认为,*SPY*仅在赤霉素信号途径中起负调控因子的作用,但后续研究发现,*SPY*还可影响植物中的脱落酸、油菜素内酯等信号通路(Shimada et al., 2006),并调控拟南芥中的活性氧爆发(Cao et al., 2006)。表明植物OGT不仅在植物发育过程中起作用,它还涉及植物抗性反应。而*SPY*的RNAi植株呈现致死性(Hartweck et al., 2002),进一步说明了O-GlcNAc糖基化在植物生理活动中的重要性。

4.4 植物小分子糖苷糖基转移酶

除了将糖转移到肽链上,在植物体中,糖基转移酶还可将糖基转运到激素和脂类等小分子上。这类反应的功能包括改变代谢物的水溶性、稳定性、运输特性、结合特性、调控亚细胞定位以及消解有害代谢物或环

境化合物毒性等(Wang, 2009)。目前已经从植物中鉴定出数十种具有此种功能的糖基转移酶。

植物中小分子糖苷的糖基化影响到植物的全部生命过程,在植物激素调控、次生代谢、信号转导和防卫反应等领域都起到重要的作用。尤其是其对植物激素的修饰,起到了控制激素平衡的重要作用。在植物体内除乙烯外,其余激素的糖基化衍生物均已被发现,这些糖苷物被认为在植物体内起到了激素库的作用(Gachon et al., 2005)。我国山东大学的侯丙凯教授在此领域取得了丰硕的成果,2004年他们发现拟南芥中的细胞分裂素可被糖基转移酶在不同位点修饰形成无活性的N-糖苷细胞分裂素和O-糖苷细胞分裂素;前者是细胞分裂素的永久失活形式,后者是细胞分裂素的贮藏形式,在一定条件下可通过去糖基化而恢复细胞分裂素活性(Hou et al., 2004)。对植物中小分子化合物的糖基化及相关糖基转移酶的研究将有助于了解植物体内激素的平衡模式从而拓宽我们对植物生命活动的了解。

5 凝集素

凝集素是一类具有高度特异性糖结合活性的糖蛋白,动物和微生物的凝集素被认为是糖信号的“解密器”,在动物先天免疫、细胞周期调节等过程中起作用。植物凝集素存在于许多植物的种子和营养器官中。1888年,第1个植物凝集素在蓖麻籽中被发现,之后多种植物凝集素不断被发现。到目前为止,已经发现了1 000多种不同的植物凝集素。植物凝集素被定义为至少具有1个可与糖分子特异可逆结合的非催化结构域的植物蛋白,但一般凝集素上都有多个与糖链结合的位点,植物凝集素具有较高的同源性,可通过保守区域比对筛选找到新的凝集素(Shridhar et al., 2009)。凝集素在结合糖的过程中,表面局部结构的构象会有所变化,这种变化有利于其识别并结合外界糖信号。根据凝集素专一识别糖类的不同,可以大致分为6个组别:岩藻糖组、半乳糖/N-乙酰半乳糖胺组、N-乙酰葡萄糖胺组、甘露糖组、唾液酸组和复合糖组。与其它糖蛋白类似,凝集素的功能是通过其分子中肽链的活性部位,即专一结合糖的区域(CRD)实现的;而与凝集素上的糖链关系不大,糖链主要起到维持凝集素构型的作用。

由于植物凝集素广泛存在于植物的不同组织器官及各个发育阶段,同时有特定的糖结合专一性,因此,凝集素在植物中的生理功能是多种多样的。较一致的意见是凝集素的糖结合活性及其专一性决定了它们的功能。因为植物凝集素对许多外源多糖有明显的结合作用,最初人们多研究其外源作用:毒性凝集素可以起到防御食草动物和昆虫侵蚀的作用,被侵蚀后,植物凝集素就会从植物的受害细胞中释放出来,进入危害者的消化系统,与特定的糖结合引发毒性,抑制动物及昆虫的生长繁殖甚至致死(Vandenborre et al., 2009)。同样,植物凝集素可通过与病原菌的细胞壁结合抑制病原菌的生长(如几丁凝集素可与真菌细胞壁的几丁质结合),从而起到抗病的作用;此类凝集素基因可被转入相应植物中,构建抗病虫害转基因品系(Ye et al., 2009),为高效农业奠定基础。此外,植物凝集素还参与植物与外界真菌的共生作用,如豆科植物根部的凝集素可参与对Rhizobium的识别和结合,在固氮过程中起重要作用(Laus et al., 2006)。

后来人们认识到植物凝集素不仅对外源信号起作用,在植物体内也有丰富的生理功能。凝集素可以与植物的贮存蛋白结合,调控其降解过程;凝集素还可以与糖基水解酶和磷酸酶结合并影响它们的活性(Rudiger and Gabius, 2001),这个现象说明凝集素可以调节植物体内的代谢及信号转导,其作用领域远比人们预想的要更为广泛。最新研究发现在植物中还具有一类含有凝集素结构域(lectin domain)的激酶,这类蛋白同时具有糖结合和磷酸化的功能,在植物的生长和应激过程中具有重要作用(Bouwmeester and Govers, 2009)。更为有趣的是,凝集素还参与了对植物蛋白糖基化的调节。中国科学院植物研究所种康研究组发现小麦(*Triticum aestivum*)春化过程中其总蛋白的O-GlcNAc糖基化水平显著提高,而凝集素VER2通过磷酸化对此O-GlcNAc糖基化过程进行调控(Xing et al., 2009)。此工作涉及植物糖生物学的2个方面(蛋白糖基化与凝集素),权威的生物学文献评价网站F1000Biology的述评认为此文对揭示植物的春化作用机制具有重要意义(<http://f1000biology.com/article/id/1163821/evaluation>)。

除上述作用外,因为凝集素具有与糖类专一性结合的特性,可作为糖类物质的探针分子广泛应用于糖生物学研究。凝集素可简单用于糖的鉴定;也可被

用于亲和色谱及毛细管电泳中进行糖的分离;还可利用凝集素与糖链的亲合力研制生物传感器(Yang et al., 2006)。最近,有研究者将凝集素固定化制作成微阵列芯片,可高通量地检测整个细胞表面所表达的糖基类型(Wu et al., 2009)。

6 现状与展望

虽然糖类物质结构复杂,研究难度较大,但自从1988年糖生物学概念提出以来,糖生物学的研究已在世界各国引起了高度的关注并取得了令人惊喜的进展。日本的“糖工程前沿计划”、美国的“功能糖组学”等大规模研究计划纷纷上马;英国牛津大学糖生物学研究所等优秀科研机构脱颖而出;创办了Glycobiology等优秀的专业期刊;还形成了3个每年固定召开的学术会议——戈登糖生物学年会、糖生物学年会和糖复合物研讨会(第22届会议将于2011年在我国大连召开)。

目前糖生物学大部分的研究成果是在动物和微生物上获得的,在植物糖生物学领域研究工作还不够深入,有很多问题尚未解决。但随着糖生物学概念的深入和推广,随着科研人员的重视,我们相信植物糖生物学的研究将迎来高速发展时期。依据上文介绍的研究进展,我们将植物糖生物学定义为研究植物与糖类互作机制及植物体内糖(糖链与糖分子)结构与生物学功能的科学。从重要性及可行性出发,笔者认为现阶段植物糖生物学的研究重点有以下3方面:糖信号网络中关键节点的寻找,植物糖蛋白上糖链的结构及功能解析和植物糖基转移酶的鉴定及功能研究。由于糖类物质在自然界的广泛存在性及糖基化在植物体内的普遍性,植物糖生物学是全面揭示植物生命活动的重要研究领域,希望更多的科研工作者能投身于此,推动我国植物糖生物学研究工作,力争在国际上抢占学术领先地位。

致谢 作者尹恒的部分工作受到植物病虫害生物学国家重点实验室开放基金(No.SK12010OP16)的资助;中国科学院上海生物化学研究所王克夷研究员审阅本文,并提出了许多中肯的建议,在此一并表示感谢。

参考文献

金城,张树政 (1995). 糖生物学与糖工程的兴起与前景. 生物

- 工程进展 **3**, 12–17.
- 田庚元, 王晨, 冯宇澄 (1995). 枸杞子糖蛋白的分离纯化、物化性质及糖肽键特征. *生物化学与生物物理学报* **2**, 201–206.
- 王克夷 (2009). 糖生物学和糖组学. *生命的化学* (3), 4–10.
- 王玉华, 杨清, 陈敏 (2004). 植物糖感知和糖信号传导. *植物学通报* **21**, 273–279.
- 王仲孚, 贺建宇, 尉亚辉, 黄琳娟 (2006). 用于寡糖链分析的 HPLC 柱前衍生化方法研究进展. *有机化学* **5**, 592–598.
- 张树政 (1999). 糖生物学: 生命科学中的新前沿. *生命的化学* (3), 3–7.
- 赵小明, 杜昱光 (2008). 寡糖激发植物免疫及寡糖植物疫苗的研究进展. 见: 邱德文主编. *植物免疫与植物疫苗—研究与实践*. 北京: 科学出版社. pp. 48–66.
- Albersheim P, Darvill AG (1985). Oligosaccharins: novel molecules that can regulate growth, development, reproduction, and defense against disease in plants. *Sci Am* **253**, 58–64.
- Bouwmeester K, Govers F (2009). Arabidopsis L-type lectin receptor kinases: phylogeny, classification, and expression profiles. *J Exp Bot* **60**, 4383–4396.
- Cao SQ, Ye M, Huang Q, Zhang RX (2006). A role for SPINDLY gene in the regulation of oxidative stress response in Arabidopsis. *Russ J Plant Physiol* **53**, 541–547.
- Chinchilla D, Bauer Z, Regenass M, Boller T, Felix G (2006). The Arabidopsis receptor kinase FLS2 binds flg22 and determines the specificity of flagellin perception. *Plant Cell* **18**, 465–476.
- D'Haese W, Holsters M (2002). Nod factor structures, responses, and perception during initiation of nodule development. *Glycobiology* **12**, R79–R105.
- Gachon CMM, Langlois-Meurinne M, Saindrenan P (2005). Plant secondary metabolism glycosyltransferases: the emerging functional analysis. *Trends Plant Sci* **10**, 542–549.
- Garcia-Brugger A, Lamotte O, Vandelle E, Bourque S, Lecourieux D, Poinssot B, Wendehenne D, Pugin A (2006). Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. *Mol Plant Microbe Interact* **19**, 711–724.
- Geurts R, Bisseling T (2002). Rhizobium nod factor perception and signaling. *Plant Cell* **14**, S239–S249.
- Geurts R, Fedorova E, Bisseling T (2005). Nod factor signaling genes and their function in the early stages of rhizobium infection. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 346–352.
- Hanson J, Johannesson H, Engstrom P (2001). Sugar-dependent alterations in cotyledon and leaf development in transgenic plants expressing the HDZhdip gene *ATHB13*. *Plant Mol Biol* **45**, 247–262.
- Hanson J, Smeekens S (2009). Sugar perception and signaling—an update. *Curr Opin Plant Biol* **12**, 562–567.
- Hart GW, Greis KD, Dong LYD, Blomberg MA, Chou TY, Jiang MS, Roquemore EP, Snow DM, Kreppel LK, Cole RN, Comer FI, Arnold CS, Hayes BK (1995). O-linked N-acetylglucosamine: The "yin-yang" of ser/thr phosphorylation? Nuclear and cytoplasmic glycosylation. *Glycoimmunology* **376**, 115–123.
- Hartweck LM, Scott CL, Olszewski NE (2002). Two O-linked N-acetylglucosamine transferase genes of *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. have overlapping functions necessary for gamete and seed development. *Genetics* **161**, 1279–1291.
- Hou BK, Lim EK, Higgins GS, Bowles DJ (2004). N-glucosylation of cytokinins by glycosyltransferases of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* **279**, 47822–47832.
- Hurtley S, Service R, Szuromi P (2001). Cinderella's coach is ready. *Science* **291**, 2337–2337.
- Jacobsen SE, Binkowski KA, Olszewski NE (1996). SPINDLY, a tetratricopeptide repeat protein involved in gibberellin signal transduction in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 9292–9296.
- Kaku H, Nishizawa Y, Ishii-Minami N, Akimoto-Tomiyama C, Dohmae N, Takio K, Minami E, Shibuya N (2006). Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 11086–11091.
- Kilcoyne M, Shah M, Gerlach JQ, Bhavanandan V, Nagaraj V, Smith AD, Fujiyama K, Sommer U, Costello CE, Olszewski N, Joshi L (2009). O-glycosylation of protein subpopulations in alcohol-extracted rice proteins. *J Plant Physiol* **166**, 219–232.
- Kimura Y, Watanabe T, Kimura M, Maeda M, Murata Y, Fujiyama K (2008). Salt-adaptation of tobacco BY2 cells induces change in glycoform of N-glycans: enhancement of exo- and endo-glycosidase activities by salt-adaptation. *Biosci Biotechnol Biochem* **72**, 514–522.
- Kishimoto T, Watanabe M, Mitsui T, Hori H (1999). Glutelin basic subunits have a mammalian mucin-type O-linked disaccharide side chain. *Arch Biochem Biophys* **370**, 271–277.
- Laus MC, Logman TJ, Lamers GE, van Brussel AAN, Carlson RW, Kijne JW (2006). A novel polar surface polysaccharide from *Rhizobium leguminosarum* binds

- host plant lectin. *Mol Microbiol* **59**, 1704–1713.
- Ohto M, Onai K, Furukawa Y, Aoki E, Araki T, Nakamura K** (2001). Effects of sugar on vegetative development and floral transition in Arabidopsis. *Plant Physiol* **127**, 252–261.
- Rademacher TW, Parekh RB, Dwek RA** (1988). Glycobiology. *Annu Rev Biochem* **57**, 785–838.
- Riou-Khamlichi C, Menges M, Healy JMS, Murray JAH** (2000). Sugar control of the plant cell cycle: differential regulation of Arabidopsis D-type cyclin gene expression. *Mol Cell Biol* **20**, 4513–4521.
- Rolland F, Baena-Gonzalez E, Sheen J** (2006). Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annu Rev Plant Biol* **57**, 675–709.
- Rudiger H, Gabius HJ** (2001). Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconj J* **18**, 589–613.
- Saint-Jore-Dupas C, Nebenfuhr A, Boulaflous A, Follet-Gueye ML, Plasson C, Hawes C, Driouich A, Faye L, Gomord V** (2006). Plant N-glycan processing enzymes employ different targeting mechanisms for their spatial arrangement along the secretory pathway. *Plant Cell* **18**, 3182–3200.
- Seveno M, Cabrera G, Triguero A, Burel C, Leprince J, Rihouey C, Vezina LP, D'Aoust MA, Rudd PM, Royle L, Dwek RA, Harvey DJ, Lerouge P, Cremata JA, Bardor M** (2008). Plant N-glycan profiling of minute amounts of material. *Anal Biochem* **379**, 66–72.
- Shimada A, Ueguchi-Tanaka M, Sakamoto T, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Sazuka T, Ashikari M, Matsuoka M** (2006). The rice *SPINDLY* gene functions as a negative regulator of gibberellin signaling by controlling the suppressive function of the DELLA protein, SLR1, and modulating brassinosteroid synthesis. *Plant J* **48**, 390–402.
- Shridhar S, Chattopadhyay D, Yadav G** (2009). PLecDom: a program for identification and analysis of plant lectin domains. *Nucleic Acids Res* **37**, W452–W458.
- Strasser R, Altmann F, Glossl JGR, Steinkellner H** (2004). Unaltered complex N-glycan profiles in *Nicotiana benthamiana* despite drastic reduction of beta 1,2-N-acetylglucosaminyltransferase I activity. *Glycoconj J* **21**, 275–282.
- Strasser R, Mucha J, Schwihla H, Altmann F, Glossl J, Steinkellner H** (1999). Molecular cloning and characterization of cDNA coding for beta 1,2-N-acetylglucosaminyltransferase I (GlcNAc-TI) from *Nicotiana tabacum*. *Glycobiology* **9**, 779–785.
- Vandenborre G, van Damme EJM, Smagghe G** (2009). Natural products: plant lectins as important tools in controlling pest insects. In: Ishaaya I, Horowitz AR, eds. *Biorational Control of Arthropod Pests: Application and Resistance Management*. Dordrecht: Springer-Verlag. pp.163–187.
- Wang XQ** (2009). Structure, mechanism and engineering of plant natural product glycosyltransferases. *FEBS Lett* **583**, 3303–3309.
- Wu AM, Lisowska E, Duk M, Yang Z** (2009). Lectins as tools in glycoconjugate research. *Glycoconj J* **26**, 899–913.
- Xing LJ, Li J, Xu YY, Xu ZH, Chong K** (2009). Phosphorylation modification of wheat lectin VER2 is associated with vernalization-induced O-GlcNAc signaling and intracellular motility. *PLoS One* **3**, e4854. doi:10.1371/journal.pone.0004854.
- Yang SM, Chen ZC, Jin X, Lin XF** (2006). HRP biosensor based on sugar-lectin biospecific interactions for the determination of phenolic compounds. *Electrochim Acta* **52**, 200–205.
- Ye SH, Chen S, Zhang F, Wang W, Tian Q, Liu JZ, Chen F, Bao JK** (2009). Transgenic tobacco expressing zephyranthes grandiflora agglutinin confers enhanced resistance to aphids. *Appl Biochem Biotechnol* **158**, 615–630.

Research Progress in Plant Glycobiology

Heng Yin, Wenxia Wang, Xiaoming Zhao^{*}, Yuguang Du^{*}

*Liaoning Provincial Key Laboratory of Carbohydrates, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences,
Dalian 116023, China*

Abstract Abundant results on glycobiology were achieved in animal and microbe research fields after the glycobiology theory was proposed in 1988, but little progress was made in plants. Furthermore, few systematic monographs or reviews have focused on plant glycobiology. In this paper, we promote the concept of plant glycobiology, which concentrates on the plant-saccharide interaction mechanism, as well as the structure and biology function of saccharides (sugar chains or glycans). We review our results and those of others, especially the latest progress, on several aspects of plant glycobiology such as sugar signaling under normal development and stress conditions, plant glycoproteins and glycans, and plant glycosyltransferases and lectins.

Key words glycoprotein, glycosyltransferase, lectin, plant glycobiology, sugar signaling

Yin H, Wang WX, Zhao XM, Du YG (2010). Research progress in plant glycobiology. *Chin Bull Bot* **45**, 521–529.

* Author for correspondence. E-mail: zxm@dicp.ac.cn; dyguang@gmail.com