

植物烯醇化酶基因 *ENO2* 的功能研究进展

马小凤¹, 刘子金¹, 郑超星¹, 王 星¹, 武 宇¹, 李洪杰², 张根发¹

(¹北京师范大学生命科学学院, 北京 100875; ²中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 烯醇化酶 *ENO2* 是糖酵解过程中的一个限速酶, 广泛存在于动植物体中。近年来, 发现 *ENO2* 除了参与糖酵解途径以外, 还具有多种其他功能。在植物体中, *ENO2* 能够影响植物的生长和生殖发育、应答非生物胁迫, 并且具有转录调控功能。尤其是, 该基因能够进行选择性翻译产生 *ENO2* 和 *MBP-1* 两种蛋白。因此, 本文详细阐述了植物 *ENO2* 基因的多样化功能及相关研究进展, 并指出了未来研究的重点和方向, 以期对相关领域的科研人员提供借鉴和参考。

关键词: *ENO2*; 基因功能; 植物生长调节; 抗逆性; *MBP-1*

Status and Progress on Functions of Plant Enolase Gene *ENO2*

MA Xiao-feng¹, LIU Zi-jin¹, ZHENG Chao-xing¹, WANG Xing¹, WU Yu¹, LI Hong-jie², ZHANG Gen-fa¹

(¹College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875;

²Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: Enolase *ENO2*, which is widely found in animals and plants, is a key glycolytic enzyme participating in the glycolytic pathway. A lot of studies have shown that *ENO2* has a variety of functions in addition to participating in glycolysis. In plants, *ENO2* is shown in roles of the growth and reproductive development, responses to abiotic stresses and the regulation on gene expression. Especially, mRNA expressed by *ENO2* can alternatively be translated into 2 proteins, *ENO2* and *MBP-1*. Here we have summarized the various functions of plant *ENO2* and the related research progress. Moreover, we also discuss the research prospective about *ENO2* gene in order to provide the reference for further research in related fields.

Key words: *ENO2*; gene function; plant growth regulation; tolerance of abiotic stress; *MBP-1*

糖酵解 (glycolysis) 是在无氧条件下, 葡萄糖进行分解形成丙酮酸并提供能量的过程。研究发现, 除了催化功能之外, 糖酵解循环中的许多酶还具有多种其他方面的功能^[1-3], 其中, 烯醇化酶就是典型例子之一。烯醇化酶 (Enolase, *ENO*, 2-phospho-D-glycerate hydrolyase) 又称为 2-磷酸-D-甘油酸盐水解酶, 能够催化 2-磷酸-D-甘油酸 (2-PGA) 向磷酸-烯醇式丙酮酸 (PEP) 的转化。烯醇化酶不仅在生物体内普遍存在, 而且还是许多生物体中表达最为丰富的细胞质蛋白之一。

在脊椎动物中, *ENO* 有 3 种同工酶, 分别命名为 α -*ENO*、 β -*ENO* 和 γ -*ENO*, 其中, 对 Enolase 的研

究主要集中在 α -*ENO*。研究表明, α -*ENO* 不仅具有糖酵解过程中的催化功能, 还参与调控肌肉的生长发育、肿瘤的发生及寄生类原核生物侵染的免疫等多种功能^[4], 因此, 人们将这些功能统称为非糖酵解功能 (Non-glycolic function)。

在植物中, *ENO2* 是 *LOS2* (LOW EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENES 2)/*ENO2* 位点编码的一种蛋白^[5], 同源性分析显示, 植物 *ENO2* 与动物的 α -*ENO* 同源性最高^[6], 而在植物中, 拟南芥和水稻中的 *ENO2* 同源性最高^[7]。近年来, 对植物 *ENO2* 的研究取得了很多进展, 发现除了参与糖酵解过程之外, *ENO2* 基因在植物的生长发

收稿日期: 2018-04-02 修回日期: 2018-06-04 网络出版日期: 2018-09-08

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180906.1552.003.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31470399, 31872672)

第一作者研究方向为植物分子遗传。E-mail: mx510332934@163.com

通信作者: 张根发, 研究方向为遗传学。E-mail: gzfz@bnu.edu.cn

育和生殖发育过程中具有重要作用,也能够响应高盐、低温、干旱等非生物胁迫。另外,*ENO2* 基因可以通过选择性翻译表达 *ENO2* 和 MBP-1 两种蛋白,目前对二者的研究还在初步阶段。随着研究工作的深入,植物 *ENO2* 的抗逆性及影响植物生长发育方面的功能受到越来越多的重视,对于其选择性翻译蛋白 *ENO2* 和 MBP-1 的研究已经成为研究的焦点。因此,本文将重点阐述植物 *ENO2* 基因的选择性翻译特性、多样性功能及相关机理的研究进展,分析关于 *ENO2* 的最新研究动态和研究方向,以期对相关领域的科研人员提供借鉴和参考。

1 植物 *ENO2* 的催化功能

烯醇化酶最早是在研究肌肉提取物 3-磷酸甘油酸盐向丙酮酸转换的过程中发现的^[8]。它属于一种金属酶,自身的活化需要一定的二价金属离子,已知可以激活烯醇化酶活性的金属离子包括 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ga^{2+} 和 Zn^{2+} 等,其中,当 Mg^{2+} 存在时其活性最高^[9-11],但烯醇化酶与 Mg^{2+} 的结合牢固程度并不高^[12]。

烯醇化酶在细胞能量代谢过程中具有重要作用^[13],首先,在糖酵解过程中,烯醇化酶参与催化糖酵解途径中唯一的脱水步骤,即 2-磷酸-D-甘油酸

(PGA) 向磷酸-烯醇式丙酮酸 (PEP) 的转化,同时,也能够 在糖质异生过程中作为磷酸丙酮酸盐水合酶,催化 PEP 向 PGA 的转化(图 1)。PEP 是一个高能磷酸分子,在生物体内占据着很重要的位置,PEP 不仅能为生物体提供大量的能量,也是脂肪酸次生代谢途径的前体物质^[14]。另外,在 C4 植物中,PEP 可以与二氧化碳反应生成草酰乙酸,进入三羧酸循环途径。

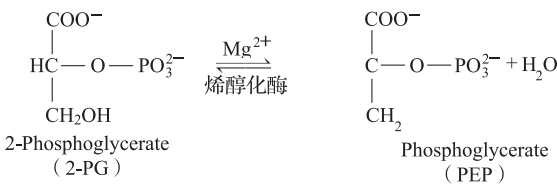


图 1 烯醇化酶在糖酵解过程中的催化过程
Fig. 1 Catalytic process of enolase in glycolysis

植物 *ENO* 包含 3 种同工酶,分别是 *ENO1*、*ENO2* 及 *ENO3*,其氨基酸序列是高度保守的,都包含一个典型的烯醇化酶 N 端区域和一个高度保守的 DNA 结合区域,与其他物种的烯醇化酶相比,植物 *ENO* 存在 5 个氨基酸的特异插入突变,关于拟南芥 *ENO* 同工酶的生化分析见表 1。此外,植物中的 *ENO* 存在翻译后修饰,酶的活性与蛋白含量并不呈正比^[6]。

表 1 拟南芥 *ENO* 的同工酶生化分析统计
Table 1 Biochemical analysis of AtENO isoenzyme

名称	ID 号	氨基酸数	分子量(kD)	等电点	表达位置	烯醇化酶活性
Name	ID number	No. of amino acids	Molecular weight	pI	Express location	Enzyme activity
ENO1	AT1G74030	477	51.5	5.96	质体	有
ENO2	AT2G36530	475	51.6	5.18	细胞质、细胞核	有
ENO3	AT2G29560	444	47.7	5.51	细胞质、细胞核	无

植物细胞中,糖酵解过程独立地发生在细胞质和质体中^[15],同时二者可以通过质体内膜上特异的转运载体发生相互作用^[16-17]。*ENO2* 是在细胞质中发挥主要功能作用的烯醇化酶,在植物生长发育过程中高表达,其表达量是 *ENO1* 和 *ENO3* 的 10 倍^[18],*ENO2* 的催化功能模式见图 2。

2 *ENO2* 基因的选择性翻译

大量数据显示,许多 mRNA 能够通过选择性翻译起始位点,合成不同的蛋白亚型,例如,拟南芥 DNA 连接酶 1 (AtLIG1)、拟南芥和水稻的 tRNA 连接酶、人的神经肽 Y 及其他许多真核蛋白^[19-20]。这些蛋白亚型的 N 端相差若干氨基酸,这种差异可能导致不同亚型具有不同的功能及定位^[21-22]。

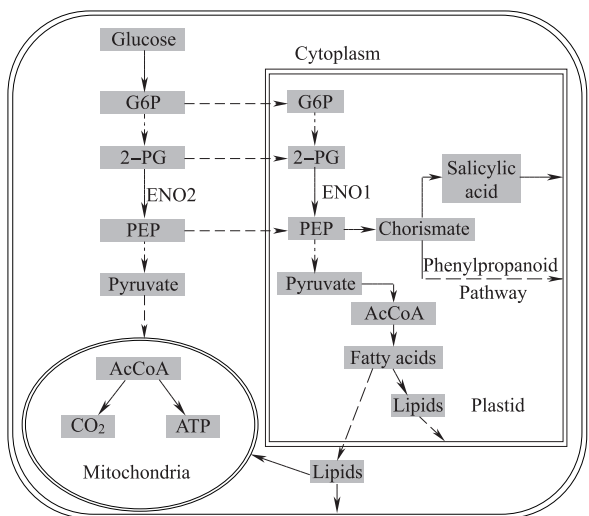
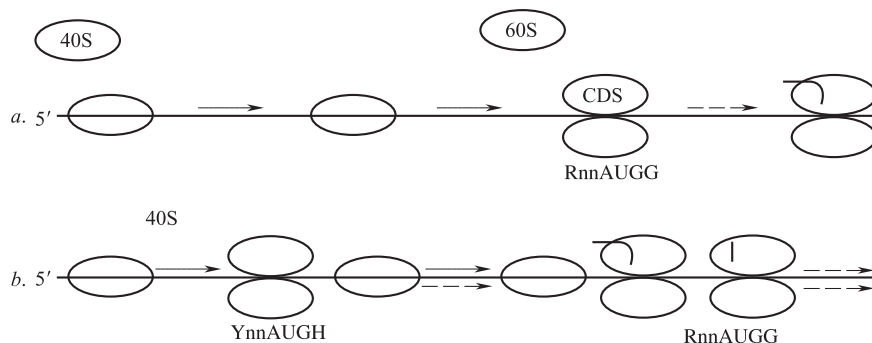


图 2 糖酵解中 *ENO2* 的功能模式图
Fig. 2 Model of *ENO2* function in glycolysis

2.1 选择性翻译机制

大多数真核 mRNA 的翻译起始通常是以线性扫描的方式进行,如图 3a,40S 核糖体亚基被招募到 5' 端的帽子结构,由 5' 端到 3' 端扫描 RNA 从而识

别第 1 个 AUG^[23]。而遗漏扫描是这种 40S 亚基忽略主要开放式阅读框的 AUG,从下游 AUG 起始翻译的模式(图 3b),是真核生物 mRNA 选择性翻译起始的主要机制。



a:线性扫描机制;b:遗漏扫描机制

a:Classical scanning mechanism;b:Leaky scanning mechanism

图 3 线性扫描机制和遗漏扫描机制^[24]

Fig. 3 Classical and leaky scanning mechanism of mRNAs

研究表明,在移码翻译顺序下,多顺反子 mRNA 可翻译出对应的不同蛋白质;而在同一翻译顺序下,核糖体在从首位起始密码子开始翻译的同时,可能会有部分核糖体继续向下扫描并识别下游的起始密码子,而这种选择性的翻译起始效率,主要取决于密码子所处的序列背景及间隔距离等因素^[25]。

首先,真核生物中,翻译的效率依赖于真核翻译起始因子 eIF 复合物。eIF 复合物包含有 eIF4A、eIF4G 和 eIF4E 等 3 种成分^[26],其中,eIF4G 的 C 端连接 eIF4A,N 端连接 eIF4E,eIF4E 则是帽子结合蛋白,其通过结合 mRNA 帽子,启动帽子结构依赖翻译。eIF4E 主要受到 PI3K-AKT-mTOR-4EBP1-eIF4E 途径的调节,4EBP1 是 eIF4E 的控制蛋白,由于 eIF4E 上的 4EBP1 结合位点与 eIF4G 及 IF4E 结合位点重叠,4EBP1 的存在阻止了 eIF4E 与 eIF4G 的结合,因而阻止了翻译起始反应,4EBP1 被磷酸化后能够释放出 eIF4E,进而启动翻译起始^[26]。

再者,5' UTR 是翻译起始的高度敏感区,其长短、茎环结构、主要开放式阅读框上游 AUG(uAUG)的数量以及 5' UTR 上 AUG 周围的碱基序列都会影响翻译起始的效率。5' UTR 的长度一般在 100 到 200 碱基^[27-28],当 40S 核糖体亚基的 P 位点被 AUG 结合后,起始复合物需要与 AUG 上游的 17 个碱基和下游的 11 个碱基相互作用,所以少于 20 个碱基时可能会发生遗漏扫描^[29-31]。颈环结构对翻译起始的抑制作用取决于它在 5' UTR 的位置、稳定性及

其与特定调控蛋白的结合能力^[32]。取 AUG 密码子中的 A 为 +1 位,片段中最重要的两个碱基分别是 -3 位的 R(嘌呤 A 或 G)和 +4 位的鸟嘌呤 G,它们能够在起始密码子识别后维持 48S 复合物的稳定性。也正是这两个位置将翻译起始位点分为强弱两种,强 AUG 会抑制遗漏扫描,而弱 AUG 会增加遗漏扫描^[33-35]。uAUG 的存在非常普遍,约 50% 的人类 mRNA 和果蝇 mRNA 在 5'UTR 上包含 uAUGs^[36-37]。很多试验都证明,当主要 AUG 的上游存在 uAUG 时,翻译效率会下降,这是遗漏扫描机制存在的有力证据^[38-40]。

2.2 选择性翻译产物 MBP-1

植物 *ENO2* 基因能够发生选择性翻译产生 ENO2 和 MBP-1 两种蛋白。在拟南芥中,AtMBP-1 缺少 AtENO2 蛋白 N 端的 92 个氨基酸,对拟南芥 *AtENO2* 基因序列进行分析,发现其 N 端具有典型的 ENOLASE(第 3 至 139 个氨基酸),这说明 N 端对于烯醇化酶的活性有着重要的作用,而 AtMBP-1 缺少了 AtENO2 蛋白的 N 端序列,因此不具有烯醇化酶活性^[41]。

动物中,MBP-1 能够作为转录因子,同 *c-myc* 的 P2 启动子 TATA 元件结合,阻止 TATA 连接蛋白(TBP)同该元件的结合,从而负调控 *c-myc* 的表达^[42-43]。MBP-1 是以一种依赖蛋白酶体的方式进行翻译后调控的,但调控选择性翻译产生 MBP-1 蛋白的机制还不清楚^[44]。研究发现,植物 MBP-1 也

具有转录调控因子的功能,本课题也通过酵母双杂实验验证了这一结论^[45]。虽然拟南芥中没有 *c-myc* 基因,但拟南芥中的锌指基因 *ST2/ZAT10* 受 *AtENO2* 的调控,该基因与 *AtENO2* 的连接处有同 *c-myc* 类似的顺式元件。进一步研究发现,拟南芥野生型和突变体中的 *AtENO2* 蛋白都不会抑制该基因的活性,但当突变 *AtMBP-1* 序列区时,对 *ST2/ZAT10* 的活性受到了抑制,并且,在拟南芥 *eno2*⁻ 突变体中, *ST2/ZAT10* 的表达增强。这表明,在低温胁迫下 *AtMBP-1* 可以结合到与动物 *c-myc* 具有相似启动子的 *ZAT10* 基因上。*ST2/ZAT10* 在低温胁迫环境中具有重要作用,受到 *AtMBP-1* 的抑制后,能够进一步抑制 *COR/KIN/Rb/CTI* 等基因的转录^[5-46] (图 4)。另外,MBP-1 与 E3 泛素连接酶 *AtSAP5* 直接互作 (图 4),也能够改变体内 MBP-1 的稳定性,并且过表达 MBP-1 产生的缺陷表型也发生消失。因此,MBP-1 是 *ENO2* 基因选择性表达的有益产物,该因子的积累受到依赖泛素的去稳定作用的限制,受 *AtSAP5* 的调节^[46]。

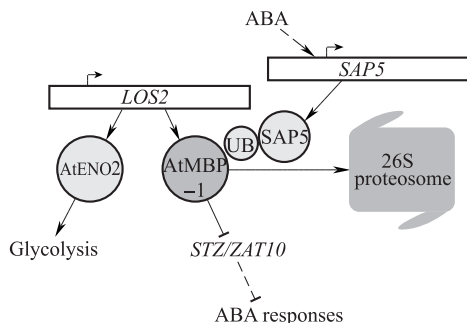


图 4 拟南芥 *AtMBP-1* 转录因子作用模式图^[46]

Fig. 4 Proposed model of Arabidopsis *AtMBP-1* transcription factor

MBP-1 在体内的半衰期很短,其降解是通过依赖泛素的蛋白酶体途径,其稳定性的维持依赖于一个蛋白体抑制子 MG132^[46]。最近的研究发现 MBP-1 能够反馈抑制 *ENO2* 酶活性,从而维持 *ENO2* 在体内的稳态^[14]。而 *AtMBP-1* 定位于细胞核中^[46],蛋白质合成后定位细胞核中需要借助信号肽的帮助,而目前已知的烯醇化酶氨基酸序列中并未发现入核序列。目前关于 MBP-1 在植物生长、生殖发育及其调控通路中的作用机制仍不清楚,有待深入细致地研究。

3 *ENO2* 在植物生长发育过程中的作用

近年来,研究发现烯醇化酶 (*ENO2*) 在植物生

长发育中占据着重要的地位。与野生型拟南芥相比,拟南芥 *eno2*⁻ 突变体初生主根较短,侧根数目较少,而且子叶更小地上部分更矮小^[47-48]。另外,通过反义抑制法得到的烟草 *ENO* 低表达突变体,产生了网状叶的表型,但该突变体的呼吸作用没有受到影响,这可能是由于 *ENO2* 的缺失限制了磷酸烯醇式丙酮酸的合成,从而影响了芳香族氨基酸的合成^[49]。

研究也表明,拟南芥 *eno2*⁻ 突变体花粉粒变少,花粉萌发率下降,且角果发育不正常,显著短于野生型^[14-41],同时 Eremina 等^[14] 也指出,烯醇化酶 (*ENO2*) 活性缺失是其生长发育缺陷的主要原因。另外,该基因的突变体有若干表型缺陷,包括根和茎生长减弱、微管发育多样、茎的二次生长有缺陷、花器官受损、雄配子功能缺陷、胚胎受害、早衰等。这些表型和突变体植株木质素的减少、水杨酸的增多、脂肪酸及可溶性糖的多样性增加有关^[14]。

通过原核和真核生物 *ENO* 基因结构的比较和系统进化分析,人们发现 *ENO* 基因在结构上是高度保守的,但与其他物种的烯醇化酶相比,植物 *ENO* 存在特异的 5 个氨基酸的插入突变。在人为催熟西红柿时,果实中 *ENO* 基因的 mRNA 被大量地诱导,含量出现了非常明显的上升,但 *ENO* 酶活性只发生了中等程度的上升,这表明植物中 *ENO* 的表达具有组织和发育阶段特异性^[6]。

研究表明 *ENO2* 影响植物生长发育、响应逆境胁迫及参与基因表达调控等多种功能都与 MBP-1 相关,在拟南芥中过表达 *MBP-1* 编码序列,植株变小、开花时间推迟、角果变短但数量增加,种子数目和大小较野生型有很大差异^[46],但目前还没有关于 MBP-1 是否是基因 *ENO2* 在此方面的功能主体的明确报道。

4 *ENO2* 对植物非生物胁迫的响应

非生物胁迫会抑制植物的生长,加速植物衰老甚至死亡,常见的非生物胁迫有盐胁迫、干旱胁迫、热胁迫和氧化胁迫等。植物 *ENO* 基因在各种非生物胁迫条件下的表达情况见表 2,较多研究表明,烯醇化酶基因 *ENO2* 在植物非生物胁迫应答过程中发挥重要作用,观察到烯醇化酶在转录、蛋白表达和翻译后水平上应答低温、高盐、干旱和缺氧等非生物胁迫。

4.1 低温胁迫

低温是影响植物生长和发育的重要环境因子,

一些植物能适应冷环境,处于低温但非冰点温度下,得益于冷调控基因的表达。研究发现拟南芥中的 *ENO2* 也响应低温胁迫,*AtENO2* 基因可负调控 *STZ/ZAT10* 基因的表达,通过影响 *ZAT10* 基因及下游 *RD29A* 等基因的表达,在植物抗寒中发挥重要的作用^[5]。尽管突变体植株在低温胁迫下,不论是白天还是黑夜都会有所受损,但其在黑暗中是冷敏感型的,这表明在光下,突变体植株的冷敏感性会受到一定程度上的光合作用引起的新陈代谢平衡。或者说冷敏感有可能是一种细胞程序性死亡的表现。因此,*eno2*⁻ 突变体的冷敏感表型是细胞程序性死亡的结果,这是由基因调控缺陷以及低温和光信号之间相互作用引起的。此外,在 *ENO2* 的启动子序列中发现了 CRT/DRE 的结合序列,但是低温胁迫下, *ENO2* 的表达是否受到 CBF1/DREB1 的调控还有待研究^[5]。

冷胁迫实验表明,拟南芥 *ENO2* 在转录水平上被诱导上调表达^[50],在荠菜中, *ENO2* 的表达与冷胁迫适应过程密切相关,不结球白菜 *ENO2* 可作为冷适应相关的调节因子^[51-52],低温胁迫 2 d 后,小麦叶中的 *TaENO-a* 和 *TaENO-b* 基因均上调表达,根组织中 *TaENO-a* 在胁迫的 2 d 内保持高水平表达,但是随后表达量减少, *TaENO-b* 基因高表达^[53]。低温条件下,冰叶日中花叶中的 *ENO* 基因在转录水平上

发生上调,其根中的 *ENO* 基因在转录水平上也发生上调,而且 *ENO* 酶活性水平的变化趋势与其转录水平的变化趋势相似^[54]。

4.2 高盐胁迫

研究表明在高盐处理下,水稻和拟南芥根中的 *ENO* 含量明显减少^[55-56],但在高盐和渗透胁迫下,拟南芥悬浮细胞的 *ENO1* 和 *ENO2* 含量却发生了明显的上升,并且在双向电泳胶上有多个 *ENO2* 蛋白点^[57],这也表明 *ENO2* 在响应环境胁迫时发生了翻译后修饰。也有研究表明,拟南芥 *eno2*⁻ 突变体是盐敏感的,在盐处理下,该突变体中液泡膜上 *ENO* 含量减少,进而影响了醛缩酶激活液泡膜上 ATPase 水解活性的能力,最终使得液泡在拟南芥适应盐胁迫过程中发挥的作用减弱^[58]。通过抑制性消减杂交 (SSH) 的方法得到高盐胁迫下盐芥诱导上调的表达基因序列标签,SSH 分析发现盐芥根中 *ENO2* 基因的 mRNA 在盐胁迫下,表达量发生上调,即盐芥 *ENO2* 在转录水平上响应盐胁迫^[59]。高盐处理下,冰叶日中花根中的 *ENO* 活性升高了 30% 左右,而叶中 *ENO* 活性增加了 4 倍多。但在高盐胁迫下,冰叶日中花根和叶中的 *ENO* 活性都上升,然而, *ENO* 蛋白含量却没有发生明显的变化^[54],这些结果也表明 *ENO* 活性的调节可能与其翻译后的修饰有关。

表 2 不同胁迫下植物 *ENO* 基因的表达变化

Table 2 The expression patterns of *ENO* gene under different abiotic stress treatments

胁迫类型 Stresses	植物种类 Species	对逆境的响应 Response to stress	参考文献 Reference
冷胁迫	突变体	<i>ENO2</i> 调控 <i>ZAT10</i> 基因持续高表达	[5]
脱落酸 (ABA)	拟南芥	<i>MBP-1</i> 转基因植株对 ABA 敏感且表达受 <i>AtSAP5</i> 调节	[46]
生长素 (IAA)	拟南芥	<i>AtENO2</i> 的磷酸化水平增强	[47]
干旱、冷胁迫	拟南芥	<i>AtENO2</i> 在转录水平上发生上调	[49]
高盐、干旱、低温、	冰叶日中花	叶和根中 <i>ENO</i> 基因在转录水平上发生上调,但是蛋白含量没有明显的变化	[53]
高盐	水稻	根中 <i>ENO</i> 含量发生明显减少	[54]
高盐	拟南芥	拟南芥根中 <i>AtENO</i> 含量发生了下调	[55]
高盐、渗透胁迫	拟南芥	悬浮细胞的 <i>AtENO1</i> 和 <i>AtENO2</i> 含量发生了明显的上升	[56]
高盐、超重力	拟南芥	液泡膜上 <i>AtENO</i> 含量减少;愈伤组织细胞的 <i>AtENO2</i> 的磷酸化水平明显地降低	[57]
高盐	盐芥	根中 <i>ENO2</i> 基因在转录水平上发生上调	[58]
脱落酸 (ABA)	拟南芥	种子 <i>AtENO2</i> 的酪氨酸 (Tyr) 磷酸化水平下降	[59]
高盐	盐芥	<i>ENO2</i> 发生磷酸化或磷酸化增强	[61]

4.3 *ENO2* 的抗性机理分析

对于植物 *ENO2* 抗逆性功能的研究,早期主要集中于烯醇化酶在转录和蛋白表达水平上对各种环境胁迫的响应情况。*MBP-1* 过表达的拟南芥植株

在种子萌发期对脱落酸 (ABA) 敏感,在营养生长和侧茎发育中具有缺陷。其他研究表明在 ABA 处理下, *MBP-1* 过表达株系种子的萌发率相比野生型显著降低,另外,在 NaCl、甘露醇和聚乙二醇的处理

下,过表达 *MBP-1* (35S::At*MBP-1*) 的种子萌发率也显著低于野生型,因此推断 *MBP-1* 可能抑制种子萌发从而响应渗透胁迫^[46]。但是该研究的背景植株是野生型,并未通过构建含有不同翻译起始位点的基因序列载体,转化突变体拟南芥,筛选到仅表达其中一种蛋白的纯合体株系,也未做两种蛋白质功能之间的对比研究。也就是说,没有将 *ENO2* 和 *MBP-1* 两种蛋白完全分开,无法准确地评估这两种蛋白在此方面的功能。

随着研究工作的深入,烯醇化酶应答环境胁迫的转录后和翻译后调控受到越来越多的重视,特别是对于烯醇化酶的亚细胞定位、转录因子活性、与其他蛋白的相互作用研究已经成为研究的焦点。对植物烯醇化酶翻译后修饰水平的研究主要围绕其磷酸化进行。

研究人员发现,在生长素 (IAA) 处理后,拟南芥 *ENO2* 的磷酸化水平增强^[48],表明 *ENO2* 可能在生长素响应调控途径中起作用。ABA 处理拟南芥种子时,种子 *ENO2* 的酪氨酸 (Tyr) 磷酸化水平明显下降^[60],可见 *ENO* 在 ABA 促进种子休眠过程中起作用。超重力 (8 g) 处理 30 min 后,拟南芥愈伤组织细胞的 *ENO2* 的磷酸化水平也明显地降低^[61]。通过磷酸化蛋白质组的研究,发现在盐处理下,盐芥根 *ENO* 的磷酸化水平有变化,表明 *ENO* 在翻译后修饰水平上响应盐胁迫^[62]。根据这些研究可以推测,环境胁迫可能通过磷酸化修饰调控烯醇化酶的功能,并进一步参与植物环境胁迫响应过程。

此外,通过对原生生物疟原虫的研究发现,细胞内存在烯醇化酶的 5 个翻译后修饰方式不同的异构体,其中,至少 3 个是磷酸化异构体,而且每个异构体只存在于特定的亚细胞结构中,因此推测烯醇化酶的磷酸化修饰方式可能与其亚细胞定位相关。而且 14-3-3 蛋白能够作为分子伴侣促进磷酸化蛋白的入核^[47-63],有研究发现 *ENO2* 是 14-3-3 蛋白的互作蛋白,14-3-3 蛋白在细胞质基质中与烯醇化酶发生相互作用,而不是在细胞核中,14-3-3 蛋白可能能够将烯醇化酶滞留在细胞质基质中,阻止其进入细胞核^[47]。根据以上研究推测,烯醇化酶多种功能的发挥可能依赖于其具体的翻译后修饰及亚细胞定位。目前还没有关于植物烯醇化酶的磷酸化位点、磷酸化如何影响烯醇化酶活性以及烯醇化酶磷酸化在逆境应答中如何发挥作用的相关报道。

5 展望

综上所述,植物 *ENO2* 基因具有多方面的功能,

既能在糖酵解过程中起作用,也对植物生长和生殖发育有重要影响,还具有响应非生物胁迫、参与转录调控等多种功能。但目前对植物 *ENO2* 基因的研究还比较初步,有些方面还需要更深入地研究。

首先,对 *ENO2* 的研究多集中在其完整序列,并未将 *ENO2* 基因选择性翻译成 *ENO2* 和 *MBP-1* 两种蛋白分开研究,所以在生长发育、生殖发育及植物抗逆功能等方面,具体是哪一种蛋白发挥主要功能,以及两者的相互作用及其调控机制,都值得深入研究。其次,对 *ENO2* 的转录调控功能的作用途径和机制仍不是十分清楚,如 *ENO2* 转录调控功能的细胞内信号转导机制,缺乏信号肽的 *ENO2* 是如何入核并在核内起到哪些作用、以及调控基因 *ENO2* 选择性翻译产生 *MBP-1* 的机制和影响因素等。另外,*MBP-1* 具有转录激活功能,因此,从互作蛋白以及 *MBP-1* 的磷酸化状态入手,研究 *MBP-1* 的入核机理,对阐明 *MBP-1* 调控基因表达的机制是非常必要的。再者,*ENO2* 参与植物适应非生物胁迫的过程 (在转录、蛋白表达、酶活性和翻译后修饰等水平上均有响应),但是关于植物体中 *ENO2* 基因的抗逆表达调控机制还知之甚少。因此,*ENO2* 基因的抗逆表达调控机制、表达规律有待进一步研究,这将有助于根据 *ENO2* 的表达规律及其信号转导途径培育出抗逆性植物新品种。

总之,对上述问题的研究,不仅对阐明植物中 *ENO2* 基因的生物学地位,深化对植物生长发育分子机制的认识有着重要意义,而且将为阐明植物在各种逆境胁迫下的生理、生化过程的分子机制提供新的线索和切入点,同时为植物抗逆性育种提供新的基因资源。

参考文献

- [1] Kim J W, Dang C V. Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends Biochem Sci*, 2005, 30: 142-150
- [2] Niinaka Y, Paku S, Haga A, Watanabe H, Raz A. Expression and secretion of neuroleukin/phosphohexose isomerase/maturation factor as autocrine motility factor by tumor cells. *Cancer Res*, 1998, 58: 2667-2674
- [3] Munoz-Bertomeu J, Cascales-Minana B, Irls-Segura A, Mateu I, Nunes-Nesi A, Fernie AR, Segura J, Ros R. The plastidial glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is critical for viable pollen development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2010, 152: 1830-1841
- [4] Ji H, Wang J F, Guo J R, Li Y, Lian S, Guo W, Yang H, Kong F, Zhen L, Guo L, Liu Y. Progress in the biological function of alpha-enolase. *Anim Nutr*, 2016, 2(1): 12-17
- [5] Lee H, Guo Y, Ohta M, Xiong L, Stevenson B, Zhu J K. LOS2, a genetic locus required for cold-responsive gene transcription encodes a bi-functional ENOLASE. *EMBO J*, 2002, 21: 2692-2702
- [6] Vander Straeten D, Rodrigues-Pousada R A, Goodman H M, Van Montagu M. Plant enolase: gene structure, expression and evolu-

- tion. *Plant Cell*, 1991, 3: 719-735
- [7] Fukayama H, Masumoto C, Taniguchi Y, Baba-Kasai A, Katoh Y, Ohkawa H, Miyao M. Characterization and expression analyses of two plastidic enolase genes in rice. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2015, 79(3): 402-409
 - [8] Lohman K, Meyerhof O. Über die enzymatische umwandlung von phosphoglyzerinsäure in brenztraubensäure und phosphorsäure (Enzymatic transformation of phosphoglyceric acid into pyruvic and phosphoric acid). *Biochem Z*, 1934, 273: 60-72
 - [9] Díaz-Ramos A, Roig-Borrellas A, García-Melero A, López-Alemany R. α -enolase, a multifunctional protein; its role on pathophysiological situations. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 156795
 - [10] Reed G H, Poyner R R, Larsen T M, Wedekind J E, Rayment I. Structural and mechanistic studies of enolase. *Curr Opin Struct Biol*, 1996, 6: 736-743
 - [11] Brewer J M, Wampler J E. A differential scanning calorimetric study of the effects of metal ions, substrate/product, substrate analogues and chaotropic anions on the thermal denaturation of yeast enolase 1. *Int J Biol Macromol*, 2001, 28: 213-218
 - [12] Brewer J M. Specificity and mechanism of action of metal ions in yeast enolase. *FEBS Lett*, 1985, 182: 8-14
 - [13] Subramanian A. Structural analysis of alpha-enolase. Mapping the functional domains involved in down-regulation of the c-myc proto-oncogene. *J Biol Chem*, 2000, 275: 5958-5965
 - [14] Eremina M, Rozhon W, Yang S, Poppenberger B. ENO2 activity is required for the development and reproductive success of plants, and is feedback-repressed by AtMBP1. *Plant J*, 2015, 81: 895-906
 - [15] Munoz-Bertomeu J, Cascales-Minana B, Mulet J M, Baroja-Fernández E, Pozueta-Romero J, Kuhn J M, Segura J, Ros R. Plastidial glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase deficiency leads to altered root development and affects the sugar and amino acid balance in Arabidopsis. *Plant Physiol*, 2009, 151: 541-558
 - [16] Emes M J, Tobin A K. Control of metabolism and development in higher plant plastids. *Int Rev Cytol*, 1993, 145: 149-216
 - [17] Weber A P, Schwacke R, Flugge U I. Solute transporters of the plastid envelope membrane. *Annu Rev Plant Biol*, 2005, 56: 133-164
 - [18] Andriotis V M, Kruger N J, Pike M J, Smith A M. Plastidial glycolysis in developing Arabidopsis embryos. *New Phytologist*, 2010, 185(3): 649-662
 - [19] Kaipio K, Kallio J, Pesonen U. Mitochondrial targeting signal in human neuropeptide Y gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 337: 633-640
 - [20] Kochetov A V. Alternative translation start sites and hidden coding potential of eukaryotic mRNAs. *BioEssays*, 2008, 30: 683-691
 - [21] Cheng T H, Cohen S N. Human MDM2 isoforms translated differentially on constitutive versus p53-regulated transcripts have distinct functions in the p53/MDM2 and TSG101/MDM2 feedback control loops. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 111-119
 - [22] Kodama Y, Sano H. Functional diversification of a basic helix-loop-helix protein due to alternative transcription during generation of amphidiploidy in tobacco plants. *Biochem J*, 2007, 403: 493-499
 - [23] Kozak M. Regulation of translation via mRNA structure in prokaryotes and eukaryotes. *Gene*, 2005, 361: 13-37
 - [24] 程慧梅. 拟南芥烯醇化酶定位、磷酸化位点鉴定及其截短体蛋白的初步研究. 北京: 北京师范大学, 2015
 - [25] 薛金锋, 刘雄昊, 李卓. 真核细胞中多重表达框 mRNA 的选择性翻译起始. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, 31(6): 608-615
 - [26] Burgui I, Yáñez E, Sonenberg N, Nieto A. Influenza virus mRNA translation revisited: is the eIF4E cap-binding factor required for viral mRNA translation. *J Virol*, 2007, 81: 12427-12438
 - [27] Moshonov S, Elfakess R, Golan-Mashiach M, Sinvani H, Dikstein R. Links between core promoter and basic gene features influence gene expression. *BMC Genomics*, 2008, 9: 92
 - [28] Pesole G, Mignone F, Gissi C, Grillo G, Licciulli F, Liuni S. Structural and functional features of eukaryotic mRNA untranslated regions. *Gene*, 2001, 276: 73-81
 - [29] Kozak M. A short leader sequence impairs the fidelity of initiation by eukaryotic ribosomes. *Gene Expr*, 1991, 1: 111-115
 - [30] Kozak M. Effects of long 5' leader sequences on initiation by eukaryotic ribosomes *in vitro*. *Gene Expr*, 1991, 1: 117-125
 - [31] Pisarev A V, Kolupaeva V G, Yusupov M M, Hellen C U, Pestova TV. Ribosomal position and contacts of mRNA in eukaryotic translation initiation complexes. *EMBO J*, 2008, 27: 1609-1621
 - [32] Kozak M. Pushing the limits of the scanning mechanism for initiation of translation. *Gene*, 2002, 299: 1-34
 - [33] Elfakess R, Sinvani H, Haimov O, Svitkin Y, Sonenberg N, Dikstein R. Unique translation initiation of mRNAs-containing TISU element. *Nucl Acids Res*, 2011, 39: 7598-7609
 - [34] Kozak M. Regulation of translation via mRNA structure in prokaryotes and eukaryotes. *Gene*, 2005, 361: 13-37
 - [35] Pisarev A V, Kolupaeva V G, Pisareva V P, Merrick W C, Hellen C U, Pestova T V. Specific functional interactions of nucleotides at key-3 and +4 positions flanking the initiation codon with components of the mammalian 48S translation initiation complex. *Genes Dev*, 2006, 20: 624-636
 - [36] Davuluri R V, Suzuki Y, Sugano S, Zhang M Q. CART classification of human 5' UTR sequences. *Genome Res*, 2000, 10: 1807-1816
 - [37] Medenbach J, Seiler M, Hentze M W. Translational control via protein-regulated upstream open reading frames. *Cell*, 2011, 145: 902-913
 - [38] Tamarkin-Ben-Harush A, Schechtman E, Dikstein R. Co-occurrence of transcription and translation gene regulatory features underlies coordinated mRNA and protein synthesis. *BMC Genomics*, 2014, 15: 688
 - [39] Wethmar K, Barbosa-Silva A, Andrade-Navarro M A, Leutz A. uORFdb-a comprehensive literature database on eukaryotic uORF biology. *Nucl Acids Res*, 2014, 42: 60-67
 - [40] Calvo S E, Pagliarini D J, Mootha V K. Upstream open reading frames cause widespread reduction of protein expression and are polymorphic among humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 7507-7512
 - [41] 叶盼. 拟南芥烯醇化酶 2 (enolase2) 在植物营养生长和花粉发育中的功能研究. 北京: 北京师范大学, 2012
 - [42] Feo S, Arcuri D, Piddini E, Passantino R, Giallongo A. ENO1 gene product binds to the c-myc promoter and acts as a transcriptional repressor; relationship with Myc promoter-binding protein 1 (MBP-1). *FEBS Lett*, 2000, 473: 47-52
 - [43] Ray R, Miller D M. Cloning and characterization of a human c-myc promoter-binding protein. *Mol Cell Biol*, 1991, 11: 2154-2161
 - [44] Lung J, Liu K J, Chang J Y, Leu S J, Shih N Y. MBP-1 is efficiently encoded by an alternative transcript of the ENO1 gene but post-translationally regulated by proteasome-dependent protein turnover. *FEBS J*, 2010, 277: 4308-4321
 - [45] Zhang Y H, Chen C, Shi Z H, Ma X F, Zheng C X, Li H J, Zhang G F. Identification of salinity-related genes in ENO2 mutant (eno2⁻) of Arabidopsis thaliana. *J Integr Agr*, 2018, 17(1): 94-110
 - [46] Kang M, Abdelmageed H, Lee S, Reichert A, Mysore K S, Allen R D. AtMBP-1, an alternative translation product of LOS2, affects abscisic acid responses and is modulated by the E3 ubiquitin ligase AtSAP5. *Plant J*, 2013, 76: 481-493
 - [47] Yi T F, Dong G F, Li J. Identification and functional analysis of phosphoproteins regulated by auxin in Arabidopsis roots. *J Plant Biol*, 2009, 52: 65-72
 - [48] Voll L M, Hajirezaei M R, Czogalla-Peter C, Lein W, Stitt M, Sonnewald U, Börnke F. Antisense inhibition of enolase strongly lim-

- its the metabolism of aromatic amino acids, but has only minor effects on respiration in leaves of transgenic tobacco plants. *New Phytol*, 2009, 184: 607-18
- [49] Seki M, Narusaka M, Abe H, Kasuga M, Yamaguchi-Shinozaki K, Carninci P, Hayashizaki Y, Shinozaki K. 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
- [50] 蒋芳玲. 不结球白菜抗寒相关基因的克隆及序列分析. 南京: 南京农业大学, 2006
- [51] 刘思秀, 王兴龙, 杨金水. 荠菜 *LOS2* 基因的克隆与分析. 遗传, 2005, 32(6): 600-607
- [52] Sharma P, Ganeshan S, Fowler D B, Chibbar R N. . Characterisation of two wheat enolase cDNA showing distinct patterns of expression in leaf and crown tissues of plants exposed to low temperature. *Ann Appl Biol*, 2012, 162: 271-283
- [53] Forsthoefel N R, Cushman M A, Cushman J C. Posttranscriptional and posttranslational control of ENOLASE expression in the facultative crassulacean acid metabolism plant *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant Physiol*, 1995, 108: 1185-1195
- [54] Yan S, Tang Z, Su W, Sun W. Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in rice root. *Proteomics*, 2005, 5: 235-244
- [55] Jiang Y Q, Yang B, Harris N S, Deyholos M K. Comparative proteomic analysis of NaCl stress-responsive proteins in *Arabidopsis* roots. *J Exp Bot*, 2007, 58: 3591-3607
- [56] Ndimba B K, Chivasa S, Simon W J, Slabba A R. Identification of *Arabidopsis* salt and osmotic stress responsive proteins using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, 2005, 5: 4185-4196
- [57] Barkla B J, Vera-Estrella R, Hernández-Coronado M, Pantoja O. Quantitative proteomics of the tonoplast reveals a role for glycolytic enzymes in salt tolerance. *Plant Cell*, 2009, 21: 4044-4058
- [58] 李晓峰. 盐芥根响应高盐胁迫的烯醇化酶基因功能和调控研究. 北京: 北京师范大学, 2010
- [59] Ghelis T, Bolbach G, Clodic G, Habricot Y, Miginiac E, Sotta B, Jeannette E. Protein tyrosine kinases and protein tyrosine phosphatases are involved in abscisic acid-dependent processes in *Arabidopsis* seeds and suspension cells. *Plant Physiol*, 2008, 148: 1668-1680
- [60] Barjaktarović Z, Schütz W, Madlung J, Fladerer C, Nordheim A, Hampf R. Changes in the effective gravitational field strength affect the state of phosphorylation of stress-related proteins in callus cultures of *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 2009, 60: 779-789
- [61] Zhou Y J, Gao F, Li X F, Zhang G F. Alterations in phosphoproteome under salt stress in *Thellungiella* roots. *Chinese Sci Bull*, 2010, 55: 3673-3679
- [62] Oecking C, Jaspert N. Plant 14-3-3 proteins catch up with their mammalian orthologs. *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12(6): 760-765
- [63] Faul C, Huttelmaier S, Oh J, Hachet V, Singer R H, Mundel P. Promotion of importin-mediated nuclear import by the phosphorylation-dependent binding of cargo protein to 14-3-3. *J Cell Biol*, 2005, 169(3): 415-424

欢迎订阅 2019 年《草地学报》

《草地学报》是中国科协主管、中国草学会主办、中国农业大学承办的学术刊物。本刊为中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国农业核心期刊、RCCSE 中国权威学术期刊,并被美国 CA 及 Thomson Reuters Master Journal List、英国 CABI 及 ZR、波兰 IC 等检索机构收录。同时为《中国科学引文数据库(CSCD)》、《中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)》、《中国学术期刊文摘》及其英文版源期刊,并被《中国核心期刊(遴选)数据库》、《万方数据-数字化期刊群》、《中国期刊全文数据库(CJFD)》、《中国生物学文摘》、《中国生物学文献数据库》、台湾《CEPS 中文电子期刊》收录,并荣获首届《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊奖。主要刊登国内外草地科学研究及相关领域的新成果、新理论、新进展,以研究论文为主,兼发少量专稿、综述、简报和硕博论文精要,主要面向从事草地科学、草地生态、草地畜牧业和草坪业及相关领域的高校师生和科研院、所、站的科研人员。

双月刊,每期定价 25 元,全年 150 元。国内外公开发行(国内邮发代号:80-135;国外代号:Q1949),若错过邮订时间,可直接向本刊编辑部订购(中国草学会会员订阅可优惠 30%)。

地址:北京市海淀区圆明园西路 2 号中国农业大学动科大楼 152 室

邮编:100193

电话:010-62733894

网址: <http://www.cdxb.org>

E-mail: cdxb@cau.edu.cn