

十字花目植物ER body的形成机制及其生物学功能

杨孝丽, 张海龙, 赵潇男, 申哲, 李立新*

东北林业大学盐碱地生物资源环境研究中心, 东北油田盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室, 哈尔滨150040

摘要: 在长期进化过程中, 为了应对外界环境胁迫, 植物细胞形成了多种具有特殊功能的内质网衍生结构, 其中大部分是物种所特有的, 尤其是在十字花目植物中发现的ER body。在ER body上特异性聚积的 β -葡萄糖苷酶(PYK10/BGLU21)、NAI2、膜蛋白MEB1/2以及转录因子NAI1在ER body形成过程中起重要作用。ER body主要富集在植物与外界环境相互接触的界面部位, 损伤或植物激素处理能够诱导ER body形成。 β -葡萄糖苷酶能够产生对害虫入侵具有抵御作用的物质, 其活性在细胞破碎时增强。因此, ER body在植物免疫中发挥功能。本文将对十字花目植物(拟南芥)中ER body的形成机制进行阐述, 并探讨其生物学功能。

关键词: 内质网; ER body; β -葡萄糖苷酶; 芥子油苷; 植物防御

在长期的进化过程中, 为有效地应对内部和外界环境的胁迫, 植物细胞形成更加复杂并具有更大的灵活性的内质网(endoplasmic reticulum, ER)系统, 并形成其特有的内质网衍生结构。例如前体蓄积型液泡[precursor accumulating (PAC) vesicles]、蛋白体(protein bodies, PBs)、KDEL vesicle (KV)和ER body等(Li等1993; Toyooka等2000; Behnke和Eschlbeck 1978; Matsushima等2002)。这些结构被看作是特定种类蛋白质的储藏室(Toyooka等2000; Nagano等2008)。

ER body是一种具有独特形态和分布特点的内质网衍生结构。1965年, ER body首次在萝卜的根表皮和皮层细胞中被发现(Bonnett和Newcomb等1965), 它被描述为一种膨大的袋囊状结构, 与内质网管腔相通, 在教科书中被称为“前质体”。随后, 研究人员试图阐明这些结构的特性及其功能。不同的研究发现, 袋囊状结构主要存在于十字花目植物, 这类植物能合成芥子油苷(glucosinolate) (Behnke和Eschlbeck 1978; Jørgensen 1981), 芥子油苷的活化需要黑芥子酶(myrosinase), 这种相关性暗示着袋囊状结构可能是黑芥子酶的储藏室。可能是由于缺乏适当的分析手段, 袋囊状结构是否参与了芥子油苷代谢这一问题几十年来一直未能阐明。

1998年, 通过对模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的分析发现了与袋囊状结构相似的、能被内质网定位的绿色荧光蛋白(GFP)标记的棒状结构(Gunning 1998)。2001年, Hayashi等发现这些棒状结构和以往文献中描述的袋囊状结构相似, 并将其命名为ER body (Hayashi等2001)。2004年,

第一次获得研究ER body的遗传材料——ER body缺失突变体*nail* (Matsushima等2004)。此后, 对ER body的研究有了飞跃进展。

大多数的内质网衍生结构是球形的, 但ER body具有特殊的棒状结构。ER body在十字花科植物(如拟南芥、萝卜等)幼苗表皮细胞和根中大量存在, 但是拟南芥成年植株只在其根部发现了ER body, 而且绝大多数莲座叶细胞中也是没有的(Hayashi等2001; Hawes等2001)。外界伤害和茉莉酸处理都能诱导莲座叶细胞中形成ER body (Matsushima等2002)。根据目前的研究数据来看, ER body是十字花目所特有的, 特别是十字花科(Brassicaceae)、白花菜科(Capparidaceae)和醉蝶花科(Cleomaceae) (Delaux等2013)。已有研究表明十字花目植物对生物胁迫具有防御策略(Falk和Rask 1995; Rask等2000; Gols和Harvey 2009), 这将引出一个关于植物防御的有趣主题。

1 ER body形成的分子机制

1.1 ER body是特殊的内质网衍生结构

GFP为研究活细胞中新型亚细胞结构及其动力学提供了新的思路, C末端标记有内质网驻留信号肽K/HDEL的GFP转基因植物成为观察内质网形态和功能的有力工具。在GFP-HDEL拟南芥转基因株系(*GFP-h*)的子叶细胞中, 不仅能够观察到正常的内质网网络结构, 还能够观察到明亮的带

收稿 2016-02-01 修定 2016-03-12

资助 中央高校基本科研业务费专项资金(DL13EA04)和国家自然科学基金(31570246)。

* 通讯作者(E-mail: lixinli0101@yahoo.com)。

绿色荧光的纺锤形结构的ER body (Hawes等2001; Hayashi等2001) (图1-A)。通过电子显微镜对该纺锤形结构进行的超微结构分析显示,膜表面附着有核糖体(Nakano等2014) (图1-B),能够聚积蛋白酶(Hayashi等2001) (图1-C)。这些观察结果表明,ER body与整个内质网网络是有关联的,因此说明ER body是具有独特功能的内质网亚结构域。

植物所形成的若干种内质网衍生结构,在植物特定的生长阶段以及蛋白质在特殊器官的储藏方面发挥特殊的功能。如玉米和水稻的蛋白体分别聚积特定种类的蛋白质prolamin和zein (Larkins

和Hurkman 1978; Li等1993),绿豆的蛋白酶蓄积型囊泡蓄积有KDEL信号的蛋白质(Toyooka等2000),蓖麻子的ricinosome蓄积木瓜蛋白酶类蛋白酶(Schmid等2001)。这些内质网的衍生结构大多是球形的,直径约为0.5~1.0 μm ,其表面附着有核糖体,作为特定种类蛋白质的储藏室,大多分布在种子、胚乳或营养器官中(Toyooka等2000)。然而,ER body是纺锤形的结构,而且更大更长,直径约1.0 μm ,长约10.0 μm ,其表面和内部均有不同类型蛋白质聚积(Hawes等2015; Matsushima等2002; Hayashi等2001)。

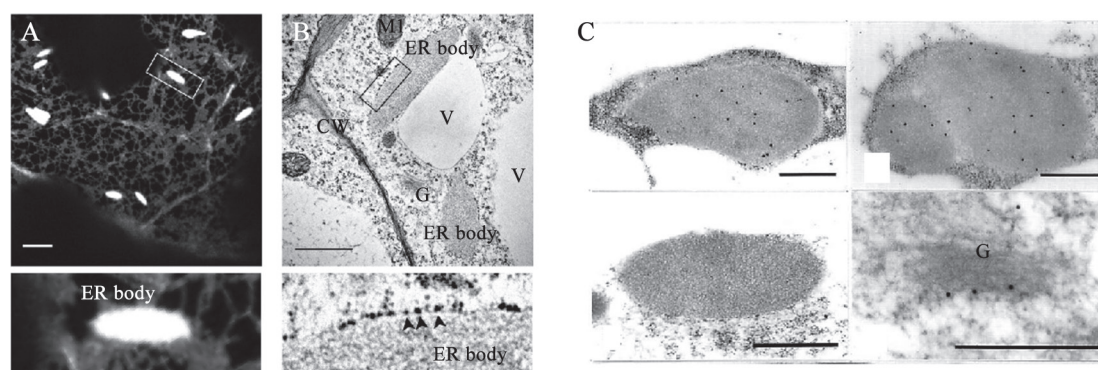


图1 拟南芥细胞中ER body的超微结构

Fig.1 The ultrastructure of ER bodies in *Arabidopsis thaliana*

A: *GFP-h*转基因拟南芥子叶和根表皮细胞中观察到许多荧光体ER body, 标尺=10.0 μm (Hayashi等2001); B: 电子显微镜照片显示, ER body外围包裹核糖体, 标尺=1.0 μm (Nakano等2014); C: Col-0子叶表皮细胞的电子显微照片, 观察到纺锤形ER body上有蛋白酶聚积, 标尺=0.5 μm (Hayashi等2001)。图中M: 线粒体; G: 高尔基体; V: 液泡; CW: 细胞壁。

ER body在拟南芥转基因株系*GFP-h*的幼苗子叶的表皮细胞中广泛分布,但特定存在于成年植株的根部,在绝大多数莲座叶细胞中缺失(Hawes等2001; Hayashi等2001)。研究发现,ER body的形成出现在种子萌发之后,干种子中没有ER body的聚积,因吸水膨胀的子叶中有ER body的聚积(Yamada等2011),而且它们的形成还受到子叶生长阶段的调节;突变体*lec1 (WS)*的胚胎中也发现了纺锤形的ER body (Yamamoto等2014)。从萝卜的根冠到分生区的不同类型的根细胞中都有ER body的分布(Gotté等2015)。由此可知,不论是在形成机制方面还是在功能方面,ER body与其他的内质网衍生结构都不一样。

1.2 ER body的主要成分

1.2.1 PYK10和BGLU18分别是常规型ER body和诱导型ER body中的最主要成分

通过对拟南芥野生型Col-0和突变体*nail-1*幼苗的蛋白质成分进行对比分析,发现了一种在野生型幼苗中大量表达的 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidases),其名为PYK10/BGLU23,而这种 β -葡萄糖苷酶在ER body缺失的*nail-1*突变体幼苗中是不表达的,并确认这种特异性蛋白是拟南芥ER body的主要成分(Matsushima等2004)。在利用植物激素茉莉酸甲酯对莲座叶进行处理时检测到大量表达的BGLU18蛋白,目前认为,BGLU18是莲座叶中诱导形成的ER body中的主要成分(Ogasawara等2009; Gotté等2015)。

PYK10和BGLU18是GH1家族的成员, 该家族在拟南芥中有10个亚家族, 由47个成员组成(Xu等2004)。在这些葡萄糖苷酶之中, 有8个BGLU亚型葡萄糖苷酶(BGLU18~25), 在它们的C端含有内质网滞留信号肽[(K/H/R)(D/E)EL], N末端含有信号肽(signal peptide, SP), 表明这些蛋白定位于内膜系统或者被分泌到质外体(Xu等2004)。根据它们序列的相似性, 可以推测这8种 β -葡萄糖苷酶都定位于ER body上(Ogasawara等2009)。

PYK10蛋白的分子量约170 kDa, 表达水平很高, 是拟南芥根中最为丰富的蛋白质之一。PYK10自动地从内质网向ER body聚积, 这与一般的内质网腔蛋白(如SP-GFP-HDEL)等向内质网腔内的移动方向相反(Matsushima等2003; Nagano等2005)。根据上述研究结果, 我们不难发现, ER body可能是一个将 β -葡萄糖苷酶从其他蛋白质和底物中隔离出来的容器(Nagano等2005, 2008), 而目前对BGLU18的研究尚未深入展开。

1.2.2 PYK10及其同源蛋白在ER body形成过程中的重要性

在突变体*leb-1* (*long ER body*)幼苗中, ER body

的形态变得更长、数量更少(图2-A) (Nagano等2009; Gotté等2015)。突变体*leb-1*中, PYK10蛋白序列中的一个半胱氨酸突变为酪氨酸(C29Y), PYK10二聚体分子间二硫键的形成被抑制, 这可能减弱了PYK10蛋白的稳定性, 或者是降低了PYK10的翻译效率, 使PYK10蛋白水平下降, 从而引起了ER body数量的减少和形态的改变(Nagano等2005), 所以聚积在ER body中的PYK10可能对ER body的形成非常重要。

BGLU21和BGLU22是PYK10的两个最相近的同源物(Nagano等2008; Yamamoto等2014)。相比*leb-1*突变体, *pyk10*和*bglu21*的单突变体并没有表现出如此明显的表型, 但双敲除突变体*bglu21 pyk10*表现出与突变体*leb-1*类似的表型(Nagano等2009) (图2-A), 表明BGLU21也参与了ER body的形成, BGLU21和PYK10之间存在着某种相互作用。有研究者认为PYK10突变可能影响了BGLU21蛋白质的状态, 比如BGLU21蛋白的低聚状态以及其蛋白质的构象, 从而诱导异常ER body的形成。由此可知, PYK10、BGLU21、也许还包括BGLU22共同制约着拟南芥幼苗中ER body的正常形成。

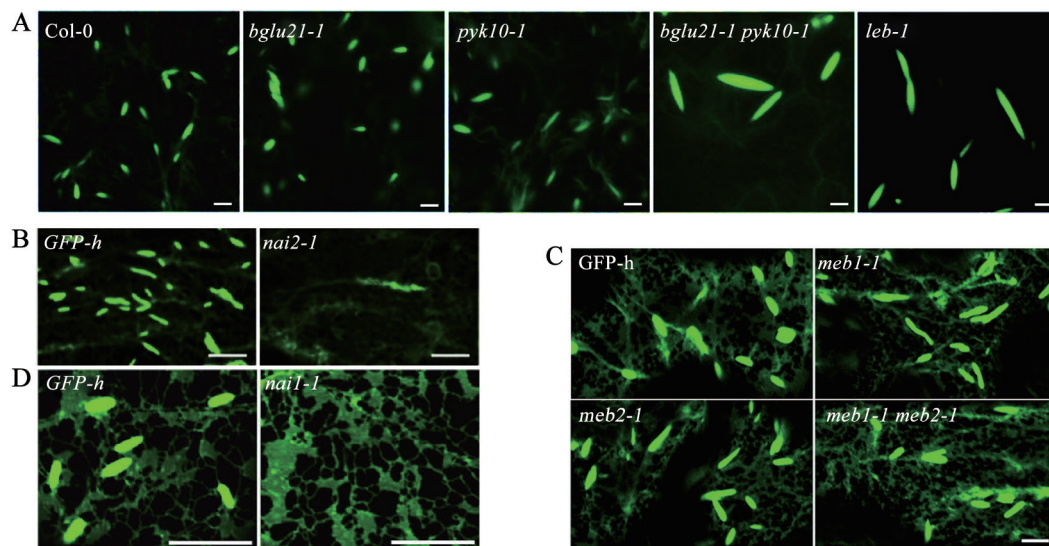


图2 拟南芥各突变体幼苗细胞中的ER body

Fig.2 ER bodies in seedling cells of *Arabidopsis thaliana* mutants

A: *pyk10*和*bglu21*单突变体幼苗细胞中的ER body形态与Col-0相似, 双敲除突变体*bglu21 pyk10*和*leb-1*突变体幼苗细胞中ER body形态异常, 标尺=5.0 μ m (Yamada等2009); B: 突变体*nai2-1*幼苗细胞中没有ER body, 标尺=10.0 μ m (Yamada等2008); C: *meb1*和*meb2*单突变体、双敲除突变体*meb1 meb2*幼苗中ER body的形态正常, 标尺=10.0 μ m (Yamada等2013); D: *nai1-1*突变体幼苗细胞中没有ER body形成, 标尺=10.0 μ m (Matsushima等2004)。

1.2.3 影响ER body正确形成的其他主要蛋白

AtCEP2是拟南芥中的一种含KDEL尾的半胱氨酸内肽酶(KDEL-tailed cysteine endopeptidase, KDEL CysEP), 与细胞的程序性死亡有关, 主要在根的伸长区和根冠中表达(Helm等2008; Höwing等2014)。另一项研究发现, 拟南芥幼苗胚轴的表皮细胞中ER body聚积AtCEP2, 所以ER body可能不仅仅是 β -葡萄糖苷酶的储存器官, 也可能是At-CEP2的储存器官, AtCEP2可能在胚轴细胞中ER body的形成中起作用(Hierl等2014), 但这一结论还需进一步的实验加以验证。

1.3 ER body形成必需的成分

在研究的过程中观察到, 虽然PYK10 (或者BGLU18)和BGLU21是ER body上的主要成分, 他们的缺失对ER body的形态学有影响但并不会造成ER body的形成缺失, 这说明只是在内质网上累积PYK10和BGLU21尚不足以形成ER body, 那么一定存在着控制ER body形成这一过程的关键因子。

1.3.1 NAI2是ER body成分之一

通过大量的筛选, Yamada等(2008)得到了一种基因突变的拟南芥突变体, 在这种突变体幼苗的根细胞中完全没有ER body的形成。经过与相似表型的突变体进行对比排除, 最终确认这种突变体中突变的基因是NAI2 (At3g15950), 这种突变体即为*nai2-1*。

NAI2是一种只在十字花科植物中有发现的特殊的蛋白, 缺少跨膜结构域, 在其N末端具有信号肽SP, 分子量约为120 kDa。后来发现NAI2和PYK10位于GFP-*h*幼苗细胞进行分馏后的相同馏分中(Matsushima等2004; Yamada等2008), 于是在ER body上也检测到了NAI2的聚积, 但是内质网网络结构中并没有检测到NAI2的存在, 所以NAI2被认为是ER body的成分之一(Yamada等2008)。

1.3.2 NAI2制约着ER body的形成

在降低了NAI2 mRNA表达水平的拟南芥幼苗根细胞中, 只有数量较少的ER body, 且形态异常; 在突变体*nai2-1*中NAI2完全缺失, 幼苗和根细胞中都没有ER body的形成(图2-B) (Yamada等2008)。这再次证明了NAI2确实是ER body的成分, 而且在ER body的形成中起作用。

同时NAI2的缺失也降低了PYK10蛋白的表达

水平, 却对PYK10 mRNA的表达水平没有产生影响(Yamada等2008)。在*nai2-1*突变体中, PYK10分散于在整个内质网网络结构中(Yamada等2008, 2009), 而且在T-DNA插入突变体*nai2-2*和*nai2-3*中也观察到了相似的现象。

由此可见, NAI2虽不能调控PYK10的形成, 但是会影响PYK10的行为, ER body的形成并不单纯依赖于结构中的主要成分, 更主要的是取决于结构中存在的特定成分——NAI2。目前, 只在能够形成ER body的十字花科植物中发现了NAI2的同源蛋白, 进一步说明NAI2对ER body的形成具有特异性的调控功能, 是ER body形成过程中必不可少的成分。

1.4 ER body膜上的特异蛋白

ER body膜上聚积着不同于内质网网络结构蛋白的特异组分, 而且NAI2很可能负责这些ER body膜蛋白的整合。ER body膜蛋白MEB1 (membrane of ER body 1)和MEB2是ER body膜上的跨膜蛋白, 彼此同源, 具有多个跨膜区域(Yamada等2013)。拟南芥细胞中, MEB1和MEB2特异性的聚积在ER body膜上(Yamada等2013), 但是其生理学功能尚不清楚。CCC1p和VIT1分别是啤酒酵母和拟南芥的铁/锰转运蛋白(Li等2001; Kim等2006), MEB1和MEB2与CCC1p和VIT1有较低的相似性, 但MEB1和MEB2可能也具有金属转运体的活性(Yamada等2013)。

在研究中发现, MEB1和MEB2能够与NAI2形成蛋白复合体, 并且在突变体*nai2-1*中分散于整个内质网网络结构中, 所以MEB1和MEB2很可能需要通过NAI2介导的转运过程才能够聚积到ER body膜上。在单突变体*meb1*、*meb2*和双突变体*meb1 meb2*幼苗中, ER body表现出与野生型相似的形态和数量(图2-C), 这表明了MEB1和MEB2在ER body的形成方面是非必需的(Yamada等2013)。

1.5 NAI1是形成ER body的转录因子

NAI1是一种碱性螺旋环状蛋白(basic-helix-loop-helix, bHLH), 具有保守的谷氨酸残基, 作为转录因子发挥功能。突变体*nai1-1*的转录水平的分析结果显示, 聚积在ER body中的蛋白质都通过NAI1的调控进行表达: NAI1 (At2g22770)突变会降低PYK10的表达水平, 而且NAI1还是将PYK10

染色质转化为活性状态所必需的(Yoshii等2015);在突变体*nai1-1*中, *NAI2* mRNA的表达水平有所降低(Yamada等2008), 然而在突变体*nai2-1*中, *NAI1* mRNA的表达水平并没有变化, 说明NAI1调控NAI2的表达, 但NAI2并不能调控NAI1的表达;MEB1和MEB2的表达量在突变体*nai1-1*中也是降低的。

如果破坏拟南芥*NAI1*基因就会完全扰乱其幼苗和根细胞中ER body的形成(图2-D) (Matsushima等2004)。所以NAI1应该是形成ER body的主调控因子, 并且调控着上述*PYK10*、*NAI2*、*MEB1/2*基因的表达。表明ER body的形成完全受到转录因子NAI1的调控。

NAI1还调控着Jacalin类凝集素(jacalin-related lectin, JAL)基因*JAL22*、*JAL23*、*JAL31*, *PYK10*结合蛋白1 (binding protein 1, PBP1)/(JAL30), GDSL脂酶类蛋白(GDSL lipaselike protein, GLL)基因(*GLL23*和*GLL25*)以及MD2脂质识别蛋白3 (MD2-related lipid recognition protein 3, ML3)的表达(Hakenjos等2013)。这些蛋白也可能在ER body的形成过程中发挥功能。

1.6 内质网的形成与ER body的形成之间的关系

由于ER body由内质网衍生而来, 而且一些内质网的蛋白也定位在ER body上, 因此调控内质网形成与调控ER body形成的分子机制可能是相似的。了解内质网网络结构的形成和维持机制将了解ER body的形成机制提供线索。

十多年来, 人们使用各种真核细胞, 比如哺乳动物、酵母以及植物(拟南芥、烟草)细胞, 对决定ER形态的分子机制进行了深入研究(Chen等2013)。研究发现内质网的网络结构是由一系列的膜蛋白决定的, 即微管结合蛋白[如浆膜蛋白家族(reticulon family proteins, RTNs)]、Atlastin/RHD3 (root hair defective 3) GTPase以及袋囊结构结合蛋白。大多数对于RNTs和Atlastin/RHD3的研究都使用动物和烟草细胞, 而这些细胞中并没有产生ER body (Zhang等2013; Stefano等2012; Lee等2011, 2013)。所以, 到目前为止, 植物如何利用这些保守的机制来调控独特的ER body结构的形成机制还不清楚。

2012年开始人们利用一系列的拟南芥内质网

形态异常的突变体(*endoplasmic reticulum morphology, ermo*)对内质网形态进行研究(Nakano等2012)。突变体*ermo1*和*ermo2*的细胞除了具有典型的内质网网络结构, 还产生了大量内质网衍生的球形体, 直径约1.0 μm ; 突变体*ermo3*的细胞中出现了由内质网和ER body衍生的巨大的聚积体结构。

*ERMO1*和*ERMO2*分别编码GNOM-LIKE 1 (GNL1)和SEC24a, 这两个蛋白参与内质网和高尔基体之间蛋白质的运输(Nakano等2009; Faso等2009)。从*ermo1*和*ermo2*突变体细胞中ER body的形态没有受到影响来看, GNL1和SEC24a对ER body的正确组装不是必需的。而突变体*ermo3*细胞中内质网衍生的聚积体结构在没有ER body聚积的细胞中是不存在的, 而且在引入*NAI1*突变的情况下被完全抑制(Marti等2010; Nakano等2012), 由此可见ERMO3和ER body之间应该有着很强的联系。但是突变体*ermo3*细胞中ER body的结构并没有受到明显的影响, 而且也没有发现ERMO3与NAI2之间存在相互作用, 所以ERMO3在ER body的形成过程中的调控作用并不显著。

*ERMO3*编码一种定位在液泡上的GLL蛋白(Nakano等2012), GLLs是维持内质网和高尔基体之间蛋白质正常运输所必需的(Akoh等2004)。在转录因子NAI1的调控下, GLLs能够与*PYK10*、JALs以及MATH蛋白(meprin and tumour necrosis factor receptor-associated factor, MATH)形成蛋白复合体(Nakano等2012)。在细胞缺失ERMO3蛋白的情况下, *PYK10*、JALs以及MATH蛋白可能在内质网中形成巨大的蛋白质聚积体, 导致内质网的形态的变化, 从而抑制蛋白质的分泌(Jancowski等2014)。ERMO3可能负责溶解*PYK10*、JALs以及MATH蛋白形成的聚集体, 因为如果在突变体*ermo3*内质网中表达ERMO3, 突变体的表型便能够得到回复(Nakano等2012)。虽然ERMO3在各组织中均有表达, 然而ERMO3的这种组织特异性需求, 清楚地表明不同的细胞需要其自身的调节系统来维持其亚细胞结构的秩序。

根据前期的研究结果, 对拟南芥幼苗中ER body形成过程进行了模拟。在NAI1的调控下(Matsushima等2004), NAI2和*PYK10*之间会相互作用, 使*PYK10*高度聚积并存储, 形成核心结构, 以

浓缩形成ER body所需的材料(Yamada等2008, 2009), 然后依靠NAI2将MEB1和MEB2募集到前ER body膜上(Yamada等2013), 最终形成完整的ER body (如图3所示)。

2 ER body的生物学功能

2.1 ER body在植物防御中的重要性

拟南芥中, ER body富集在幼苗以及成熟植物的根中(Matsushima等2002), 子叶中ER body只存在于表皮细胞。ER body在根的维管束组织中没有

被观察到, 相反, 在表皮细胞、皮质层和内胚层有大量存在(Matsushima等2003)。相比于地下组织, 地上部分(包括莲座叶和茎生叶)除了初级、次级叶脉和叶边缘的一些表皮细胞以外, 几乎没有ER body的存在(Nakano等2012)。这种组织特异性定位暗示ER body主要富集在植物与外界环境相互接触的界面部分, 对食草动物以及通过叶脉或叶缘进入植物组织的病原体的侵害发挥防御作用。

当植物叶片受到外界伤害时, 能够诱导叶片

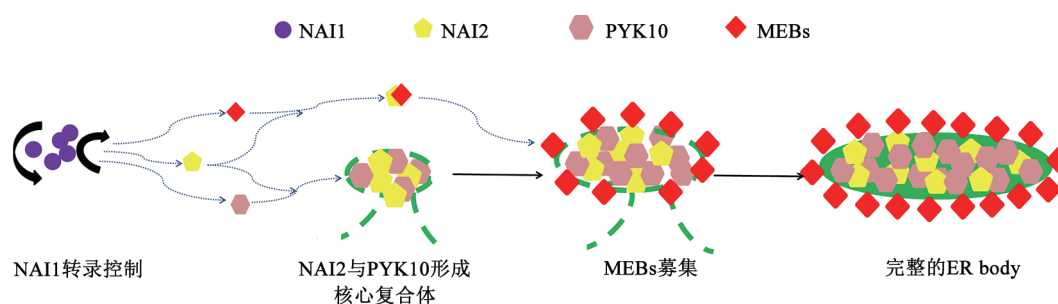


图3 拟南芥细胞中ER body的形成示意图

Fig.3 The models of ER bodies' formation in *Arabidopsis thaliana* cell

参考 Matsushima等(2004)、Yamada等(2008, 2009, 2013)文献绘制。

细胞形成ER body。有研究者对拟南芥的莲座叶进行定点伤害, 发现莲座叶中受到伤害的细胞周围出现了大量的ER body (Matsushima等2002; Ogasawara等2009), 这也支持上述观点。而且在利用植物激素茉莉酸甲酯对莲座叶进行处理时也观察到了同样的现象, 同时激发了 β -葡萄糖苷酶的活性(Matsushima等2003), 另外还检测到大量表达的BGLU18蛋白。目前认为, BGLU18是莲座叶中诱导形成的ER body中的主要成分(Ogasawara等2009; Gotté等2015)。在突变体*nail-1*受到伤害时, 会产生不规则的细长的ER body, 表明除了NAI1以外, 还有另外的因子参与这种应激过程(Matsushima等2003)。

众所周知, 在土壤中含有大量的细菌, 密度约是 $10^6 \sim 10^9$ 个 $\cdot g^{-1}$, 比空气中($10 \sim 10^5$ 个 $\cdot m^{-3}$)多得多(Bulgarelli等2013); 还有其他生物, 如地下昆虫、蠕虫、线虫和真菌等也都生活在土壤中, 一旦有机会它们就会侵害植物的根, 所以在植物根部观察到的高丰度的ER body可能与植物同周围环境之间更加活跃的相互作用相关(Yamada等2011)。

2.2 ER body与植物防御相关性

ER body中含有高丰度的PYK10和其他的 β -葡萄糖苷酶, 这些蛋白质的酶活性是ER body的生物学功能的重要部分, 而ER body的主要成分PYK10在植物防御体系中扮演着重要的角色, 如图4所示。

2.2.1 PYK10具有黑芥子酶的活性

黑芥子酶参与植物对昆虫、真菌和细菌的防御系统(Hopkins等2009), 能够水解十字花目植物所特有的糖苷——芥子油苷(Halkier和Gershenzon 2006)。十字花目植物的 β -葡萄糖苷酶包含一种独特的黑芥子酶, 即 β -硫代葡萄糖苷酶(β -thioglucoside glucosylhydrolases, TGGs)。

在拟南芥中, 有6种基因(*TGG1~6*)参与编码黑芥子酶, 其中, *TGG3*和*TGG6*是假基因。*TGG1*和*TGG2*主要在子叶中表达, *TGG4*和*TGG5*主要在根中表达(Zhou等2012), 这4种黑芥子酶含有保守的赖氨酸/精氨酸和谷氨酰胺残基, 对芥子油苷表现出酶活性, 倘若在植物中过量表达*TGG4*, 则会表现出吲哚芥子油苷的代谢(Bednarek等2009)。而其他的 β -葡萄糖苷酶不具有这些重要的氨基酸残

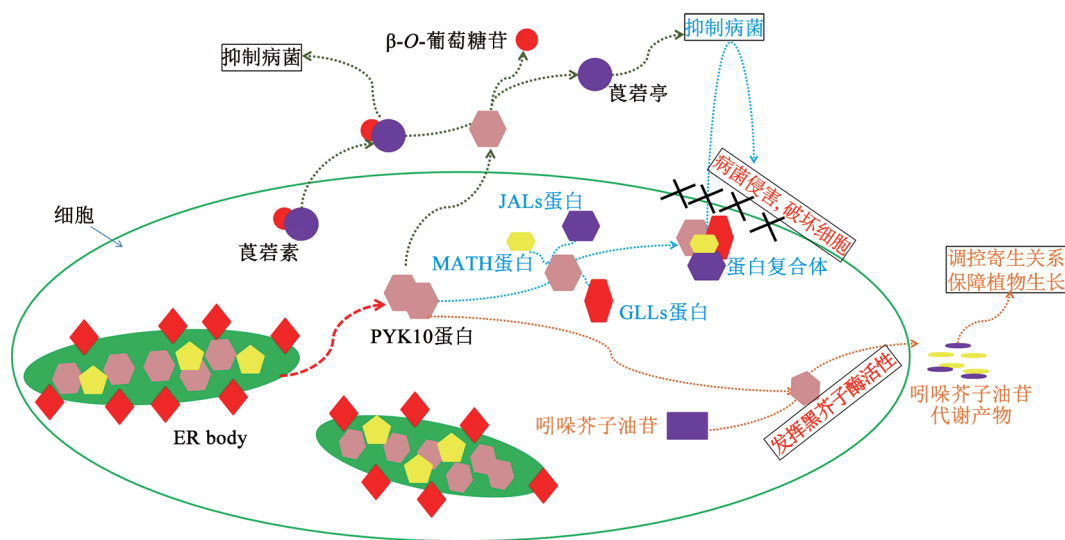


图4 拟南芥细胞中ER body生物学功能模式图

Fig.4 The models for ER bodies' biological function in *Arabidopsis thaliana* cell

基,能够水解 O -葡萄糖苷却不能够水解芥子油苷(Rask等2000)。

但是也有例外,比如糖基水解酶演绎家族1 (deduced family 1 glycosyl hydrolase, F1GH)的成员——质膜驻留蛋白2 (plasma membrane-resident 2, PEN2),是一种缺少这些重要氨基酸的 β -葡萄糖苷酶,研究证实它是一种能够水解3H-吲哚芥子油苷(indole 3-ylmethyl glucosinolate, I3G)和4-甲氧基-3H-吲哚芥子油苷(4-methoxy indole 3-ylmethyl glucosinolate, 4-MO-I3G)的非典型的黑芥子酶(Bednarek等2009; 郭艳玲等2012)。

PEN2并不属于PYK10的亚家族,但是这两种蛋白质在氨基酸序列上具有较高的相似性,所以PYK10很可能也具有类似的非典型的黑芥子酶活性。虽然人工构建的PYK10重组蛋白并不能水解黑芥子苷(Ahn等2010),但是它可能具有水解吲哚芥子油苷的活性。有报道称,PYK10体外底物包括了莨菪素(scopolin)和七叶苷(esculin) (Ahn等2010),具有香豆素集团的糖苷配基,它以稠环结构作为苷元。黑芥子苷是具有代表性的脂肪族芥子油苷,和具有稠环结构的I3G和4-MO-I3G明显不同,而且在昆虫细胞中表达的重组PYK10蛋白也能够高效的水解莨菪素(Ahn等2010)。说明PYK10的底物可以结合稠环结构,这也表明了PYK10底物水解吲哚芥子油苷的可能性。

2.2.2 PYK10与吲哚芥子油苷之间的联系

吲哚芥子油苷是拟南芥根中最丰富的芥子油苷(Brown等2003),是能够防御食草动物和病原菌的天然产物,ER body和PYK10也在拟南芥的根中高度富集(Nitz等2001; Matsushima等2003)。根据共表达分析数据库ATTEDII预测PYK10和CYP81F4有共表达,CYP81F4是细胞色素P450酶(cytochrome P450, CYP)的亚家族CYP81的成员。CYP81F4基因编码的酶能够将I3G修饰成1-羟基-I3G (1-hydroxy-I3G, 1-OH-I3G),进而形成1-甲氧基-I3G (1-methoxy-I3G, 1-MO-I3G)。CYP81F4和转录因子MYB34/ATRI属于同一基因表达网络,后者参与了 β -吲哚基丙氨酸(又名色氨酸)的代谢(Kai等2011);另一种CYP81亚家族成员CYP81F2能够通过将I3G转化为4-MO-I3G,4-MO-I3G参与植物防御草食动物的咬噬和病原菌的感染。这说明了PYK10与CYP81F2和CYP81F4之间或许存在着较强的联系(Pfalz等2011),所以PYK10和吲哚芥子油苷之间应该具有某种特殊的功能性联系。

2.2.3 PYK10在防御病原菌方面的功能

前文中提到的JALs和GLLs蛋白, MATH蛋白,能够与PYK10形成巨大的蛋白复合体(Ahn等2010),这种现象发生在植物受到病原体感染后细胞损坏的情况下,PYK10蛋白在形成巨大复合体之后表现出更高的 β -葡萄糖苷酶的活性,形成的蛋白

复合体产生针对这些入侵者的化学物质,以抵御病原菌的感染(Nakano等2012)

已知PYK10的体外底物中含有茛菪素(Ahn等2010),茛菪素是 β -O-葡萄糖苷茛菪亭(β -O-glucoside scopoletin)的一种,属于植保素,在植物界中广泛存在。茛菪素和茛菪亭(scopoletin)能够抑制核盘菌(*Sclerotinia sclerotium*)的芽管生长(Prats等2006);茛菪亭具有抗尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*) (张晓伟和张栋2014)、腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)、葡茎根霉菌(*Rhizopus stolonifer*)以及柯柯豆毛色二孢(*Lasiodiplodia theobromae*)毒性的活性(Peterson等2003),而且茛菪亭能够更好的抑制尖孢镰刀菌的生长。

2.2.4 PYK10参与建立植物与内生真菌适当的共生关系

内生真菌*Piriformospora indica*是一种被广泛研究的根寄生微生物,具有广泛的宿主性,能促进宿主植物的营养生长、早期产量并抑制TYLCV病毒(Wang等2015)。

在研究中发现,突变植株*pen2*、*pyk10*和*nail*都不能很好的控制*P. indica*在适当范围内生长,从而导致真菌过度生长,诱发植物产生不良的免疫响应,失去互惠互利的关系(Jacobs等2011)。此外,还发现CYP亚家族成员CYP79B2和CYP79B3的缺失也导致*P. indica*的过度生长。CYP79B2和CYP79B3能够将色氨酸转变为3-吲哚乙醛肟(indole-3-acetaldoxime, IAOx),是合成吲哚芥子油苷的第一步(Nongbri等2012)。这暗示着吲哚芥子油苷的代谢参与调控植物与内生真菌的适当的共生关系,表明PYK10可能在植物与*P. indica*共生互惠关系的建立中起着重要的调控作用。

2.2.5 PYK10在防御寄生线虫方面的功能

*PYK10*是根特异性表达基因,表达水平很高,在被线虫感染的组织中表达量更是大幅上升(Nitz等2001)。芥子油苷的水解产物表现出对胞囊线虫(*Globodera rostochiensis*)和根结线虫(*Meloidogyne incognita*)的抑制活性(Lazzeri等2004),PYK10很可能是发挥其潜在的黑芥子酶活性水解芥子油苷来保护植物的根免受这些寄生线虫的侵害。

胞囊线虫能够降解细胞壁并在细胞内造成感染,而根结线虫会在细胞间引起感染(Mitchum等

2012),在这两种情况下,那些感染了线虫的细胞破碎,芥子油苷的水解防御机制被触发;或者植物经过信号转导识别到这些有害生物(线虫)的存在,并积极地启动芥子油苷的代谢防御作用(Nakano等2014)。

2.3 ER body是植物免疫应答机制

病原相关蛋白(pathogenesis-related, PR)的释放是植物响应微生物侵袭的第一步,PR蛋白至少有17个家族,其中的一些具有抗微生物的活性(van Loon等2006),植物防御素(plant defensin, PDF)也是PR蛋白的一个分支。Watanabe等(2013)报导了一种名为ESPER的免疫应答新机制,发现了两种PR蛋白,即防御素PDF1.2和PR1,都具有防御微生物的作用(Hiruma等2011)。PDF1.2和PR1以稳态水平蓄积在ER body中,在抵御炭疽菌时被分泌到质外体(Watanabe等2013, 2014)。虽然已有报道称PR蛋白主要定位在植物细胞的液泡或者质外体,但是ER body也作为植物细胞中各种PR蛋白的存储位点(Sels等2008),确保在植物受到病菌攻击时可以及时的调用相关蛋白进行防御。

3 展望

本文阐述了ER body在其形成机制和生物学功能方面的特性,ER body是内质网的亚结构域,在植物细胞中扮演着重要角色(Malinsky等2013)。ER body的形成机制的研究为进一步研究细胞器亚结构域的形成机制提供有价值的见解;结合对其生物学功能的理解,ER body很可能是一个连接植物亚细胞亚结构域和植物整体健康的重要模式。

然而,目前仍然有一些关键问题没有得到解决。最主要的疑虑是缺乏ER body参与胁迫响应在遗传学上的证据。近年来取得的结果暗示ER body能够与微生物发生相互作用,并通过对植物激素和植物含铁细胞的激活来响应非生物胁迫(Negishi等2002; Mladěnka等2010; Xu等2012; Yamada等2013),但目前还没有直接的证据能够证明ER body的这一功能。

ER body的分布有着较高的局限性,主要存在于十字花科、醉蝶花科和白花菜科。相比于十字花科(如拟南芥),其他十字花目植物缺少研究的遗传和分子工具,特别是底物、酶等依然不清楚。为确认PYK10和它的底物参与了特定环境胁迫下

的响应, 必须证明缺失了酶或者底物的突变体能够显示出只有在特定响应下才会出现的相似缺陷或表型。获得ER body、PYK10和 β -葡萄糖苷酶底物的基因敲除株系, 以及对各种条件下的各个多重突变体的分析, 对实现这一目标至关重要。

在响应特定环境胁迫时, ER body的行为是完全未知的, 因此了解ER body和PYK10的动力学是至关重要的。为具体揭示ER body上聚积PYK10的重要性, 还需要使用适当条件下的*nai1*、*pyk10*和*nai2*等突变体对特定种群进行遗传学的研究。近年来测序技术的飞速发展有利于快速获得非模式植物的基因组序列, 很多的十字花科植物的基因序列已经获得, 如盐芥(*Thellungiella salsuginea*) (Wu等2012)、白菜(*Brassica pekinensis*) (Wang等2011), 以及荠菜(*Capsella rubella*) (Slotte等2013)和琴叶拟南芥(*Arabidopsis lyrata*) (Hu等2011)等, 这为后续的深入研究提供了很好的基础。

参考文献

- Ahn YO, Shimizu B, Sakata K, Gantulga D, Zhou C, Bevan DR, Esen A (2010). Scopolin-hydrolyzing β -glucosidases in roots of *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 51 (1): 132–143
- Akoh CC, Lee GC, Liaw YC, Huang TH, Shaw JF (2004). GDSL family of serine esterases/lipases. *Prog Lipid Res*, 43 (6): 534–552
- Bednarek P, Pislewska BM, Svatos A, Schneider B, Doudsky J, Mansurova M, Humphry M, Consonni C, Panstruga R, Sanchez VA, et al (2009). A glucosinolate metabolism pathway in living plant cells mediates broad-spectrum antifungal defense. *Science*, 323 (5910): 101–106
- Behnke HD, Eschbeck G (1978). Dilated cisternae in capparales—an attempt towards the characterization of a specific endoplasmic reticulum. *Protoplasma*, 97 (4): 351–363
- Bonnett HT, Newcomb EH (1965). Polyribosomes and cisternal accumulations in root cells of radish. *J Cell Biol*, 27 (2): 423–432
- Brown PD, Tokuhisa JG, Reichelt M, Gershenzon J (2003). Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 62 (3): 471–481
- Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, Ver Loren van Themaat E, Schulze-Lefert P (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annu Rev Plant Biol*, 64: 807–838
- Chen S, Novick P, Ferro NS (2013). ER structure and function. *Curr Opin Cell Biol*, 25 (4): 428–433
- Delaux PM, Sejalón DN, Becard G, Ane JM (2013). Evolution of the plant-microbe symbiotic 'toolkit'. *Trends Plant Sci*, 18 (6): 298–304
- Falk A, Rask L (1995). Expression of a zeatin-O-glucoside-degrading β -glucosidase in *Brassica napus*. *Plant Physiol*, 108 (4): 1369–1377
- Faso C, Chen YN, Tamura K, Held M, Zemelis S, Marti L, Saravanan R, Hummel E, Kung L, Miller E, et al (2009). A missense mutation in the *Arabidopsis copii* coat protein SEC24a induces the formation of clusters of the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. *Plant Cell*, 21 (11): 3655–3671
- Gols R, Harvey JA (2009). Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochem Rev*, 8 (1): 187–206
- Gotté M, Ghosh R, Bernard S, Nguema OE, Vicré GM, Hara-Nishimura I, Driouich A (2015). Methyl jasmonate affects morphology, number and activity of endoplasmic reticulum bodies in *Raphanus sativus* root cells. *Plant Cell Physiol*, 56 (1): 61–72
- Gunning BES (1998). The identity of mystery organelles in *Arabidopsis* plants expressing GFP. *Trends Plant Sci*, 3: 417
- Guo YL, Zhang PY, Guo MR, Chen KS (2012). Secondary metabolites and plant defence against pathogenic disease. *Plant Physiol J*, 48 (5): 429–434 (in Chinese with English abstract) [郭艳玲, 张鹏英, 郭默然, 陈靠山(2012). 次生代谢产物与植物抗病防御反应. *植物生理学报*, 48 (5): 429–434]
- Hakenjos JP, Bejai S, Ranftl Q, Behringer C, Vlot AC, Absmanner B, Hammes U, Heinzlmeir S, Kuster B, Schwechheimer C (2013). ML3 is a NEDD8- and ubiquitin-modified protein. *Plant Physiol*, 163 (1): 135–149
- Halkier BA, Gershenzon J (2006). Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annu Rev Plant Biol*, 57: 303–333
- Hawes C, Kiviniemi P, Kriechbaumer V (2015). The endoplasmic reticulum: a dynamic and well-connected organelle. *J Integr Plant Biol*, 57 (1): 50–62
- Hawes C, Saint JC, Martin B, Zheng HQ (2001). ER confirmed as the location of mystery organelles in *Arabidopsis* plants expressing GFP. *Trends Plant Sci*, 6 (6): 245–246
- Hayashi Y, Yamada K, Shimada T, Matsushima R, Nishizawa NK, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2001). A proteinase storing body that prepares for cell death or stresses in the epidermal cells of *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 42 (9): 894–899
- Helm M, Schmid M, Hierl G, Terneus K, Tan M, Lottspeich F, Kieliszewski MJ, Gietl C (2008). KDEL-tailed cysteine endopeptidases involved in programmed cell death, intercalation of new cells and dismantling of extensin scaffolds. *Am J Bot*, 95 (9): 1049–1062
- Hierl G, Howing T, Isono E, Lottspeich F, Gietl C (2014). *Ex vivo* processing for maturation of *Arabidopsis* KDEL-tailed cysteine endopeptidase 2 (AtCEP2) pro-enzyme and its storage in endoplasmic reticulum derived organelles. *Plant Mol Biol*, 84 (6): 605–620
- Hiruma K, Nishiuchi T, Kato T, Bednarek P, Okuno T, Schulze LP, Takano Y (2011). *Arabidopsis* ENHANCED DISEASE RESISTANCE 1 is required for pathogen-induced expression of plant defensins in nonhost resistance, and acts through interference of MYC2-mediated effector function. *Plant J*, 67 (6): 980–992
- Hopkins RJ, Van Dam NM, Van Loon JJ (2009). Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions.

- Annu Rev Entomol, 54: 57–83
- Höwing T, Huesmann C, Hoeffle C, Nagel MK, Isono E, Hükelhoven R, Gietl C (2014). Endoplasmic reticulum KDEL-tailed cysteine endopeptidase1 of *Arabidopsis* (AtCEP1) is involved in pathogen defense. *Front Plant Sci*, 5: 58
- Jacobs S, Zechmann B, Molitor A, Trujillo M, Petutschnig E, Lipka V, Kogel KH, Schafer P (2011). Broad-spectrum suppression of innate immunity is required for colonization of *Arabidopsis* roots by the fungus *Piriformospora indica*. *Plant Physiol*, 156 (2): 726–740
- Jancowski S, Catching A, Pighin J, Kudo T, Foissner I, Wasteneys GO (2014). Trafficking of the myrosinase-associated protein GLL23 requires NUC/MVP1/GOLD36/ERMO3 and the p24 protein CYB. *Plant J*, 77 (4): 497–510
- Jørgensen LB (1981). Myrosin cells and dilated cisternae of the endoplasmic reticulum in the order Capparales. *Nord J Bot*, 1 (3): 433–445
- Kai K, Takahashi H, Saga H, Ogawa T, Kanaya S, Ohta D (2011). Metabolomic characterization of the possible involvement of a cytochrome P450, CYP81F4, in the biosynthesis of indolic glucosinolate in *Arabidopsis*. *Plant Biol*, 28 (4): 379–385
- Kim SA, Punshon T, Lanzirotti A, Li L, Alonso JM, Ecker JR, Kaplan J, Gueriot ML (2006). Localization of iron in *Arabidopsis* seed requires the vacuolar membrane transporter VIT1. *Science*, 314 (5803): 1295–1298
- Larkins BA, Hurkman WJ (1978). Synthesis and deposition of zein in protein bodies of maize endosperm. *Plant Physiol*, 62 (2): 256–263
- Lazzeri L, Curto G, Leoni O, Dallavalle E (2004). Effects of glucosinolates and their enzymatic hydrolysis products via myrosinase on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid Et White) chitw. *J Agric Food Chem*, 52 (22): 6703–6707
- Lee H, Sparkes I, Gattolin S, Dzimitrowicz N, Roberts LM, Hawes C, Frigerio L (2013). An *Arabidopsis* reticulon and the atlastin homologue RHD3-like 2 act together in shaping the tubular endoplasmic reticulum. *New Phytol*, 197 (2): 481–489
- Lee HY, Bowen CH, Popescu GV, Kang HG, Kato N, Ma S, Dinesh-Kumar S, Snyder M, Popescu SC (2011). *Arabidopsis* RTNLB1 and RTNLB2 reticulon-like proteins regulate intracellular trafficking and activity of the FLS2 immune receptor. *Plant Cell*, 23 (9): 3374–3391
- Li L, Chen OS, McVey Ward D, Kaplan J (2001). CCC1 Is a transporter that mediates vacuolar iron storage in yeast. *J Biol Chem*, 276 (31): 29515–29519
- Li X, Wu Y, Zhang DZ, Gillikin JW, Boston RS, Franceschi VR, Okita TW (1993). Rice prolamine protein body biogenesis: a BIP-mediated process. *Science*, 262 (5136): 1054–1056
- Malinsky J, Opekarova M, Grossmann G, Tanner W (2013). Membrane microdomains, rafts, and detergent-resistant membranes in plants and fungi. *Annu Rev Plant Biol*, 64: 501–529
- Marti L, Stefano G, Tamura K, Hawes C, Renna L, Held MA, Brandizzi F (2010). A missense mutation in the vacuolar protein GOLD36 causes organizational defects in the ER and aberrant protein trafficking in the plant secretory pathway. *Plant J*, 63 (6): 901–913
- Matsushima R, Fukao Y, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2004). *NAIL* gene encodes a basic-helix-loop-helix-type putative transcription factor that regulates the formation of an endoplasmic reticulum-derived structure, the ER body. *Plant Cell*, 16 (6): 1536–1549
- Matsushima R, Hayashi Y, Yamada K, Tomoo S, Mikio N, Hara-Nishimura I (2003). The ER body, a novel endoplasmic reticulum-derived structure in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 44 (7): 661–666
- Matsushima R, Hayashi Y, Kondo M, Shimada T, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2002). An endoplasmic reticulum-derived structure that is induced under stress conditions in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 130 (4): 1807–1814
- Matsushima R, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2003). A novel ER-derived compartment, the ER body, selectively accumulates a β -glucosidase with an ER-retention signal in *Arabidopsis*. *Plant J*, 33 (3): 493–502
- Mitchum MG, Wang X, Wang J, Davis EL (2012). Role of nematode peptides and other small molecules in plant parasitism. *Annu Rev Phytopathol*, 50: 175–195
- Mladěnka P, Macáková K, Zatloukalová L, Řeháková Z, Singh BK, Prasad AK, Parmar VS, Jahodář L, Hrdina R, Saso L (2010). *In vitro* interactions of coumarins with iron. *Biochimie*, 92 (9): 1108–1114
- Nagano AJ, Akinori M, Thomas NR, Mado M, Takumi H, Natsumaro K, Seiichiro H, Hara-Nishimura I (2009). Quantitative analysis of ER body morphology in an *Arabidopsis* mutant. *Plant Cell Physiol*, 50 (12): 2015–2022
- Nagano AJ, Fukao Y, Fujiwara M, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2008). Antagonistic jacalin-related lectins regulate the size of ER body-type β -glucosidase complexes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 49 (6): 969–980
- Nagano AJ, Matsushima R, Hara-Nishimura I (2005). Activation of an ER body localized β -glucosidase via a cytosolic binding partner in damaged tissues of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 46 (7): 1140–1148
- Nakano RT, Yamada K, Bednarek P, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2014). ER bodies in plants of the Brassicales order: biogenesis and association with innate immunity. *Front Plant Sci*, 5: 73
- Nakano RT, Matsushima R, Nagano AJ, Fukao Y, Fujiwara M, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2012). ERMO3/MVP1/GOLD36 is involved in a cell type-specific mechanism for maintaining ER morphology in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*, 7 (11): e49103
- Nakano RT, Matsushima R, Ueda H, Tamura K, Shimada T, Li L, Hayashi Y, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2009). GNOM-like1/ERMO1 and SEC24a/ERMO2 are required for maintenance of endoplasmic reticulum morphology in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 21 (11): 3672–3685
- Negishi T, Nakanishi H, Yazaki J, Kishimoto N, Fujii F, Shimbo K, Yamamoto K, Sakata K, Sasaki T, Kikuchi S, et al (2002). cDNA microarray analysis of gene expression during Fe-deficiency stress in barley suggests that polar transport of vesicles is impli-

- cated in phytosiderophore secretion in Fe-deficient barley roots. *Plant J*, 30 (1): 83–94
- Nitz I, Berkefeld H, Puzio PS, Grundler FM (2001). *PYP10*, a seedling and root specific gene and promoter from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*, 161 (2): 337–346
- Nongbri PL, Johnson JM, Sherameti I, Glawischnig E, Halkier BA, Oelmüller R (2012). Indole-3-acetaldoxime-derived compounds restrict root colonization in the beneficial interaction between *Arabidopsis* roots and the endophyte *Piriformospora indica*. *Mol Plant Microbe In*, 25 (9): 1186–1197
- Ogasawara K, Yamada K Y, T C J, Maki K, Noriyuki H, Hara-Nishimura I, Mikio N (2009). Constitutive and inducible ER bodies of *Arabidopsis thaliana* accumulate distinct β -glucosidases. *Plant Cell Physiol*, 50 (3): 480–488
- Peterson JK, Harrison HF, Jackson DM, Snook ME (2003). Biological activities and contents of scopolin and scopoletin in sweet potato clones. *Hortscience*, 38 (6): 1129–1133
- Pfalz M, Mikkelsen MD, Bednarek P, Olsen CE, Halkier BA, Kroymann J (2011). Metabolic engineering in *Nicotiana benthamiana* reveals key enzyme functions in *Arabidopsis* indole glucosinolate modification. *Plant Cell*, 23 (2): 716–729
- Prats E, Bazzalo ME, León A, Jorrín JV (2006). Fungitoxic effect of scopolin and related coumarins on *Sclerotinia sclerotiorum*. A way to overcome sunflower head rot. *Euphytica*, 147 (3): 451–460
- Rask L, Andreasson E, Ekblom B, Eriksson S, Pontoppidan B, Meijer J (2000). Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Mol Biol*, 42 (1): 93–113
- Schmid M, Simpson DJ, Sarioglu H, Lottspeich F, Gietl C (2001). The ricinosomes of senescing plant tissue bud from the endoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98 (9): 5353–5358
- Sels J, Mathys J, De Coninck BM, Cammue BP, Debolle MF (2008). Plant pathogenesis-related (PR) proteins: a focus on PR peptides. *Plant Physiol Biochem*, 46 (11): 941–950
- Slotte T, Hazzouri KM, Agren JA, Koenig D, Maumus F, Guo YL, Steige K, Platts AE, Escobar JS, Newman LK, et al (2013). The *Capsella rubella* genome and the genomic consequences of rapid mating system evolution. *Nat Genet*, 45 (7): 831–835
- Stefano G, Renna L, Moss T, McNew JA, Brandizzi F (2012). In *Arabidopsis*, the spatial and dynamic organization of the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus is influenced by the integrity of the C-terminal domain of RHD3, a non-essential GTPase. *Plant J*, 69 (6): 957–966
- Toyooka K, Okamoto T, Minamikawa T (2000). Mass transport of proform of a KDEL-tailed cysteine-proteinase (SH-EP) to protein storage vacuoles by endoplasmic reticulum-derived vesicle is involved in protein mobilization in germinating seeds. *J Cell Biol*, 148 (3): 453–464
- van Loon LC, Rep M, Pieterse C (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu Rev Phytopathol*, 44: 135–162
- Wang H, Zheng J, Ren X, Yu T, Varma A, Lou B, Zheng X (2015). Effects of *Piriformospora indica* on the growth, fruit quality and interaction with *Tomato yellow leaf curl* virus in tomato cultivars susceptible and resistant to TYCLV. *Plant Growth Regul*, 76 (3): 303–313
- Wang X, Wang H, Wang J, Sun R, Wu J, Liu S, Bai Y, Mun JH, Bancroft I, Cheng F, et al (2011). The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. *Nat Genet*, 43 (10): 1035–1039
- Watanabe S, Matsumoto M, Hakomori Y, Takagi H, Shimada H, Sakamoto A (2014). The purine metabolite allantoin enhances abiotic stress tolerance through synergistic activation of abscisic acid metabolism. *Plant Cell Environ*, 37 (4): 1022–1036
- Watanabe S, Shimada TL, Hiruma K, Takano Y (2013). Pathogen infection trial increases the secretion of proteins localized in the endoplasmic reticulum body of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 163 (2): 659–664
- Wu HJ, Zhang Z, Wang JY, Oh DH, Dassanayake M, Liu B, Huang Q, Sun HX, Xia R, Wu Y, et al (2012). Insights into salt tolerance from the genome of *Thellungiella salsuginea*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109 (30): 12219–12224
- Xu Z, Escamilla TL, Zeng L, Lalgondar M, Bevan D, Winkel B, Mohamed A, Cheng CL, Shih MC, Poulton J, et al (2004). Functional genomic analysis of *Arabidopsis thaliana* glycoside hydrolase family1. *Plant Mol Biol*, 55 (3): 343–367
- Xu ZY, Lee KH, Dong T, Jeong JC, Jin JB, Kanno Y, Kim DH, Kim SY, Seo M, Bressan RA, et al (2012). A vacuolar β -glucosidase homolog that possesses glucose-conjugated abscisic acid hydrolyzing activity plays an important role in osmotic stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24 (5): 2184–2199
- Yamada K, Nagano AJ, Nishina M, Hara-Nishimura I, Nishimura M (2013). Identification of two novel endoplasmic reticulum body-specific integral membrane proteins. *Plant Physiol*, 161 (1): 108–120
- Yamada K, Hara-Nishimura I, Nishimura M (2011). Unique defense strategy by the endoplasmic reticulum body in plants. *Plant Cell Physiol*, 52 (12): 2039–2049
- Yamada K, Nagano AJ, Ogasawara K, Hara-Nishimura I, Nishimura M (2009). The ER body, a new organelle in *Arabidopsis thaliana*, requires NAI2 for its formation and accumulates specific glucosidases. *Plant Signal Behav*, 4 (9): 849–852
- Yamada K, Nagano AJ, Nishina M, Hara-Nishimura I, Nishimura M (2008). NAI2 is an endoplasmic reticulum body component that enables ER body formation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 20 (9): 2529–2540
- Yamamoto A, Yoshii M, Murase S, Fujita M, Kurata N, Hobo T, Kagaya Y, Takeda S, Hattori T (2014). Cell-by-cell developmental transition from embryo to post-germination phase revealed by heterochronic gene expression and ER body formation in *Arabidopsis* leafy cotyledon mutants. *Plant Cell Physiol*, 55 (12): 2112–2125
- Yoshii M, Yamamoto A, Kagaya Y, Takeda S, Hattori T (2015). The *Arabidopsis* transcription factor NAI1 is required for enhancing the active histone mark but not for removing the repressive mark on *PYK10*, a seedling specific gene upon embryonic to postgerminative developmental phase transition. *Plant Signal Behav*, 10 (12): e1105418
- Zhang M, Wu F, Shi J, Zhu Y, Zhu Z, Gong Q, Hu J (2013). ROOT

- HAIR DEFECTIVE 3 family of dynamin like GTPases mediates homotypic endoplasmic reticulum fusion and is essential for *Arabidopsis* development. *Plant Physiol*, 163 (2): 713–720
- Zhang XW, Zhang D (2013). Recent advances of secondary metabolites in *Genus fusarium*. *Plant Physiol J*, 49 (3): 201–216 (in Chinese with English abstract) [张晓伟, 张栋(2014). 镰孢菌属真菌次生代谢产物的研究进展. *植物生理学报*, 49 (3): 201–216]
- Zhou C, Tokuhsa JG, Bevan DR, Esen A (2012). Properties of β -thioglucoside hydrolases (TGG1 and TGG2) from leaves of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*, 191: 82–92

The formation and biological function of ER bodies in Brassicales

YANG Xiao-Li, ZHANG Hai-Long, ZHAO Xiao-Nan, SHEN Zhe, LI Li-Xin*

Key Laboratory of Saline-Alkali Vegetation Ecology Restoration in Oil Field of Ministry of Education, Alkali Soil Natural Environmental Science Center, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: During long-term evolution, in order to response to stress from external environment, plant cells developed various endoplasmic reticulum (ER)-derived structures with specific functions, most of which are specific for certain groups of species. The ER body is developed in plants of the Brassicales. The accumulation of proteins specific for the ER body play an important role in the formation of ER bodies, such as β -glucosidases (PYK10/BGLU21), NAI2, membrane protein MEB1/2, and transcription factor NAI1. ER body is mainly concentrated in the interface between plants and environment, while wounding or plant hormone treatment will induce *de novo* formation of ER bodies. β -glucosidases can produce substances that potentially protect against invading pests, and the enzymatic activities of β -glucosidases are enhanced during cell collapse. Therefore, ER bodies are involved in plant defenses. In this review, we provide recent perspectives of formation of ER bodies in the Brassicales, and discuss the functions of ER bodies.

Key words: endoplasmic reticulum; ER body; β -glucosidase; glucosinolate; plant defenses

Received 2016-02-01 Accepted 2016-03-12

This work was supported by the Central University Basic Scientific Research Business Expenses Special Funds (Grant No. DL13EA04) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31570246).

*Corresponding author (E-mail: lixinli0101@yahoo.com).