

药用植物中 GRAS 转录因子的功能研究进展

刘云辉¹, 李 珅¹, 王 洋¹, 羊 健², 周 伟¹, 沈亚芳¹

(1. 浙江农林大学 农业与食品科学学院 浙江省农产品品质改良技术研究重点实验室, 浙江 杭州 311300; 2. 浙江省农业科学院 农业部/浙江省植保生物技术重点实验室, 浙江 杭州 310021)

摘要: GRAS 是重要的植物转录调控因子, 依据结构特征分为 10 个主要亚家族。目前已在许多药用植物和其他植物中开展了 GRAS 转录因子的研究, 发现其家族成员广泛参与生长、发育、非生物胁迫响应、信号转导相关应答、初级和次级代谢等过程。对 GRAS 转录因子的结构特征、功能作用以及在药用植物中的研究进展进行了综述。结合自身研究对药用植物研究前景进行分析后指出, 后续研究可以聚焦以下几个方面: 首先重点解析每个 GRAS 亚家族保守结构域的功能; 其次是分析 GRAS 蛋白 N 端可变序列的进化特征; 再者是解析 GRAS 家族成员调控品质和响应逆境胁迫的分子调控网络; 最后是解析表观遗传调控与 GRAS 的协同作用模型。图 1 表 2 参 39

关键词: 中药学; 药用植物; 转录因子; 生长发育; 逆境胁迫; 信号转导

中图分类号: R282 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2019)06-1233-08

Research progress on the functions of GRAS transcription factors in medical plants

LIU Yunhui¹, LI Shen¹, WANG Yang¹, YANG Jian², ZHOU Wei¹, SHEN Yafang¹

(1. The Key Laboratory for Quality Improvement of Agricultural Products of Zhejiang Province, School of Agriculture and Food Science, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. Key Laboratory of Biotechnology in Plant Protection of Ministry of the People's Republic of China and Zhejiang Province, Zhejiang Academy of Agricultural Science, Hangzhou 310021, Zhejiang, China)

Abstract: GRAS is a very important transcription factors (TFs) family in plants and can be classified into ten subfamilies. There has been numerous research on elucidating the functions of GRAS TFs in medical plants and other plants. The existing research indicates that this kind of TFs participate extensively in the process of growth, development, response to abiotic stress, signal transduction, primary and secondary metabolism, and so on. This study reviews the research progresses on GRAS TFs around the structure features, functional roles, and new research advances. After analyzing the research prospect of medicinal plants in combination with our own research, the paper proposes the following directions for future research: firstly, the function of each GRAS subfamily conserved structural domain should be analyzed; secondly, the evolution characteristics of GRAS protein N-terminal variable sequences should be elucidated; thirdly, the molecular regulatory network about how the GRAS families regulate the quality and respond to adversity stress should be analyzed; finally, the co-operative regulation model of epigenetic modification and GRAS should be studied. This study provides an important reference to conduct innovative research works on Chinese medical plants. [Ch, 1 fig. 2 tab. 39 ref.]

Key words: traditional Chinese medicine; medical plant; transcription factor; growth and development; abiotic stress; signal transduction

收稿日期: 2018-12-14; 修回日期: 2019-01-13

基金项目: 农业部/浙江省植物保护生物技术重点实验室开放基金资助项目(2010DS700124-KF1607)

作者简介: 刘云辉, 从事植物次生代谢分子调控研究。E-mail: 459658660@qq.com。通信作者: 沈亚芳, 从事植物生物技术研究。E-mail: avon-2004@163.com

转录因子(transcription factors, TFs)又称反式作用元件,能够直接或间接与基因启动子区域顺式作用元件发生特异性结合,并调控基因的转录。GRAS蛋白是近年来发现在植物中特有的一类TFs,其命名由最初被发现的3个成员GAI(gibberellic acid insensitive), RGA(repressor of GA1-3 mutant)和SCR(scarecrow)的特征字母而来。GRAS家族成员众多,包含10个主要亚家族,广泛参与植物生长发育、激素信号的转导、光信号通路的转导、根部辐射形态的形成、分生组织的维持以及逆境胁迫的响应等过程^[1]。目前,在全基因组上挖掘GRAS TFs家族成员的研究工作已在多个物种,如菘蓝 *Isatis indigotica*, 木麻黄 *Casuarina glauca*, 丹参 *Salvia miltiorrhiza*, 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 和水稻 *Oryza sativa* 等物种中展开。部分GRAS家族成员的功能主要在水稻和拟南芥等模式植物进行了系统研究,但在药用植物中,GRAS候选转录因子的挖掘与功能解析的研究工作进展相对缓慢。本研究将对GRAS家族蛋白的结构特征、功能特性以及在药用植物中的最新研究进展进行综述,在总结前人研究成果的基础上,结合自身的研究展开分析,以期后续在药用植物中开展对GRAS TFs家族成员的功能及应用研究提供思路 and 参考。

1 GRAS 转录因子家族的蛋白结构特征

GRAS蛋白一般由400~770个氨基酸残基组成,不同家族成员的氨基酸序列和长度一般存在较大的差异。典型的GRAS蛋白具有高度保守的羧基端(C-Terminal, C端)(图1),其C端一般为组氨酸和天门冬氨酸组成的基序VHIID(valine, V, 缬氨酸; histidine, H, 组氨酸; isoleucine, I, 异亮氨酸; D-aspartic acid, D, D-天冬氨酸)。在VHIID两侧是富含亮氨酸结构的LR I(leucine-rich region I, LR I)和LR II(leucine-rich region II, LR II), LR I基序中包含1个核定位信号区域(nuclear localization signal, NLS),而在LR II则是包含LXXLL结构(L: 亮氨酸; XX: 2个任意氨基酸残基)。PFYRE基序(proline, P, 脯氨酸; phenylalanine, F, 苯丙氨酸; tyrosine, Y, 酪氨酸; arginine, R, 精氨酸; glutamic acid, E, 谷氨酸)和RVER基序(arginine, R, 精氨酸; valine, V, 缬氨酸; glutamic acid, E, 谷氨酸)靠近LR II区域;而在最后的是SAW基序(ser, S, 丝氨酸; ala, A, 丙氨酸; trp, W, 色氨酸)^[2]。VHIID基序与两侧的LR I和LR II基序是GRAS家族蛋白的标志性结构域,几乎存在于所有的GRAS家族成员中,该结构域在后续的实验中被证明参与蛋白间和蛋白与核酸间的相互作用^[3]。迄今为止,GRAS蛋白PFYRE和SAW基序的具体功能仍不清楚;但由于这2个结构较为保守,暗示它们对维持蛋白的空间结构和生物功能有重要的作用^[4]。GRAS蛋白的氨基端(N-terminal, N端)是一个长度和氨基酸序列组成均可高度变化的伸展区域,暗示该区域与各个亚家族功能特异性密切相关^[5]。

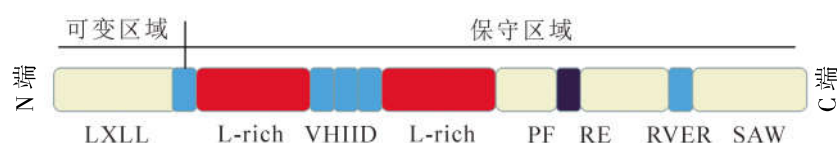


图1 GRAS转录因子家族的蛋白结构示意图

Figure 1 Schematic diagram of GRAS transcription factor family protein

2 利用组学方法挖掘药用植物GRAS转录因子家族成员

目前,仅有从菘蓝,木麻黄,丹参,蓖麻 *Ricinus communis*, 百脉根 *Lotus japonicus* 和莲 *Nelumbo nucifera* 等药用植物中有分离与鉴定GRAS转录因子家族成员的研究报道(表1)。十字花科Cruciferae菘蓝又名茶蓝、板蓝根,以干燥叶和根入药称“板蓝根”,叶入药称“大青叶”,具有清热解毒、凉血消斑的功效,可用于治疗温病发热、发斑、风热感冒、咽喉肿痛、丹毒、流行性乙型脑炎、肝炎和腮腺炎等症。利用全基因组数据,从菘蓝中分离了10个亚家族共41个GRAS基因成员;转录组测序表明:5个DELLA成员和5个PAT1成员都能响应甲基茉莉酸(MeJA)的诱导而显著上调;而1个DELLA成员、1个PAT1成员、2个LAS家族成员以及2个SCL4/7成员都显著下调。但41个成员的具体功能未知,有待于进一步研究^[6]。木麻黄科Casuarinaceae木麻黄又称木贼叶木麻黄、木贼麻黄,以幼嫩枝叶或树皮入药。药性温、药味辛、苦。功效为宣肺止咳,行气止痛,温中止泻,利湿。可用于治疗感冒发热、咳

嗽、疝气、腹痛、泄泻、痢疾、小便不利、脚气肿毒。目前从木麻黄的 EST 序列中鉴定了 2 个亚家族共 11 个 GRAS 基因成员，但各自功能未知^[7]。从唇形科 Labiatae 丹参基因组中克隆了 SHR, PAT1, SCL4/7 和 SCL3 共 4 个亚家族 5 个 GRAS 成员，均在茎和叶片中的表达量较高。5 个成员都响应 GA 诱导而显著上调，而 SHR 家族成员 GRAS1, PAT1 家族成员 GRAS4, SCL4/7 和 GRAS5 还响应乙烯的诱导而显著上调^[8]。大戟科 Euphorbiaceae 蓖麻以根及叶入药。夏秋采根及叶，分别晒干或鲜用。叶能消肿拔毒、止痒、治疮疡肿毒、治湿疹瘙痒。根能祛风活血、止痛镇静，用于风湿关节痛、破伤风、癫痫、精神分裂症。目前从蓖麻基因组中分离 9 个亚家族共 46 个 GRAS 基因成员。然而，不同组织部位的转录组测序共检测到 31 个 GRAS 家族成员表达；其中 17 个 GRAS 家族成员在叶片中的表达最高，8 个 GRAS 家族成员在根中的表达量最高，6 个 GRAS 成员在种子的胚乳中的表达量较高。此外，还对其中 36 个 GRAS 成员在干旱、高盐、冷害和热胁迫处理下的表达特征进行了检测分析，发现其至少能响应其中 1 种非生物胁迫，表达量显著上调，暗示此 36 个 GRAS 家族成员在蓖麻中能够有效的抵抗非生物逆境的胁迫，具有重要的生物学意义^[9]。豆科 Leguminosae 植物百脉根以根入药，味甘苦、微寒、无毒。功能主治下气、止渴、去热、除虚劳、补不足。目前，从百脉根基因组中鉴定了 6 个亚家族共 18 个 GRAS 基因成员。研究证实：2 个 GRAS 蛋白家族成员 RAD1 能与 RAM1 蛋白互作，促进豆科植物百脉根丛生菌根的生长发育^[10]。睡莲科 Nymphaea tetragona 植物莲以花蕾入药，味苦、甘、性平、归心、肝经；具有散瘀止血、祛湿消风的功效。常用于损伤呕血、血淋、崩漏下血、天泡湿疮、疥疮瘙痒；目前在其基因组中分离了 9 个亚家族共 38 个 GRAS 基因成员，但各成员的功能未知^[11]。

表 1 药用植物 GRAS 转录因子的分离与亚家族分类

Table 1 Isolation and subfamily classification of GRAS transcription factors in medicinal plants												
药用植物名称	GRAS 亚家族成员数目/个										合计/个	参考文献
	DELLA	SCR	SCL4/7	LAS	HAM	SHR	PAT1	SCL3	DLT	LISCL		
松蓝	5	2	2	2	4	8	8	1	1	8	41	[6]
木麻黄	2		9								11	[7]
丹参			1			1	2	1			5	[8]
蓖麻	4	3	7		6	4	6	3	6	7	46	[9]
百脉根	3	2	4			1		4		4	18	[10]
莲	4	3	4	1	4	7	10	3		2	38	[11]

3 GRAS 转录因子家族成员的生物学功能

依据结构特征及功能特点 GRAS 家族成员可划分为 DELLA, HAM, LISCL, PAT1, LAS, SCR, SCL4/7, DLT, SHR 和 SCL3 等 10 个主要亚家族^[1]。目前在药用植物中围绕 10 个亚家族成员功能的具体研究报道甚少。在拟南芥、水稻等模式植物中对 GRAS 亚家族成员功能的最新研究能为药用植物的同类研究提供很好的参考(表 2)。

3.1 SCR 和 SHR 亚家族主要调控植物根辐射形态的形成与发育

植物根的生长发育主要由细胞分裂和分化来共同调节，而根的形成是由干细胞通过一系列不对称分裂产生根的内外皮层，再通过差异分化形成了形态各异的组织。SCR(scarecrow)和 SHR(short-root)是 GRAS TFs 家族中 2 个亚家族，两者均作为正向调控因子调节拟南芥根辐射形态的生长，并对根单层细胞的形成起重要的调节作用^[12-13]。对拟南芥的研究发现：SCR 主要在根表皮细胞中表达，当 SCR 功能缺失突变时会影响细胞层的正常发育。SCR 仅调控基本组织子细胞的分裂过程，而 SHR 不仅能影响根内皮层细胞的极性分化，还能在特定组织中激活 SCR 启动子，使 SHR 通过介导 SCR 来发挥调控子细胞分化的能力^[14]。此外，SHR 蛋白具有移动的特性；尽管其在中柱鞘细胞中特异表达，但却能够从外部的单层细胞转移至内皮层细胞中与 SCR 相互结合形成二聚体，共同激活 SCR 基因和相关下游靶基因的转录。SHR 蛋白的 VHHD 基序和 PFYRE 基序的 N 末端序列能够稳定蛋白结构，使 SHR 跨膜运动能够顺利完成。SCR 和 SHR 均能促进 SIEL(short-root interacting embryonic lethal)的表达，而 SIEL 能够促进 SHR 移出中柱鞘细胞完成跨膜运动^[15]。综上所述，SCR 和 SHR 在转录关系上具有相互依赖性，所形成的 SCR-

表2 GRAS 转录因子亚家族的分类与功能描述概要

Table 2 Subfamily classification and brief description of GRAS transcription factors

GRAS 亚家族分类	功能描述	参考文献
SCR, SHR	2个亚类蛋白存在互作, 正向调控根辐射形态的形成与发育、以及叶和芽的发育	[12–15]
LISCL	主要调控植物根细胞的伸长以及细胞的分裂	[16–18]
DELLA	主要在赤霉素、茉莉酸和光信号介导下调控植物的生长发育; 对植物逆境胁迫以及生长发育也能起到重要的调控作用	[19–23]
SCL3	SCL3 主要在根的内皮层中表达, 不仅在赤霉素/DELLA 的调控途径中发挥重要作用, 同时联合 SHR/SCR 转录因子共同调控根部细胞的伸长与分裂	[24–25]
SCL4/7, LAS, HAM	调控植物顶端分生组织的分化	[26–31]
PAT1	PAT1 能与 SCL 蛋白互作调控光敏色素信号通路的转导; PAT1 还受 DELLA 蛋白的调控参与 GA 信号介导的病害免疫应答	[32–37]
DLT	BR 信号能够促进蛋白与 DLT 亚家族蛋白互作, 下调控植物株型和谷粒的形态	[38–39]

SHR 复合体能正向调节 SCR。SCR 和 SHR 除了在植物根部发育的过程中起重要作用外, 还对植物叶和芽的发育起重要的调节作用。因此, 此 GRAS 亚类转录因子的深入研究对以根和叶入药的药用植物具有重要意义。

3.2 LISCL 亚家族主要调控植物细胞的伸长与分裂

对麝香百合 *Lilium longiflorum* 的研究表明: LISCL(*Lilium longiflorum* Scarecrow-Like)亚家族在植物转录调控中发挥着重要的作用。LISCL 蛋白 N 端具有转录激活活性, 在减数分裂前期能与控制花药细胞减数分裂相关基因的启动子相结合, 起转录激活的作用, 促进细胞的分裂^[16]。辐射松 *Pinus radiata* 的 *PrSCL1* 基因和欧洲板栗 *Castanea sativa* 的 *CsSCL1* 基因均在根部高通量表达, 能够响应外源生长素的诱导, 影响早期不定根细胞的伸长与发育^[17]。烟草 *Nicotiana tabacum* 的 LISCL 亚家族成员 *NtGRAS1* 基因在根部表达量最高, 促进根细胞的伸长^[18]。由此可见, LISCL 亚家族成员的功能主要是调控植物细胞的生长与分裂。

3.3 DELLA 亚家族在赤霉素、茉莉酸和光信号介导下调控植物的生长发育

赤霉素(gibberellin, GA)为四环二萜类化合物, 起调控植物生理的作用, 如种子萌发、下胚轴伸长、植物的营养生长等。在 GRAS TFs 家族中, DELLA 蛋白是研究最为深入的一类。最早在拟南芥中共发现了 5 个 DELLA 蛋白成员, 随后在其他物种中也发现了 DELLA 的家族成员。DELLA 蛋白的主要特征是在 N 末端含有 DELLA 保守结构域, 该结构域对赤霉素信号的感知是必不可少的。DELLA 蛋白作为 GA 信号通路中的关键调控元件, 起负调控的作用, 阻遏植物的生长发育。在信号转导途径中, GA 能与赤霉素受体蛋白 GID1(gibberellin insensitive dwarf 1)相结合形成 GA/GID1 复合体, 并与 DELLA 蛋白 N 端的 DELLA 结构域相结合形成新的 GA/GID1/DELLA 三元复合体; 随之 26 S 蛋白酶将 DELLA 蛋白泛素化并降解, 从而解除 DELLA 蛋白对植物生长的抑制作用。研究还发现: DELLA 蛋白能够与光敏色素互作因子 PIFs(phytochrome interacting factors, PIFs)相互作用, 通过阻遏 PIFs 对相应下游靶基因的转录激活, 进而抑制光信号介导的植物生长发育^[19]。

此外, 茉莉酸(jasmonic acid, JA)作为一类重要的植物激素, 不仅能够调控植物对病虫害的免疫防卫, 同时对生长发育也产生重要的影响。植物 TFs MYC2(myelocytomatosis 2)和茉莉酸阻遏蛋白 JAZs(jasmonate ZIM-domain)处于茉莉酸信号通路的核心位置。研究发现: 拟南芥 DELLA 蛋白能够与茉莉酸阻遏蛋白 JAZ1(jasmonate ZIM-domain 1)相互作用, 阻碍 JAZ1 对 MYC2 的抑制, 进而释放出 MYC2, 促进 MYC2 与下游靶基因的结合, 从而增强 JA 信号介导的 MYC2 的调控作用^[20]。研究还发现: DELLA 是一个功能多样的调控基因, 对植物的干旱、冷害、一氧化氮(NO)等逆境胁迫以及植物的生长发育都能起到重要的调控作用^[21]。利用比较转录组测序, LIU 等^[22]从兰科 Orchidaceae 药用植物金线莲 *Anoectochilus roxburghii* 中挖掘了 11 个编码 DELLA 蛋白的单基因簇, 推测其受兰科共生菌诱导, 能促进种子的萌发。在药用植物丹参中的研究发现, MYC2 能够促进药用活性物质丹酚酸的代谢合成^[23]。DELLA 蛋白能否与 JA 信号通路中的 JAZs 和 MYC2 蛋白互作调控药用植物活性物质的代谢合成或是生长发育, 尚无明确的报道。

3.4 SCL3 亚家族在赤霉素信号介导下调控植物根系的发育

SCL3(scarecrow-like 3)是 GRAS TFs 家族的另一重要亚家族成员。在拟南芥中研究发现: SCL3 主要在根的内皮层中表达, 对根的伸长起重要的调控作用; 同时也参与植物地上和地下部分的器官发育。SCL3 通过与 DELLA 蛋白互作来影响下游的 GA 信号通路, 其作为正调控因子调节植物体内的 GA 平衡, 从而影响生长发育^[24]。SCL3 不仅在 GA/DELLA 的调控途径中发挥重要作用, 同时联合 SHR/SCR 转录因子共同调控根部细胞的伸长与分裂^[25]。由此可见, SCL3 亚家族成员的功能主要是在 GA 信号介导下调控植物根系的发育。对以根入药的药用植物而言, 在收获前期用 GA3 进行诱导处理, 有望提高产量, 具有重要的研究价值。

3.5 SCL4/7, LAS 和 HAM 亚家族主要调控顶端分生组织的分化

GRAS 家族中 LAS 亚家族成员在腋芽生长发育过程中起重要的调节作用。拟南芥 *AtLAS* 是控制叶腋分生组织发育的关键基因, 其功能缺陷突变体由于在营养生长阶段失去分生能力导致不能形成侧枝^[26]。目前已在番茄 *Solanum lycopersicum*, 水稻, 黄瓜 *Cucumis sativus* 和结缕草 *Zoysia japonica* 等物种中发现具有相似功能的 LAS 基因^[27]。*OsMOC1* 是 *AtLAS* 在水稻中的同源基因, 仅在腋芽中表达; 过表达后增加分蘖数量; 而 *OsMOC1* 缺失突变体则表现不分蘖, 同时 2 个调控水稻分蘖的基因 *OsSH1* 和 *OsTB1* 也不表达^[27-28]。

HAM(hairy meristem)是 GRAS 转录因子的亚家族之一, 在矮牵牛 *Petunia hybrida* 中发现的 *PhHAM* 是最早被证明能够维持茎尖分生组织分化的相关基因; 其通过维持顶端分生组织干细胞处于未分化的状态, 使顶端分生组织具有不断分化的能力^[12]。在拟南芥中, *AtLAS* 也具有保持分生组织具有长久分化能力的功能; 且 *PhHAM* 和 *AtLAS* 两者拥有相同的下游靶点, 可通过相似的途径共同控制植物分生组织的生长发育^[12, 27]。甘蓝型油菜 *Brassica napus* 中 *BnSCL1*(SCR-Like 1, SCL1)也是 HAM 亚家族的一员; *BnSCL1* 受生长素的调控来影响植物根的生长发育^[12, 29]。这说明 HAM 亚家族成员的功能调控模式在不同物种中存在一定的差异。

近期, 在陆地棉 *Gossypium hirsutum* 基因中也鉴定了 4 个 SCL4/7 亚家族成员, 但功能未知^[30]。FAMBRINI 等^[31]研究发现: 向日葵 *Helianthus annuus* *HaGRASL* 基因隶属于 GRAS SCL4/7 亚家族。在拟南芥中超表达 *HaGRASL* 能降低植株体内 GAs 的含量, 从而调控腋分生组织的起始分化。目前, 已从菘蓝、木麻黄、丹参、蓖麻、百脉根、莲等 6 种药用植物中鉴定了 GRAS SCL4/7 亚家族的新成员, 但关于其具体功能尚未见报道^[6-11]。

3.6 PAT1 亚家族调控光敏色素信号通路的转导和病害免疫应答

光是重要的环境信号, 对植物生长发育具有重要调节作用。不同的光波长、强度和光周期都会对植物生长产生影响^[32]。在进化过程中, 植物通过产生光敏色素来分辨不同的光信号, 从而达到适应环境的目的。植物光敏色素主要分为 A, B, C, D 和 E 五大类。在 GRAS 转录因子家族中, 拟南芥 *PAT1*(phyto-chrome A signal transduction 1)和 *SCL21*(SCR-Like 21)基因均参与光敏色素 A 的信号转导^[33]; 由于 *AtPAT1* 缺少核定位信号结构, 致使其定位于细胞质中, 因此推测光敏色素 A 早期信号转导发生在细胞质中^[34]。研究表明: *AtPAT1* 和 *AtSCL21* 蛋白能相互作用, 参与光信号的转导过程, 但两者组织表达特征存在着明显的差异; *PAT1* 亚家族成员 *AtSCL21* 在成熟种子中高通量表达, 而 *AtPAT1* 在不同组织部位的表达量则较为均一; 经远红光、红光、蓝光和白光处理后, *SCL21* 表达量会下降, 而 *PAT1* 则无明显变化, 说明两者在光信号转导调控途径中的作用模式存在着较大差异^[35]。*AtSCL13* 归属于 *PAT1* 亚家族, 不仅参与调控光敏色素 A 信号通路, 同时也作为正调控因子参与红光下光敏色素 B 信号的转导^[36]。研究表明: *AtSCL13* 在细胞质和细胞核中都有表达, 过表达 *AtSCL13* 能提高细胞对红光的敏感度。综合对比 *PAT1*, *SCL21* 以及 *SCL13* 的蛋白结构发现, *SCL13* 在 N 端缺少一个 EAISRRDL 基序, 影响基因在光敏色素信号通路中的功能。*PAT1* 家族成员的完整时空调控模式还有待于更进一步深入的研究。此外研究还发现: 水稻 *PAT1* 亚家族成员 *CIGR1*(chitin-inducible gibberellin-responsive 1)和 *CIGR2*(chitin-inducible gibberellin-responsive 2)基因的表达还受到 DELLA 蛋白的调控, 参与 GA 信号介导的免疫应答反应, 提高水稻的抗病能力^[37]。

3.7 BR 信号介导 DLT 亚家族成员调控植物株型和谷粒的形态

油菜素内酯类似物(brassinosteroids, BRs)被公认为第六大植物激素,其作用主要为调控植物细胞的伸长与分裂、叶片的形态、衰老等^[38]。DLT(Dwarf and low-tillering)亚家族是水稻研究中发现的最新 GRAS 家族成员。XIAO 等^[39]研究发现:水稻 GSK2 蛋白激酶能够与 DLT 基因的启动子结合,调控 DLT 基因的表达,从而调控 BRs 的信号转导。研究还发现:在水稻中超表达 OFP1(ovate family protein 1)能够抑制赤霉素(GA3)的合成,促使水稻植株体内产生高浓度的 BRs,从而抑制水稻的生长。同时产生的 BRs 信号能够促进 OFP1(ovate family protein 1)与 DLT 蛋白互作,调控水稻的株型和谷粒的形态。

4 总结与展望

GRAS 转录因子在植物生长、发育、环境胁迫响应、生长信号转导等方面发挥着重要的调控作用。目前围绕 GRAS 家族成员的功能研究主要从以下几方面展开:①GRAS TFs 在 GA, MeJA 和 BR 信号通路中的调控作用特征;②GRAS TFs 在光信号介导下的调控作用;③GRAS TFs 对植物根系和叶片发育的调控作用特征;④GRAS TFs 对植物株型和谷粒的形态调控作用;⑤GRAS TFs 对腋生分生组织形成和维持的调控作用;⑥GRAS TFs 响应病害等环境胁迫的分子调控机制。对整个 GRAS 家族而言,目前功能已知的家族成员所占比例较小,而且相关研究主要集中在模式植物拟南芥和水稻中。GRAS TFs 在药用植物中的挖掘与应用研究报道甚少。近期,BAI 等^[8]研究发现:GRAS 基因受到外源 GA 和 Eth(Ethylene)的正调控促进丹参酮的积累,暗示 GRAS TFs 可通过 GA 或 Eth 信号介导参与丹参次级代谢物的生物合成。由此可见,GRAS TFs 家族可能在药用活性物质的代谢合成过程中具有重要的调节作用。

随着“中医药现代化建设”国家战略的提出,利用现代生物技术手段提高中药材的品质,从药源确保中药材的品质是当今理论和应用研究的热点。因此,可从以下方面开展药用植物研究:①GRAS TFs 依据保守结构域特征可划分成为 10 个主要的亚家族,每个家族成员的功能差别较大,目前每个亚家族保守结构域的完整分子作用特征还有待进一步深入的解析。②GRAS 蛋白 N 端的可变序列也是功能分化的重要基序,对其功能进行系统的研究,具有重要的理论指导意义。③尽管目前通过常规的分子生物学和遗传学研究手段已鉴定一些 GRAS 家族成员,但每个成员的完整分子机制并不清晰。可以通过现代组学测序技术,结合关联分析,挖掘与 GRAS 家族成员互作的候选蛋白,并结合分子和生物化学分析技术解析和阐明其完整的调控网络。④GRAS TFs 有些定位于细胞核,有些定位在细胞质中与其他 TFs 相结合形成 TFs 复合体而行使功能;同一 GRAS TFs 也可以与不同的蛋白成员相结合,在不同的信号途径(譬如 GA 信号、BRs 信号、MeJA 信号等)中发挥着完全不同的功能。因此,深入研究 GRAS 特定家族成员的类似功能,将在药用植物逆境胁迫和品质改良方面具有重要的应用前景。⑤目前在药用植物开展表观遗传调控是一个研究热点。因此可利用第 3 代转录组测序、甲基化测序等现代技术手段深入研究小 RNA(MicroRNA),长链非编码 RNA(lncRNA)和甲基化(Methylation)等表观修饰调控与 GRAS TFs 的协同调控作用模型。

5 参考文献

- [1] TIAN Chaoguang, WAN Ping, SUN Shouhong, *et al.* Genome-wide analysis of the GRAS gene family in rice and *Ara-bidopsis* [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, **54**(4): 519 – 532.
- [2] LIU Baoling, SUN Yan, XUE Jinai, *et al.* Genome-wide characterization and expression analysis of GRAS gene family in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J/OL]. *Peer J*, 2018, **6**: e4796. <https://peerj.com/preprints/3522.pdf>.
- [3] ZHOU Shengen, HU Zongli, LI Fenfeng, *et al.* Manipulation of plant architecture and flowering time by down-regulation of the GRAS transcription factor *SlGRAS26* in *Solanum lycopersicum* [J]. *Plant Sci*, 2018, **271**: 81 – 93.
- [4] SUN Xiaolin, JONES W T, RIKKEINK E H A. GRAS proteins: the versatile roles of intrinsically disordered proteins in plant signalling [J]. *Biochem J*, 2012, **442**(1): 1 – 12.
- [5] SUN Xiaolin, XUE Bin, JONES W T, *et al.* A functionally required unfoldome from the plant kingdom: intrinsically disordered N-terminal domains of GRAS proteins are involved in molecular recognition during plant development [J]. *Plant Mol Biol*, 2011, **77**(3): 205 – 223.
- [6] WANG Yu, SHI Shenglu, ZHOU Ying, *et al.* Genome-wide identification and characterization of GRAS transcription

- factors in sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) [J]. *Peer J*, 2016, **4**: e2388. doi: 10.7717/peerj.2388.
- [7] ZHANG Lei, LI Qing, CHEN Junfeng, *et al.* Computational identification and systematic classification of novel GRAS genes in *Isatis indigotica* [J]. *Chin J Nat Med*, 2016, **14**(3): 161 – 176.
- [8] BAI Zhenqing, XIA Pengguo, WANG Ruilin, *et al.* Molecular cloning and characterization of five *SmGRAS* genes associated with tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *PLoS One*, 2017, **12**(9): e0185322. doi: 10.1371/journal.pone.0185322.
- [9] DIÉDHIU I, TROMAS A, CISSOKO M, *et al.* Identification of potential transcriptional regulators of actinorhizal symbioses in *Casuarina glauca* and *Alnus glutinosa* [J]. *BMC Plant Biol*, 2014, **14**: 342. doi: 10.1186/s12870-014-0342-z.
- [10] XU Wei, CHEN Zexin, AHMED N, *et al.* Genome-wide identification, evolutionary analysis, and stress responses of the GRAS gene family in castor beans [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, **17**(7): e1004. doi: 10.3390/ijms17071004.
- [11] XUE Li, CUI Haitao, BUER B, *et al.* Network of GRAS transcription factors involved in the control of arbuscule development in *Lotus japonicus* [J]. *Plant Physiol*, 2015, **167**(3): 854 – 871.
- [12] RICH M K, COUR P E, ROUX C, *et al.* Role of the GRAS transcription factor *ATA/RAM1* in the transcriptional reprogramming of arbuscular mycorrhiza in *Petunia hybrid* [J]. *BMC Genomics*, 2017, **18**(1): 589. doi: 10.1186/s12864-017-3988-8.
- [13] KOIZUMI K, HAYASHI T, WU S, *et al.* The SHORT-ROOT protein acts as a mobile, dose-dependent signal in patterning the ground tissue [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(32): 13010 – 13015.
- [14] SLEWINSKI T L, ANDERSON A A, ZHANG Cankui K, *et al.* Scarecrow plays a role in establishing Kranz anatomy in maize leaves [J]. *Plant Cell Physiol*, 2012, **53**(12): 2030 – 2037.
- [15] KOIZUMI K, WU Shuang, MACRAE-CRERAR A, *et al.* An essential protein that interacts with endosomes and promotes movement of the SHORT-ROOT transcription factor [J]. *Curr Biol*, 2011, **21**(18): 1559 – 1564.
- [16] HAN Mingyu, FAN Sheng, ZHANG Dong, *et al.* Identification, classification, and expression analysis of GRAS gene family in *Malus domestica* [J]. *Front Physiol*, 2017, **8**: 253. doi: 10.3389/fphys.2017.00253.
- [17] WANG Yinxin, LIU Zhiwei, WU Zhijun, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of GRAS family transcription factors in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 3949. doi: 10.1038/s41598-018-22275-z.
- [18] CZIKKEL B E, MAXWELL D P. *NtGRAS1*, a novel stress-induced member of the GRAS family in tobacco, localizes to the nucleus [J]. *J Plant Physiol*, 2007, **164**(9): 1220 – 1230.
- [19] YOON E K, DHAR S, LEE M H, *et al.* Conservation and diversification of the SHR-SCR-SCL23 regulatory network in the development of the functional endodermis in *Arabidopsis* shoots [J]. *Mol Plant*, 2016, **9**(8): 1197 – 1209.
- [20] FENG Suhua, MARTINEZ C, GUSMAROLI G, *et al.* Coordinated regulation of *Arabidopsis thaliana* development by light and gibberellins [J]. *Nature*, 2008, **451**(7177): 475 – 479.
- [21] HOU Xingliang, LEE L Y, XIA Kuaifei, *et al.* DELLAs modulate jasmonate signaling via competitive binding to JAZs [J]. *Dev Cell*, 2010, **19**(6): 884 – 894.
- [22] LIU Sisi, CHEN Juan, LI Shuchao, *et al.* Comparative transcriptome analysis of genes involved in GA-GID1-DELLA regulatory module in symbiotic and asymbiotic seed germination of *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. (Orchidaceae) [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, **16**(12): 30190 – 30203.
- [23] YANG Na, ZHOU Wenping, SU Jiao, *et al.* Overexpression of *SmMYC2* increases the production of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Front Plant Sci*, 2017, **8**: 1804. doi: 10.3389/fpls.2017.01804.
- [24] ZHANG Zhonglin, OGAWA M, FLEET C M, *et al.* SCARECROW-LIKE 3 promotes gibberellin signaling by antagonizing master growth repressor DELLA in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(5): 2160 – 2165.
- [25] HEO J O, ESTELLE M. Funneling of gibberellin signaling by the GRAS transcription regulator scarecrow-like 3 in the *Arabidopsis* root [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(5): 2166 – 2171.
- [26] GRIMPLET J, AGUDELO-ROMERO P, TEIXEIRA R T, *et al.* Structural and functional analysis of the GRAS gene family in grapevine indicates a role of GRAS proteins in the control of development and stress responses [J]. *Front Plant Sci*, 2016, **7**: 353. doi: 10.3389/fpls.2016.00353.
- [27] YANG Minggu, YANG Qingyong, FU Tingdong, *et al.* Overexpression of the *Brassica napus* *BnLAS* gene in *Arabidopsis* affects plant development and increases drought tolerance [J]. *Plant Cell Rep*, 2011, **30**(3): 373 – 388.

- [28] ENGSTROM E M, ANDERSEN C M, GUMULAK-SMITH J, *et al.* *Arabidopsis* homologs of the petunia hairy meristem gene are required for maintenance of shoot and root indeterminacy [J]. *Plant Physiol*, 2011, **155**(6): 735 – 750.
- [29] GAO Mingjun, PARKIN I, LYDIATE D, *et al.* An auxin-responsive SCARECROW-like transcriptional activator interacts with histone deacetylase [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, **55**(3): 417 – 431.
- [30] ZHANG Bin, LIU J, YANG Zhaoe, *et al.* Genome-wide analysis of GRAS transcription factor gene family in *Gossypium hirsutum* L. [J]. *BMC Genomics*, 2018, **19**(1): 348. doi: 10.1186/s12864-018-4722-x.
- [31] FAMBRINI M, MARIOTTI L, PARLANTI S, *et al.* A GRAS-like gene of sunflower (*Helianthus annuus* L.) alters the gibberellin content and axillary meristem outgrowth in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. *Plant Biol*, 2015, **17**(6): 1123 – 1134.
- [32] 周波, 李玉花. 植物的光敏色素与光信号转导[J]. 植物生理学报, 2006, **42**(1): 134 – 140.
ZHOU Bo, LI Yuhua. Phytochrome and light signal transduction in plants [J]. *Plant Physiol J*, 2006, **42**(1): 134 – 140.
- [33] LEE M H, KIM B, SONG S K, *et al.* Large-scale analysis of the *GRAS* gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 2008, **67**(6): 659 – 670.
- [34] BOLLE C, KONCZ C, CHUA N H. *PAT1*, a new member of the GRAS family, is involved in phytochrome A signal transduction [J]. *Gene Dev*, 2000, **14**(10): 1269 – 1278.
- [35] TORRES-GALEA P, HIRTREITER B, BOLLEC C. Two GRAS proteins, SCARECROW-LIKE21 and PHYTOCHROME A SIGNAL TRANSDUCTION1, function cooperatively in phytochrome A signal transduction [J]. *Plant Physiol*, 2013, **161**(1): 291 – 304.
- [36] TORRES-GALEA P, HUANG Lifang, CHUA N H, *et al.* The GRAS protein SCL13 is a positive regulator of phytochrome-dependent red light signaling, but can also modulate phytochrome A responses [J]. *Mol Genet Genomics*, 2006, **276**(1): 13 – 30.
- [37] DAY R B, TANABE S, KOSHIOKA M, *et al.* Two rice GRAS family genes responsive to N-acetylchitooligosaccharide elicitor are induced by phytoactive gibberellins: evidence for cross-talk between elicitor and gibberellin signaling in rice cells [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, **54**(2): 261 – 272.
- [38] 郑洁, 王磊. 油菜素内酯在植物生长发育中的作用机制研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2014, **16**(1): 52 – 58.
ZHENG Jie, WANG Lei. Advance in mechanism of brassinosteroid in plant development [J]. *J Agric Sci Technol China*, 2014, **16**(1): 52 – 58.
- [39] XIAO Yunhua, LIU Dapu, ZHANG Guoxia, *et al.* Brassinosteroids regulate OFP1, a DLT interacting protein, to modulate plant architecture and grain morphology in rice [J]. *Front Plant Sci*, 2017, **8**: 1698. doi: 10.3389/fpls.2017.01698.