



评述

SWEET 蛋白家族研究进展

玄元虎^{①②}, 朱毅勇^①, 胡一兵^{①*}

① 南京农业大学资源与环境科学学院, 农业部长江中下游植物营养与肥料重点实验室, 南京 210095;

② Carnegie Institution for Science, Stanford 94305, USA

* 联系人, E-mail: huyb@njau.edu.cn

收稿日期: 2013-12-23; 接受日期: 2014-03-04

教育部新世纪优秀人才支持计划(批准号: NCET-11-0672)资助项目

doi: 10.1360/N052013-00068

摘要 SWEET 是新发现的一类具有 7 次跨膜 α -螺旋的糖运输蛋白, 它们由 2 个重复的具有 3 次跨膜 α -螺旋的 MtN3 motif 和一个起连接作用的跨膜 α -螺旋组成. SWEET 广泛存在于真核单细胞生物、高等植物以及动物中. 它们在生殖发育、植物与微生物的相互作用、植物的逆境反应及衰老等许多方面起重要作用. 最近的研究显示, 原核生物中存在与真核生物 SWEET 类似的、只含有一个 3 次跨膜 α -螺旋的蛋白, 这些蛋白属于 MtN3 或 PQ-Loop 家族. 从慢生根瘤菌中克隆的 SWEET 同源蛋白 BjSemiSWEET1 和已经鉴定的部分真核生物 SWEET 蛋白一样具有运输蔗糖的能力, 这个结果与其他相关研究一起暗示真核生物 7 次跨膜 α -螺旋的糖或氨基酸运输蛋白可能由原核生物中 3 次跨膜 α -螺旋的小分子蛋白通过复制或横向基因转移融合进化而来, 并且它们在行使功能时可能形成和其他许多膜转运蛋白相似的、具有 12 次跨膜结构的功能单位. 对 SWEET 的研究将为揭示多种生命现象提供重要线索.

关键词

SWEET
SemiSWEET1
MtN3
糖
转运蛋白
研究进展

从环境中获取能源物质是异养生物生存的必要条件. 大多数异养生物依靠糖类提供的能量完成生长发育和繁殖过程. 因此, 细胞膜上糖类运输无论对单细胞生物还是动、植物等多细胞生物都是十分重要的生理活动^[1]. 长期以来的研究表明, 细胞膜上存在不同种类的糖运输蛋白, 它们的功能和作用方式也各不相同^[2,3]. 2010 年, Chen 等人^[1]运用荧光共振能量转移传感器技术(fluorescence resonance energy transfer, FRET sensor)从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中鉴定出一类新的运输葡萄糖和其他寡糖的 SWEET(sugars will eventually be exported transporters)

蛋白, 他们随后的研究显示, SWEET 参与植物光合产物的运输和分配过程^[4]. 最近, 在原核生物中也发现 SWEET 的同源蛋白 SemiSWEET 有类似的糖运输功能^[5]. 尽管对 SWEET 蛋白开展研究的时间不长, 但现有的结果已经显示它们在细胞与环境或细胞与细胞之间的糖类运输过程中有重要作用. 因此深入、全面了解它们的功能有助于理解生命活动的详细过程. 本文简要概述了真核生物及原核生物中 (Semi)SWEET 蛋白的研究进展和蛋白结构与功能的相互关系, 同时对 SWEET 研究中存在的问题和可能的解决途径提出了探讨和展望.

引用格式: 玄元虎, 朱毅勇, 胡一兵. SWEET 蛋白家族研究进展. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 674-684

Xuan Y H, Zhu Y Y, Hu Y B. Research advances of the SWEET proteins family. SCIENTIA SINICA Vitae, 2014, 44: 676-684, doi: 10.1360/N052013-00068

1 真核生物 SWEET 蛋白

SWEET 是一类新鉴定的、广泛存在于不同类型真核生物中的糖运输蛋白。在结构上它们具有 7 次跨膜 α -螺旋(transmembrane helix, TMH), 由 2 个 3 TMH 的 MtN3 motif 和位于其中起连接作用的一个 TMH 形成 3-1-3 的结构^[6,7]。由于 MtN3 motif 与另一个膜蛋白家族(PF04193)成员的脯氨酸-谷氨酰胺环(PQ-loop) motif 在氨基酸序列上十分接近, 因此一些研究者将它们统称为 MtN3/PQ-loop/SWEET 蛋白^[8](图 1)。不过, 到目前为止, 这些蛋白在细胞水平上只有糖运输功能得到确认, 因此本文主要采用 SWEET 这个名称来代表这一类蛋白。

与已经鉴定的 major facilitator superfamily(MFS)超家族^[9]的糖运输蛋白以及哺乳动物葡萄糖转运蛋白(glucose transporter, GLUTs)和钠-葡萄糖协同转运蛋白(sodium-glucose-linked transporter, SGLTs)一样,

SWEET 蛋白的一项重要功能是进行糖的运输^[1,10]。因此, SWEETs 可能是一些单细胞生物获取环境中糖类的重要载体蛋白; 多细胞真核生物中, SWEETs 对不同组织或器官中碳水化合物的交换和运输有重要作用, 因此它们也是植物病原微生物获取宿主糖类营养过程中重要的调控对象^[1]。

最初, SWEET 的糖运输功能是在通过拟南芥膜蛋白数据库 Aramemnon 中选择功能未知的候选基因与高灵敏度的糖类 FRET sensor 在人胚肾细胞 HEK293T 中同时表达时发现的^[1]。已有的研究表明, FRET sensor 是一种能实时监控活细胞内某种特定底物(如糖、激素等)浓度变化的有效检测手段^[11]。以单糖的 FRET sensor 为例, 其基本原理如图 2 所示。MgIB 为源自 *Escherichia coli* 周质的膜蛋白片段, 它是葡萄糖或半乳糖的识别元件, 也是葡萄糖或半乳糖的结合位点。2 个 MgIB 片段分别连接 cyan fluorescent protein(CFP)和 yellow fluorescent protein(YFP), 然后以 2 页的形式共同组成葡萄糖或半乳糖的 FRET sensor。当底物如葡萄糖分子通过宿主细胞膜上的载体进入细胞与 MgIB 结合时, CFP 被激活, 激发产生的能量以非辐射的方式转移到 YFP 上, 导致 CFP 和 YFP 荧光信号强度发生变化。此时利用荧光显微镜实时监测表达 FRET sensor 和载体蛋白的单个宿主细胞内 CFP/YFP 比值的变化就可以判断是否有葡萄糖进入宿主细胞与 FRET sensor 结合; 而且, 检测不同浓度的底物需要适宜于不同浓度范围的 FRET sensor^[12]。目前已有包括多种单糖和其他代谢产物的 FRET sensor 被开发出来^[11-14]。基于同样的原理, 植物激素和各种营养元素及代谢中间产物的胞内实时浓度也可以通过这种方法检测, 因此 FRET sensor 是一种具有良好应用前景的技术^[15,16]。对于小分子糖

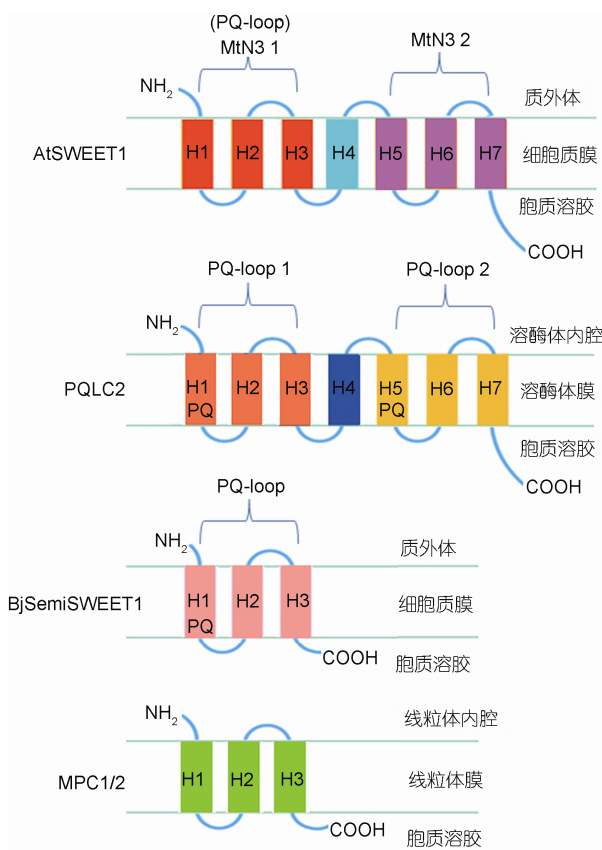


图 1 部分 MtN3-like 蛋白跨膜结构示意图

H: 跨膜螺旋(TMh); 双绿线代表磷脂双分子层; 蓝色弧线代表各种载体蛋白不同跨膜螺旋之间的 loop 区域

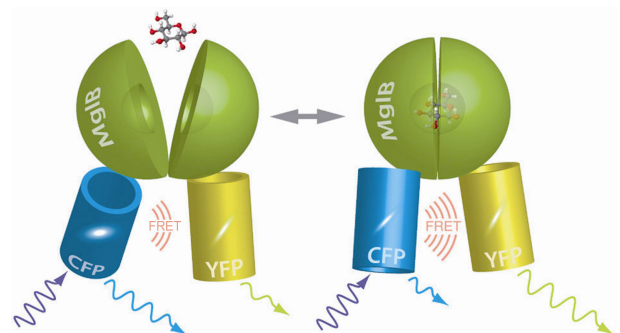


图 2 FRET sensor 工作原理示意图^[12]

类而言, 利用人胚肾细胞通过 FRET sensor 鉴定一些运输寡糖的膜蛋白有明显的优势: 胚肾细胞内蔗糖以及内源葡萄糖吸收活性低, 因此具有较低的背景^[1].

运用上述手段, Chen 等人^[1,4]对拟南芥中 17 个 SWEET 成员进行了系统的研究. 其中, AtSWEET1(At1g21460)在人胚肾细胞 HEK293T 中具有吸收葡萄糖的能力. 而且, 在酵母(*Saccharide cerevisiae*)己糖载体功能缺失突变体(EBY4000)和非洲爪蟾卵母细胞(*Xenopus oocytes*)中 AtSWEET1 表现出同样的运输特性. 不仅如此, AtSWEET1 也具有向膜外运输葡萄糖的能力, 因此, 它是一个浓度依赖型的葡萄糖低亲和双向运输蛋白(uniporter). 不过在生理功能上, 引人注目的是其作为外向运输(efflux)载体的特性. AtSWEET8 (RUPTURED POLLEN GRAIN1, *RPG1*)在绒毡层表达, 敲除该基因引起拟南芥花粉外壁发育缺陷, 并且该基因可以被小孢子形成期雄蕊中表达的其同源基因 *PGR2* 部分回补, *PGR2* 也编码一个 MtN3 家族蛋白; 同时敲除 *PGR1* 和 *PGR2* 导致拟南芥雄性不育^[17,18]. 花粉外壁的前体是小孢子母细胞发育过程中形成的初生外壁, 它主要由糖类物质组成; 而 AtSWEET8 是一个葡萄糖运输蛋白, 因此, *RPG1* 和 *RPG2* 可能在花粉发育过程中有重要作用^[17-19]. 与 AtSWEET8 的作用类似, RNAi 干扰水稻(*Oryza sativa*)*OsSWEET11* 也导致花粉发育不良进而引起雄性不育. 沉默矮牵牛(*Petunia hybrida*)蜜腺中优势表达的 SWEET 同源基因 *NEC1*(a gene predominantly expressed in the nectaries)也导致雄性不育^[20]. 另外, AtSWEET1 和 AtSWEET8 还在拟南芥花粉管中大量表达, 提示它们可能也为发育中的花粉管提供营养^[1].

与 AtSWEET1 主要运输葡萄糖不同, 拟南芥 AtSWEET11 和 AtSWEET12 则是蔗糖低亲和的运输载体. 正常情况下它们在拟南芥叶片维管束细脉韧皮部薄壁细胞中表达, 可能位于质膜上参与韧皮部薄壁细胞中蔗糖向质外体的运输. 这些运输出来的蔗糖随后被筛管伴胞复合体(sieve element-companion cell, SE-CC)上的蔗糖/质子转运蛋白(sucrose/proton symporter, SUT-H⁺)吸收进入筛管-伴胞复合体, 随后进行长距离运输^[4,21]. 与此类似, 水稻 OsSWEET11 和 OsSWEET14 也是蔗糖低亲和的运输载体, 它们可能也参与韧皮部蔗糖的装载过程^[4,21].

在功能已经部分鉴定的 SWEET 蛋白中, 除了上述在发育过程中发挥作用的蛋白, 还有很多成员的功能可能与植物和病原微生物的相互作用有关. 拟南芥叶片中 AtSWEET4, AtSWEET5, AtSWEET7, AtSWEET8, AtSWEET10, AtSWEET12 和 AtSWEET15 的 RNA 表达水平都受 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* 的诱导上调, 并且真菌病原菌 *Botrytis cinerea* 能诱导 AtSWEET4, AtSWEET15 和 AtSWEET17 增强表达^[1]. 与此吻合的是, 在水稻目前预测的 21 个 SWEET 家族成员中, OsSWEET11(Xa13 或 Os8N3)和 OsSWEET14(Os11N3)在水稻病害的发生机制上有重要意义, 它们是水稻病原微生物调控的宿主重要靶基因^[22-27]. 2010 年, Yuan 等人^[28]的研究显示, Xa13(OsSWEET11)必须和水稻体内的 2 个铜离子(Cu²⁺)载体蛋白(copper transporter, COP)COPT1/5 同时表达才能回补酵母铜离子载体突变体, 因此它的作用与铜离子的运输密切相关. 他们的研究还显示, Xa13(OsSWEET11)和 COPT1/5 在水稻中协同表达能降低地上部分木质部液流中铜离子浓度从而有利于病原微生物 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*(Xoo)的增殖和扩散, 这种作用可能是通过 Xa13(OsSWEET11)协同铜离子运输实现的, 并且 Xa13(OsSWEET11)在水稻感染 Xoo 的过程中起主要作用. 但 Xa13(OsSWEET11)如何发挥协同作用的细节目前仍不清楚. 因为 OsSWEET11(Xa13)在非洲爪蟾卵母细胞中具有独立运输蔗糖和葡萄糖的能力^[4], 所以, 水稻被病原微生物侵染时 Xa13(OsSWEET11)的作用机理是否存在这种可能是值得关注的, 即由于铜离子能抑制一些病原微生物的生长, 虽然 COPT1/5 能将木质部液流中的铜离子排除, 有利于病原微生物的生存, 但木质部液流中由于缺乏碳源供微生物生长繁殖, 因此单纯降低铜离子浓度还不能满足外部入侵的微生物生长繁殖需求. 但当水稻 Xa13, COPT1/5 同时被激活表达, 即 Xa13(OsSWEET11)向木质部液流中运输蔗糖以提供碳源, 并且 COPT1/5 又降低木质部液流内对微生物有抑制作用的铜离子浓度时, 微生物就获得了生长繁殖所必需的条件. 不过, 这种解释仍然不能说明为什么 Xa13(OsSWEET11)必须和 COPT1/5 同时表达才能回补酵母铜离子载体功能缺失突变体这个现象^[28].

蔗糖是植物体内光合产物运输的主要形式^[29], 由于水稻 OsSWEET11(Xa13)和 OsSWEET14 具有蔗

糖运输能力^[4], 与此相吻合的是 OsSWEET11(Xa13) 为水稻花粉正常发育所必需, 并且 OsSWEET11(Xa13)和 OsSWEET13(Xa25)都与病原微生物 *Xoo* 的侵染有关^[26-28], 这些结果说明, 这类基因的表达可能会受植物自身发育信号以及外界环境因素的调控。

拟南芥和水稻 SWEET 家族都含有数量众多的成员, 尽管目前只有部分成员的生理功能得到鉴定, 但很多成员在细胞水平上都有糖运输的功能^[1,4,21]. 此前的研究显示, 拟南芥 SENESCENCE-ASSOCIATED PROTEIN 29(SAG29, 亦即 AtSWEET15)主要在高盐胁迫下加速衰老的组织中表达^[30], 由于糖的积累与植物组织的衰老密切相关^[31], 并且植物或微生物对低温和渗透胁迫的反应也与糖的含量变化有关^[32-34]. 因此进一步阐明 SWEET 蛋白是否通过糖的运输来参与这些生理活动十分必要。

不仅如此, 通过 SWEET 的 MtN3 motif 进行搜索可以发现, 实际上含有 2 个 MtN3 motif 的成员广泛分布于不同类群的真核生物中^[35]. 它们包括 MtN3 家族的第一个成员, 即以前在苜蓿(*Medicago truncatula*)中克隆的与根瘤发育密切相关、可能在共生的根瘤菌营养中发挥作用的 *MtN3* 基因^[35]、果蝇(*Drosophila melanogaster*)胚胎发育过程中的 *saliva* 基因^[36]以及人淋巴原细胞内协助重组激活基因表达的 *recombination activating gene 1(RAG1)*^[37]. 最近, 通过 SWEET 蛋白序列相似性搜索发现, 卵菌(*Oomycete*)、绿藻、真菌等单细胞真核生物以及线虫(*Caenorhabditis elegans*)、鱼类、两栖类、爬行类、鸟类、哺乳动物(包括人)和高等植物中都存在数目各异的含有 2 个 MtN3 motif 的推测 SWEET 蛋白. 其中部分功能已经鉴定的 MtN3 家族蛋白或参与生殖发育, 或参与离子的协同运输; 有的则在植物与微生物的互作以及植物的衰老和逆境反应等多种生命活动中发挥作用; 此外, 它们还可能以分子伴侣的形式参与到一些活动中^[8,38]. 这些事实说明 SWEET 的功能可能十分复杂多样。

2 原核生物 SemiSWEET 蛋白

生物进化是一个逐步适应环境的过程. 既然 SWEET 基因在真核生物中普遍存在, 那么原核生物中是否有它们的同源基因? 最近, 以 MtN3 结构域的氨基酸序列为基础, Xuan 等人^[5]通过相似性搜索在许

多原核生物包括不同种类的细菌和古细菌中发现了许多预测的 SWEET 同源蛋白序列. 与真核生物 SWEET 具有 7 个 TMH 显著不同的是, 这些原核生物 SWEET 同源蛋白都是只包含 3 个 TMH 的小分子量蛋白或多肽, 因此将它们命名为 SemiSWEET^[5]. 而且, 这些同源蛋白只存在于部分种属的原核生物中, 例如中华根瘤菌(*Sinorhizobium*)不含、而慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium*)则包含这类 SWEET 的同源蛋白, 说明这些蛋白可能只与细胞内某些特定的代谢途径有关. 值得注意的是, 这些 SemiSWEET 中只有少部分成员含有 MtN3 motif, 其余绝大多数具有与 MtN3 类似的 PQ-loop motif. 不过, 尽管有人主张将 MtN3 和 PQ-loop 划分为不同的家族, 原因除了氨基酸组成上的差异, 研究显示 PQ-loop 蛋白主要位于细胞器膜上^[39]; 而很多 SWEET 位于细胞质膜上^[1,5]. 但也存在这样的观点, 即真核生物 SWEET 蛋白中第一个 MtN3 motif 同时也包含了 PQ-loop motif^[8](图 1), 从这个意义来说, MtN3 和 PQ-loop 成员之间并无严格的区别。

采用与鉴定 SWEET 蛋白同样的策略, 即在人胚肾细胞中利用蔗糖的 FRET sensor, 以及在蓝细菌中蔗糖的 efflux 实验, Xuan 等人^[5]证实来自变形菌门慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium japonicum*)含有 3TMH 的 PQ-loop 蛋白 BjSemiSWEET1 具有双向运输蔗糖的能力. 这个结果显示, 原核生物小分子蛋白 BjSemiSWEET1 具有类似于拟南芥蔗糖运输蛋白 AtSWEET11 的功能。

不过, 尽管 BjSemiSWEET1 在异源系统中显示了蔗糖运输的特性, 但其具体的运输机制目前仍不清楚. 研究显示, 原核生物中 MFS 家族的一些小分子通道蛋白(如钾离子通道)经过复制和融合进化形成真核生物中具有类似功能的载体(如钾离子载体)^[40-42]. 考虑到 BjSemiSWEET1 和 SWEET 的大小以及它们功能的关系, 阐明该蛋白究竟是以载体还是通道的形式参与运输过程应该是有价值的。

2012 年, Jézégou 等人^[43]的研究显示, 与 SWEET 结构类似、同样含有 7TMH 的酵母 PQ-loop 家族的 3 个蛋白 Ypq1, Ypq2, Ypq3 和哺乳动物的 PQLC2 (PQ-loop protein transport lysosomal cystine)具有运输碱性氨基酸的能力. 由于从氨基酸组成上划分 BjSemiSWEET1 属于 PQ-loop 蛋白, 因此, 检验 BjSemiSWEET1 除了具备蔗糖运输能力以外, 是否

还具有碱性氨基酸运输活性也是一个值得进一步探讨的问题。

最近, Yuan 和 Wang^[8]以及 Xuan 等人^[5]对(MtN3/PQ-loop)/SWEET 的详细研究显示, 植物中 SWEET 蛋白成员数目较多; 而动物包括人通常只含有一个或几个 SWEET 蛋白。另外, 搜索到的原核生物绝大部分个体都只含有一个 3TMH 的 MtN3/PQ-loop/SWEET 成员, 即 SemiSWEET。尽管具体的原因还不清楚, 但从目前 SWEET 体现出来的糖运输功能来看, 这种不同类型的生物含有数目差异显著的 SWEET 成员似乎是合理的, 因为人或动物体内的寡糖种类非常有限; 相反, 植物体内的寡糖的种类就要丰富得多。对原核微生物来说, 其生存环境相对简单, 而且其体内还有一定数量的其他家族的糖运输蛋白, 因此它们的 SemiSWEET 数量几乎是唯一的。随之而来的问题是, 同属 SWEET 蛋白, 为什么有的成员主要运输葡萄糖, 有的主要运输蔗糖, 有的成员(如 PQ-loop 蛋白)甚至能运输氨基酸? 尽管目前还没有这方面的研究报道, 但从结构与功能关系的角度考虑, 可能 SWEET 蛋白中位于 TMH 内的非保守氨基酸和位于不同 TMH 之间(即 loop 区域)的非保守氨基酸在对运输底物的识别中发挥着重要作用。

3 SWEET蛋白的结构及其与同源蛋白的关系

尽管 AtSWEET11 和 BjSemiSWEET1 都能运输蔗糖, 但原核生物的 BjSemiSWEET1 为 3TMH, 而真核生物中的 AtSWEET11 则为 7TMH。并且氨基酸序列分析及实验结果提示 7TMH 的 SWEET 蛋白是由 3TMH 的蛋白经过复制然后融合形成的^[5], 或经过横向基因转移(horizontal gene transfer, HGT)后融合而成。一个有趣的问题是, 既然 3TMH 的 BjSemiSWEET1 蛋白也具有运输糖的能力, 那么, 高等植物 SWEET 中与 BjSemiSWEET1 类似、同样是 3TMH 单个 MtN3 motif 是否具有类似的生理功能? 或者说, 高等植物单个 MtN3 结构域是否仍然具有自身多聚化形成有功能的结构的能力? 研究结果显示^[5], 被分开单独表达的拟南芥 AtSWEET1 蛋白的每一个 MtN3 结构域都没有葡萄糖运输活性。而且, BjSemiSWEET1 也不能替代 AtSWEET1 中任何一个 MtN3 结构域与另一个组成有功能的蛋白, 尽管它们无论大小还是结构都非常相似。

Xuan 等人^[5]还证明, 具有 7TMH 的大部分拟南芥 SWEET 蛋白无论是在酵母还是在拟南芥中都能形成同源或异源多聚体, 最可能的情形是二聚体。而且, 具有 3TMH 的 BjSemiSWEET1 也能形成同源寡聚蛋白。这个结果说明单个 7TMH 的分子并不足以在疏水性的膜上形成一个亲水的通道让葡萄糖等分子通过。考虑到 3TMH 的分子大小, 如果 SWEET 蛋白的确是以二聚体的形式完成其生理功能, 那么 BjSemiSWEET1 形成有功能的复合结构至少需要 4 个同源蛋白分子。由于 SWEET 中 TM4 的保守性低而被认为主要起连接作用, 因此, 原核细胞的 SemiSWEET 和真核细胞的 SWEET 同源蛋白在形成一个有功能的单位即维持一个特定结构时, 尽管所需的分子数不同, 但 TMH 数目应该是相同的。

与此类似的是, 同样具有 3TMH 的线粒体丙酮酸载体(mitochondrial pyruvate carrier, MPC)也需要形成寡聚蛋白才能承担运输功能^[44,45]。这些事实提示小分子载体蛋白在执行功能时多聚化是一个普遍现象。如果不考虑 SWEET 中起连接作用的 TMH4, 2 个 SWEET 形成的二聚体是 12 个 TMH 的结构。而 4 个 SemiSWEET 也是形成 12 个 TMH 的结构。与此吻合的是, 此前的研究显示, GLUT 和 SGLT 等糖运输载体为 12TMH 结构的蛋白^[46]。进行次级运输的 MFS 超家族大多数蛋白具有 12TMH 的结构。例如, 存在于原核生物中的乳糖运输蛋白 Lac permease 具有 12TMH, 它在膜上可以单独完成运输半乳糖的功能^[47,48], 并且 MFS 中少数非 12TMH 的载体蛋白分子也都含有 2 个 6TMH 的结构域^[49]。除了 MFS, 进行初级运输的典型 ABC(ATP binding cassette)超家族成员也都具有 12TMH 的结构^[50]。从这些事实来看, 12TMH 的结构可能在膜转运蛋白中具有不同寻常的重要意义。

按照 Mistry J 的分类, SWEET 属于 MtN3/saliva (PF03083)家族, 该家族和其他 4 个家族即 PQ-loop (PF04193), UPF0041(PF03650, ER lumen recept (PF00810)和 Lab-N(PF07578)共同构成一个 MtN3-like clan(<http://pfam.sanger.ac.uk/clan/MtN3-like>)。不过, 这种分类并不十分严格, 因为如前所述, 在具有 MtN3/saliva 结构域的 SWEET 蛋白中, 它们的第一个 MtN3/saliva 同时也包含 PQ-loop 结构域(图 1)。与 MtN3/saliva(PF03083)的分布情况类似, PQ-loop (PF04193)家族既有 7 个 TMH(由 2 个 PQ-loop 连接而

成)的成员,它们存在于真核生物中,如小鼠(*Mus musculus*)的 PQLC2 和酵母的 Ypqs,其功能是运输碱性氨基酸(cationic amino acid, CAA)^[43];也有只含一个 PQ-loop 即 3TMH 的蛋白,目前搜索到的这些 3TMH 的 PQ-loop 小分子蛋白只存在于原核生物中,此类蛋白中的 BjSemiSWEET1 被证实具有运输蔗糖的能力^[5].而在 UPF0041(PF03650)家族中,同样只含有 3TMH 的大鼠(*Rattus norvegicus*)MPC1 和 MPC2 被证实为线粒体丙酮酸载体^[44,45].其余 2 个家族 ER lumen recept(PF00810)和 Lab-N(PF07578)目前还没有明确的功能信息.

虽然只含 3 TMH 的 MPCs 是在大鼠中鉴定的^[44,45],但考虑到线粒体的细菌起源^[51,52],可以看出似乎存在这样一个现象,即原核生物或原核生物来源的细胞器内,这些运输小分子物质包括氨基酸、有机酸和糖的载体都具有 3TMH 的结构;而在真核细胞中,完成运输寡糖、氨基酸和有机酸等小分子的蛋白则具有 7TMH 的结构(图 1).这种分布不仅符合大多数生物由简单到复杂的进化规律,似乎也显示 MtN3-like 蛋白中 MtN3/PQ-loop/UPF0041 是一类从原核到真核生物进化过程中恰当的指示分子.

4 展望

目前对 SWEET 蛋白的研究才刚开始,但其重要性已经显现.例如, *AtSWEET11* 和 *AtSWEET12* 在拟南

芥叶片维管束细脉韧皮部薄壁细胞的分布及其蔗糖低亲和运输特性使它们成为有望提高粮食产量的重要基因^[4].另外,在正常生长条件下,编码具有蔗糖运输能力、与病原微生物 *Xoo* 的侵染有关^[26-28]的水稻 *OsSWEET11* 基因在叶肉细胞中几乎没有表达,但它们能在 *Xoo* 侵染后被 TypeIII effector 蛋白激活而大量表达^[25],由此导致叶肉细胞中光合作用合成的糖类被运输到细胞外供病原微生物生长.而且研究显示, SWEET 蛋白必须形成同源多聚体才能体现运输功能^[5].因此,如果利用叶肉细胞特异表达的启动子,比如 Rubisco 启动子来表达突变的 *OsSWEET11*,这些突变蛋白就可以与 *Xoo* 侵染后 TypeIII effector 蛋白诱导出的正常 *OsSWEET11* 形成没有功能的 SWEET 聚合体阻止叶肉细胞中的蔗糖向病原微生物运输,从而达到抗病的效果.由于这种突变 SWEET 蛋白的表达具有组织特异性,所以对维管束韧皮部内的蔗糖运输不会产生影响.如果这个设想可行,将会对防治水稻病害从而维持产量的稳定有积极意义.

如前所述,动物细胞(包括人)含有 SWEET 数量相对较少,而且相关研究报道也非常有限,但其重要性不容忽视.例如,人类细胞中唯一的 SWEET 蛋白 HsSWEET 具有运输葡萄糖的能力,它可能在肝脏对血糖浓度控制以及小肠对糖的吸收上发挥重要作用^[1],所以弄清人以及动物体内 SWEET 蛋白的生理功能同样值得期待.

致谢 感谢美国斯坦福大学卡耐基研究院的 Wolf B. Frommer 教授同意本文使用 FRET sensor 原理图(图 2).

参考文献

- 1 Chen L Q, Hou B H, Lalonde S, et al. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nature*, 2010, 468: 527–532
- 2 Wood I S, Trayhurn P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Brit J Nutr*, 2003, 89: 3–9
- 3 Saier M H Jr. Families of transmembrane sugar transport proteins. *Mol Microbiol*, 2000, 35: 699–710
- 4 Chen L Q, Qu X Q, Hou B H, et al. Sucrose efflux mediated by SWEET proteins as a key step for phloem transport. *Science*, 2012, 335: 207–211
- 5 Xuan Y H, Hu Y B, Chen L Q, et al. Functional role of oligomerization for bacterial and plant SWEET sugar transporter family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: E3685–E3694
- 6 Talbot N J. Raiding the sweet shop. *Nature*, 2010, 468: 527–532
- 7 Baker R F, Leach K A, Braun D M. SWEET as sugar: new sucrose effluxers in plants. *Mol Plant*, 2012, 5: 766–768
- 8 Yuan M, Wang S. Rice MtN3/saliva/SWEET family genes and their homologs in cellular organisms. *Mol Plant*, 2013, 6: 665–674

- 9 Pao S S, Paulsen I T, Saier M H. Major facilitator superfamily. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, 62: 1–34
- 10 Scheepers A, Joost H G, Schürmann A. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. *JPEN-Parenter Enter*, 2004, 28: 364–371
- 11 Bermejo C, Haerizadeh F, Takanaga H, et al. Optical sensors for measuring dynamic changes of cytosolic metabolite levels in yeast. *Nat Protoc*, 2011, 6: 1806–1817
- 12 Hou B H, Takanaga H, Grossmann G, et al. Optical sensors for monitoring dynamic changes of intracellular metabolite levels in mammalian cells. *Nat Protoc*, 2011, 6: 1818–1833
- 13 Lager I, Looger L L, Hilpert M, et al. Conversion of a putative *Agrobacterium* sugar-binding protein into a FRET sensor with high selectivity for sucrose. *J Biol Chem*, 2006, 281: 30875–30883
- 14 Frommer W B, Davidson M W, Campbell R E. Genetically encoded biosensors based on engineered fluorescent proteins. *Chem Soc Rev*, 2009, 38: 2833–2841
- 15 Looger L, Lalonde S, Frommer W B. Genetically encoded FRET sensors for visualizing metabolites with subcellular resolution in living cells. *Plant Physiol*, 2005, 138: 555–557
- 16 Ehrhardt D W, Frommer W B. New technologies for 21st century plant science. *Plant Cell*, 2012, 24: 374–394
- 17 Guan Y F, Huang X Y, Zhu J, et al. *RUPTURED POLLEN GRAIN1*, a member of the MtN3/saliva gene family, is crucial for exine pattern formation and cell integrity of microspores in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2008, 147: 852–863
- 18 Sun M X, Huang X Y, Yang J, et al. *Arabidopsis* RPG1 is important for primexine deposition and functions redundantly with RPG2 for plant fertility at the late reproductive stage. *Plant Reprod*, 2013, 26: 83–91
- 19 朱骏, 杨仲南. 花粉壁发育研究进展. *自然杂志*, 2013, 35: 112–117
- 20 Ge Y X, Angenent G C, Wittich P E, et al. *NEC1*, a novel gene, highly expressed in nectary tissue of *Petunia hybrida*. *Plant J*, 2000, 24: 725–734
- 21 Chen L Q. SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New phytol*, 2013, 201: 1150–1155
- 22 Chu Z, Fu B, Yang H, et al. Targeting *xa13*, a recessive gene for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 455–461
- 23 Chu Z, Yuan M, Yao J, et al. Promoter mutations of an essential gene for pollen development result in disease resistance in rice. *Genes Dev*, 2006, 20: 1250–1255
- 24 Römer P, Recht S, Strauss T, et al. Promoter elements of rice susceptibility genes are bound and activated by specific TAL effectors from the bacterial blight pathogen, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol*, 2010, 187: 1048–1057
- 25 Yang B, Sugio A, White F F. *Ox8N3* is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 10503–10508
- 26 Yuan M, Chu Z, Li X, et al. Pathogen induced expressional loss of function is the key factor in race-specific bacterial resistance conferred by a recessive *R* gene *xa13* in rice. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50: 947–995
- 27 Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al. A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ*, 2011, 34: 1958–1969
- 28 Yuan M, Chu Z, Li X, et al. The bacterial pathogen *Xanthomonas oryzae* overcomes rice defenses by regulating host copper redistribution. *Plant Cell*, 2010, 22: 3164–3176
- 29 Giaquinta R T. Phloem loading of sucrose: pH dependence and selectivity. *Plant Physiol*, 1977, 59: 750–755
- 30 Seo P J, Park J M, Kang S K, et al. An *Arabidopsis* senescence-associated protein SAG29 regulates cell viability under high salinity. *Planta*, 2011, 233: 189–200
- 31 Winkler A, Masclaux-Daubresse C, Fischer A M. Sugars, senescence, and ageing in plants and heterotrophic organisms. *J Exp Bot*, 2009, 60: 1063–1066
- 32 Du W, Liang F, Duan Y, et al. Exploring the photosynthetic production capacity of sucrose by cyanobacteria. *Metab Eng*, 2013, 19: 17–25
- 33 Ducat D C, Avelar-Rivas J A, Way J C, et al. Rerouting carbon flux to enhance photosynthetic productivity. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78: 2660–2668
- 34 Janská A, Marsík P, Zelenková S, et al. Cold stress and acclimation—what is important for metabolic adjustment? *Plant Biol*, 2010, 12: 395–405
- 35 Gamas P, de Carvalho Niebel F, Lescure N, et al. Use of a subtractive hybridization approach to identify new *Medicago truncatula* genes induced during root nodule development. *Mol Plant Microbe Interact*, 1996, 9: 233–242
- 36 Artero R D, Terol-Alcayde J, Paricio N, et al. *saliva*, a new *Drosophila* gene expressed in the embryonic salivary glands with homologues

- in plants and vertebrates. *Mech Dev*, 1998, 75: 159–162
- 37 Tagoh H, Kishi H, Muraguchi A. Molecular cloning and characterization of a novel stromal cell-derived cDNA encoding a protein that facilitates gene activation of recombination activating gene (RAG)-1 in human lymphoid progenitors. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 221: 744–749
- 38 Hamada M, Wada S, Kobayashi K, et al. *Ci-Rga*, a gene encoding an MtN3/saliva family transmembrane protein, is essential for tissue differentiation during embryogenesis of the ascidian *Ciona intestinalis*. *Differentiation*, 2005, 73: 364–376
- 39 Saudek V. Cystinosis, MPDU1, SWEETs and KDELr belong to a well-defined protein family with putative function of cargo receptors involved in vesicle trafficking. *PLoS One*, 2012, 7: e30876.
- 40 Saier MH Jr. Tracing pathways of transport protein evolution. *Mol Microbiol*, 2003, 48: 1145–1156
- 41 Durell S R, Guy H R. Structural models of the KtrB, TrkH, and Trk1,2 symporters based on the structure of the KcsA K⁺ channel. *Biophys J*, 1999, 77: 789–807
- 42 Durell S R, Hao Y, Nakamura T, et al. Evolutionary relationship between K⁺ channels and symporters. *Biophys J*, 1999, 77: 775–788
- 43 Jézégou A, Llinares E, Anne C, et al. Heptahelical protein PQLC2 is a lysosomal cationic amino acid exporter underlying the action of cysteamine in cystinosis therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: E3434–E3443
- 44 Bricker D K, Taylor E B, Schell J C, et al. A mitochondrial pyruvate carrier required for pyruvate uptake in yeast, *Drosophila*, and humans. *Science*, 2012, 337: 96–100
- 45 Herzig S, Raemy E, Montessuit S, et al. Identification and functional expression of the mitochondrial pyruvate carrier. *Science*, 2012, 337: 93–96
- 46 Walmsley R, Barrett M P, Bringaud F, et al. Sugar transporters from bacteria, parasites and mammals: structure-activity relationships. *Trends Biochem Sci*, 1998, 23: 476–481
- 47 孙林峰, 王佳伟, 颜宁. MFS 超家族转运蛋白结构与分子机制的研究. *生命科学*, 2011, 23: 1052–1056
- 48 Abramson J, Smirnova I, Kasho V, et al. Structure and mechanism of the lactose permease of *Escherichia coli*. *Science*, 2003, 301: 610–615
- 49 Henderson P J, Maiden M C. Homologous sugar transport proteins in *Escherichia coli* and their relatives in both prokaryotes and eukaryotes. *Philos Trans R Soc B-Biol Sci*, 1990, 326: 391–410
- 50 Henderson P J. The 12-transmembrane helix transporters. *Curr Opin Cell Biol*, 1993, 5: 708–721
- 51 Gray M W, Burger G, Lang B F. Mitochondrial evolution. *Science*, 1999, 283: 1476–1481
- 52 Andersson S G, Karlberg O, Canbäck B, et al. On the origin of mitochondria: a genomics perspective. *Philos Trans R Soc B-Biol Sci*, 2003, 358: 165–179

Research Advances of the SWEET Proteins Family

XUAN YuanHu^{1,2}, ZHU YiYong¹ & HU YiBing¹

1 Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilizer in Middle-Low Changjiang Region, Ministry of Agriculture, College of Resources & Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2 Carnegie Institution for Science, Stanford 94305, USA

SWEET is a new group of sugar transporters characterized with seven transmembrane helices; they are composed of two 3-transmembrane-helix MtN3 motif tandemly connected by a link transmembrane helix. SWEETs deploy widely in various eukaryotes including unicellular organisms, animals and plants. They play important roles in reproduction and development of organisms in addition to interactions between plants and microbes, plant stress response and ageing, etc. Recently, research showed that prokaryotes contain 3-transmembrane-helix homologs of SWEET protein. They belong either to the MtN3 family or the PQ-loop family. Among them, the SemiSWEET1 cloned from *Bradyrhizobium* showed sucrose transport activity similar to its eukaryotic homologous SWEETs. This result, together with other related research, suggests that eukaryotic 7-transmembrane-helix transporters may be evolved from their prokaryotic 3-transmembrane-helix homologs by gene duplication or horizontal gene transfer and fusion. In addition, they might form 12-transmembrane-helix structures like many other membrane transporters in fulfilling their functions. Investigation of SWEET will bring new insight into understanding of various biological phenomena.

SWEET, SemiSWEET1, MtN3, sugar, transporter, advance

doi: 10.1360/N052013-00068