

DOI: 10.13376/j.cbls/2017200

文章编号: 1004-0374(2017)05-0427-07

## DEAD-box解旋酶在植物非生物胁迫响应中的功能研究进展

蔡敬, 孟小庆, 董婷婷, 李宗芸, 韩永华\*, 朱明库\*

(江苏师范大学生命科学学院, 徐州 221116)

**摘要:** 解旋酶广泛存在于从病毒到人类几乎所有已知的原核和真核生物体中, 它们能利用 NTP 水解获得能量促进双链 DNA/RNA 解链。DEAD-box 解旋酶是最大的解旋酶家族, 在 DNA 复制、修复、重组、转录、核糖体发生和翻译起始等几乎所有涉及 DNA/RNA 代谢的细胞过程中均发挥重要作用。近年研究表明, DEAD-box 解旋酶除具有管家基因功能外, 还广泛参与植物生长发育及胁迫响应过程。目前, 由解旋酶介导的胁迫应答具体机制依然不清晰。现重点介绍近年来高等植物 DEAD-box 解旋酶在非生物胁迫响应中的功能研究进展, 同时探讨解旋酶参与胁迫应答的可能机制。

**关键词:** DEAD-box 解旋酶; 非生物胁迫; 信号转导; 响应机制

中图分类号: Q812; S188 文献标志码: A

### Progress of plant DEAD-box helicase in response to abiotic stress

CAI Jing, MENG Xiao-Qing, DONG Ting-Ting, LI Zong-Yun, HAN Yong-Hua\*, ZHU Ming-Ku\*

(College of Life Science, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, China)

**Abstract:** Helicase widely exists in almost all known prokaryotic and eukaryotic organisms from viruses to humans, catalyzing the unwinding of duplex DNA/RNA depended on the energy of NTP. DEAD-box helicase is the largest helicase family, which plays important roles in almost all cellular processes involved in DNA/RNA metabolism such as DNA replication, repair, recombination, transcription, ribosome biogenesis and translation initiation. Recent studies showed that DEAD-box helicase not only functions as housekeeping genes, but also widely involves in plant growth and development and the response to stress. Presently, the specific mechanisms of stress response mediated by helicase remain unclear. This review introduced mainly the functions of DEAD-box helicase in response to abiotic stress in higher plants, and the possible mechanisms of helicase involved in stress response are also discussed.

**Key words:** DEAD-box helicase; abiotic stress; signal transduction; response mechanisms

DEAD-box 解旋酶 (DEAD-box helicase) 是最大的解旋酶家族, 广泛存在于从病毒到人类几乎所有已知原核和真核生物体中, 其通过水解 NTP 获得能量催化双链 DNA/RNA 的解旋, 从而在包括复制、修复、重组、转录和翻译在内的大多数基本遗传过程中发挥重要作用<sup>[1]</sup>。DEAD-box 蛋白家族成员主要是 RNA 解旋酶, 也有一些是 DNA 解旋酶<sup>[2]</sup>。DNA 解旋酶是促使双螺旋 DNA 解旋的驱动蛋白, 参与 DNA 复制、修复、重组及转录<sup>[3]</sup>; 与 DNA 解旋酶

相似, RNA 解旋酶主要参与 RNA 结构形成的调控活动, 包括 RNA 转录、剪接、复制、蛋白质翻译、mRNA 的输出及 mRNA 稳定性等过程<sup>[4-5]</sup>。

收稿日期: 2016-12-05; 修回日期: 2017-01-15

基金项目: 江苏省自然科学基金项目(BK20160215); 江苏省高校自然科学基金项目(16KJB210004); 江苏师范大学博士教师科研启动项目(15XLR030)

\*通信作者: E-mail: hanyonghua@jnsu.edu.cn (韩永华); mingkuzhu007@126.com (朱明库)

不仅如此, DEAD-box 解旋酶还广泛参与植物的生长发育和生物及非生物胁迫响应过程。由于 DEAD-box 蛋白参与 RNA 代谢等过程, 所以在胚胎发育中必不可少; 而 DEAD-box 解旋酶基因缺失导致的内含子剪接缺陷也会对叶绿体产生影响从而使植物幼苗呈淡绿色, 比如拟南芥 *AtRH7* 突变体表现出短根及根分支减少, 同时胚胎和子叶发育异常<sup>[6]</sup>。自 Seki 等<sup>[7]</sup>首次发现冷诱导型的 DEAD-box 解旋酶基因 *FL2-5A4*, 第一次表明解旋酶可能具有在胁迫应答中的新功能以来, 十多年来, 人们通过对拟南芥、水稻、豌豆、大豆等植物中的 DEAD-box 解旋酶基因分析发现, DEAD-box 解旋酶在多种生物及非生物胁迫响应过程中均具有一定的作用, 这一发现为将来利用 DEAD-box 解旋酶的“DNA/RNA 解旋”功能来改良植物对各种生物及非生物胁迫的耐受性进而提高作物产量提供了可能。

## 1 DEAD-box解旋酶的结构与分类

根据氨基酸的保守序列, 解旋酶可分为 3 个超家族和 2 个亚家族, 即 SF1~5<sup>[8]</sup>。解旋酶的典型特征是具有一个保守的解旋酶中心, 包含 9 个特征性的保守基序 (motif), 分别是 Q (如果有的话)、I、Ia、Ib、II、III、IV、V 和 VI。DEAD-box 解旋酶是 SF2 解旋酶超家族中最大的解旋酶家族, 由 Linder 等<sup>[9]</sup>首次发现, 并根据基序 II 中高度保守的氨基酸序列 Asp-Glu-Ala-Asp (DEAD) 而命名<sup>[10]</sup>。根据基序 II 氨基酸序列的差异, DEAD-box 家族蛋白又可被分为 DEAD、DEAH 和 DEXH/D 3 个亚家族 (图 1)<sup>[11-13]</sup>。基序 I 也叫 Walker A 基序, 基序 II 也叫 Walker B 基序, 二者是 ATP 酶活性所必需的。DNA 解旋酶含有经典的 Walker A 基序 (G-X-X-X-X-G-K-T), 隶属于 SF1。RNA 解旋酶含有变异的

Walker A 基序 (A-X-X-X-X-G-K-T), 隶属于 SF2<sup>[14]</sup>。

目前, 研究人员已在高等植物中鉴定出数目众多的 DEAD-box 解旋酶。比如, 拟南芥和水稻基因组中分别鉴定到 115 和 113 个解旋酶基因, 其中分别包括 58 和 50 个 DEAD-box RNA 解旋酶基因<sup>[15]</sup>。番茄中鉴定出 157 个 RNA 解旋酶基因, 其中包含 42 个 DEAD-box 基因、36 个 DEAH-box 基因和 52 个 DEXH/D-box 基因, 剩余的 27 个不属于以上 3 个亚家族<sup>[16]</sup>。

## 2 DEAD-box解旋酶在植物非生物胁迫中的功能

非生物胁迫通过各种环境因素如干旱、高盐、低温、高温、重金属、紫外线等, 来影响植物的生长和发育并限制农作物的产量。其中干旱、高盐和温度胁迫为主要的非生物胁迫, 对植物的生长、发育、生存和产量都具有很大影响<sup>[17]</sup>。几乎所有的植物都能感知非生物胁迫响应, 通过信号传递对环境改变迅速作出响应, 然而只有一部分植物可以在高度胁迫环境下存活。尽管目前已有许多关于植物适应非生物胁迫的遗传、分子及生理基础的研究, 但人们对植物适应胁迫环境的复杂分子机制仍然是知之甚少。

数目众多的 DEAD-box 解旋酶家族成员广泛参与植物环境适应过程的各个方面, 包括盐胁迫、低温胁迫、高温胁迫、渗透胁迫及氧化胁迫等。实际上, 某个 DEAD-box 解旋酶并不仅仅参与单一的胁迫应答, 它可能同时参与多种胁迫响应过程, 如已证实拟南芥 *STRS1/2*<sup>[18]</sup>、*AtRH9*<sup>[19]</sup>, 水稻 *OsBIRH*<sup>[20]</sup>、*SUV*<sup>[21]</sup>, 豌豆 *PDH45*<sup>[22-23]</sup>、*MCM6*<sup>[24]</sup> 等基因在多种胁迫中均发挥重要功能。

### 2.1 DEAD-box解旋酶参与盐和干旱胁迫响应

盐和干旱胁迫在自然界中是两种主要的环境胁迫

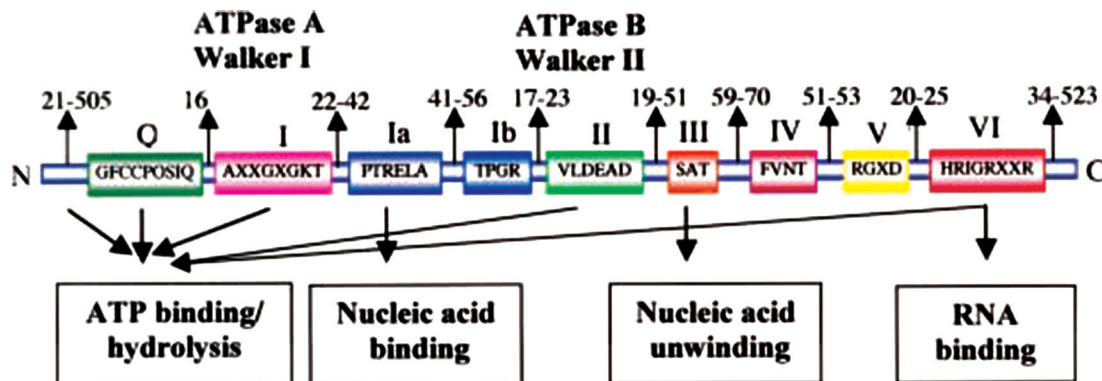


图1 DEAD-box解旋酶具有催化功能的保守基序一级结构示意图

迫,不仅影响植物生长、发育,还会降低作物产量。研究发现,DEAD-box解旋酶在植物盐及干旱胁迫响应中发挥重要功能。拟南芥 *STRS1* 及 *STRS2* 在盐胁迫下的转录受到抑制,突变体 *strs1* 和 *strs2* 的抗盐性增强,突变体中 *RD29A*、*DREB1A* 及 *DREB2A* 等胁迫响应基因的表达均高于野生型<sup>[18]</sup>。而在拟南芥中超表达 *AtRH9* 或 *AtRH25*,可导致盐胁迫下种子萌发迟缓<sup>[19]</sup>,暗示拟南芥 DEAD-box 解旋酶可能是盐胁迫响应的负调控因子。对水稻分别进行 100 mmol/L 和 200 mmol/L NaCl 盐处理后, *OsABP* (ATP-binding protein)、*OsDSHCT* (DOB1/SK12/helY-like DEAD-box helicase) 和 *OsDBH* (DEAD-box helicase) 的表达量均有所上调<sup>[25]</sup>。另外,研究发现水稻中 *SUV3* 蛋白具有 DNA 和 RNA 解旋酶及 ATP 酶活性, *SUV3* 基因能够被盐胁迫诱导表达,超表达 *SUV3* 基因的水稻对高盐环境均具有耐受性,同时产量不受影响,而且植株对干旱也有一定的抗性<sup>[21]</sup>。

DEAD-box 解旋酶中耐盐性研究比较广泛的是豌豆 DNA 解旋酶 45 (PDH45)。PDH45 与翻译起始因子 eIF4A 具有高度同源性,具有 ATP 依赖的 DNA 和 RNA 解旋酶活性、DNA 依赖的 ATP 酶活性和 ATP 结合活性,因此推测 PDH45 在 DNA 和 RNA 代谢中都起到一定的作用<sup>[26]</sup>。高盐、低温、ABA、脱水和机械损伤等处理均能诱导豌豆植株 *PDH45* 基因的表达。早前有研究发现,PDH45 在烟草和孟加拉国水稻品种 *Binnatoa* 的盐胁迫耐受性中均发挥重要作用;超表达 *PDH45* 的 *Binnatoa* 植株叶绿素含量显著升高,与野生型相比根的长度变短,且植株在幼苗期和生殖期具有明显的盐耐受性<sup>[22]</sup>。而后研究人员又发现,在籼稻 IR64 中超表达 *PDH45* 后植株的盐耐受性也增强,且盐胁迫环境下转基因植株的生理特性如内源性营养成分及产量相对于野生型均有提高<sup>[23]</sup>。同样,超表达豌豆 *PDH45* 的转基因烟草植株对盐的耐受性远高于野生型植株<sup>[27]</sup>。

此外,其他植物中也发现 DEAD-box 解旋酶基因参与了盐胁迫应答。本课题组之前的研究发现,超表达 *SIDEAD31* 基因的番茄植株对盐和干旱胁迫的耐受性均增强,胁迫条件下转基因植株存活率和叶绿素含量更高,而 MDA 含量降低,且 *Cat1*、*Cat2*、*APX2* 及 *ER5* 等胁迫相关基因的表达出现上调<sup>[28]</sup>。盐土植物罗布麻中的 *AvDH1* 是一个典型的 DNA 和 RNA 解旋酶,该蛋白由 *AvDH1* 基因编码,具有 DEAD-box 蛋白家族 9 个保守的解旋

酶基序。盐和干旱胁迫能够诱导 *AvDH1* 的表达<sup>[29]</sup>。低温和高盐胁迫能够诱导大豆 *GmRH* 的表达,由此推测,当植物处于低温和高盐环境时, *GmRH* 在 RNA 的加工过程中具有重要作用<sup>[30]</sup>。体外研究发现,豌豆单个的 MCM6 亚基具有解旋酶和 ATP 酶活性, MCM6 亚基的超表达增强了植株对盐胁迫的耐受性,并且对其产量没有影响<sup>[24]</sup>。2014 年,研究人员在豌豆中又发现一种重要的 DEAD-box 解旋酶家族成员 *p68*,在烟草中超表达 *p68* 可加强植株生长、提高光合作用和抗氧化机制从而增强对高盐环境的耐受性<sup>[31]</sup>。相似地,在棉花中超表达 *AvDH1* 后棉花耐盐性增加。同时,高盐环境下转基因棉花的棉铃数、棉铃重量以及棉籽产量比野生型棉花都有所增加<sup>[32]</sup>。

## 2.2 DEAD-box解旋酶参与低温和热胁迫响应

低温是影响植物生长发育的关键因素之一,目前,对 DEAD-box 解旋酶参与低温胁迫的研究多集中在模式植物拟南芥中。2001 年, Seki 等<sup>[7]</sup>在对拟南芥的 1 300 个基因的 cDNA 序列进行基因芯片分析时,首次发现能够被低温胁迫诱导的 DEAD-box 解旋酶基因 *FL2-5A4* (*drhl*)。到目前为止,研究较为清楚的是拟南芥 DEAD-box 解旋酶 *LOS4*,且 *LOS4* 蛋白是 CBF 的一个上游调节子。2002 年, Gong 等<sup>[33]</sup>从下调了报告基因 *RD29A-LUC* 的拟南芥突变体中筛选到 *LOS4* 基因。分析显示,在冷胁迫下 *los4-1* 突变体中 *RD29A* 及其他 *COR/RD* 基因的表达量均降低,同时低温胁迫诱导的 *CBF* 基因也出现表达量降低或表达推迟的现象。*los4-1* 突变体对低温敏感,而组成型表达 *CBF3* 基因可逆转 *los4-1* 突变体的低温敏感性,说明 *LOS4* 是 CBF 的一个上游调节子。随后, Gong 等<sup>[34]</sup>又分离得到 *los4-2* 突变体,与 *los4-1* 突变体相反的是, *los4-2* 突变体对低温和冷冻胁迫的耐受性增强,而对热胁迫敏感。随后分析发现,在 CBF-COR 冷胁迫响应途径中, *LOS4-1* 能够抑制而 *LOS4-2* 则促进 CBFs 和它们的下游靶基因的表达,这些结果说明 *LOS* RNA 解旋酶在 mRNA 的输出、植物发育以及对温度的胁迫响应中都发挥重要作用。另外,研究发现,冷胁迫能够诱导拟南芥 *AtRH9* 和 *AtRH25* 的转录,而相比之下, *AtRH25* 比 *AtRH9* 更能够增强拟南芥植株的耐冻性,这一结果源于 *AtRH25* 和 *AtRH9* 不同的核酸结合特性<sup>[19]</sup>。随后,研究发现 *AtRH22* 和 *AtRH52* 的表达也受低温胁迫的显著诱导<sup>[35]</sup>。最近, Huang 等<sup>[6]</sup>发现 *AtRH7/PRH75* 可被冷胁迫诱导且

其 mRNA 在细胞分裂区增加, *arth7-2* 和 *arth7-3* 突变体对冷胁迫表现出超敏感性, 同时会降低 *CBF1*、*CBF2* 和 *CBF3* 的表达, 从而使植物不耐冷。

高山离子芥是高山冰缘植物的代表, 对多种非生物胁迫具有很强的耐受性, 通过 RACE 克隆发现冷胁迫诱导的 *CbDRH* 通过选择性剪接形成两种形式的转录产物 *CbDRH.2* 和 *CbDRH.1*, 其中 *CbDRH.2* 在冷胁迫下的表达量升高, 并且对冷胁迫的响应可能是与甘氨酸、RNA 结合蛋白和 CbGRP 相互作用的结果<sup>[36]</sup>。而在拟南芥中筛选出的编码 DEAD-box RNA 解旋酶的 *RCF1* 基因, 其功能是维持 mRNA 前体的正常剪接。*rcf-1* 突变体表现出对冷胁迫的高敏感性, 且在低温环境下 *rcf-1* 突变体中许多冷胁迫诱导的基因发生错误剪接, 由此推断 RCF1 对 mRNA 的剪接至关重要。因此, 其在植物低温耐受性以及冷胁迫响应基因的调控中起到关键作用<sup>[37]</sup>。同样, 拟南芥 *AtRH3* 对内含子剪接、核糖体发生及幼苗的生长均具有一定作用, *rh3* 突变体在盐或冷胁迫下的生长受到严重抑制, 而干旱条件则对其没有明显影响<sup>[38]</sup>。最近, Liu 等<sup>[39]</sup>发现拟南芥 *rh7* 突变体在低温 (12℃) 胁迫下胚芽和叶的发育出现严重推迟现象, 当幼苗长时间暴露在低温胁迫下时, 突变体会出现发育异常、叶片变小的现象; 分析发现, 在正常和低温条件下突变体中 35S 和 18S rRNA 的积累量要高于野生型, 因此低温胁迫下 *AtRH7* 可能通过影响 rRNA 的合成来影响植物生长。

除此之外, 研究人员在水稻中发现 DEAD-box RNA 解旋酶 *TOGR1* 是在热胁迫下生长所必需的, *TOGR1* 的表达与白天温度的变化密切相关, 且 *TOGR1* 的解旋酶活性直接随着温度的升高而启动。超表达 *TOGR1* 基因的水稻在高温条件下生长状况有所改善<sup>[40]</sup>。而热胁迫能够抑制 *STRS1* 和 *STRS2* 的表达, 突变体 *strs1* 和 *strs2* 表现出增强的耐热性, 表达分析显示突变体中热胁迫响应基因 *HSP101*、*HSP4* 和 *HSP7* 转录水平升高<sup>[18]</sup>。在豌豆中, 具有解旋酶和 ATP 酶活性的 MCM6 单个亚基和 *PDH47* 基因, 以及定位于细胞质和细胞核中的大豆 *GmRH* 基因的表达均能被冷胁迫诱导<sup>[24, 30, 41]</sup>。

### 2.3 DEAD-box解旋酶参与渗透和氧化胁迫响应

很多证据表明解旋酶对植物在盐、干旱和冷胁迫下的耐受性有一定的影响, 这三种胁迫实际上均可导致植物水分亏缺、细胞失水, 从而造成渗透胁迫; 同时盐和干旱等胁迫环境常常导致植物体内活性氧 (ROS) 的积累从而产生氧化胁迫, 给植物带来

更为严重的损伤。然而, 目前关于解旋酶在植物抗氧化及渗透胁迫中的功能的描述并不详尽。

拟南芥 *AtRH5*、9 和 25 受到多种非生物胁迫的调控, 盐胁迫和渗透胁迫均可抑制三者的表达<sup>[19]</sup>。渗透胁迫同样能抑制 *STRS1* 和 *STRS2* 的表达, 突变体 *strs1* 和 *strs2* 在渗透胁迫下的发芽率和植株鲜重均比野生型高<sup>[18]</sup>。而大麦 *HVD1* 和烟草 *PDH45* 在渗透胁迫下转录水平升高<sup>[42-43]</sup>。水稻 *OsBIRHI* 基因编码 DEAD-box RNA 解旋酶, 防御相关化学物质如苯并噻二唑、水杨酸及稻瘟病菌均可诱导水稻中 *OsBIRHI* 的表达, 超表达 *OsBIRHI* 基因的拟南芥植株对黑斑病菌和番茄假单胞杆菌的抗性及氧化胁迫耐受性均增强。同时, 转基因植株中氧化胁迫防御相关基因如 *PR-1*、*PR-2*、*PR-5* 和 *PDF1.2* 的表达量升高<sup>[20]</sup>。在紫花苜蓿中分离出的 DEAD-box 解旋酶 MH1 与 *PDH45* 高度同源, 分析显示干旱、盐胁迫均能诱导 *MH1* 的表达, 超表达 *MH1* 可增强拟南芥种子在干旱、盐和氧化胁迫下的萌发和植株的生长。分析表明, *MH1* 对干旱和盐胁迫的耐受性是通过提高 ROS 清除能力和增强渗透调节能力来实现的<sup>[44]</sup>。已有证据表明脱落酸 (ABA) 可以促进 ROS 的产生, 在拟南芥中筛选出的 ABA 超敏突变体 *abo6* 的线粒体中 ROS 的积累量较多, 而 *ABO6* 基因在拟南芥中编码 DEXH-box RNA 解旋酶<sup>[45]</sup>。水稻 *SUV3* 转基因株系中产生的过氧化氢量比野生型要少, 且在高盐胁迫下抗氧化酶的活性增强<sup>[21]</sup>。相似地, 在水稻中超表达 *PDH45* 基因后发现其盐胁迫耐受性增强, 转基因植株中的抗氧化酶包括超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、愈创木酚过氧化物酶 (GPX) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 的活性均有显著升高, 说明水稻的盐胁迫耐受性是通过提高植物光合作用和抗氧化机制来实现的<sup>[46]</sup>。另外, 将 DEAD-box RNA 解旋酶基因 *p68* 在烟草中进行超表达, 发现植株同样可以通过提高光合作用和抗氧化机制来增强盐胁迫耐受性<sup>[31]</sup>。

### 3 DEAD-box解旋酶参与胁迫响应的机制及其表达调控

综上所述, DEAD-box 解旋酶在植物多种非生物胁迫响应中均发挥重要作用, 然而其在这些胁迫响应中的具体作用仍待进一步研究。在真核生物中, 许多信号转导通路被非生物胁迫所激活, 很难确定解旋酶在如此复杂的胁迫信号转导网络中的位置。因此, 由解旋酶介导的胁迫响应机制目前仍不清晰。

然而, 根据现有报道, 解旋酶可能通过以下几种途径来发挥作用 (图 2)。(1) 移除胁迫响应过程中在 mRNA 的 5' UTR 形成的二级结构, 并影响前体 mRNA 的正确剪接<sup>[37, 41, 47]</sup>。真核生物 mRNA 的 5' UTR 中二级结构的去除可促使翻译得以高效进行, 从而进一步促进相关分子的合成, 最终增强抗逆性<sup>[1]</sup>。拟南芥 DEAD-box RNA 解旋酶 *RCF1* 基因在维持 mRNA 前体的正常剪接中发挥重要作用, *rcf-1* 突变体中许多冷胁迫诱导的基因发生错误剪接<sup>[37]</sup>。(2) 同 DNA 多亚基复合物以及拓扑异构酶相互作用, 从而改变相关基因的表达<sup>[47]</sup>。(3) 激活相关转录因子, 从而调控胁迫应答基因的表达<sup>[33]</sup>。(4) 影响 mRNA 的出核运输。植物胁迫响应相关基因的 mRNA 出核运输将直接影响相关基因的表达, 从而影响胁迫响应的各个过程。比如 LOS RNA 解旋酶在 mRNA 的输出及对温度胁迫的响应中都发挥重要作用<sup>[34]</sup>。(5) 磷酸化或被蛋白激酶激活, 从而在转录或翻译水平上调控基因的表达<sup>[1, 41]</sup>。在玉米根中发现缺氧胁迫可通过 EIF-4A 的磷酸化来抑制翻译的起始<sup>[48]</sup>。而由蛋白激酶 C 介导的磷酸化则增强了豌豆 PDH47 的 DNA 解旋酶和 ATP 酶活性<sup>[41]</sup>。(6) 参与核糖体的装载。水稻 DEAD-box RNA 解旋酶 TOGR1 被证实参与 rRNA 前体的加工, 通过维持 rRNA 的动态平衡从而保证水稻在高温下正常生长<sup>[40]</sup>。而水稻 OsRH17 能够抑制大肠杆菌 16S rRNA 的成熟, 说明 OsRH17 可能与核糖体的生物合成有关<sup>[49]</sup>。除此之外, 解旋酶可能还参与了许多其他信号通路进而进入胁迫响应通路, 比如与 ABA 信号的关系以及解旋酶在胁迫过程中的亚细胞定位

等, 而这都需要未来研究的深入探索。

另外, 值得一提的是, Macovei 和 Tuteja<sup>[25]</sup> 首次证实 miRNA 能调控 DEAD-box 解旋酶基因的表达。miRNA 作为重要的转录水平调控因子, 主要通过降解目标基因的 mRNA 和抑制目标基因转录物的翻译来发挥作用<sup>[50]</sup>。水稻 *OSA-MIR414*、*OSA-MIR164e* 和 *OSA-MIR408* 的降解目标为 3 个 DEAD-box 解旋酶基因: *OsABP*、*OsDBH* 和 *OsDSHCT*。研究发现, 盐胁迫能够诱导这些基因的表达, 而相反的是 miRNAs 的表达被抑制。以上发现说明, DEAD-box 解旋酶广泛参与调节植物多种防御反应的生理活动, 同时其自身功能的实现也处于复杂调控网络之中。

#### 4 展望

DEAD-box 解旋酶除具有持家基因功能以外, 还可通过 RNA 代谢、内含子剪接、核糖体发生等生物过程参与植物的生长发育及胁迫耐受性的调控。在胁迫应答途径中, DEAD-box 解旋酶位于许多逆境胁迫应答途径的上游, 在转录及翻译水平上调控下游相关基因的表达。目前, 尽管已在多个物种中鉴定出数目众多的 DEAD-box 解旋酶, 但仅有一小部分被证实参与了非生物胁迫应答, 且其参与的胁迫响应机制仍不明确。而更为复杂的植物对病原微生物的防御系统所涉及的多种信号通路网络也有待深入研究。未来的研究工作可从以下几个方面展开: (1) 环境胁迫调控 DEAD-box 解旋酶基因表达或活性的信号通路; (2) 胁迫诱导型 DEAD-box 解旋酶的靶目标 RNA; (3) 调控 DEAD-box 解旋酶

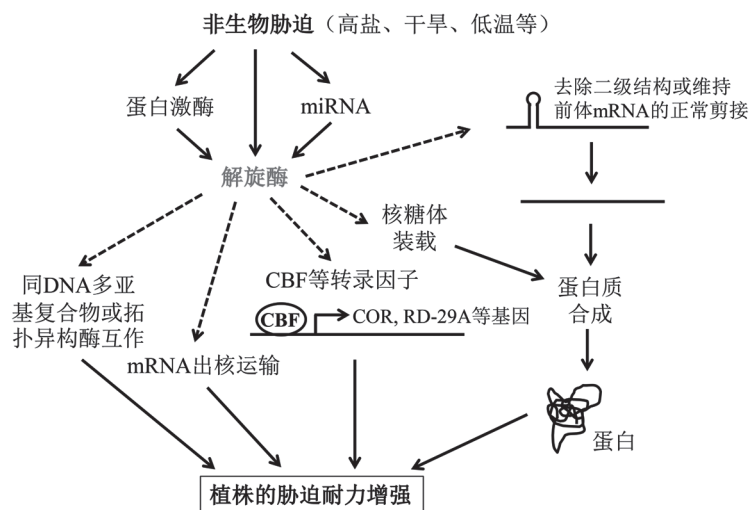


图2 解旋酶参与非生物胁迫响应的可能机制示意图

的上游调节因子；(4)与RNA或RNP结构重排活性相关的特定生理功能；(5)DEAD-box解旋酶的生理生化功能被整合和调控的机制。

目前转基因抗性育种方面的研究已经取得相当大的进展，但大多数目的基因的功能趋于单一化，对转基因作物抗性的改良有限。因而，胁迫诱导型DEAD-box解旋酶在胁迫应答途径中的调控功能为转基因作物抗性育种提供了更为合理和高效的基因工程策略。已有学者指出植物在抵抗如高盐、干旱和寒冷等非生物胁迫逆境时，DEAD-box解旋酶可能开辟了一条新的抗逆途径<sup>[1]</sup>，相信将来通过“DNA/RNA解旋”途径来改良植物抗性的转基因研究将不断涌现。

### [参 考 文 献]

- [1] Vashisht AA, Tuteja N. Stress responsive DEAD-box helicases: a new pathway to engineer plant stress tolerance. *J Photochem Photobiol B*, 2006, 84: 150-60
- [2] Linder P. Dead-box proteins: a family affair--active and passive players in RNP-remodeling. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: 4168-80
- [3] Lohman TM, Tomko EJ, Wu CG. Non-hexameric DNA helicases and translocases: mechanisms and regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 391-401
- [4] Tuteja N. Plant DNA helicases: the long unwinding road. *J Exp Bot*, 2003, 54: 2201-14
- [5] Phan TN, Ehtesham NZ, Tuteja R, et al. A novel nuclear DNA helicase with high specific activity from *Pisum sativum* catalytically translocates in the 3'→5' direction. *Eur J Biochem*, 2003, 270: 1735-45
- [6] Huang CK, Shen YL, Huang LF, et al. The DEAD-box RNA helicase AtRH7/PRH75 participates in pre-rRNA processing, plant development and cold tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 2016, 57: 174-91
- [7] Seki M, Narusaka M, Abe H, et al. Monitoring the expression pattern of 1300 *Arabidopsis* genes under drought and cold stresses by using a full-length cDNA microarray. *Plant Cell*, 2001, 13: 61-72
- [8] Owttrim GW. RNA helicases diverse roles in prokaryotic response to abiotic stress. *RNA Biol*, 2013, 10: 96-110
- [9] Linder P. Birth of the DEAD box. *Nature*, 1989, 337: 121-2
- [10] Fairman-Williams ME, Guenther UP, Jankowsky E. SF1 and SF2 helicases: family matters. *Curr Opin Struct Biol*, 2010, 20: 313-24
- [11] Cordin O, Banroques J, Tanner NK, et al. The DEAD-box protein family of RNA helicases. *Gene*, 2006, 367: 17-37
- [12] Rocak S, Linder P. DEAD-box proteins: the driving forces behind RNA metabolism. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5: 232-41
- [13] Tuteja N, Tuteja R. Unraveling DNA helicases. *Eur J Biochem*, 2004, 271: 1849-63
- [14] Gorbalenya AE, Koonin EV, Donchenko AP, et al. A conserved NTP-motif in putative helicases. *Nature*, 1988, 333: 22
- [15] Umate P, Tuteja R, Tuteja N. Genome-wide analysis of helicase gene family from rice and *Arabidopsis*: a comparison with yeast and human. *Plant Mol Biol*, 2010, 73: 449-65
- [16] Xu R, Zhang S, Lu L, et al. A genome-wide analysis of the RNA helicase gene family in *Solanum lycopersicum*. *Gene*, 2012, 513: 128-40
- [17] Zhu JK. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 2016, 167: 313-24
- [18] Kant P, Kant S, Gordon M, et al. STRESS RESPONSE SUPPRESSOR1 and STRESS RESPONSE SUPPRESSOR2, two DEAD-box RNA helicases that attenuate *Arabidopsis* responses to multiple abiotic stresses. *Plant Physiol*, 2007, 145: 814-30
- [19] Kim JS, Kim KA, Oh TR, et al. Functional characterization of DEAD-box RNA helicases in *Arabidopsis thaliana* under abiotic stress conditions. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49: 1563-71
- [20] Li D, Liu H, Zhang H, et al. OsBIRH1, a DEAD-box RNA helicase with functions in modulating defence responses against pathogen infection and oxidative stress. *J Exp Bot*, 2008, 59: 2133-46
- [21] Tuteja N, Sahoo RK, Garg B, et al. OsSUV3 dual helicase functions in salinity stress tolerance by maintaining photosynthesis and antioxidant machinery in rice (*Oryza sativa* L. cv. IR64). *Plant J*, 2013, 76: 115-27
- [22] Amin M, Elias SM, Hossain A, et al. Over-expression of a DEAD-box helicase, PDH45, confers both seedling and reproductive stage salinity tolerance to rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Breeding*, 2011, 30: 345-54
- [23] Sahoo RK, Gill SS, Tuteja N. Pea DNA helicase 45 promotes salinity stress tolerance in IR64 rice with improved yield. *Plant Signal Behav*, 2012, 7: 1042-6
- [24] Dang HQ, Tran NQ, Tuteja R, et al. Promoter of a salinity and cold stress-induced MCM6 DNA helicase from pea. *Plant Signal Behav*, 2011, 6: 1006-8
- [25] Macovei A, Tuteja N. microRNAs targeting DEAD-box helicases are involved in salinity stress response in rice (*Oryza sativa* L.). *Bmc Plant Biol*, 2012, 12: 183
- [26] Pause A, Méthot N, Svitkin Y, et al. Dominant negative mutants of mammalian translation initiation factor eIF-4A define a critical role for eIF-4F in cap-dependent and cap-independent initiation of translation. *EMBO J*, 1994, 13: 1205-15
- [27] Tuteja N. A method to confer salinity stress tolerance to plants by helicase overexpression. *Methods Mol Biol*, 2010, 587: 377-87
- [28] Zhu M, Chen G, Dong T, et al. *SIDEAD31*, a putative DEAD-box RNA helicase gene, regulates salt and drought tolerance and stress-related genes in tomato. *PLoS One*, 2015, 10: e0133849
- [29] Liu HH, Liu J, Fan SL, et al. Molecular cloning and characterization of a salinity stress-induced gene encoding DEAD-box helicase from the halophyte *Apocynum venetum*. *J Exp Bot*, 2008, 59: 633-44

- [30] Chung E, Cho CW, Yun BH, et al. Molecular cloning and characterization of the soybean DEAD-box RNA helicase gene induced by low temperature and high salinity stress. *Gene*, 2009, 443: 91-9
- [31] Tuteja N, Banu MS, Huda KM, et al. Pea p68, a DEAD-box helicase, provides salinity stress tolerance in transgenic tobacco by reducing oxidative stress and improving photosynthesis machinery. *PLoS One*, 2014, 9: e98287
- [32] Chen J, Wan S, Liu H, et al. Overexpression of an *Apocynum venetum* DEAD-box helicase gene (*AvDHI*) in cotton confers salinity tolerance and increases yield in a saline field. *Front Plant Sci*, 2015, 7: 1041
- [33] Gong Z, Lee H, Xiong L, et al. RNA helicase-like protein as an early regulator of transcription factors for plant chilling and freezing tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 11507-12
- [34] Gong Z, Dong CH, Lee H, et al. A DEAD box RNA helicase is essential for mRNA export and important for development and stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2005, 17: 256-67
- [35] Tripurani SK, Nakaminami K, Thompson KB, et al. Spatial and temporal expression of cold-responsive DEAD-box RNA helicases reveals their functional roles during embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol Rep*, 2011, 29: 761-8
- [36] Yang Y, Sun Z, Ding C, et al. A DEAD-box RNA helicase produces two forms of transcript that differentially respond to cold stress in a cryophyte (*Chorispora bungeana*). *Planta*, 2014, 240: 369-80
- [37] Guan Q, Wu J, Zhang Y, et al. A DEAD box RNA helicase is critical for pre-mRNA splicing, cold-responsive gene regulation, and cold tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2013, 25: 342-56
- [38] Gu L, Xu T, Lee K, et al. A chloroplast-localized DEAD-box RNA helicase AtRH3 is essential for intron splicing and plays an important role in the growth and stress response in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol Biochem*, 2014, 82: 309-18
- [39] Liu Y, Tabata D, Imai R. A cold-inducible DEAD-box RNA helicase from *Arabidopsis thaliana* regulates plant growth and development under low temperature. *PLoS One*, 2016, 11: e0154040
- [40] Wang D, Qin B, Li X, et al. Nucleolar DEAD-box RNA helicase TOGR1 regulates thermotolerant growth as a Pre-rRNA chaperone in rice. *PLoS Genet*, 2016, 12: e1005844
- [41] Vashisht AA, Pradhan A, Tuteja R, et al. Cold- and salinity stress-induced bipolar pea DNA helicase 47 is involved in protein synthesis and stimulated by phosphorylation with protein kinase C. *Plant J*, 2005, 44: 76-87
- [42] Sanan-Mishra N, Pham XH, Sopory SK, et al. Pea DNA helicase 45 overexpression in tobacco confers high salinity tolerance without affecting yield. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 509-14
- [43] Nakamura T, Muramoto Y, Yokota S, et al. Structural and transcriptional characterization of a salt-responsive gene encoding putative ATP-dependent RNA helicase in barley. *Plant Sci*, 2004, 167: 63-70
- [44] Luo Y, Liu YB, Dong YX, et al. Expression of a putative alfalfa helicase increases tolerance to abiotic stress in *Arabidopsis* by enhancing the capacities for ROS scavenging and osmotic adjustment. *J Plant Physiol*, 2009, 166: 385-94
- [45] He J, Duan Y, Hua D, et al. DEXH box RNA helicase-mediated mitochondrial reactive oxygen species production in *Arabidopsis* mediates crosstalk between abscisic acid and auxin signaling. *Plant Cell*, 2012, 24: 1815-33
- [46] Gill SS, Tajrishi M, Madan M, et al. A DESD-box helicase functions in salinity stress tolerance by improving photosynthesis and antioxidant machinery in rice (*Oryza sativa* L. cv. PB1). *Plant Mol Biol*, 2013, 82: 1-22
- [47] Pham XH, Reddy MK, Ehtesham NZ, et al. A DNA helicase from *Pisum sativum* is homologous to translation initiation factor and stimulates topoisomerase I activity. *Plant J*, 2000, 24: 219-29
- [48] Webster C, Gaut RL, Browning KS, et al. Hypoxia enhances phosphorylation of eukaryotic initiation factor-4A in maize root-tips. *J Biol Chem*, 1991, 266: 23341-6
- [49] Xu J, Liu C, Li M, et al. A rice DEAD-box RNA helicase protein, OsRH17, suppresses 16S ribosomal RNA maturation in *Escherichia coli*. *Gene*, 2015, 555: 318-28
- [50] Zhang S, Zeng F, Yu N, et al. Advances in studies on the function and mechanism of plant microRNA. *J Trop Subtrop Bot*, 2005, 14: 444-50