

# 植物硒代谢积累及相关酶的研究进展

杜玉潇<sup>1</sup>, 李亚男<sup>1</sup>, 陈大清<sup>1,2\*</sup>

(1. 长江大学生命科学学院, 湖北 荆州 434025; 2. 武汉大学生命科学院, 武汉 430072)

**摘要:** 阐述了植物硒代谢的基本途径及其积累的分子机制, 详细介绍了几种参与硒代谢的关键性酶的分子生物学特性。并展望了有关植物硒代谢的发展趋势。

**关键词:** 植物; 硒; 代谢; ATP 硫酸化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶; 硒代半胱氨酸甲基转移酶; 综述

中国分类号: Q945.12

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2007)03-0269-08

## Progress in Selenium Metabolism and Accumulation and Key Enzymes in Plants

DU Yu-xiao<sup>1</sup>, LI Ya-nan<sup>1</sup>, CHEN Da-qing<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Life Science, Yangze University, Jingzhou 434025, China;

2. College of Life Science, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** Selenium metabolic fate and accumulation of molecular mechanism are briefly reviewed in plants. Key enzymes involved in the pathway are described. Trends in selenium metabolism research are provided.

**Key words:** Plant; Se; Metablism; ATP sulfurylase; Glutathione peroxidase; Selenocysteine methyltransferase; Review

微量元素硒(Se)不仅是人、动物和微生物的必需营养元素,也是植物生长发育的有益元素。植物中的硒含量在几个  $\mu\text{g kg}^{-1}$  到几千  $\text{mg kg}^{-1}$ , 因植物种类而异。一般植物的正常含硒量在 0.05 – 1.5  $\text{mg kg}^{-1}$  之间,而硒积累型植物可高达几千  $\text{mg kg}^{-1}$ 。这为研究植物硒代谢提供了有价值的遗传资源。关于植物硒代谢与积累的研究, Shrift<sup>[2]</sup>和 Terry<sup>[3]</sup>分别作了详细的评述。近年来,科学家<sup>[4]</sup>更关注作物硒营养的积累,尤其在水稻(*Oryza sativa* L.), 油菜(*Brassia campestris* L.)等作物上有较深入的研究。在植物硒积累与代谢的分子机理方面,国内有学者从突变体筛选的角度做过初步综述<sup>[5]</sup>,但在硒代谢的分子酶学方面尚未见深入报道。本文就近年来植物硒代谢积累的特点和关键酶的研究进展进行综述。

### 1 植物硒代谢途径

硒主要以硒酸盐、亚硒酸盐和有机硒化物形式被植物微生物吸收。微生物对硒的吸收主要通过透性酶系统,已经发现的细菌硫透性酶基因有 *cysA*, *cysU*, *cysW*。如果这些基因发生突变将会提高硒的耐受性<sup>[6]</sup>。硒酸盐进入细胞后大部分会被硝酸还原酶(NR)还原生成亚硒酸盐<sup>[7]</sup>,硒酸盐也可以在谷胱甘肽的作用下还原生成亚硒酸盐,但此反应不是硒酸盐主要的还原方式。在大肠杆菌(*Escherichia coli*)中亚硒酸盐被还原为硒化物( $\text{H}_2\text{Se}$ )的反应中谷胱甘肽(GSH)起到非常重要的作用<sup>[8]</sup>。亚硒酸盐在谷胱甘肽的存在下反应生成硒代二谷胱(GS-Se-SG),在过量 GSH 存在的情况下,GS-Se-SG 将被还原为硒醇谷胱甘肽(GS-SeH)。GS-Se-SG 和 GS-SeH 可

收稿日期: 2006-11-13

接受日期: 2007-02-01

基金项目: 湖北省自然科学基金项目 (2005ABA204)资助

\* 通讯作者 Corresponding author

能是大肠杆菌硒代谢的重要中间媒介<sup>[9]</sup>。GS-SeH 依赖 NADPH 被还原为 H<sub>2</sub>Se 和进一步的还原产物氢硒化物 (HSe<sup>-</sup>)，但是是否需要硫氧还蛋白还原酶 (TrxR)或谷胱甘肽还原酶(GR)参与尚不明确。同时在中性环境下，硒化物进一步被还原，Se<sup>0</sup> 是最终还原产物<sup>[10]</sup>。HSe<sup>-</sup> 在胱硫醚-γ-合成酶、胱硫醚-β-合成酶(CBS)和蛋氨酸合成酶(MS)作用下随机掺入到蛋氨酸中，最终合成硒代蛋氨酸。同时，HSe<sup>-</sup> 在特殊的合成途径中完成硒代半胱氨酸的合成。

植物对硒的吸收同样依赖硫转运体，这一过程是逆电化学势梯度的需能过程<sup>[11]</sup>。现已在拟南芥 (*A. thaliana*)、大豆 (*Glycine max* Merrill)、大麦 (*Hordeum vulgare*)、玉米 (*Zea mays* L.)、还魂草

(*Selaginella tamariscina*) 和 印度芥菜 (*Brassica juncea*)中克隆了几个硫转运体基因<sup>[12]</sup>。他们的蛋白结构与真菌和动物的很相似，有 12 个跨膜伸展区<sup>[13]</sup>。硫对高亲和硫转运体基因产生正调节，谷胱甘肽对其产生负调节，O-乙酰丝氨酸则增加该基因的转录<sup>[14]</sup>。富硒植物与非富硒植物的硫转运体可能存在着不同的特性，他们的蛋白更趋向吸收硒，或者富硒植物还存在另外的硒转运体<sup>[15]</sup>。

硫酸盐和硫酸盐被吸收进入植物叶绿体细胞后被 ATP 硫酸化酶激活(图 1)，分别形成 5'-磷酸硒腺苷(APSe)和 5'-磷酸硫腺苷(APS)。在谷胱甘肽和 5'-磷酸硫腺苷(APS)还原酶的作用下，APSe 和 APS 分别进一步还原生成亚硒酸盐和亚硫酸盐<sup>[16]</sup>。在植

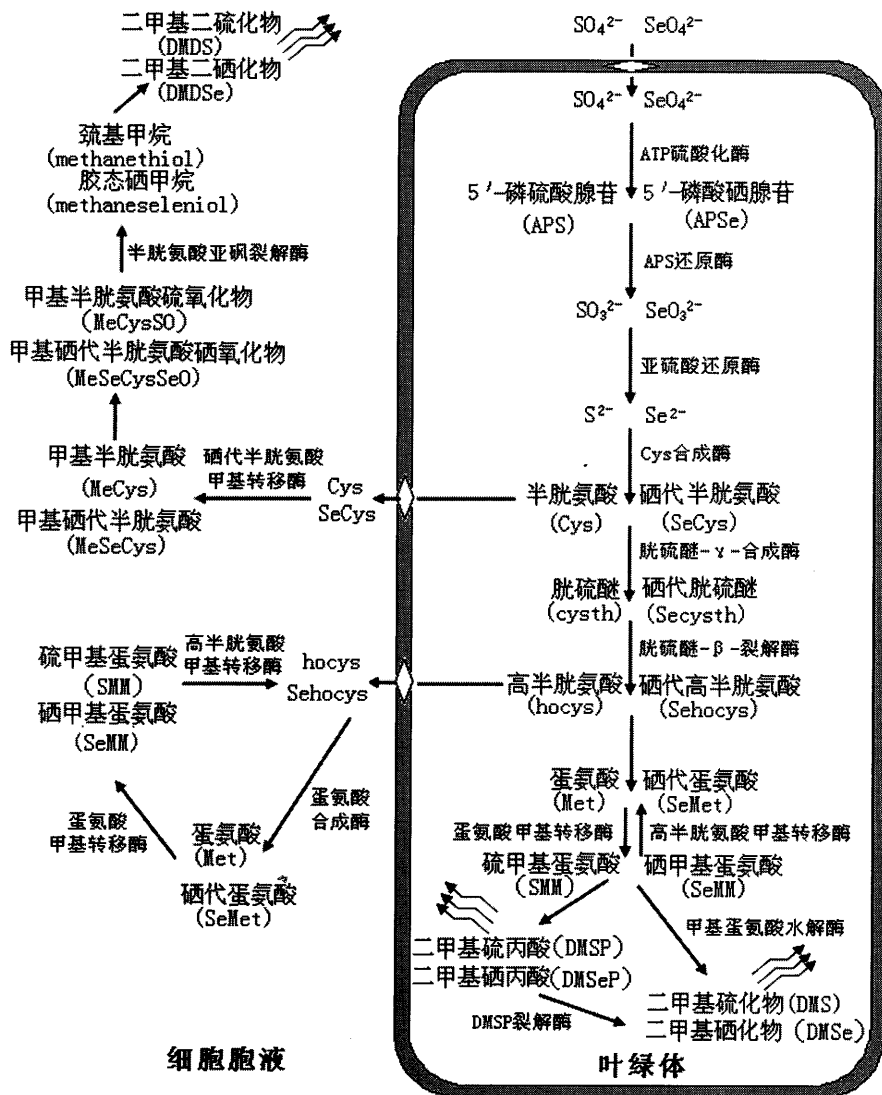


图 1 植物硒的代谢途径(参见 Sors<sup>[21]</sup>)  
Fig. 1 Selenium metabolic fate in plants (After Sors<sup>[21]</sup>)

物叶绿体内经过半胱氨酸合成酶的作用,  $\text{Se}^{2-}$  和  $\text{S}^{2-}$  分别生成硒代半胱氨酸( $\text{SeCys}$ )和半胱氨酸( $\text{Cys}$ )<sup>[17]</sup>。 $\text{SeCys}$  和  $\text{Cys}$  进一步经过胱硫醚- $\gamma$ -合成酶的作用分别合成硒代胱硫醚和胱硫醚, 然后经过胱硫醚- $\beta$ -裂解酶的作用分别分解为硒代高半胱氨酸和高半胱氨酸, 最后完成硒代蛋氨酸( $\text{SeMET}$ )和蛋氨酸( $\text{MET}$ )生物合成<sup>[18]</sup>。

随着  $\text{SeCys}$  和  $\text{Cys}$  生物合成的结束, 它们从植物叶绿体中转运到细胞胞液中。此时细胞胞液中的硒代半胱氨酸甲基转移酶( $\text{SMT}$ ), 通过甲基化途径将它们分别转变成硒代甲基半胱氨酸( $\text{MetSeCys}$ )和甲基半胱氨酸( $\text{MetCys}$ )<sup>[19]</sup>。同时  $\text{MetSeCys}$  和  $\text{MetCys}$  进一步被氧化为甲基半胱氨酸硒氧化物( $\text{MetSeCysSeO}$ )和甲基半胱氨酸硫氧化物( $\text{MetCysSO}$ ),  $\text{MetSeCysSeO}$  和  $\text{MetCysSO}$  经过半胱氨酸亚砷裂解酶的作用分解为胶态硒甲烷和巯基甲烷。最后生成具有挥发性的二甲基二硒化物( $\text{DMDS}$ )和二甲基二硫化物( $\text{DMDS}$ )<sup>[20-21]</sup>。

植物产生具有挥发性化合物的另一途径是在  $\text{SeMet}$  和  $\text{Met}$  生物合成完成后,  $\text{SeMet}$  和  $\text{Met}$  分别经过高半胱氨酸甲基转移酶( $\text{BHMT}$ )和蛋氨酸甲基转移酶( $\text{MMT}$ )的作用生成硒甲基蛋氨酸( $\text{SeMM}$ )和硫甲基蛋氨酸( $\text{SMM}$ )<sup>[22]</sup>。 $\text{SeMM}$  向具有挥发性的二甲基硒化物( $\text{DMSe}$ )的转化是在甲基蛋氨酸水解酶的催化下完成的, 此酶通常也可以将  $\text{SMM}$  转化为同样具有挥发性的二甲基硫化物( $\text{DMS}$ )<sup>[23]</sup>。此外, 研究<sup>[24]</sup>发现首先通过  $\text{SeMM}$  和  $\text{SMM}$  生成二甲基硒丙酸( $\text{DMSeP}$ )和二甲基硫丙酸( $\text{DMSP}$ )的中间途径, 然后经过  $\text{DMSP}$  裂解酶的作用也可以产生  $\text{DMSe}$  和  $\text{DMS}$ 。最近植物对硒的挥发性已倍受关注, 因为它可能成为一种有效的植物修复土壤硒污染的方法。

## 2 植物硒积累的分子机制

很多植物, 尤其在非积聚硒植物中, 硒大都以硒代氨基酸形式被结合于蛋白质上<sup>[25]</sup>。其在植物体内的小分子形式有硒代氨基酸及其衍生物, 如硒代半胱氨酸( $\text{HSeCH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$ )、硒代胱氨酸 $[(\text{SeCH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH})_2]$ 、硒-甲基硒代半胱氨酸( $\text{CH}_3\text{SeCH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$ )、硒-丙烯基硒代半胱氨酸氧化硒( $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHSeOCH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$ )、硒代半胱氨酸亚硒酸( $\text{HO-SeOCH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$ )、 $\gamma$ -谷氨酰基-硒甲基硒代半胱氨酸 $[\text{HOOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$

$\text{CONHCH}(\text{COOH})\text{CH}_2\text{SeCH}_3]$ 、硒代高胱氨酸 $[(\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH})_2]$ 、硒代胱硫醚( $\text{HOCC-NH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$ )、硒代蛋氨酸( $\text{CH}_3\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$ )、硒甲基硒代蛋氨酸 $[(\text{CH}_3)_2\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}]$ 、硒代蛋氨酸氧化硒( $\text{CH}_3\text{SeOCH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$ )等<sup>[26]</sup>。硒代氨基酸形式在聚硒和非聚硒植物间有明显差异, 前者以硒-甲基硒代半胱氨酸为主, 同时存在硒代高胱氨酸; 后者则以硒蛋氨酸为主, 同时含有硒肽。以大分子形式存在的硒则包括硒蛋白、含硒核糖核酸、硒多糖等<sup>[27]</sup>。

应用突变体技术是分析植物硒积累机制的有效技术途径。首先, 从硒同化相关酶和硫转运载体入手, 相继筛选出了一些与硒耐受相关的基因或突变体。Cherest 等<sup>[28]</sup>应用硫的竞争性毒性类似物筛选方法克隆了  $\text{SUL1}$ ,  $\text{SUL2}$ ,  $\text{SUL3}$  等 3 个基因, 其中  $\text{SUL1}$  和  $\text{SUL2}$  基因编码高度相似的膜整合蛋白, 分别有 11 和 10 个跨膜区域,  $\text{SUL3}$  突变体对硒有抗性, 而  $\text{SUL2}$  突变体则对硒表现较低的抗性。Yoshimoto 等<sup>[29]</sup>在拟南芥的根中分离到了具有不同的可诱导调节硫吸收的两个独特的高亲和性的硫载体  $\text{Sultr1;1}$  和  $\text{Sultr1;2}$ , 实验表明硒可以影响该载体基因的表达。Shibagaki 等<sup>[30]</sup>从拟南芥基因组序列分析入手, 推断可能有 14 个硫转运体基因的存在。为了进一步筛选突变体, 他们设计筛选对硫有拮抗的耐硒和铬的突变体, 结果从拟南芥中获得了由于硫转运体基因损害的突变体, 但能够耐受硒盐。另外, Tagmount 等<sup>[31]</sup>通过 T-DNA 插入失活法, 结合应用拟南芥基因组序列的分析, 分离到了  $\text{mmt}$  突变体, 这种突变株几乎完全丧失了挥发硒的能力, 因为由  $\text{SMM}$  可转化成挥发态的二甲基硒( $\text{DMSe}$ ), 而通过化学补偿  $\text{MMT}$  催化产物  $\text{SeMM}$  则可以恢复  $\text{mmt}$  突变体产生挥发硒的能力。在大肠杆菌中, 超表达拟南芥的  $\text{MMT}$ , 当供给硒代蛋氨酸时, 其硒的挥发量提高了 10 倍。

转基因技术是提高植物硒代谢的另一有效途径。Douglas 等<sup>[32]</sup>使  $\text{AtCpNifS}$  基因在拟南芥中超表达来研究其对植物硒代谢的影响发现:  $\text{AtCpNifS}$  基因的超表达能显著提高拟南芥的耐硒能力和硒的累积量, 具体表现为根生长比对照提高了 1.9 倍, 硒在地上部的累积量提高了 2-3 倍。  $\text{AtCpNifS}$  基因的超表达还显示其可以显著降低硒与蛋白质的结合

程度。与此同时,生长在加硒或不加硒培养基上的超表达 *AtCpNifS* 基因植株的 S 元素的积累量也被提高了大约 30%。基因芯片分析结果表明:在硫饥饿条件下,根部转录本响应硒酸盐的模拟效应有变化。在超表达 *AtCpNifS* 基因的植株和野生型之间,部分转录本有差异,尤其是在转 *AtCpNifS* 基因的植株中其 mRNA 的表达水平可提高 27–40 倍。*AtCpNifS* 基因超表达情况下硒累积量的增加和硒耐受性的增强暗示了其在植物修复中的应用潜在价值。

### 3 植物硒代谢主要相关酶基因的特点

#### 3.1 ATP 硫酸化酶

ATP 硫酸化酶是硫酸盐同化代谢途径中的第 1 个酶,存在于植物的叶绿体和胞液中<sup>[3]</sup>。至今,在拟南芥基因组中已经鉴定出了 4 种异构体类型的 ATP 硫酸化酶基因(*APS*),它们分别是:*APSI*(NM\_113189)、*APS2*(NM\_101847)、*APS3*(NM\_117550)、*APS4*(NM\_123745)。分别定位在拟南芥第 2、1、4、5 条染色体上,其酶蛋白定位于拟南芥叶绿体中(表 1)。所有这些 *APS* 基因都包含 4 个内含子,这些内含子定位在每个 *APS* 基因编码序列中的同一位置。在 *APS3*、*APS4* 的启动子中存在 TATA 区域,而在 *APSI*、*APS2* 中则没有发现。结合 *APS4* 的 cDNA 序列分析和染色体克隆推测其蛋白质含有 469 个氨基酸,同时显示其与 *APSI* 高度相似。*APS4* 的 mRNA 在拟南芥的根和叶中的表达是相当稳定的,且不会因为硫的饥饿或是 O-乙酰丝氨酸的诱导而发生变化<sup>[34]</sup>。

硫酸根( $\text{SO}_4^{2-}$ )在 ATP 硫酸化酶的作用下与 ATP 结合成 *APS*。*APS* 在 *APS* 磺基转移酶作用下与 GSH 结合形成 S-磺基谷胱甘肽, S-磺基谷胱甘肽与 GSH 结合形成亚硫酸盐( $\text{SO}_3^{2-}$ ),  $\text{SO}_3^{2-}$  在亚硫酸盐还原酶作用下,由 6Fdred 提供电子形成硫化物( $\text{S}^2$ )。

$\text{S}^2$  与 O-乙酰丝氨酸结合,在 O-乙酰丝氨酸硫解酶作用下形成半胱氨酸。另外,在 ATP 硫酸化酶的作用下硒酸盐也可以被还原成为 ATP 硫酸化酶活化形式的腺苷磷硒酸(*APSe*)<sup>[35]</sup>, *APSe* 最后被还原为含硒酸盐的谷胱甘肽(*GS-Se-*)。另外,ATP 硫酸化酶通过与 ATP 结合还可以催化合成腺苷酰硫酸(*APS*)。

ATP 硫酸化酶对硒酸盐还原和硒的同化都起到限速作用。同时表明,硒酸盐的还原是硒同化的限制性步骤。*APSe* 很不稳定可以迅速分离成 AMP 和亚硒酸盐。在转基因植物中超表达 ATP 硫酸化酶促进了这一过程的速率并增加了硒的耐受和积累<sup>[36]</sup>。Pilon-Smits 等<sup>[16]</sup>将拟南芥 *APSI* 基因导入印度芥菜,在 35S 启动子作用下下表达,与对照比较,转基因植株对硒酸盐的耐受性有所增强,且其叶中的谷胱甘肽提高了 2 倍,硒的累积量提高了 2–3 倍,此外总硒酸盐的还原量增加了 50%。Sors 等<sup>[37]</sup>以同样的基因转化拟南芥也观察了在硒酸盐的还原和谷胱甘肽的生成有类似的增加。但也有研究者<sup>[38]</sup>观察到了相反的结果,在烟草细胞中超表达 *APS2* 并没有表现出明显的增加硒的耐受和积累的能力。另外,从酶反应动力学角度分别对从高聚硒的植物黄芪(*A. bisulcatus*)和非聚硒的植物钩黄芪(*A. hamosus*)以及紫云英(*A. sinicus*)分离的 ATP 硫酸化酶分析发现,两者的 ATP 硫酸化酶活性并没有明显的差别<sup>[37]</sup>。这些结果表明:尽管 ATP 硫酸化酶能以活化硫的方式同样活化硒酸盐,但酶的高活性并不与硒酸盐的积累和硒的耐受性呈相关性,至少在富硒植物和超表达的烟草及拟南芥中是如此。

#### 3.2 谷胱甘肽过氧化物酶

谷胱甘肽过氧化物酶(*GSH-Px*)是最先发现和证实的含硒酶,已发现有 4 种 *GSH-Px* 家族成员<sup>[39]</sup>:细胞内或典型谷胱甘肽过氧化物酶 (*CGSH-Px*)、血浆或细胞外谷胱甘肽过氧化物酶(*EGSH-Px*)、磷脂氢过氧化物谷胱甘肽过氧化物酶(*PHGSH-Px*)、胃肠

表 1 拟南芥中的 ATP 硫酸化酶基因  
Table 1 ATP sulfurylase genes in *Arabidopsis thaliana*

基因 Gene	GenBank 编号 GenBank code	染色体(位置) <sup>[33]</sup> Gene position on chromosome	ATP硫酸化酶在亚细胞中的位置 <sup>[33]</sup> ATP sulfurylase position on subcell
<i>APSI</i>	NM_113189	2 (8112730-8114996)	叶绿体 Chloroplastid
<i>APS2</i>	NM_101847	1 (6914604-6916745)	叶绿体 Chloroplastid
<i>APS3</i>	NM_117550	4 (8413286-8415349)	叶绿体 Chloroplastid
<i>APS4</i>	NM_123745	5 (17606418-17608762)	叶绿体 Chloroplastid/ 线粒体 Mitochondrion

谷胱甘肽过氧化物酶(GIGSH-Px)。但它在植物中的功能报道甚少。近几年的研究表明,植物体内也存在类似于动物的 GSH-Px 家族,其功能得到了阐明<sup>[39]</sup>。研究已经发现高等植物的组织培养细胞中有 GSH-Px 的活性,并证实硒含量与 GSH-Px、过氧化物酶(POD)活性有关。Shigeoka 等<sup>[40]</sup>在亚硒酸钠存在的条件下,通过 PAGE 电泳纯化绿藻体内硒诱导 GSH-Px 获得成功,物理、化学和免疫学特性研究表明,它与动物体内的 GSH-Px 非常类似,其后相继从硅藻 (*Licmophora flabellata*)、大豆、油菜、小麦 (*Triticum aestivum*)、玉米、芦荟 (*Aloe arborescens*) 等植物中检测到 GSH-Px 的存在<sup>[41]</sup>。植物 GSH-Px 的研究最早是从烟草中分离并克隆了类似于动物的 GSH-Px 的 cDNA,此后,在拟南芥、柑橘 (*Citrus reticulata*)、豌豆 (*Pisum sativum*), 大白菜 (*Brassica campestris*) 中也成功分离出了类似的基因。研究发现,植物基因组 GSH-Px 核苷酸序列携带的是一个半胱氨酸残基,替代了动物基因组 GSH-Px 核苷酸 UGA 终止密码子处插入的硒代半胱氨酸。

最近,对模式植物拟南芥 GSH-Px 的功能研究取得了进展。Milla 等<sup>[42]</sup>通过分析拟南芥基因组序列和 EST 序列发现,有 7 种推测为 GSH-Px 的同功酶,即 AtGPX1(NP\_180080)、AtGPX2(NP\_180715)、AtGPX39 (NP\_181863)、AtGPX4(NP\_566128)、AtGPX5 (NP\_191867)、AtGPX6 (AAK63967)、AtGPX7 (NP\_194915),分布在 3 条染色体上,其中有 4 个基因 (*AtGPX1*、*AtGPX2*、*AtGPX3*、*AtGPX4*) 分布在 2 号染色体,只有 *AtGPX5* 定位在 3 号染色体,*AtGPX6*、*AtGPX7* 分布在 4 号染色体,其酶蛋白分别定位在胞液、叶绿体、线粒体和内质网等亚细胞器中(表 2)。拟南芥 GSH-Px 基因编码的蛋白大小不一,它们在内含子和外显子等结构上的主要区别位于其蛋白质氨基

酸序列的第 169–236 之间,并且多数具有较保守的结构域。研究表明,非生物胁迫条件下 *AtGSH-Px* 家族受不同的信号转导途径所调节,在其启动子区域含有与人类相似的抗氧化反应元件<sup>[43]</sup>。

综上所述:植物体内的 GSH-Px 可能是多基因家族成员,它们可能或在进化的不同时期,或在不同的胁迫环境下调控不同的发育途径和防御反应。现有的研究结果<sup>[40–43]</sup>表明,不同的环境胁迫(如病原菌侵染、高盐和重金属等)下,表达 GSH-Px 的 mRNA 水平稳步提高。因此,GSH-Px 在植物氧化信号转导过程中可能起着重要作用<sup>[39]</sup>。

### 3.3 硒代半胱氨酸甲基转移酶

据报道<sup>[45]</sup>硒代半胱氨酸甲基转移酶基因(SMT)已经从黄芪和西兰花 (*Brassica oleracea var. italica*) 等植物中得到克隆。对从黄芪中克隆的硒代半胱氨酸甲基转移酶基因 (*AtSMT*) (AJ131433) 的 cDNA 序列和所编码的氨基酸序列综合分析显示其含有 1 个 1 017 bp 的开放式读码框和编码大小为 36.7 kD 蛋白质。同样对从西兰花克隆的硒代半胱氨酸甲基转移酶基因 (*BoSMT*) (AY817737) 分析显示其 cDNA 包含 1 个能编码 347 个氨基酸残基的 1 041 bp 的开放式读码框,推定的蛋白质大小为 37.9 kD。同时 *BoSMT* 的氨基酸序列与 *AbSMT* 的氨基酸序列有 65% 的同源性,与拟南芥高半胱氨酸甲基转移酶基因 *AtHMT1* (AF219222)、*AtHMT2* (NM\_2027530 和 *AtHMT3* (NM\_113173) 分别有 53%、86% 和 65% 的同源性。*BoSMT* 和其它相关的转甲基酶一样,在 C-末端附近含有 1 个共同的 GGCC 序列<sup>[46]</sup>,并在其上游有一个保守的 Cys 残基。另外,*BoSMT* 没有明显的叶绿体或线粒体靶序列。Southern 印迹杂交分析显示在西兰花的基因组中 *BoSMT* 很可能是单拷贝。

表 2 拟南芥中的谷胱甘肽过氧化物酶基因

Table 2 Glutathione peroxidase genes in *Arabidopsis thaliana*

基因 Gene	GenBank 编号 GenBank code	染色体(位置) <sup>[42]</sup> Gene position on chromosome	谷胱甘肽过氧化物酶在亚细胞中的位置 <sup>[42]</sup> Glutathione peroxidase position on subcell
<i>AtGPX1</i>	NP_180080	2 (10616629-10618543)	叶绿体 Chloroplastid
<i>AtGPX2</i>	NP_180715	2 (13396544-13388342)	胞液 Cytochyma
<i>AtGPX3</i>	NP_181863	2 (17957186-17959081)	线粒体 Mitochondrion
<i>AtGPX4</i>	NP_566128	2 (19636728-19637638)	胞液 Cytochyma
<i>AtGPX5</i>	NP_191867	3 (23187191-23188230)	内质网 Endoplasmic reticulum
<i>AtGPX6</i>	AAK63967	4 (5974498-5975618)	胞液 Cytochyma / 线粒体 Mitochondrion
<i>AtGPX7</i>	NP_194915	4 (14374698-14375849)	叶绿体 Chloroplastid

在植物体内硒的代谢是在相关酶和蛋白质参与下发生的级联反应,并产生一系列代谢产物。在微生物、植物和动物中,甲基化是硒的主要代谢途径。所有的硒蛋白均含有硒代半胱氨酸,它通过一种独特的方式与蛋白质特异性结合。与普通植物相比,富硒植物具有能高聚积 S-甲基半胱氨酸(MeCys)的显著本质特征<sup>[47]</sup>。在 8 种 *Astragalus* 属的品种中聚硒的能力各有不同,同时发现 SMT 活性与硒的高聚积有着密切的联系。然而仅有 SMT 的活性并不能解释硒酸盐的高积累,当植株仅提供亚硒酸盐而非硒酸盐时,在超表达 SMT 的拟南芥中仅发现对硒的同化和耐受性的增加。这提示其他因子包括代谢、酶的互作、细胞分室化等都可能在 SMT 对硒的富集过程中发挥重要作用。

聚硒植物黄芪幼芽中所积累的硒超过 90% 都转化成了 MeSeCys<sup>[48]</sup>,早期有报告表明:非聚硒紫云英属植物虽然能将亚硒酸盐转化为 MeSeCys,但是它缺乏将硫酸盐转化为 MeCys 的能力,这个结果说明:或许 SMT 具有特异选择 SeCys 的内在特性。Neuhierl 和 Bock<sup>[49]</sup>曾假设:在聚硒植物中相较于 Cys, SMT 更偏好 SeCys 的特性可能源于酶对 SeCys 的高亲和力,因而通过提高对 SeCys 的甲基化能力的有效性和特异性降低硒对蛋白库的非特异性结合。

在环境提供硒酸盐的情况下, MeCys 的合成与 MeSeCys 积累能力是相伴而存的,这说明二者的生物合成可能处于共同关联的途径上。硒代半胱氨酸甲基转移酶(SMT)催化 SeCys 甲基化产生 MeSeCys。这一酶基因已从黄芪中成功克隆,它正是催化 SeCys 甲基化转变为 MeSeCys 的关键酶。在生物体外 SMT 与 SeCys 的亲合力强于 Cys,在超表达 SMT 的转基因拟南芥植物中研究发现此酶参与了 MeSeCys 和 MeCys 的合成,推测该酶在生物体外可以催化 SeCys 和 Cys 的甲基化<sup>[50]</sup>。从拟南芥克隆的 SMT 核酸序列与分别从拟南芥和亚洲栽培稻克隆的硒代高半胱氨酸甲基转移酶基因(*HTM*)核酸序列进行比对,结果显示分别具有 70% 和 65% 的同源性,从而可以认为 SMT 和 HTM 分别在甲基化 Cys 和高半胱氨酸的机理上具有类似的功能和结构<sup>[45]</sup>。Terry 等<sup>[52]</sup>通过在拟南芥和印度芥菜中超表达硒代半胱氨酸甲基转移酶(SMT),获得了增加植株耐硒和聚硒的转基因植株。因为 SMT 的解毒机制

是使硒代半胱氨酸甲基化形成甲基硒代半胱氨酸(非蛋白质氨基酸),从而减少硒对蛋白质的掺入,据测定转基因植株的硒积累量较野生型高,尤其是亚硒酸盐显著的高于野生型,其生物量较野生型高 3-7 倍,根长超过 3 倍,表明通过超表达 SMT 调控植株的耐硒能力和硒积累是一个有潜在应用价值的途径。

## 4 展望

植物硒代谢和积累机理的研究在分子生物学技术的推动下取得了明显进展,今后这一领域的研究预期将在如下几个方面得到拓展。①寻找植物硒蛋白的直接证据<sup>[3]</sup>。已在衣藻属(*Chlamydomonas ebreberg*)细胞中发现的硒蛋白和硒蛋白插入序列<sup>[51]</sup>为进一步从高等植物中寻求硒蛋白的存在提供了有益的启示。②硒的吸收机制。已经了解到根系对硒酸盐离子的吸收是通过根系细胞膜的硫酸盐载体完成的,而载体基因的表达受植物体内的硫水平、谷胱甘肽和邻乙酰丝氨酸的调节<sup>[52]</sup>,所以载体基因的克隆与分析对进一步明确硒的吸收与代谢将具有重要意义。③硒在土壤和植物体内迁移与转化,特别是植物与土壤微生物之间的交互作用对植物硒挥发的影响。研究发现植物硒的挥发与植物根际细菌有相关性<sup>[53]</sup>,在植物根际细菌存在的情况下,将有助于植物对硒的挥发,相反则降低,其机理目前尚不明确。所以植物与土壤微生物间的交互作用对植物硒挥发的影响也是今后值得特别关注和深入研究的内容之一。④基本的硒代谢相关酶。比如 APS 还原酶、半胱氨酸合成酶生物化学特性与分子结构。在研究手段上将综合应用突变体库与基因芯片和 Tilling 技术,解析这些硒代谢相关酶基因的功能,在此基础上通过转基因技术在农作物或其他生物中进行定位表达,满足人类健康摄取硒的需求。此外,通过转基因培育速生植物或微生物对硒的快速吸收积累与挥发,可以实现治理硒污染的生物修复目标。

## 参考文献

- [1] Brown T A, Shift A. Selenium: Toxicity and tolerance in higher plants [J]. Biol Rev, 1982, 57: 59-84.
- [2] Shrift A. Aspects of selenium metabolism in higher plants [J]. Ann Rev Plant Physiol, 1969, 20: 475-494.
- [3] Terry N, Zayed A M, Tarun A S. Selenium in higher plants [J].

- Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 2000, 51: 401–432.
- [4] Wang Q R (王庆仁), Lin B (林葆), Li J Y (李继云), et al. Accumulations of sulphur and selenium compounds in oil seed rape tissues and their effects on glucosinolates content [J]. Acta Ecol Sin (生态学报), 1999, 4(19): 546–550. (in Chinese)
- [5] Chen D Q (陈大清). Progress of plant selenium assimilation and screening of resistant selenium mutant [J]. Amino Acids Biolic Resour (氨基酸和生物资源), 2004, 26(2): 65–70. (in Chinese)
- [6] LaRossa R A. Mutant selections linking physiology, inhibitors, and genotypes [M] // Neidhardt F C. *Escherichia coli* & *Salmonella*, Cellular & Molecular Biology. Washington: ASM Press, 1996: 2527–2587.
- [7] Avazeri C, Turner R J, Pommier J, et al. Tellurite reductase activity of nitrate reductase is responsible for the basal resistance of *Escherichia coli* to tellurite [J]. Microbiology, 1997, 143: 1181–1189.
- [8] Kice J L, Wilson D M, Espinola J M. Oxidation of bis (tert-butylthio) selenide at low temperatures: search for a bis (alkylthio) selenoxide [J]. Org Chem, 1991, 56: 3520–3524.
- [9] Shamberger R J. The genotoxicity of selenium [J]. Mutat Res, 1985, 154: 29–48.
- [10] Gerrard T L, Telford J N, Williams H H. Detection of selenium deposits in *Escherichia coli* by electron microscopy [J]. Bacteriology, 1974, 119: 1057–1060.
- [11] Hawkesford M J, Davidian J C, Grignon C. Sulphate/ proton cotransport in plasma-membrane vesicles isolated from roots of *Brassica napus* L.: increased transport in membranes isolated from sulphur-starved plants [J]. Planta, 1993, 190: 297–304.
- [12] Leustek T, Saito K. Sulfate transport and assimilation in plants [J]. Plant Physiol, 1999, 120: 637–643.
- [13] Smith F W, Hawkesford M J, Ealing P M, et al. Regulation of expression of a cDNA from barley roots encoding a high affinity sulphate transporter [J]. Plant J, 1997, 12: 875–884.
- [14] Hirai M Y, Fujiwara T, Awazuhara M, et al. Global expression profiling of sulfur-starved *Arabidopsis* by DNA microarray reveals the role of O-acetyl-L-serine as a general regulator of gene expression in response to sulfur nutrition [J]. Plant J, 2003, 33: 651–663.
- [15] White P J, Bowen H C, Parmaguru P, et al. Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana* [J]. Exp Bot, 2004, 55: 1927–1937.
- [16] Elizabeth A H, Pilon-Smits, Seongbin H C, et al. Overexpression of ATP sulfurylase in Indian mustard leads to increased selenate uptake, reduction, and tolerance plant [J]. Plant Physiol, 1999, 119: 123–132.
- [17] Mark P S, Maria M M, Marinus L O, et al. Selenium assimilation and volatilization from dimethylselenoniopropionate by Indian mustard [J]. Plant Physiol, 2000, 122(4): 1281–1288.
- [18] Lauchli A. Selenium in plant-uptake, functions, and environmental toxicity [J]. Bot Acta, 1993, 106: 455–468.
- [19] Ellis D R, Sors T G, Brunk D G. Production of Se-methylselenocysteine in transgenic plants expressing selenocysteine methyltransferase [J]. BMC Plant Biol, 2004, 4: 1.
- [20] Mark P S, Pickering I J, Michael W, et al. Selenium assimilation and volatilization from selenocyanate-treated Indian Mustard and Muskgrass [J]. Plant Physiol, 2002, 128: 625–633.
- [21] Sors T G, Ellis D R. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants [J]. Photosyn Res, 2005, 86: 373–389.
- [22] Pimenta M J, Kaneta T. S-Adenosyl-L-methionine: L-methionine S-methyltransferase from germinating barley [J]. Plant Physiol, 1998, 118: 431–438.
- [23] Lewis B G, Johnson C M, Broyer T C. Volatile selenium in higher-plants production of dimethyl selenide in cabbage leaves by enzymatic cleavage of Se-methyl selenomethionine selenonium salt [J]. Plant Soil, 1974, 40: 107–118.
- [24] Ansele J H, Pellechia P J, Yoch D C. Selenium biotransformation by the salt marsh cordgrass *Spartina alterniflora*: evidence for dimethylselenoniopropionate formation [J]. Environ Sci Technol, 1999, 33: 2064–2069.
- [25] Jiang Z H (蒋志华), Mu Y (牟颖). The progress in mechanism of selenoprotein biosynthesis [J]. Biochem Biophys Sin (生物化学与生物物理学报), 2002, 34(4): 395–399. (in Chinese)
- [26] Whanger P D. Seleno compounds in plants and animals and their biological significance [J]. J Amer Coll Nutri, 2002, 21(3): 223–232.
- [27] Li Y S (李应生), Li Y N (李亚男), Chen D Q (陈大清). Biological functions of selenium and the mechanism of selenium enrichment in plant [J]. J Hubei Agri Coll (湖北农学院学报), 2003, 23(6): 476–480. (in Chinese)
- [28] Cherest H, Davidian J C, Thomas D, et al. Molecular characterization of two high affinity sulfate transporters in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Genetics, 1997, 145: 627–635.
- [29] Yoshimoto N, Takahashi H, Smith F W, et al. Two distinct high affinity sulfate transporters with different inducibilities mediate uptake of sulfate in *Arabidopsis* roots [J]. Plant J, 2002, 29(4): 465–473.
- [30] Shibagaki N, Rose A, McDermott J P, et al. Selenate-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* identify Sultr1; 2, a sulfate transporter required for efficient transport of sulfate into roots [J]. Plant J, 2002, 29: 475–486.
- [31] Tagmount A, Eercken A, Terry N, et al. An essential role of S-adenosyl-L-methionine: L-methionine S-methyltransferase in selenium volatilization by plants. Methylation of selenomethionine to selenium methyl-L-selenium-methionine, the precursor of volatile selenium [J]. Plant Physiol, 2002: 847–856.
- [32] Douglas V H, Gulnara F G, Ashley R A, et al. Overexpression of *AtCpNifS* enhances selenium tolerance and accumulation in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2005, 139: 1518–1528.

- [33] Yves H, Sangman L, Minsang L, et al. Functional characterization of a gene encoding a fourth ATP sulfurylase isoform from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Gene*, 2000, 248(1–2): 51–58.
- [34] Uno Y, Furihata T, Abe H, et al. Arabidopsis basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(21): 11632–11637.
- [35] Thomas L, Michael M. Cloning of a cDNA encoding ATP sulfurylase from *Arabidopsis thaliana* by functional expression in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Plant Physiol*, 1994, 105: 897–902.
- [36] Thomas G S, Danielle R E, Gun N N, et al. Analysis of sulfur and selenium assimilation in *Astragalus* plants with varying capacities to accumulate selenium [J]. *Plant J*, 2005, 42: 785–797.
- [37] Sors T G, Ellis D R, Na G N, et al. Role of sulfur assimilating enzymes in selenate reduction, tolerance and accumulation in *Astragalus* [J]. *Plant J*, 2005, 42: 785–797.
- [38] Hatzfeld Y, Cathala N. Effect of ATP sulfurylase overexpression in bright yellow tobacco cells [J]. *Plant Physiol*, 1998, 116: 1307–1313.
- [39] Miao Y C(苗雨晨), Bai L(白玲), Miao C(苗琛), et al. Progress in plant glutathione peroxidase [J]. *Chin Bull Bot (植物学通报)*, 2005, 22(3): 350–356.(in Chinese)
- [40] Shigeoka S, Takeda T, Hanaoka T, et al. Characterization and immunological properties of selenium-containing glutathione peroxidase induced by selenite in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Biochem J*, 1991, 275(3): 623–627.
- [41] Huang Z(黄峙), Guo B J(郭宝江). Mechanism of selenoenzyme and non-enzymatic actions of selenium [J]. *Chin Bull Life Sci (生命科学)*, 2002, 14(2): 99–102.(in Chinese)
- [42] Milla M, Maurer A, Huete A R. Glutathione peroxidase genes in *Arabidopsis* are ubiquitous and regulated by abiotic stresses through diverse signaling pathways [J]. *Plant J*, 2003, 36: 602–615.
- [43] Sztajer H, Gamain B, Aumann K D, et al. The putative glutathione peroxidase gene of *Plasmodium falciparum* codes for a thioredoxin peroxidase [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 7397–7403.
- [44] Avsian K O, Gueta D Y, Lev Y S, et al. The salt-stress signal transduction pathway that activates the *gpx1* promoter is mediated by intracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, different from the pathway induced by extracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [J]. *Plant Physiol*, 2004, 135(3): 1685–1696.
- [45] Sangbom M, Laurence I. Molecular and biochemical characterization of the selenocysteine Se-methyltransferase gene and Se-methylselenocysteine synthesis in *Broccoli* [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138: 409–420.
- [46] Ranocha P, Bourgis F, Ziemak M J, et al. Characterization and functional expression of cDNAs encoding methionine-sensitive and insensitive homocysteine S-methyltransferases from *Arabidopsis* [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 15962–15968.
- [47] Neuhierl B, Thanbichler M, Lottspeich F, et al. A family of S-methylmethionine-dependent thiol/selenol methyltransferases [J]. *Biol Chem*, 1999, 274: 5407–5414.
- [48] Pickering I J, Wright C, Bubner B, et al. Chemical form and distribution of selenium and sulfur in the selenium hyperaccumulator *Astragalus bisulcatus* [J]. *Plant Physiol*, 2003, 131: 1–8.
- [49] Neuhierl B, Bock A. Selenocysteine methyltransferase [J]. *Meth Enzymol*, 2002, 347: 203–207.
- [50] LeDuc D L, Tarun A S, Montes-Bayon M, et al. Overexpression of selenocysteine methyltransferase in *Arabidopsis* and Indian mustard increases selenium tolerance and accumulation [J]. *Plant Physiol*, 2004, 135: 377–383.
- [51] He X Y(何晓艳), Xiang W Z(向文洲), He H(何慧), et al. A study on Se accumulation and Se-enriched phycocyanin in *Spirulina platensis* cultured in seawater-based medium [J]. *J Trop Oceanogr (热带海洋学报)*, 2005, 4(24): 30–34.(in Chinese)
- [52] Maruyama-Nakashita A, Inoue E, Watanabe-Takahashi A, et al. Transcriptome analysis of sulfur depletion in *Arabidopsis thaliana*: interlacing of biosynthetic pathways provides response specificity [J]. *Plant J*, 2003, 33: 633–650.
- [53] Azaizeh H A, Gowthaman S, Terry N. Microbial selenium volatilization in rhizosphere and bulk soils from a constructed wetland [J]. *J Environ Qual*, 1997, 26: 666–672.