

成果名称	木聚糖生物合成中的关键科学问题研究
登记日期	2020-07-28
完成单位	华南农业大学
完成人员	吴蔼民,张爱萍,骈瑞琪,赵先海,姚远,匡倍庆,贺俊波,周纯,解巧丽,杜平州
研究起止日期	2012-01-01 至 2015-12-30
主要应用行业	农、林、牧、渔业
社会经济目标	农林牧渔业发展
评价单位	国家自然科学基金委
评价日期	2015-12-31
成果简介:	<p>本项目为国家自然科学基金项目“木聚糖生物合成中的关键科学问题研究”(31170165)。纤维素、半纤维素和木质素是最主要的植物次生细胞壁组成成分,占整个植物细胞壁组分的90%以上,且其在建筑、造纸和可再生生物能源利用中起着重要作用。而木聚糖是最主要的半纤维素,其生物合成的研究对于次生细胞壁的调控、利用、材性改良等尤为重要。通过本项目研究,我们获得了以下成果:(1)建立木糖转移酶活性测定体系:建立了利用HPLC检测Xlyn-AA的方法,利用此方法检测了黄梁木微囊体的XylT活性。建立了利用HPLC检测UDP-GlcA和UDP-Xly的方法,利用此方法成功检测了木本植物黄梁木微囊体的UXS活性。在此基础上,利用成熟的烟草叶片转化体系,可以检测糖基转移酶基因的酶活性,通过分析我们检测到同时转化IRX10、IRX9和IRX14可以检测到木糖转移酶活性。(2)明确了木聚糖合成底物UDP-木糖的合成:利用HPLC测定AtUXS酶活性,表明AtUXS能将底物UDP-GlcA脱羧生成UDP-xylose;拟南芥中有两组UXS基因,通过杂交获得2组三突变纯合体植株。胞质定位uxs3uxs5uxs6三突变体表现不同程度的矮化、叶片缩小、叶色加深;三突变体木聚糖结构分析表明突变体的甲基化程度增加。对突变体的木聚糖分子量进行测定发现,突变体中木聚糖的分子量减少。进一步分析高尔基体上的UDP-Xylose转运蛋白(UXT)发现,uxt1/2/3三突变体植物生长矮小,产生不规则型导管,细胞壁分析表明木聚糖合成受到影响,糖化效率提高。这些结果表明胞质定位的UXS合成UDP-Xylose,通过高尔基体转运蛋白(UXT),运送到高尔基体参与了木聚糖的合成,在木聚糖合成中起最主要作用。(3)明确木聚糖合成的定位与功能关系:IRX9单独表达时,IRX9更倾向于内质网表达,IRX9与IRX14共表达时也是如此,而当IRX9与IRX10和IRX14共表达时,它们更倾向于高尔基体表达将IRX10、IRX9和IRX14共表达时木糖转移酶活性测定表明,IRX10单独表达有低酶活性,而当IRX9与IRX14单独表达时没有活性,IRX9和IRX14共表达时也没有活性,IRX10与IRX9及IRX10与IRX14共表达时有少量活性,而只有当IRX10与IRX9、IRX14三者共表达时才有高酶活性。证明三者之间可以形成复合体。(4)分析了木聚糖合成关键酶基因的转录调控网络:通过克隆转录因子和启动子,连入报告基因,分析获得了多个可以调控半纤维素合成关键酶基因的转录调控结果。瞬时转录激活试验表明KNAT7、MYB46、ERF72、SND1、NST2能够激活多个拟南芥木聚糖合成关键酶基因的表达,其中KNAT7能促进FRA8、IRX10、IRX9和IRX14-L的表达。此外,显性抑制KNAT7能显著影响植株的生长,突变体影响木聚糖的合成,因而KNAT7正调控木聚糖的合成。项目共发表SCI文章8篇,中文核心两篇,申请专利3个。这些研究有助于弄清木聚糖的合成网络,并且将为进一步把木质纤维素开发成生物燃料打下基础。</p>