

生长素调控植物淀粉代谢的机制研究

毛雨晨

湖南农业大学, 中国·湖南 长沙 410128

摘要: 植物生长发育受多激素精细调控, 其中生长素是关键因子, 在植物生长、发育及环境响应中起重要作用。淀粉代谢是植物能量储存与利用的核心环节, 探究其调控机制对理解植物生长发育网络意义重大。本研究以拟南芥为模式生物, 综合运用前沿技术, 解析生长素调控淀粉代谢的分子机制。结果表明, YUC2 基因通过调控淀粉代谢关键基因 QQS 的表达, 显著影响淀粉代谢; 同时, 生长素信号转导途径中的 ARF1 转录因子能与 QQS 启动子上的生长素响应元件结合, 调控 QQS 表达, 进而影响淀粉代谢。本研究为植物生长发育与代谢调控网络提供了理论依据, 并为作物遗传改良及农业生产提供了新思路与新靶点。

关键词: 生长素; 淀粉代谢; YUC2 基因; ARF1 转录因子; QQS 基因

Research on the Mechanism of Auxin Regulating Starch Metabolism in Plants

Yuchen Mao

Agricultural University of Hunan, Changsha, Hunan, 410128, China

Abstract: Plant growth and development are finely regulated by multiple hormones, with auxin being a key factor. Auxin plays a crucial role in plant growth, development, and environmental responses. Starch metabolism is a core process in plant energy storage and utilization. Investigating its regulatory mechanisms is essential for understanding the plant growth and development network. This study uses *Arabidopsis thaliana* as a model organism and employs cutting-edge technologies to analyze the molecular mechanisms by which auxin regulates starch metabolism. The results show that the YUC2 gene significantly influences starch metabolism by regulating the expression of the key starch metabolism gene QQS. Additionally, the ARF1 transcription factor in the auxin signaling pathway can bind to the auxin response element on the QQS promoter, regulating QQS expression and thus affecting starch metabolism. This study provides a theoretical basis for understanding the plant growth and development and metabolic regulation network and offers new insights and targets for crop genetic improvement and agricultural production.

Keywords: auxin; starch metabolism; YUC2 gene; ARF1 transcription factor; QQS gene

0 前言

生长素是最早发现的植物激素, 参与调控植物生长发育如细胞伸长、分裂、分化等过程^[1]。淀粉是植物光合作用的主要产物之一, 也是植物储存能量的一种形式^[2]。植物白天通过光合作用将光能转化为化学能, 并以淀粉的形式储存起来, 在夜间或其他需要能量的时候有需要能量的时候, 淀粉能够分解为可用的糖类, 供给植物生理活动所需能量^[3]。同时, 淀粉代谢与植物的碳分配、生长发育过程及植物对环境变化的适应能力有密切关系^[4]。

深入揭示生长素在调控植物淀粉代谢方面的作用, 不仅有助于完善对植物激素调节机制的认识, 还为农业生产中提升作物的产量及品质提供理论指导^[5]。例如, 可以通过调控生长素信号途径来调控植物的淀粉代谢, 从而实现作物淀粉含量的增加^[6]。因此, 本研究用拟南芥做模式植物, 旨在系统地研究生长素调控植物淀粉代谢的途径。

1 材料与方法

1.1 实验材料

①植物材料: 拟南芥野生型 (WT) 种子; YUC2 突变体、ARF1 突变体等相关突变体种子由实验室前期保存或通过与其他实验室交换获得。

②菌株和载体: 大肠杆菌菌株 DH5 α 感受态用于质粒的克隆和扩增、根瘤农杆菌 GV3101 感受态用于植物的遗传转化。植物表达载体包括 pCambia1300 系列等, 以及根据实验需求构建的含有目的基因 YUC2、QQS、ARF1 等的重组表达载体。

1.2 实验方法

1.2.1 植物材料的培养与处理

将拟南芥种子用 70% 乙醇消毒 15 分钟, 再用无菌水冲洗 3~5 次, 然后均匀播种在 MS (Coolaber) 培养基 (含 2% 蔗糖和 0.7% 琼脂, pH 为 5.8) 上。随后, 4℃遮光春化 3d 后, 将 MS 固体培养基上的幼苗在 22℃的黑暗环境中生长 7d,

然后在 22℃ 的实验光照条件下处理 6/24h。

1.2.2 载体构建

YUC2 过表达载体: 采用带有 35S 强启动子与 GFP 标签的 pCambia1300 载体为骨架, 将 YUC2 基因 CDS 编码序列构建到 GFP 标签 N 端, 利用 35S 强启动子启动表达。构建的酶切位点选用 Kpn I 与 Sal I。

ARF1 过表达载体: 采用带有 35S 强启动子与 MYC 标签的 pCambia1300 载体为骨架, 将 ARF1 基因 CDS 构建到 MYC 标签的 N 端, 利用 35S 强启动子启动表达。构建的酶切位点选用 EcoR I 与 BamH I。

2 结果与分析

2.1 YUC2 基因突变体的鉴定与表型分析

我们从 ABRC 购买了 YUC2 基因对应的 T-DNA 插入突变体 YUC2 (见图 1A), 经 PCR 鉴定分析发现其为纯合突变体 (见图 1B)。对 YUC2 突变体和野生型拟南芥植株的表型观察发现 YUC2 突变体在植株形态、叶片大小和形状等方面与野生型不存在明显差异 (见图 1C)。但透射电镜结果显示, YUC2 突变体相比于野生型, 其叶绿体中淀粉颗粒显著增加 (见图 1D)。结果暗示其功能缺失可能影响叶绿体中淀粉代谢相关过程。

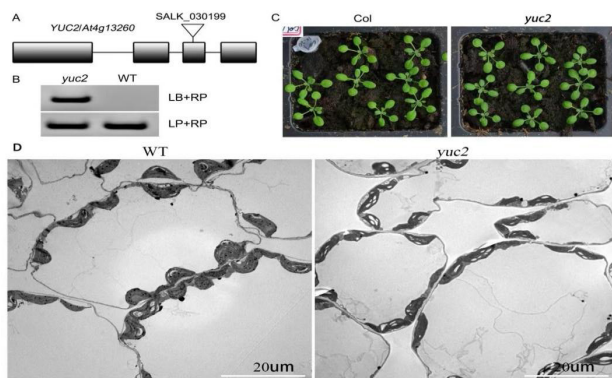


图 1 YUC2 基因突变体的鉴定及表型

A: YUC2 基因 (At4g13260) 结构示意图; B: YUC2 突变体与野生型 (WT) 蛋白质印迹结果; C: Col (野生型拟南芥生态型) 与 YUC2 突变体植株表型对比; D: WT 和 YUC2 突变体的细胞显微镜图像。

2.2 YUC2 缺失影响植物淀粉积累和淀粉代谢相关基因表达

进一步对野生型、YUC2 以及 yuc2yuc6 双突变体进行 SafraninO 及叶绿素染色 (见图 2A); 结果显示 YUC2 突变体中淀粉粒数量、大小、分布都与野生型有明显的不同, 用叶绿体电镜观察 WT 和突变体 YUC2, 结果显示 YUC2 突变体淀粉粒显著增多, 表明 YUC2 基因可能通过作用与淀粉代谢相关结构进而调控植物淀粉代谢。用热图方式分析 WT 和 YUC2 突变体多个样品中 QQS 基因表达水平 (见图 2B), 用柱状图的方式绘制 WT 和 YUC2 突变体中 QQS 基

因相对表达水平 (见图 2C); 分析说明, YUC2 突变体中 QQS 基因显著低于 WT; YUC2 突变体中 QQS 基因表达水平显著低于 WT, 在 yuc2yuc6 双突变体中, QQS 基因表达显著低于 YUC2 单突变体, 这说明 YUC2 基因可能是正调控 QQS 基因表达, 且 YUC2 基因功能缺陷导致 QQS 基因表达下调, 进而影响植物淀粉代谢。

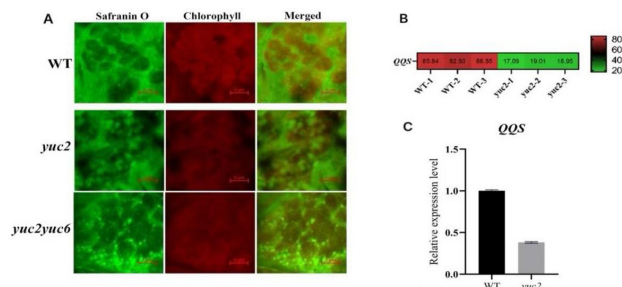


图 2 淀粉及合成代谢分析

A: WT、YUC2 突变体、yuc2yuc6 双突变体番红染色图像; B: 热图反映了不同样本中的 QQS 相关值; C: WT 和 YUC2 突变体中 QQS 的相对表达值相比柱状图。

2.3 YUC2 通过正向调控 QQS 表达调节淀粉含量

构建 35S::QQS-YUC26 和 35S::YUC2-yuc2 转基因植株, 通过染色分析 (见图 3A、3B) 发现, 通过表达 QQS 或 YUC2 基因可以部分恢复 YUC2 突变体淀粉代谢相关结构异常; 基因表达分析 (见图 3C、图 3D) 表明, 转基因植株中 QQS 基因表达量增加, 进一步印证 YUC2 通过调控 QQS 调控淀粉代谢, 表明 YUC2 基因在生长素生物合成和植物淀粉代谢调控中起重要作用, 可以通过调控 QQS 基因表达, 调控植物细胞中淀粉代谢相关结构和过程从而调控植物的整体淀粉代谢。

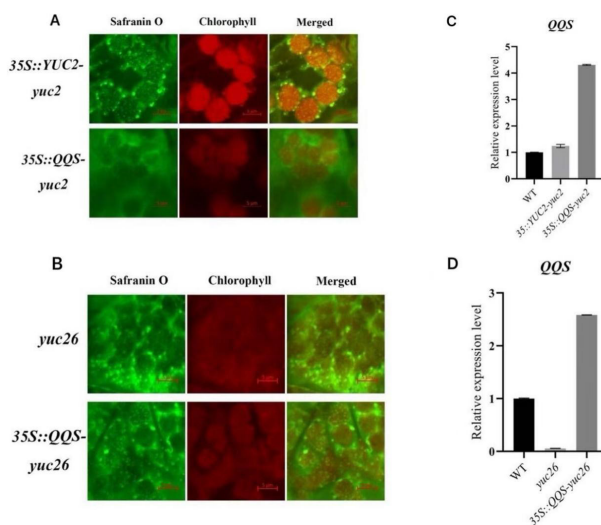


图 3 QQS 表达调节淀粉含量

A: 35S::YUC2-yuc2、35S::QQS-YUC2 转基因植株及 YUC26 突变体、35S::QQS-YUC26 转基因植株细胞番红图

像; B: 柱状图比较 WT、35S::YUC2-yuc2 和 35S::QQS-YUC2 植株中 QQS 相对表达水平; C: YUC26 和 35S::QQS-YUC26 植株细胞的番红染色图像; D: 柱状图比较 WT、YUC26 和 35S::QQS-YUC26 植株中 QQS 相对表达水平。

2.4 生长素通过信号下游转录因子 ARF1 直接调控 QQS1 基因表达

通过对 QQS 基因的启动子分析 (见图 4A) 发现, 其存在生长素响应元件 (AuxRE)。利用双荧光素酶报告基因实验 (见图 4B、4C) 表明, 当转入 35S : ARF1 效应载体时, QQSpro : LUC 报告载体荧光素酶活性明显降低, 说明 ARF1 可以抑制 QQS 基因启动子的活性, 即 ARF1 在生长素调控 QQS 基因表达的过程中起着重要作用。ARF1 突变体及相关的转基因植株 (35S : ARF1-ARF1、35S : QQS-

ARF1) 的染色分析 (见图 4D) 和基因表达分析 (见图 4E) 表明, ARF1 突变体中 QQS 基因的表达量明显高于野生型, 过表达 ARF1 (35S : ARF1-ARF1) 可以抑制 QQS 基因表达, 过表达 QQS (35S : QQS-ARF1) 会导致淀粉代谢相关的结构明显改变。这些结果表明 ARF1 通过调控 QQS 基因表达影响淀粉代谢, 且 ARF1 在生长素信号转导途径中作为负调节因子调控 QQS 基因的表达。

A: QQS 启动子区域结构及相关效应子、报告基因构建示意图; B: 柱状图比较对照组 (CK) 和 35S::ARF1 处理组相对荧光素酶活性; C: 植物组织荧光成像图及处理分布示意图; D: 35S::ARF1-ARF1、ARF1 和 35S::QQS-ARF1 植株细胞番红染色图像; E: 柱状图比较 WT、ARF1、35S::QQS-ARF1 和 α ARF1 植株中 QQS 相对表达水平。

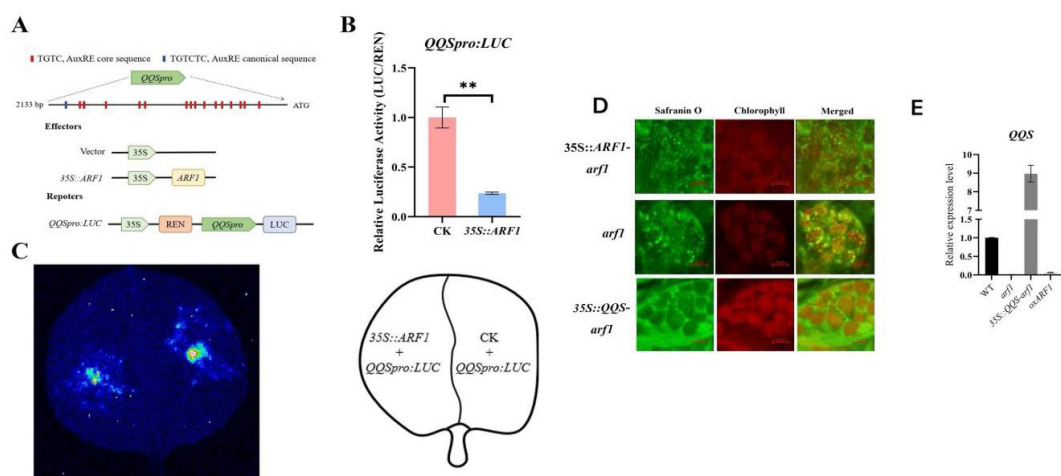


图 4 转录因子 ARF1 调控 QQS1 基因表达

3 讨论

3.1 YUC2 基因在生长素合成与淀粉代谢调控中的核心地位

本研究确定了 YUC2 基因参与生长素合成。YUC2 基因编码的黄素单加氧酶参与生长素合成途径中的色氨酸 - 吡啶 -3- 丙酮酸。YUC2 突变体中 YUC2 基因表达的缺失或抑制阻断了生长素的合成, 引起植物的表型和细胞结构改变; 另外, YUC2 基因也参与了淀粉代谢主要基因 QQS 的基因表达正调控。表明生长素合成与淀粉代谢存在关联, 即生长素合成量的变化可通过调控 QQS 基因的表达, 从而对植物细胞淀粉的合成、积累和降解作用。

3.2 ARF1 转录因子在生长素信号转导与淀粉代谢调控中的作用机制

ARF1 转录因子是生长素信号转导途径中的关键组分, 其可以和 QQS 基因启动子上的生长素响应元件结合, 抑制 QQS 基因的表达。在 ARF1 突变体中 QQS 基因的表达上调, 淀粉代谢相关的结构与过程改变, 而通过表达 ARF1 则可以抑制 QQS 基因表达, 使淀粉代谢相关的表型得以恢复。这

说明 ARF1 是生长素调控植物淀粉代谢过程中重要的信号转导及调节元件, 其介导了 QQS 基因表达的调控, 从而对植物淀粉代谢进行了精细的调控。论文在生长素对植物淀粉代谢调控机制研究方面进行了初步探究, 但是仍存在一些不足之处, 植物体内生长素对淀粉代谢的调控是一个复杂的网络, 同时受到许多因素的影响^[7]。本研究关注了 YUC2-QQS 及 ARF1-QQS 两条调控途径, 可能还存在一些没有被鉴定的基因与信号通路, 如可能存在其他生长素合成基因、转录因子或信号转导元件与 YUC2、ARF1 及 QQS 之间交互作用, 共同调控淀粉代谢, 但是尚未被鉴定研究。

4 结论

本研究利用分子生物学、细胞生物学、遗传学的实验方法技术手段以及拟南芥作为研究体系, 系统研究了生长素调节植物淀粉代谢的分子作用机制; 明确了 YUC2 基因参与了生长素的产生, 通过促进或下调淀粉代谢相关基因 QQS 的表达来调控植物淀粉代谢过程; 并证实了生长素信号转导途径的 ARF1 转录因子能与 QQS 基因启动子上的生长素响应元件结合, 抑制 QQS 的表达, 进而调节植物淀粉

代谢。该系列结果为理解植物生长发育和植物代谢调控的复杂网络提供了理论依据,为理解生长素调节植物淀粉代谢的分子机理奠定了基础。从应用领域和实用价值来说,该系列研究为未来作物遗传育种新的靶点和方向提供了依据。比如可以通过调节 YUC2、ARF1 和 QQS 基因的表达来调节作物的淀粉代谢,有望实现提高作物淀粉含量、改善淀粉品质等目标,从而为农业生产带来潜在的经济效益和社会效益。

参考文献:

- [1] ROSS J J, MCADAME L. New links between auxin and starch[J]. Nature communications,2025,16(1):491.
- [2] MéRIDA A, FETTKE J. Starch granule initiation in Arabidopsis thaliana chloroplasts[J]. The Plant journal: for cell and molecular biology,2021,107(3):688-97.
- [3] CHEN J, HAWKINS E, SEUNG D. Towards targeted starch modification in plants[J]. Current opinion in plant biology,2021 (60):102013.
- [4] LI R, TAN Y, ZHANG H. Regulators of Starch Biosynthesis in Cereal Crops[J]. Molecules (Basel, Switzerland),2021,26(23).
- [5] CASANOVA-SáEZ R, MATEO-BONMATÍ E, LJUNG K. Auxin Metabolism in Plants[J]. Cold Spring Harbor perspectives in biology,2021,13(3).
- [6] GOMES G L B, SCORTECCI K C. Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms[J]. Plant biology (Stuttgart, Germany),2021,23(6):894-904.
- [7] ZHANG D, ZHANG M, LIANG J. RGB1 Regulates Grain Development and Starch Accumulation Through Its Effect on OsYUC11-Mediated Auxin Biosynthesis in Rice Endosperm Cells[J]. Frontiers in plant science,2021(12):585174.

作者简介: 毛雨晨 (2004-), 女, 中国湖北武汉人, 在读本科生, 从事植物学研究。