

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.00132

## 水稻灌浆期叶片蛋白质差异表达及其作用机理分析

李兆伟<sup>1</sup> 熊 君<sup>1,2</sup> 齐晓辉<sup>1,2</sup> 王经源<sup>1,2</sup> 陈鸿飞<sup>1</sup> 张志兴<sup>1</sup> 黄锦文<sup>1</sup>  
梁义元<sup>1</sup> 林文雄<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> 福建农林大学农业生态研究所; <sup>2</sup> 福建农林大学生命科学学院, 福建福州 350002

**摘 要:** 采用双向电泳和质谱技术研究大穗型水稻“金恢 809”灌浆期旗叶的蛋白质表达模式, 共发现 17 个蛋白质发生差异表达, 其中 3 个在灌浆前期至中期大量表达, 9 个在中后期大量表达, 4 个在后期大量表达, 1 个在灌浆前期和后期出现两次表达高峰。经 MALDI-TOF/MS 分析和数据库检索, 鉴定出 12 个差异蛋白质, 分别参与叶片的物质合成与降解, 碳水化合物运输, 植株抗氧化反应, 激素代谢, 以及细胞骨架的构建和组织成熟等生理反应。分析结果表明, 核糖/半乳糖/甲基半乳糖苷运输 ATP 结合蛋白 1 在灌浆前中期参与物质向籽粒的运输; 生长素响应蛋白 IAA27 通过调节 ATPase 活性影响叶片物质运输; N-乙酰谷氨酸半醛脱氢酶在灌浆末期参与叶片的多胺代谢, 延缓叶片衰老; 谷胱甘肽 S-转移酶和 Cu/Zn-超氧化物歧化酶在籽粒灌浆后期的植物解毒和防御活性氧伤害中起着重要作用。

**关键词:** 水稻; 灌浆; 叶片; 蛋白质组学

## Differential Expression and Function Analysis of Proteins in Flag Leaves of Rice during Grain-Filling Period

LI Zhao-Wei<sup>1</sup>, XIONG Jun<sup>1,2</sup>, QI Xiao-Hui<sup>1,2</sup>, WANG Jin-Yuan<sup>1,2</sup>, CHEN Hong-Fei<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-Xing<sup>1</sup>, HUANG Jin-Wen<sup>1</sup>, LIANG Yi-Yuan<sup>1</sup>, and LIN Wen-Xiong<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Agriecological Institute, Fujian Agriculture and Forestry University; <sup>2</sup> College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

**Abstract:** The experiment was conducted to study the protein expression pattern in flag leaves of rice cultivar Jinhui 809 with large panicles and high grain-setting percentage during grain-filling period using two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. The results showed that there were 17 protein spots with differential expression. Among them, three protein spots had the most expression amount from early to mid-stage, nine protein spots had the most expression amount from middle to late stages, four protein spots reached the most expression amount in late stage, and one protein spot had two top expression peaks in early and late stages of grain filling, respectively. MALDI-TOF/MS analysis and database searching identified 12 differential proteins involved in biosynthesis and degradation, carbohydrate transportation, anti-oxidation reaction, hormone metabolism, cytoskeleton construction and tissue maturation, respectively. Ribose/galactose/methyl galactoside importing ATP-binding protein 1 was participated in photosynthates transportation from leaf to grain in early and mid-stages. Auxin-responsive protein IAA27 influenced photosynthates transportation by regulating the activity of ATPase. N-acetyl-glutamate semialdehyde dehydrogenase delayed leaf senescence through regulating polyamine metabolism in late stage. In addition, glutathione S-transferase and superoxide dismutase played an important role in plant detoxification and fighting against oxygen species damage at late stage of grain filling. The current results provide the valuable evidences for us to reveal the metabolism mechanism at grain filling stage in super-rice.

**Keywords:** Rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*); Grain filling; Leaf; Proteomics

水稻籽粒灌浆决定着稻米的产量和品质, 因此籽粒灌浆特性一直受到水稻工作者的关注<sup>[1]</sup>。对大穗型高产品种水稻而言, 结实率低和充实度差是其

难以实现大面积稳定均衡增产的主要原因<sup>[2]</sup>。水稻产量受库容与填库能力决定, 填库能力主要决定籽粒结实率和充实度, 与源的特性(即叶面积、透光率、

本研究由国家自然科学基金项目(30600385), 福建省重大科技项目(2004NZ01-4), 福建省自然科学基金项目(2008J0042)资助。

\*通讯作者(Corresponding author): 林文雄, E-mail: wenxiong181@163.com

第一作者联系方式: E-mail: lizw197@163.com

Received(收稿日期): 2008-04-08; Accepted(接受日期): 2008-07-14.

消光系数、叶绿素含量等)和光合产物的积累、运转直接相关<sup>[3]</sup>。水稻籽粒的灌浆物质主要来源于花后的光合产物,抽穗后籽粒灌浆所需要的营养物质60%~80%来自叶片的光合作用。目前研究普遍认为光合产物供应不足限制了水稻产量的提高,是影响籽粒灌浆结实的重要因素<sup>[4-6]</sup>。前人研究认为,叶片的光合能力与产量直接相关,提高适宜的叶面积指数是实现高产的关键<sup>[7]</sup>。在库大流畅的条件下,源的光合能力是水稻产量的主要限制因素,只是源的限制作用有时表现为被动过程<sup>[8]</sup>。因此,明确功能叶的光合性状对制定高产栽培技术、发挥品种的增产潜力具有重要意义<sup>[9]</sup>。

蛋白质组学采用高通量、高分辨率的鉴定技术研究特定条件下的蛋白表达谱<sup>[10]</sup>,已被用于水稻发育研究中,并取得了一定的成果。Imin等<sup>[11]</sup>研究水稻花药在小孢子发育时期的蛋白质表达情况,确认了53个在花药发育时期发挥重要作用的蛋白质点;Kerim等<sup>[12]</sup>研究花粉发育过程中蛋白表达变化,鉴定出40个与花粉发育相关的蛋白;Yang等<sup>[13]</sup>鉴定出98个水稻乳熟期最高节间的总可溶性蛋白质,分为11个功能类别,分别参与能量代谢、信号传递和抗性胁迫。目前,水稻发育蛋白质组学研究主要针对植株在生长发育时期的组织器官以及亚细胞结构的蛋白质表达差异,从而揭示其发育代谢机理。而水稻籽粒灌浆期间,水稻源器官——叶片的基因表达机理的研究尚未见报道。本研究应用差异蛋白质组学研究方法,探讨大穗型水稻籽粒灌浆不同时期叶片的蛋白质代谢模式及其对水稻籽粒灌浆的影响,旨在揭示水稻源器官物质代谢的分子机理,从而丰富源库理论。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以自行选育的超大穗型水稻(*Oryza sativa* L. ssp. *indica*)金恢809为材料。萌发的种子播在含水稻土的苗盘上,在2006年4月初待幼苗在自然条件下生长到5叶期时(播种后约35 d),移栽到福建农林大学农业生态研究所莆田实验基地,株、行距为16 cm×20 cm,4个重复试验小区。植株在幼苗生长105 d后抽穗开花,当主茎的旗叶(第16片叶)抽出后,选取30株长势整齐一致的标记挂牌,自开花至花后35 d每隔7 d,于下午16:00左右在各小区非边行处取5株,剪取其旗叶,置液氮中保存,用于蛋白质的提取。

### 1.2 叶片蛋白质样品制备

按王经源等<sup>[14]</sup>的TCA-丙酮沉淀法进行。按Garrels<sup>[15]</sup>的方法测定蛋白质含量后,用作电泳样品。

### 1.3 二维聚丙烯酰胺凝胶电泳(2-DE)

参照王经源等<sup>[14]</sup>的方法。第一向等电聚焦(IEF)采用18 cm自制管状胶条,上样量为150 μg。在28℃下,依次按200、300、400、500、600、800 V各30 min,1 000 V 18 h,1 100 V 30 min的电压梯度进行电泳。第二向聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)的凝胶规格为180 mm×180 mm×1.5 mm,分离胶浓度为10%,浓缩胶浓度为5%。电泳结束后,用硝酸银染色。Umax powerlook III扫描仪扫描凝胶图像,构建蛋白质表达图谱;借助Image Master 5.0软件分析。

### 1.4 蛋白质点胶内酶解

参照Peng等<sup>[16]</sup>的方法略作修改,挖取差异蛋白质点,在1:1的0.03 mol L<sup>-1</sup>铁氰化钾和0.1 mol L<sup>-1</sup>硫代硫酸钠混合液中脱色;57℃条件下0.01 mol L<sup>-1</sup> DTT溶液中还原1 h,0.055 mol L<sup>-1</sup>碘乙酰胺溶液烷基化1 h;用12.5 ng μL<sup>-1</sup>胰蛋白酶缓冲液4℃下水化30 min,并在37℃下,0.05 mol L<sup>-1</sup>碳酸氢铵溶液中酶切14 h。分别用0.02 mol L<sup>-1</sup>碳酸氢铵溶液、含5%TFA的50%乙腈、100%乙腈萃取酶切产物。

### 1.5 MALDI-TOF/MS(基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱)分析

使用德国BRUKER公司的ReFlexTMIII MALDI-TOF质谱仪及反射模式,离子源加速电压1为20 kV,加速电压2为23 kV,N<sub>2</sub>激光波长337 nm,脉冲宽度为3 ns,离子延迟提取2 000 ns,真空度1.9×10<sup>-5</sup> Pa,质谱信号单次扫描累加50次,并用标准Mark峰作为外标校正质谱峰,正离子谱检测。基质为HCCA(a-cyano-4-hydroxy-cinnamic acid)饱和液,基质溶解液为40%乙腈和60%溶有0.1%TFA的双蒸水。用2 μL 0.5% TFA溶液溶解肽段,按1:1将样品溶液和基质溶液混合后点样,自然干燥后进行质谱分析,获得肽指纹图谱(PMF),用MASCOT软件检索查询。对表观pI值及分子量未做要求;肽片段分子量最大容许误差范围为1.2 Da,对蛋白种属,选择水稻(*Oryza sativa*),不完全裂解位点1个,碘乙酰胺处理,分别交换MSDB和Swiss Prot数据库链进行查询。

## 2 结果与分析

### 2.1 籽粒灌浆不同时期叶片蛋白组图谱的构建与比较分析

水稻灌浆不同时期(第 0、7、14、21 和 28 天)的叶片蛋白质组, 经过双向电泳分离, 得到 5 张不同的图谱, 通过 ImageMaster 5.0 软件分析, 在  $pI$  从 3.5~10.0 和分子量(MW)为 14~116 kD 的范围中, 手工除去杂点后, 共检出 1 930 个蛋白点, 平均每块胶 386 个蛋白点, 当差异达到 1.5 倍时即认为具有显著性, 据此检测出 17 蛋白点在灌浆不同时期表达量有显著差异, 分别标记为 1~17(图 1), 挖取差异蛋白质点, 进行 MALDI-TOF/MS 鉴定分析。

### 2.2 水稻叶片在灌浆不同时期蛋白质差异表达分析

分别根据 17 个差异蛋白质的肽质量指纹图谱(图 2)所得的数据, 去除杂质峰值后, 通过 Matrix Science (London, UK)网站(<http://www.matrixscience.com>)提供的 MASCOT 软件进行查询。共有 12 个蛋白质得到鉴定(表 1), 另外 5 个蛋白质(编号为 6、9、10、13

和 16)在蛋白数据库中没有明显的同源匹配蛋白, 未能鉴定。

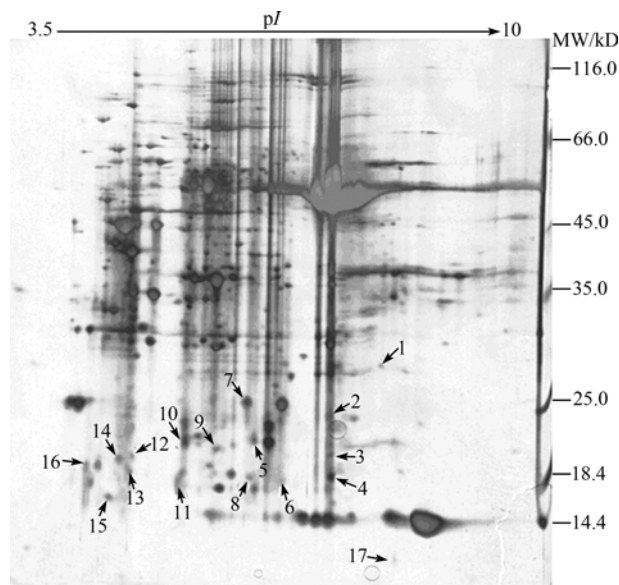


图 1 大穗型水稻品种“金恢 809”灌浆期叶片的双向凝胶电泳图谱  
Fig. 1 The 2-D image of leaf protein of Jinhui 809 with large panicles during grain filling period

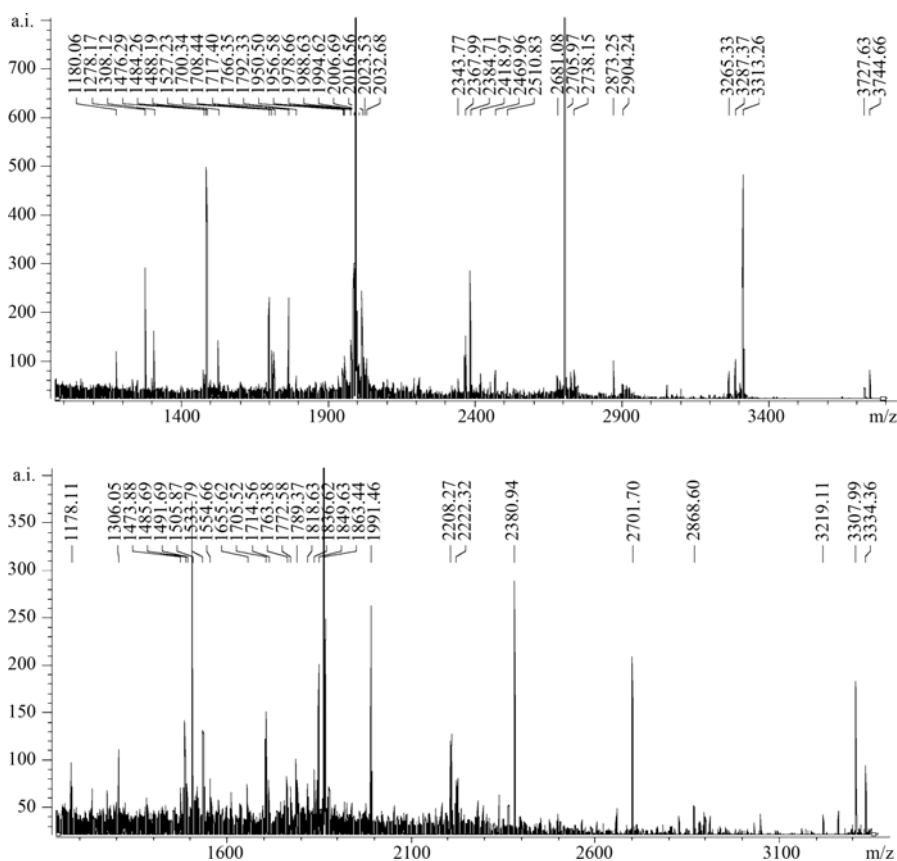


图 2 部分蛋白质点的肽指纹图谱  
Fig. 2 Peptide mass fingerprinting (PMF) of some proteins

表 1 灌浆不同时期水稻叶片差异蛋白 MALDI-TOF/MS 质谱分析结果

Table 1 Identification of differentially expressed proteins in rice leaf during grain-filling period by MALDI-TOF/MS and database searching

序号 No.	蛋白质名称 Protein name	登录号 Accession number	理论等电点/ 分子量 Theo. pI /MW (kD)	实验等电点/ 分子量 Exp. pI /MW (kD)	覆盖率 Sequence coverage (%)	匹配肽 段数 Matched peptides	物种来源 Origin
1	N-乙酰谷氨酸半醛脱氢酶 N-acetyl-glutamate semialdehyde dehydrogenase	ARGC_AZOSE	6.07/37.048	8.18/28	21	5	<i>Azoarcus</i> sp. (strain EbN1)
2	翻译起始因子 5A Translation initiation factor 5A	gi 50938957	6.22/17.421	7.16/23	46	6	<i>Oryza sativa</i> ( <i>japonica</i> cultivar-group)
3	核糖/半乳糖/甲基半乳糖苷运输 ATP 结合蛋白 1 Ribose/galactose/methyl galactoside import ATP-binding protein 1	RGMG1_BURS3	7.79/55.836	7.63/20	42	17	<i>Burkholderia</i> sp. (strain 383)
4	MutT/nudix-like	Q6Z2I1_ORYSA	7.74/18.259	7.63/18	41	4	<i>Oryza sativa</i> ( <i>japonica</i> cultivar-group)
5	Cu/Zn-超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase [Cu/Zn]	SODC_PRIGL	5.56/15.831	6.76/21	30	3	<i>Prionace glauca</i> (blue shark)
7	成熟相关蛋白 7 前体 Ripening-related protein 7 precursor	RIP7_ORYSA	6.24/17.183	6.68/25	24	5	<i>Oryza sativa</i> (rice)
8	谷胱甘肽 S-转移酶 Glutathione S-transferase	Q2QW35_ORYSA	6.71/18.590	6.70/18	46	7	<i>Oryza sativa</i> ( <i>japonica</i> cultivar-group)
11	GMP 合酶 GMP synthase	GUAA_BORPA	5.54/57.872	5.91/18	24	6	<i>Bordetella</i> <i>parapertussis</i>
12	肌动蛋白解聚因子 1 Actin-depolymerizing factor 1	ADF1_ORYSA	5.56/15.926	5.38/20	61	8	<i>Oryza sativa</i> (rice)
14	泛素相关蛋白 1 Ubiquitin related protein 1	RUB1_ORYSA	5.34/8.618	5.23/19	44	3	<i>Oryza sativa</i> (rice)
15	生长素响应蛋白 IAA27 Auxin-responsive protein IAA27	IAA27_ORYSA	6.43/16.268	5.13/16	48	7	<i>Oryza sativa</i> (rice)
17	蛋白翻译因子 SUI1 同源物 Protein translation factor SUI1 homolog	SUI1_ORYSA	8.93/12.724	8.33/11	30	3	<i>Oryza sativa</i> (rice)

将鉴定出的 12 个差异蛋白归纳为以下 5 大功能类群。

2.2.1 合成代谢相关蛋白 包括 GMP 合酶 (11 号蛋白)、MutT/nudix-like (4 号蛋白)、翻译起始因子 5A (2 号蛋白)和蛋白翻译因子 SUI1 同源物(17 号蛋白)。其中, GMP 合酶和 MutT/nudix-like 与核苷酸生物合成相关, 翻译起始因子 5A 和蛋白翻译因子 SUI1 同源物与蛋白质合成相关。

GMP 合酶表达量在水稻籽粒灌浆的前期和中期(开始到第 14 d)较低, 而在灌浆的第 21 天最高, 在灌浆后期(第 28 天)又有所降低; MutT/nudix-like 表达量在籽粒灌浆前期和中期也较低, 在灌浆的第 21 天最高, GMP 合酶和 MutT/nudix-like 呈现出相似的表达趋势; 翻译起始因子 5A 表达量在灌浆的初期(0~7 d)最高, 中期到后期(14~28 d)降低; 蛋白翻译因子 SUI1 同源物

表达量在灌浆前期和中期(0~14 d)较低, 在灌浆中后期(第 21 天)最高, 后期(第 28 天)又降低(图 3)。

2.2.2 物质运输与降解相关蛋白 包括核糖/半乳糖/甲基半乳糖苷运输 ATP 结合蛋白 1(3 号蛋白)和泛素相关蛋白 1 (14号蛋白)。

核糖/半乳糖/甲基半乳糖苷运输 ATP 结合蛋白 1 表达量在灌浆前期和中期(0~14 d)都较高, 在灌浆第 21 天开始降低, 在灌浆后期降到最低; 泛素相关蛋白 1 表达量在灌浆中后期(21 d)最高, 其他时期都相对较低(图 4)。

2.2.3 抗氧化系统相关蛋白 包括谷胱甘肽 S-转移酶(8号蛋白)和 Cu/Zn-超氧化物歧化酶(5号蛋白)。谷胱甘肽 S-转移酶表达量在籽粒灌浆的前期到中后期(0~21 d)较低, 在灌浆后期(第 28 天)达到最高; Cu/Zn-超氧化物歧化酶表达量在水稻籽粒灌浆的前期和中期(0~14 d)都较低, 在灌浆中后期(第 21 天)

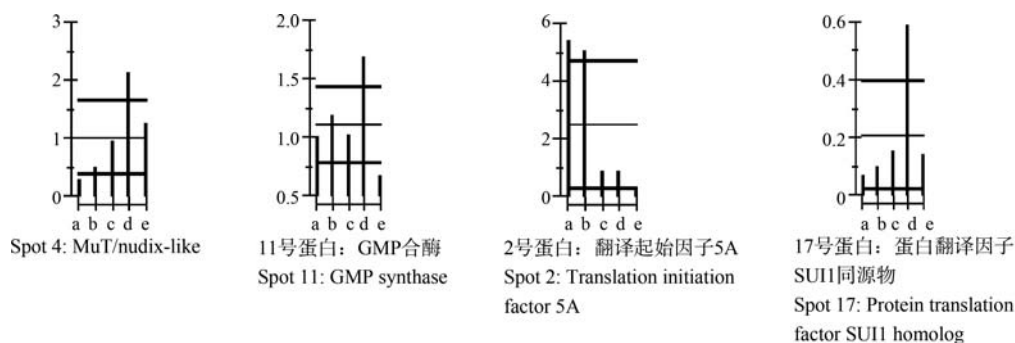


图 3 合成代谢相关蛋白的表达模式

Fig. 3 The expression pattern of proteins related to anabolism

a, b, c, d, e表示灌浆第0, 7, 14, 21, 28天。

a, b, c, d, and e denote the 0, 7th, 14th, 21st, and 28th days of grain filling.

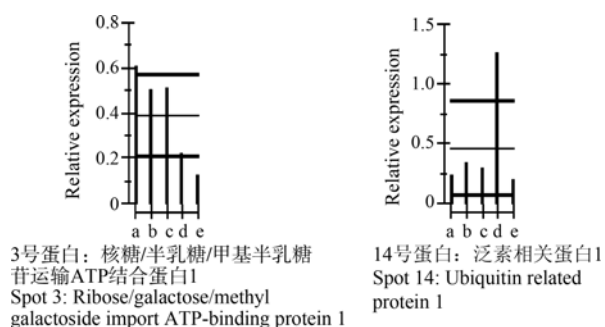


图 4 物质运输与降解相关蛋白的表达模式

Fig. 4 The expression pattern of proteins related to substance transportation and degradation

a, b, c, d, e表示灌浆第0, 7, 14, 21, 28天。

a, b, c, d, and e denote the 0, 7th, 14th, 21st, and 28th days of grain filling.

达到最高, 随后又降低(图 5)。

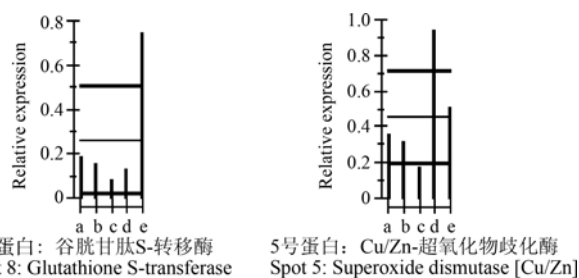


图 5 抗氧化系统相关蛋白的表达模式

Fig. 5 The expression pattern of proteins related to antioxidant system

a, b, c, d, e表示灌浆第0, 7, 14, 21, 28天。

a, b, c, d, and e denote the 0, 7th, 14th, 21st, and 28th days of grain filling.

2.2.4 激素代谢蛋白 包括生长素响应蛋白 IAA27(15 号蛋白)和 N-乙酰谷氨酸半醛脱氢酶(1 号蛋白)。生长素响应蛋白 IAA27 在籽粒灌浆前期和中期(0~14 d)表达量逐渐升高, 灌浆中后期(第 21 天)达到最高, 灌浆后期(第 28 天)降到最低; N-乙酰谷氨酸半醛

脱氢酶(1 号蛋白)在灌浆前期到中后期(0~21 d)微量表达, 在灌浆后期(第 28 天)表达量上升到最高(图 6)。

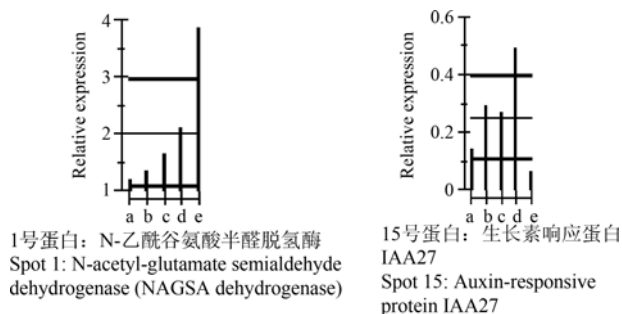


图 6 激素代谢蛋白的表达模式

Fig. 6 The expression pattern of proteins related to hormone metabolism

a, b, c, d, e表示灌浆第0, 7, 14, 21, 28天。

a, b, c, d, and e denote the 0, 7th, 14th, 21st, and 28th days of grain filling.

2.2.5 细胞结构与成熟相关蛋白 包括成熟相关蛋白 7 (7 号蛋白)和肌动蛋白解聚因子 1 (12 号蛋白)。前者表达量随着灌浆的进行逐渐升高, 在籽粒灌浆后期(第 28 天)达最高; 后者在灌浆的第 21 天表达量最高(图 7)。

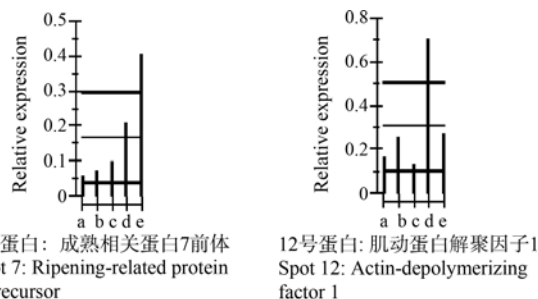


图 7 细胞结构与成熟相关蛋白的表达模式

Fig. 7 The expression pattern of proteins related to cytoskeleton construction and tissues maturation

a, b, c, d, e表示灌浆第0, 7, 14, 21, 28天。

a, b, c, d, and e denote the 0, 7th, 14th, 21st, and 28th days of grain filling.

### 3 讨论

在籽粒灌浆期间, 水稻叶片的光合作用作为籽粒灌浆的主要营养物质来源之一, 起着极其重要的作用。水稻灌浆期是受精颖花接受光合产物进行灌浆充实的重要时期, 此时光合产物及其向籽粒运输和分配对最终产量起决定性的作用<sup>[17]</sup>。物质运输是水稻籽粒灌浆的基础, 前人研究认为, 水稻籽粒灌浆期间叶片高ATPase活性是物质大量合成和迅速转运的保证<sup>[18]</sup>, 叶片中的ATP结合蛋白与碳同化物的输出呈极显著的正相关<sup>[19]</sup>, 对叶片中的物质运输和能量代谢起着重要作用<sup>[20]</sup>。水稻韧皮部有机物装入是一个需能过程, 较高的叶片ATP酶活性有利于有机物装入和蔗糖及时向外输出<sup>[21]</sup>。本研究发现, 在籽粒灌浆前期和中期(0~14 d), 核糖/半乳糖/甲基半乳糖苷运输ATP结合蛋白1(3号蛋白)大量表达, 有利于碳同化物的及时向外输出, 促进籽粒灌浆的进行。灌浆后期, 随着该酶活性的逐渐降低, 叶片转运物质的能力降低。这与李雪梅等<sup>[22]</sup>的研究结果一致。此外, 在高等植物中, 蔗糖是碳水化合物长距离运输的主要形式, 它在成熟叶片(源)中合成, 进一步转运到多种异养组织(库)中, 满足植物生长发育的需求<sup>[23]</sup>。本研究发现蛋白翻译因子SUI1同源物(17号蛋白)在灌浆期间表达, 在第21天的表达量最高。SUT1是蔗糖转运蛋白, 在蔗糖转运过程中起着重要的作用, 其转运蔗糖所需要的能量来自于质膜H<sup>+</sup>/ATPase所建立的质子动力势<sup>[24]</sup>。蛋白翻译因子SUI1同源物的表达有利于促进组织内蔗糖转运蛋白的合成, 从而促进叶片中的蔗糖向外运输。

本研究发现, 生长素响应蛋白IAA27(15号蛋白)在籽粒灌浆前期的表达量逐渐升高, 在第21天达到最高。生长素响应蛋白属于Aux/IAA家族, 其表达可被生长素诱导<sup>[25]</sup>。生长素可以通过调节ATPase活性影响物质的分配, 在水稻灌浆前中期的大量表达有利于调节水稻叶片中的物质向籽粒运输<sup>[26]</sup>。另外, 在水稻籽粒灌浆后期(第28天), 叶片中N-乙酰谷氨酸半醛脱氢酶(1号蛋白)参与从谷氨酸到精氨酸的生物合成<sup>[27]</sup>, 精氨酸在脱羧酶的作用下生成腐胺, 腐胺是多胺生物合成途径的中心产物, 可以生成亚精胺和精胺<sup>[28]</sup>。多胺作为植物代谢过程中产生的生理活性物质, 能延缓叶绿素、蛋白质的降解, 提高活性氧清除酶类如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等的活性, 降低膜脂过氧化程度, 具有延缓衰老的作用<sup>[29]</sup>。另外, 延缓衰老的

激素如细胞分裂素类、生长素类、赤霉素类可促进多胺合成, 而促进衰老的激素如脱落酸、乙烯等则抑制多胺合成, 可直接影响许多由植物激素控制的生长发育过程<sup>[29]</sup>。

Cu/Zn-SOD是生物防御活性氧毒害的关键保护酶, 具有清除自由基的作用, 对于维持细胞膜的结构和功能具有重要的作用<sup>[30]</sup>; 谷胱甘肽S-转移酶(8号蛋白)在植物解毒和防御活性氧伤害中有重要作用, 能提高植物细胞膜的修复能力<sup>[31-32]</sup>。在水稻籽粒灌浆中后期(第21天)和后期(第28天), 叶片衰老加速, 光合碳循环系统破坏, 氧自由基大量产生, 光合作用降低, 光合产物总量减少, 同化产物向籽粒中运输和积累受到影响<sup>[17]</sup>。Cu/Zn-超氧化物歧化酶和谷胱甘肽S-转移酶能有效地清除叶片内的自由基, 修复氧化损伤, 维护机体的正常发育, 从而有利于光合物质持续合成和运输。另外, 泛素相关蛋白1(14号蛋白)在灌浆中后期(21 d)构成降解短周期寿命蛋白的泛素系统, 通过对蛋白进行泛素化, 调节细胞内多种蛋白的周转, 保证生命活动中新旧蛋白的复杂更替进行有序<sup>[33]</sup>。

此外, GMP 合酶在生物体内主要参与核苷的生物合成。MutT/nudix 属于 nudix 家族, 是一类含特殊结构的蛋白家族, 可以清除 DNA 上鸟嘌呤代谢产生的具有氧化特性的损伤, 对植株体内的核酸代谢反应起到保护作用<sup>[34-36]</sup>。翻译起始因子 5A(eIF-5A)在灌浆的前期(0~7 d)与一系列有翻译活性的 80S 核糖体相互作用, 促进某一类蛋白质的合成<sup>[37]</sup>。蛋白翻译因子 SUI1 同源物在灌浆中后期(第 21 天)与 eIF-2 共同指导核糖体到适当的翻译起始位点, 促进蔗糖转运蛋白的合成<sup>[38]</sup>。这 4 种蛋白质共同调节叶片在籽粒灌浆期间的核酸代谢和蛋白质合成。

另外, 肌动蛋白解聚因子1(12号蛋白)在籽粒灌浆中后期(第21天)促进细胞骨架调节蛋白的反应, 在肌动蛋白细胞骨架的动力学形成过程中起着关键的调节作用<sup>[39]</sup>。而成熟相关蛋白7(7号蛋白)在籽粒灌浆后期(第28天)与植物组织的成熟相关<sup>[40]</sup>。

### 4 结论

大穗型水稻在籽粒灌浆前期到中后期(0~21 d), 叶片具有较高的同化物输出能力, 光合产物在核糖/半乳糖/甲基半乳糖苷运输 ATP 结合蛋白 1、蔗糖转运蛋白、以及 ATPase 的协同作用下, 供给库器官(籽粒)灌浆需要, 同时, 该灌浆时期的物质转运能力受

生长素响应蛋白 IAA27 的调节; 在籽粒灌浆后期(第 28 天), 多胺的合成能力及其活性逐渐增强, 延缓叶片衰老、促进籽粒灌浆持续进行; 随着叶片衰老加剧, 叶片的抗氧化代谢(Cu/Zn-超氧化物歧化酶和谷胱甘肽 S-转移酶)和泛素化作用加强, 核酸代谢和基因表达情况发生相应变化, 共同维持水稻叶片生育后期的物质代谢持续进行。由此可见, 在水稻生育后期, 叶片代谢呈现出各类功能蛋白间的相互调控、错综复杂的作用关系, 叶片功能性状具有复杂的阶段性转换现象。

## References

- [1] Yuan J-C(袁继超), Ding Z-Y(丁志勇), E S-Z(俄胜哲), Yao F-J(姚凤娟), Li J-Q(李俊青), Zhu Q-S(朱庆森), Yang J-C(杨建昌). Effect of source-sink relation on grain filling properties of rice. *Southwest China J Agric Sci* (西南农业学报), 2005, 18(1): 15–19 (in Chinese with English abstract)
- [2] Wang J-Y(王嘉宇), Fan S-X(范淑秀), Xu Z-J(徐正进), Chen W-F(陈温福). Filling properties of grains on different positions in a panicle of rice with different panicle types. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(8): 1366–1371 (in Chinese with English abstract)
- [3] Tan C-L(谭长乐), Zhang H-X(张洪熙), Dai Z-Y(戴正元), Zhao B-H(赵步洪), Xu M-L(徐卯林), Liu X-B(刘晓斌), Zhou G-X(周桂香). Characteristics of sink, source and flow in good quality *indica* rice Yangdao 6. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2003, 36(1): 26–30 (in Chinese with English abstract)
- [4] Yang J-C(杨建昌), Su B-L(苏宝琳), Wang Z-Q(王志琴), Zhu Q-S(朱庆森). Study on characteristics and physiology of grain filling in intersubspecific hybrid rice. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1998, 31(1): 7–14 (in Chinese with English abstract)
- [5] Wang Z-Q(王志琴), Yang J-C(杨建昌), Zhu Q-S(朱庆森), Zhang Z-J(张祖建), Lang Y-Z(郎有忠), Wang X-M(王学明). Reasons for poor grain plumpness in intersubspecific hybrid rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1998, 24(6): 782–787 (in Chinese with English abstract)
- [6] Xu Q-S(徐秋生), Li Z-W(李卓吾). Studies on the filling characteristics and the plumpness of grains in intersubspecific hybrid rice. *Hybrid Rice* (杂交水稻), 1994, 9(2): 26–29 (in Chinese with English abstract)
- [7] Ling Q-H(凌启鸿), Yang J-C(杨建昌). Studies on “grain-leaf ratio” of population and cultural approaches of high yield in rice plants. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1986, 19(3): 1–8 (in Chinese with English abstract)
- [8] Zhou Q-S(周青山), Zhou G-Q(周广洽), Xie J-Y(谢锦云), Wang Z-Z(王振中), Qi Z-R(戚志仁). Effect of high temperature on the chloroplast ultrastructure of hybrid rice culture Nanyou 6. *J Nat Sci Hunan Norm Univ* (湖南师范大学自然科学学报), 1982, (2): 45–48 (in Chinese)
- [9] Zhou L-H(周丽华), Liang M-Z(梁满中), Dai X-J(戴小军), Chen L-B(陈良碧). Study on characteristics of source/sink strength and flux distribution of the high-yield hybrid rice, Liangyoupeijiu. *J Nat Sci Hunan Norm Univ* (湖南师范大学自然科学学报), 2004, 27(4): 87–90 (in Chinese with English abstract)
- [10] Wasinger V C, Cordwell S J, Cerpa-Poljak A, Yan J X, Goo-ley A A, Wilkins M R, Duncan M W, Harris R, Williams K L, Humphrey-Smith I. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis*, 1995, 16: 1090–1094
- [11] Imin N, Kerim T, Weiman J J, Rolfe B G. Characterization of rice anther proteins expressed at the young microspore stage. *Proteomics*, 2001, 1: 1149–1161
- [12] Kerim T, Imin N, Weinman J J, Rolfe B G. Proteome analysis of male gametophytes development rice anthers. *Proteomics*, 2003, 3: 738–751
- [13] Yang P F, Liang Y, Shen S H, Kuang T. Proteome analysis of rice uppermost internodes at the milky stage. *Proteomics*, 2006, 6: 3330–3338
- [14] Wang J-Y(王经源), Chen S-Y(陈舒奕), Liang Y-Y(梁义元), Lin W-X(林文雄). Improvement of ISO-DALT electrophoresis system. *J Fujian Agric & For Univ* (福建农林大学学报), 2006, 35(2): 187–190 (in Chinese with English abstract)
- [15] Garrels J I. Quantitative two-dimensional gel electrophoresis of proteins. *Methods Enzymol*, 1983, 100: 411–423
- [16] Peng X X, Ye X T, Wang S Y. Identification of novel immunogenic proteins of *Shigella flexneri* 2a by proteomic methodologies. *Vaccine*, 2004, 22: 2750–2756
- [17] Tang R-S(汤日圣), Zheng J-C(郑建初), Chen L-G(陈留根), Zhang D-D(张大栋), Jin Z-Q(金之庆), Tong H-Y(童红玉). Effects of high temperature on grain filling and some physiological characteristic in flag leaves of hybrid rice. *J Plant Physiol Mol Biol* (植物生理与分子生物学学报), 2005, 31(6): 657–662 (in Chinese with English abstract)
- [18] Huang Q-Y(黄琪玉), Wu Z-Q(吴志强). The relationship between the ATPase activity of the rice spike and the grain filling. *J Fujian Agric Coll* (福建农学院学报), 1989, 18(4): 487–493 (in Chinese with English abstract)
- [19] Jiang D-A(蒋德安), Wen X-Y(温晓燕), Hong J(洪健), Lu Q(陆庆), Xie X-M(谢学民). An impediment to export of assimilates in mature leaf of rice stressed by low potassium nutrition. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 1994, 20(2): 137–144 (in Chinese with English abstract)
- [20] Wei C-X(韦存虚), Lan S-Y(兰盛银), Xu Z-X(徐珍秀). Ultrastructural localization and functional analysis of ATPase during the endosperm development in *Oryza sativa* L. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2003, 36(3): 259–262 (in Chinese with English abstract)
- [21] Zhang D-F(张东方), Zhang J-G(张建国), Huang Z-L(黄卓

- 烈). The comparison of photosynthate translocation of Huahang No.1 and Huahang No.8 with their original cultivars. *J South China Agric Univ* (华南农业大学学报), 2005, 26(3): 10–13(in Chinese with English abstract)
- [22] Li X-M(李雪梅), Xu Z-J(徐正进), Zhang L-H(张利红), Fan J-J(樊金娟). Comparison of changes in photosynthetic rate, ATPase activity and ABA content in different generations of rice. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 2006, 42(1): 34–38(in Chinese)
- [23] Qi J-Y(戚继艳), Yang J-H(阳江华), Tang C-R(唐朝荣). Sucrose transporter genes and their functions in plants. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2007, 24(4): 532–543(in Chinese with English abstract)
- [24] Bai X-M(白雪梅), Zhang L-J(张立军), Wu X-D(吴晓丹), Hu K(胡凯), Ruan Y-Y(阮燕晔). Sucrose transporters in plants. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 2006, 42(6): 1195–1202(in Chinese)
- [25] Walker-Simmons M K, Goldmark P J. Characterization of genes expressed when dormant seeds of cereals and wild grasses are hydrated and remains growth-arrested. In: Lang G A. *Plant Dormancy: Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology*. Oxford: CAB International, UK, Wallingford, CABI Press, 1996. pp 283–290
- [26] Tian S-L(田淑兰), Wang X(王熹). The relationship between IAA and grain development of *indica-japonica* hybrid rice and regulation with S-07. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 1998, 12(2): 99–104(in Chinese with English abstract)
- [27] Boonchird C, Messenguy F, Dubois E. Characterization of the yeast ARG5,6 gene: Determination of the nucleotide sequence, analysis of the control region and of ARG5,6 transcript. *Mol Gen Genet*, 1991, 226: 154–166
- [28] Qiu D-L(邱栋梁), Lin P(林鹏). Advances in molecular mechanisms of salt tolerance in plants. *J Trop Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), 2002, 10(3): 281–292(in Chinese with English abstract)
- [29] Wang Y-Q(王亚琴), Zhang K-J(张康健), Huang J-K(黄江康). Molecular basis and regulation of plant senescence. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2003, 23(1): 182–189 (in Chinese with English abstract)
- [30] Wang Y-R(王彦荣), Hua Z-T(华泽田), Chen W-F(陈温福), Dai G-J(代贵金), Hao X-B(郝宪彬), Wang Y(王岩), Zhang Z-X(张忠旭), Sui G-M(隋国民). Relation between root and leaf senescence and their effects on grain-filling in *japonica* rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2003, 29(6): 892–898(in Chinese with English abstract)
- [31] Armstrong R N. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chem Res Toxicol*, 1997, 10: 2–18
- [32] Zhu Y-G(朱云国), Wang X-D(王学德), Zhao P-O(赵佩欧), Ni X-Y(倪西源). Relationship between glutathione S-transferase activity of restorer anthers and pollen fertility of  $F_1$  hybrid in upland cotton. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2003, 29(5): 693–696(in Chinese with English abstract)
- [33] Wang L-H(王丽华), Tan X-L(谭学林), Zhang F(张峰), Dong H-T(董海涛), Li D-B(李德葆). Microarray analysis of genes expression profile related to seed stored substance in grouting of rice (*Oryza sativa*). *J Zhejiang Univ* (Agric & Life Sci) (浙江大学学报·农业与生命科学版), 2003, 29(4): 392–398(in Chinese with English abstract)
- [34] Koonin E V. A highly conserved sequence motif defining the family of MutT-related proteins from eubacteria, eukaryotes and viruses. *Nucl Acids Res*, 1993, 21: 4847
- [35] Mejean V, Salles C, Bullions L C, Bessman M J, Claverys J P. Characterization of the *mutX* gene of *Streptococcus pneumoniae* as a homologue of *Escherichia coli mutT*, and tentative definition of a catalytic domain of the dGTP pyrophosphohydrolases. *Mol Microbiol*, 1994, 11: 323–330
- [36] McLennan A G. The MutT motif family of nucleotide phosphohydrolases in man and human pathogens. *Int J Mol Med*, 1999, 4: 79–89
- [37] Jao D L, Chen K Y. Tandem affinity purification revealed the hypusine-dependent binding of eukaryotic initiation factor 5A to the translating 80S ribosomal complex. *J Cell Biochem*, 2005, 3: 583–589
- [38] Yoon H J, Donahue T F. The *suil* suppressor locus in *Saccharomyces cerevisiae* encodes a translation factor that functions during tRNA<sub>(iMet)</sub> recognition of the start codon. *Mol Cell Biol*, 1992, 12: 248–260
- [39] Jiang C J, Alan G W, Safina K, Patrick J H. F-actin and G-actin binding are uncoupled by mutation of conserved tyrosine residues in maize actin depolymerizing factor (ZmADF). *Plant Biol*, 1997, 94: 9973–9978
- [40] Tan X-F(谭晓风), Hu F-M(胡芳名), Xie L-S(谢禄山), Shi M-W(石明旺), Zhang D-Q(张党权), Wu-Yun T-N(乌云塔娜). Analysis of development-related genes in the EST library of the nearly matured seeds of *Camellia oleifera*. *J Central South For Univ* (中南林学院学报), 2005, 25(4): 17–23(in Chinese with English abstract)
- [41] Kim S T, Cho K S, Jang Y S, Kang K Y. Two-dimensional electrophoretic analysis of rice proteins by polyethylene glycol fractionation for protein arrays. *Electrophoresis*, 2001, 22: 2103–2109