

植物谷胱甘肽S-转移酶研究进展

□郑童 (东北林业大学生命科学学院)

摘要:谷胱甘肽S-转移酶(Glutathione S-transferases,GSTs)是广泛分布于动植物、昆虫、微生物体内,由一个庞大且复杂的基因家族编码的一组多功能同工酶。GST通过参与植物的生理代谢、抵抗逆境、细胞信号传导等途径来影响植物的生长发育,随着技术的发展,关于GST的功能研究逐渐深入。本研究主要从GST参与解毒、氧化抗逆、植物的生长发育以及GST作为结合蛋白或配体起作用4个方面进行阐述,为进一步研究GST的生物性功能奠定基础。

关键词:谷胱甘肽S-转移酶 除草剂 基因

谷胱甘肽S-转移酶(GSTs)是一类具有广泛细胞功能的酶。近年来,植物GSTs由于参与作为盐碱、低温、UV-B和干旱等逆境条件下亲电性外源物质和过氧化物物的解毒作用而受到广泛关注。

GSTs是酶的一个超家族,以其在第二阶段解毒反应中的作用而闻名。研究充分报道了GST将GSH缀合到一系列外源和内源的亲电子化合物上。据研究,GST存在于包括细菌和真菌在内的所有生物体中。在植物中,已经就除草剂解毒作用对GST进行了详尽的研究,并且已经报道了该家族的特定成员在主要作物物种中提供对除草剂的耐受性。研究表明,GST保护细胞免受化学诱导的毒性,并通过催化GSH的巯基与疏水性和毒性底物中的亲电子部分之间的S-缀合提供耐受性。偶联后,偶联物被隔离到液泡中或通过特定的膜ATP依赖性泵系统从细胞中输出。

除了除草剂解毒,GST参与激素生物合成、酪氨酸降解和过氧化物分解之外,应激信号蛋白,结节功能,以及作为类黄酮结合蛋白起非催化作用的研究。近年来,已经概述了GST在不同过程中的参与,例如,细胞信号转导激酶的调节、离子通道的形成和调节、氧化还原反应和蛋白质的翻译后谷胱甘肽化。GSTs功能的多样性使其在研究基因家族的进化方面具有重要意义,并为阐明GSTs在植物发育和响应环境信号中的多重作用开辟了一条途径。

一、GST的作用

(一)GST参与解毒功能

植物GSTs因其在除草剂解毒和选择性方面的作用而受到极大关注。Phi类GST和tau类GST能够将GSH与许多亲电子除草剂结合,从而使这些外源性物质解毒。这种除草剂解毒过程在杂草中发生的速度比在作物中慢得多,这是除草剂选择性的原因。对GSH结合敏感的除草剂包括三嗪、硫代氨基甲酸酯、氯乙酰苯胺、磺酰脲和二苯醚。外源性物质或外来有机化合物的代谢解毒是各种生物体中众所周知的过程。异生素的代谢解毒一般分三步进

行:第I阶段:激活异生素以便于进一步处理。外源物质通常自由地扩散穿过质膜。一旦进入胞质溶胶,通过氧化还原酶如细胞色素P450酶氧化异生素可发生活化。对于已经含有亲电子中心的大多数除草剂来说,在GSH缀合之前通常不需要活化。第II阶段:通过与高水溶性分子结合标记(活化)异生素。这增加了溶解度,限制了跨膜移动,并允许在后续阶段进行鉴定。在植物和动物中普遍的标签是三肽谷胱甘肽,它是由GST添加的。在植物中,GST添加的如葡萄糖和丙二酸,而在动物中,如加入葡萄糖醛酸。第III阶段:标记的异生素从细胞质中消除,这在动物中通过排泄、液泡隔离以及植物中的质外体沉积发生。谷胱甘肽S-结合物(GS-X)的膜转运是由专门的ATP结合盒(ABC)转运蛋白介导的,其功能相当于GS-X泵。进入液泡后,异生物素结合物进一步代谢为一系列含硫化合物。

GST最为人所知的是谷胱甘肽(GSH)结合反应,在该反应中,它们催化还原型谷胱甘肽(GS-)巯基在化学品亲电中心的亲核攻击中和了化学物质的高反应性亲核位点和(或)增加了其水溶性,促进其从细胞中排泄。迄今为止,已证明通过结合对不同类别的杀虫剂产生耐药性,包括有机磷(OP)、拟除虫菊酯和特定杀螨剂等,基于GST的解毒也可通过脱氯化氢反应发生,其中GS-用作从底物中移除氢原子的辅因子,导致氯的消除。许多报告表明GST的脱氯化氢活性与对有机氯DDT的抗性有关。

农药除了直接毒性外,还可能由于诱导氧化应激而具有毒性,从而导致产生脂质氢过氧化物。已鉴定出许多表现出过氧化物酶活性的GST,其可能在脂质氢过氧化物的减少中发挥重要作用,从而提供间接耐药机制。最后,GSTs可能通过非催化被动结合和螯合作用产生耐药性。

(二)GST参与氧化胁迫

植物GST另一个重要功能是帮助植物抵抗氧化胁迫,具有GPOX活性的植物GSTs通过清除有机过氧化氢对抗氧化损伤。许多植物GST是多功能的,并且具有额外的GSH依赖性过氧化物酶(GPOX)活性。这些酶使用GSH作为电子供体,将膜氧化损伤后释放的脂肪酸有机氢过氧化物还原为相应的单羟基醇。

清除有机氢过氧化物可防止其降解为细胞毒性醛衍生物。拟南芥属Theta类GST AtGSTT1通常表现出高GPOX活性,但没有GSH结合活性。谷类作物的各种Phi和Tau类GST、单子叶杂草如黑草和双子叶杂草如A.thaliana发现GPOX与GSH-转移酶活性相比表现出相对较高的水平,具有不同的底物偏好性。具有高GPOX活性的Phi类GST的过表达增强了烟草幼苗对盐和冷胁迫的耐受性。具有

GPOX活性的植物GSTs目前被认为有助于在各种胁迫期间防御氧化损伤,所述胁迫包括氧化胁迫、病原体攻击、除草剂处理以及长期或严重暴露于一系列非生物胁迫。

作为内源性抗氧化剂的主要成分, γ -谷氨酰-半胱氨酰甘氨酸(GSH)通过清除自由基和还原过氧化物在植物抵抗各种胁迫的防御机制中发挥关键作用。清除系统中,GSH通过参与抗坏血酸-谷胱甘肽循环和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)循环而被氧化成其二硫化物(GSSG)。GSH和GSSG之间的平衡是维持细胞氧化还原状态所必需的,高的GSH/GSSG比值对于植物清除ROS是重要的。谷胱甘肽S转移酶(GST)是植物防御机制中调节细胞GSH/GSSG的重要酶,GST也可作为GPX发挥作用,其通过催化GSH与过氧化氢的反应直接参与ROS清除系统。

GST在植物中具有广泛的功能,包括保护细胞免受胁迫期间的氧化损伤,一系列研究表明,GST基因的表达在各种干旱胁迫下诱导的植物,包括大麦、番茄、小麦、马铃薯、胡椒和水稻等。先前在茶树中的研究报告说,干旱胁迫也诱导CsGST成员的表达,包括CsGSTU8,这意味着茶树的GST可能具有响应干旱胁迫的保守功能,与其他植物的情况相似。

ABA与谷胱甘肽转移酶一起在植物对非生物胁迫的抗性中起了关键作用。众所周知,干旱,盐度和寒冷等非生物胁迫会改变植物的ABA水平。ABA在触发植物对各种非生物胁迫的响应中作为必需的介体发挥重要作用。据报道,有几种GST与ABA信号相关,并与应激反应有关。例如,Sharma等人报道OsGSTU4响应于ABA而被诱导并且参与ABA依赖性过程,该过程为转基因植物提供胁迫耐受性。在小麦中,ABA增强了TaERF3活化的TaGST6表达,以响应盐和干旱胁迫。

在信号转导和适应性反应过程中,包括NAC、MYB、bZIP、DREB和WRKY的转录因子通常与编码酶、分子伴侣和离子/水通道的效应基因启动子结合,并直接调节它们的表达以诱导干旱条件下的适应性反应。作为编码在胁迫下参与ROS清除的酶的效应基因,已经发现GSTs直接受几种类型的转录因子调节,以响应植物的干旱胁迫,例如ERF型,bHLH型,和NAC类型。

(三)GST作为结合蛋白或配体

GST最初被称为配体蛋白,因为除了它们的酶作用外,它们还与大的亲脂分子(>400Da)结合,如胆汁酸、脂肪酸、胆红素、血红素和某些药物,这表明GST参与了这些分子在细胞水相中的储存和快速转运。一些GST也作为结合蛋白将生长素和细胞分裂素从膜上吸收再转运至受体,这也可能是一种活性调节,这些化合物与GST非催化位点结合,如玉米GST配体蛋白结合

位点主要在疏水结合位点,GST可作为配体防止这些分子在膜上或细胞内部过量积累从而使植物体受到毒害;对于类黄酮从合成位点向液泡的转运,已经提出了两种主要机制:囊泡运输介导的转运和转运蛋白介导的转运。主要证据是花青素从胞质溶胶运输到中央液泡。此外,已经提出谷胱甘肽S-转移酶(GST)参与囊泡运输和转运蛋白介导的运输,例如花青素从内质网到中央液泡的运输。

(四)GST对植物生长发育影响

GST在植物生长和发育的功能在一些研究已报告。水稻OsGSTL2在拟南芥中的异源表达促进了转基因植株的开花并提高了其对非生物胁迫的耐受性。拟南芥gstu7缺失突变体中GSTU7的功能缺失突变导致生长抑制和抗氧化反应延迟启动。有些GST在平衡细胞氧化还原态以及调控细胞程序衰老中起到作用,西红柿的Tau类GST蛋白可以通过抵抗氧化损伤的途径抑制促凋亡蛋白(Bax)诱导程序衰亡。大麦中的Tau类GST蛋白可以作为抗氧化剂参与次级代谢从而延缓植株衰老:玉米GST27的mRNA在植物衰老后期表达量显著增加表明GST27与细胞衰老有一定关系。来自其他植物的GST已被证明通过许多胁迫可变速地调节,所述胁迫包括非生物和生物应激、GSH、重金属、过氧化氢和植物激素如ABA、细胞分裂素和生长素。在拟南芥中,生长素刺激GST基因的转录水平。在作物水稻中,GSTs在生长素和细胞分裂素下差异表达。

二、展望

GST是多基因家族中的一个,其已经被详细研究并且已经因其在除草剂解毒中的作用而引人注目。虽然这个古老的基因家族已经在不同的生物体中进行了详尽的研究,但关于其序列和基因组织的现有信息仍然低估了其功能多样性。近年来生物技术的发展揭示了该同工酶家族的多种功能,但对其确切的生理作用的揭示仍存在争议。因此,了解GST基因家族的结构特点和功能多态性是必要的。

总之,GSTs不仅在除草剂耐受性方面,而且在非生物胁迫解毒方面都具有相当大的农业价值和园艺潜力。

参考文献:

[1]张元杰.江南卷柏GST基因家族的功能进化研究[D].北京:北京林业大学,2016.

