

研究论文

高等植物葡萄糖-6-磷酸脱氢酶与6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因的不同进化起源

黄骥 侯夫云 王建飞 张红生^①

(南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室 南京 210095)

摘要 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶与6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶是植物戊糖磷酸途径中的两个关键酶。在克隆了水稻质体葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因*OsG6PDH2*和质体6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因*Os6PGDH2*基础上,分析比较了水稻胞质和质体葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因的基因结构、表达特性和进化地位。结合双子叶模式植物拟南芥两种酶基因的分析结果,认为高等植物葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因在进化方式上截然不同,葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的胞质基因与动物和真菌等真核生物具有共同的祖先;6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶的胞质酶和质体酶基因都起源于原核生物的内共生。讨论了植物葡萄糖-6-磷酸脱氢酶与6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因可能的进化模式,为高等植物及质体的进化起源提供了新的资料。

关键词 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶, 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶, 基因结构, 进化, 水稻

Evolution Styles of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and 6-Phosphogluconate Dehydrogenase Genes in Higher Plants

HUANG Ji HOU Fu-Yun WANG Jian-Fei ZHANG Hong-Sheng^①

(State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGDH) are key enzymes in the plant pentose phosphate pathway. This paper introduces the isolation of two rice cDNAs encoding plastid G6PDH and 6PGDH and describes the analysis of the genes structure, expression profiling and phylogenetic tree of all four G6PDH and 6PGDH genes: *OsG6PDH1* for cytosolic G6PDH, *OsG6PDH2* for plastid G6PDH, *Os6PGDH1* for cytosolic 6PGDH, and *Os6PGDH2* for plastid 6PGDH. In higher plants, the distinct evolution styles of G6PDH and 6PGDH reveal that plant cytosolic G6PDH gene may have a common ancestor with animal and fungi, while cytosolic 6PGDH and its plastid isozyme both have an endosymbiotic gene-replacement origin. This paper discusses the possible evolution styles of G6PDH and 6PGDH enzymes and supplies new data on the evolution of higher plants and their plastids.

Key words Glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, Gene structure, Evolution, Rice

^①通讯作者。Author for correspondence. E-mail: hszhang@njau.edu.cn

收稿日期: 2004-08-02 接受日期: 2005-02-02 责任编辑: 孙冬花

戊糖磷酸途径(pentose phosphate pathway, PPP)是植物体中糖代谢的重要途径,其主要功能是产生供生物合成所需的还原力NADPH以及核酸合成的戊糖(Wood, 1986)。对菠菜的戊糖磷酸途径研究结果表明完整的PPP发生在植物的质体中,但在胞质中也发现了PPP的两个关键酶,葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PDH, EC1.1.1.49)和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6-phosphogluconate dehydrogenase, 6PGDH, EC1.1.1.44)的活性(Schnarrenberger *et al.*, 1995)。因此认为戊糖磷酸途径的发生途径主要在质体中,胞质中戊糖磷酸途径的一些中间产物通过转运体进入质体中完成完整的PPP(黄骥等, 2004)。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶催化戊糖磷酸途径的第1步反应,即6-磷酸葡萄糖的脱氢,是PPP途径的限速步骤。目前在马铃薯(Graeve *et al.*, 1994)和小麦(Nemoto and Sasakuma, 2000)中分离了胞质G6PDH基因,在马铃薯(Schaeuwen *et al.*, 1995)、菠菜(Schnarrenberger *et al.*, 1995)和烟草(Knight *et al.*, 2001)中分离了质体G6PDH基因。6PGDH是PPP途径的另一限速酶,催化6-磷酸葡萄糖酸脱氢后生成5-磷酸核酮糖。Tanksley和Kuehn (1985)通过凝胶电泳发现了番茄中存在4种6PGDH,其中3种存在于胞质,1种位于质体。目前在苜蓿(Fahrendorf *et al.*, 1995)和玉米(Redinbaugh and Campbell, 1998)中分离了胞质6PGDH基因,而仅在菠菜(Krepinsky *et al.*, 2001)中分离了其质体基因。

戊糖磷酸途径是植物中重要的代谢途径,主要在细胞的质体中发生,因此戊糖磷酸途径是被用来进行高等植物及质体进化分析的很好素材。而G6PDH和6PGDH分别是戊糖磷酸途径的两个关键酶,因此通过这两个酶的研究有望获得高等植物进化的新资料。对于高等植物质体的起源,一般认为

是原核生物(蓝细菌)通过内共生成为植物的细胞器,在进化过程中有些基因进入了植物基因组,转移进入植物基因组的基因产物在转运肽的引导下重新返回细胞器行使功能(Weeden, 1981)。但是并不是所有这样的基因经细胞核编码后全部都返回质体行使功能,在进化过程中,有些也进入了细胞的其他区间(Weeden, 1981)。Krepinsky等(2001)通过系统发生树的研究认为6PGDH起源于蓝细菌的内共生,但对于G6PDH和6PGDH的比较研究还很少,对于二者进化起源的详细机制也没有进行较为明确的阐述,同时除了系统发生树之外还缺乏实验上的证据。

随着基因组计划的发展,越来越多的真核生物和原核生物进行了全基因组的序列测定。对于生物的进化研究无疑起了巨大的推动作用,使我们有可能在一个生物体内进行深入的研究。借助于水稻基因组和EST资料,我们已经克隆了水稻G6PDH和6PGDH的胞质基因OsG6PDH1(黄骥等, 2002a)和Os6PGDH1(Huang *et al.*, 2003),在此基础上,又首次从水稻中克隆了两个酶的质体基因OsG6PDH2和Os6PGDH2。通过对这4个基因的结构、表达特性以及进化地位差异的比较研究,认为高等植物葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因在进化起源方式上截然不同,从而在基因结构上为6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因的内共生起源提供新的实验证据,也为高等植物及质体的进化起源提供了新的资料。

1 材料和方法

1.1 植物材料

太湖流域粳稻地方品种‘韭菜青’,由南京农业大学水稻研究所提供。材料的培养和取样参考黄骥等(2002a)介绍的方法进行。

1.2 RNA的提取和cDNA第一链的合成

RNA的抽提采用上海华舜公司的Trizol System IV试剂, RNA经过甲醛变性凝胶电泳确认其完整性后, 再经过DNase I处理。2 μg的总RNA用于cDNA第一链的合成(promega)。

1.3 OsG6PDH2和Os6PGDH2的克隆与序列测定

分别以拟南芥质体G6PDH(GenBank AC: AJ001359)和菠菜质体6PGDH的氨基酸序列(Krepinsky *et al.*, 2001)为信息探针, 通过Blast程序搜索位于GenBank的水稻dbEST和基因组数据库, 经过EST拼接和基因组结构预测, 获得了OsG6PDH2和Os6PGDH2的预测cDNA序列。根据预测的两个基因的cDNA序列, 设计特异引物(表1), 通过RT-PCR的方法从水稻幼苗组织中克隆了OsG6PDH2和Os6PGDH2基因。OsG6PDH2和Os6PGDH2经与pGEM-T载体连接及转化大肠杆菌JM109后由上海基康公司完成序列测定。

1.4 基因结构分析

将获得的cDNA序列与GenBank中的基因组数据(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)(分别来源于华大基因中心和IRGSP)进行比较, 分析外显子与内含子的大小和位置。

1.5 组织表达分析

分别以水稻根和叶的第一链cDNA为模板进行半定量RT-PCR表达谱分析, 同时设定actin为内部参照, PCR引物序列见表1, PCR扩增程序及cDNA模板浓度的调整参考

黄骥等(2002a)方法。

1.6 系统发生树的重建

分别将GenBank中注册的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因的完整氨基酸序列经过Clustalx软件(版本1.8)进行多序列比较后, 利用Phylip软件包(版本3.6)绘制相邻连接法(neighbor-joining method)(Saitou and Nei, 1987)系统发生树, 用TreeView程序显示绘制的进化树结果。

2 结果与分析

2.1 水稻OsG6PDH2和Os6PGDH2的克隆与序列分析

分别利用编码拟南芥质体G6PDH蛋白和菠菜质体6PGDH蛋白的氨基酸序列与水稻基因组序列的比较, 借助EST拼接和基因结构预测软件的帮助, 获得水稻G6PDH和6PGDH的基因编码顺序, 成功克隆了两个新的水稻葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因OsG6PDH2和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因Os6PGDH2。经过序列测定, OsG6PDH2全长1 768 bp, Os6PGDH2全长1 480 bp。经过BioXM软件分析, OsG6PDH2和Os6PGDH2的完整ORF分别编码了588个和508个氨基酸, 分别与胞质基因OsG6PDH1与Os6PGDH1的氨基酸相似性为49%与66%。在OsG6PDH2的N端, 我们发现一个55个氨基酸的转运肽序列, 推测的裂解位点在第55位的甘氨酸Gly和56位的丙氨酸之间; 在Os6PGDH2的N端, 我们发现一个37个氨基酸残基的转运肽序列, 裂解位点在第37

表1 文中基因的PCR引物序列

Table 1 The sequences for PCR primers used in this paper

Gene	Primer sequences	
OsG6PDH1	5'-cggatatattgctaaggaaga-3'	5'-tgtctgtctatgcaagggtg-3'
OsG6PDH2	5'-catggcgctctcctcatg-3'	5'-atcatctgggtcatgccttc-3'
Os6PGDH1	5'-tccgcgatttcgtcagttac-3'	5'-atggagatagctatggacctc-3'
Os6PGDH2	5'-tcgccaccatgggccaga-3'	5'-tcctcaaatggccgacc-3'
actin	5'-ggaactggatggtcaaggc-3'	5'-agtctcatggataaccacag-3'

表 2 G6PDH 和 6PGDH 的基因结构

Table 2 The structures for G6PDH and 6PGDH genes in higher plants

Enzyme	Species	Gene	Number of introns in coding region	Type	GenBank No.
G6PDH	<i>Oryza sativa</i>	<i>OsG6PDH1</i>	14	Cytosolic	AY078072
		<i>OsG6PDH2</i>	9	Plastid	AY339367
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtG6PDH1</i>	14	Cytosolic	AY065054
		<i>AtG6PDH2</i>	8	Plastid	AY065042
		<i>AtG6PDH3</i>	7	Plastid	AJ001359
	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>TOBAp</i>	9	Plastid	AF231351
6PGDH	<i>Oryza sativa</i>	<i>Os6PGDH1</i>	0	Cytosolic	AF486280
		<i>Os6PGDH2</i>	0	Plastid	AY278362
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>At6PGDH1</i>	0	Cytosolic	AF424591
		<i>At6PGDH2</i>	0	Plastid	AY125503

位的丙氨酸 Ala 和第 38 位的亮氨酸 Leu 之间。因此我们认为 *OsG6PDH2* 编码质体 G6PDH，而 *Os6PGDH2* 编码质体 6PGDH。在联机比较分析中，没有发现与 *OsG6PDH2* 和 *Os6PGDH2* 相同的已发表的水稻基因序列，*OsG6PDH2* 和 *Os6PGDH2* 系我们分离的新基因，在 GenBank 中的登录号见表 2。

2.2 水稻 *OsG6PDHs* 与 *Os6PGDHs* 的基因结构分析

我们将分离得到的所有 4 个水稻葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因的 cDNA 序列与水稻基因组序列进行比较，分析其内含子和外显子结构，结果表明水稻葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的胞质和质体基因都含有多个内含子结构(表 2)，而 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶的胞质和质体基因在完整 ORF 内都不含有内含子结构。此外我们用同样的方法分析了双子叶模式植物拟南芥两种酶基因的基因结构以及一个烟草质体 G6PDH 基因(Knight *et al.*, 2001)的基因结构。基因结构的结果显示，所有高等植物葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因的编码区部分均含有多个内含子结构，而所有分析的植物 6PGDH 的基因在编码区均不含有内含子结构。

2.3 水稻 *OsG6PDHs* 与 *Os6PGDHs* 的组织表达分析

利用半定量 RT-PCR 的方法我们分析了

4 个水稻葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因在绿色组织叶片和非绿色组织根中的表达。研究结果表明，在检测的组织中，葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因的表达相对较高，*OsG6PDH1* 和 *OsG6PDH2* 在根和叶片中的表达基本一致(图 1)，但 *Os6PGDH1* 和 *Os6PGDH2* 在根与叶片中的表达不同，*Os6PGDH1* 编码胞质酶，在根和叶片中的表达都很低，尤其在叶片中几乎检测不到表达(图 1A)，但 *Os6PGDH2* 在叶片中的表达则略高于根(图 1B)。

2.4 G6PDH 和 6PGDH 的进化分析

通过 GenBank/EMBL/DBJ 的氨基酸数据库检索，我们得到了从低等生物到高等生物已经在数据库中发表的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因的氨基酸序列。利用 Phylip 软件包，绘制了基于相邻连接法的 G6PDH 和 6PGDH 系统发生树(图 2，图 3)。由于进化树分析的生物包括低等的原核生物到高等的真核生物，涵盖多个门类，因此认为进化树具有一定的代表性。两棵进化树的分子进化过程与生物物种的整体进化过程，即由低到高，由简单到复杂的演变过程一致，这种一致性也表明了 G6PDH 和 6PGDH 在生物体的生命活动过程中担负着重要的使命。

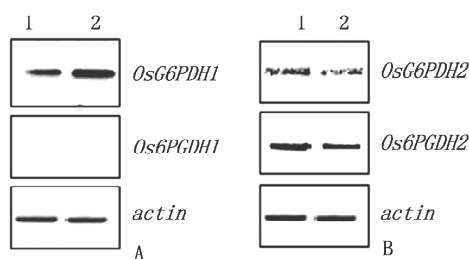


图1 *OsG6PDHs* 和 *Os6PGDHs* 在水稻根和叶片中表达的半定量 RT-PCR 分析

A. 胞质葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因 *OsG6PDH1* 和胞质 *Os6PGDH1* 基因在水稻根和叶片中的表达; B. 质体葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因 *OsG6PDH2* 和质体 *Os6PGDH2* 基因在水稻根和叶片中的表达; 1. 根; 2. 叶

Fig.1 The semi-quantity RT-PCR analysis of *OsG6PDHs* and *Os6PGDHs* in rice roots and leaves

A. The expression of *OsG6PDH1* and *Os6PGDH1* in rice roots and leaves; B. The expression of *OsG6PDH2* and *Os6PGDH2* in rice roots and leaves; 1. Root; 2. Leaf

在 G6PDH 的系统发生树中(图 2)明显地将生物分为真核生物(eukaryote)和真细菌(eubacteria),真核生物中的 G6PDH 又分为 3 个分支:来源于动物和高等植物的胞质酶、真菌(酵母)来源以及来源于绿藻和高等植物的质体酶;剩余的 G6PDH 则来源于真细菌类,如蓝细菌(cyanobacteria)(图 2C)等。水稻的胞质 G6PDH(*O.sativa*-1, 示相应的蛋白质名,下同)与小麦胞质 G6PDH(*T.aestivum*)同为单子叶植物胞质 G6PDH 而同属一分支,而双子叶植物拟南芥(*A.thaliana*-1)、烟草(*N.tabacum*-1)和苜蓿(*M.sativa*)胞质 G6PDH 则属于另一分支,两个分支结合甜杨(*P.suaveolens*)的胞质酶,共同组成了高等植物胞质 G6PDH 分支(图 2A)。水稻的质体 G6PDH(*O.sativa*-2)则与烟草(*N.tabacum*-2, *N.tabacum*-3)和拟南芥(*A.thaliana*-2, *A.thaliana*-3)等高等植物质体 G6PDH 则处于另一个分支(图 2B)。此外,包括人(*H.sapiens*)、小鼠(*M.cusculus*)和果蝇(*D.melanogaster*)等动物 G6PDH 酶也被分

为了一个分支,但值得注意的是动物 G6PDH 酶与高等植物胞质 G6PDH 被分为了一个较大的分支。系统发生树将属于绿藻的 G6PDH(*D.bioculata*)与高等植物的质体 G6PDH 归属于同一个分支(图 2B),验证了高等植物质体起源于绿藻的假说。

在 6PGDH 的系统发生树中(图 3),6PGDH 的分类方式明显与 G6PDH 不同,被分为了 3 个大类:植物和蓝细菌、动物与真菌以及除了蓝细菌以外的其他真细菌。水稻的胞质 6PGDH(*O.sativa*-1)与玉米(*Z.may*-1, *Z.may*-2)同为单子叶植物 6PGDH 而同属一分支,而双子叶植物拟南芥(*A.thaliana*-1)、大豆(*G.max*)、菠菜(*S.oleracea*-1)和苜蓿(*M.sativa*)等胞质 6PGDH 则属于另一分支,其中苜蓿和大豆的进化地位完全一致(图 3A);水稻(*O.sativa*-2)、拟南芥(*A.thaliana*-2)和菠菜(*S.oleracea*-2)质体 6PGDH 则处于另一个分支(图 3B),两个分支共同组成了高等植物的 6PGDH。褐藻 6PGDH(*L.digitata*)与高等植物 6PGDH 被分为了同一个大的分支,表明了与高等植物的近缘关系,也说明了褐藻 6PGDH 的进化先于高等植物胞质和质体酶的分化。此外,图中的蓝细菌(图 3C)则明显地与植物 6PGDH 进化地位相近,暗示了 6PGDH 的内共生起源。在 6PGDH 的系统发生树中,动物和真菌的 6PGDH 与植物和蓝细菌的 6PGDH 进化关系上相距较远,表明了它们之间较远的亲缘关系。

从 G6PDH 和 6PGDH 的系统发生树我们可以得出以下结论:1)高等植物胞质 G6PDH 基因在进化地位上更接近于动物的 G6PDH 基因,而与质体 G6PDH 基因则不在同一个分支;2)高等植物 G6PDH 基因与蓝细菌 G6PDH 基因在进化地位上相距较远;3)高等植物胞质 6PGDH 与质体 6PGDH 基因进化地位接近,处于相同分支,且都与动物和真菌的 6PGDH 相距较远;4)胞质和质体 6PGDH 与蓝细菌的

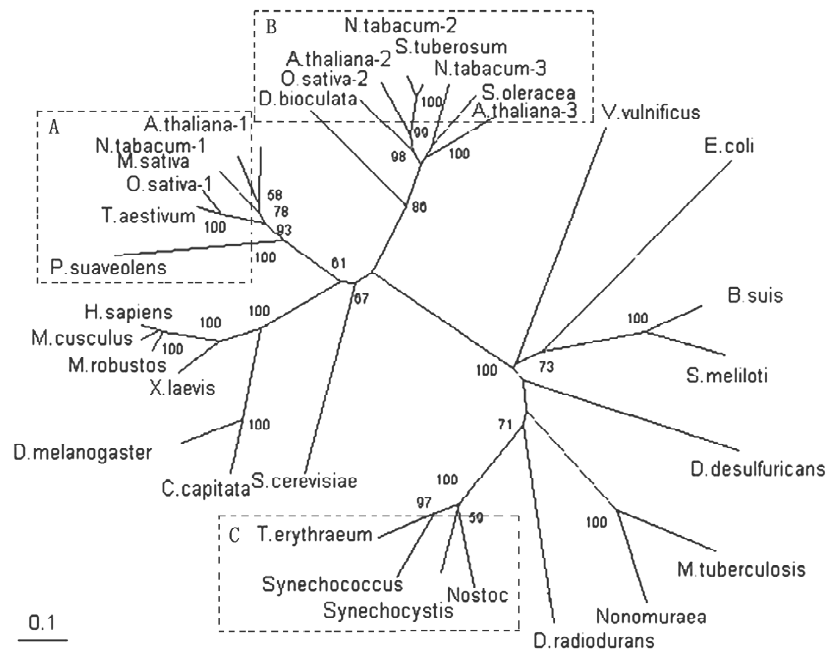


图2 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PDH)的系统发生树分析

虚线框 A 表示来自于高等植物胞质 G6PDH, 虚线框 B 表示来自高等植物质体以及 1 个绿藻 G6PDH (*D. bioculata*), 虚线框 C 则表示来自于蓝细菌 G6PDH, 图中拉丁名表示相应的 G6PDH 蛋白质名。图中数字表示 Bootstrap 法确定的可信任百分比。左下方标尺为 0.1 进化距离单位。系统发生树中的各种生物的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的氨基酸序列来源于 GenBank。系统发生树采用相邻连接法绘制, TreeView 软件显示系统发生树的绘制结果

Fig.2 Unrooted phylogenetic tree inferred from amino acid sequences of G6PDH genes from various organisms. The cytosolic G6PDH in higher plants(boxed in A), plastid G6PDH in higher plants(B) and G6PDH from cyanobacteria (C) are boxed respectively. The Latin words represent the protein names of G6PDH from corresponsive organisms. The numbers near branches indicate the bootstrap proportion for 100 replicas. The scale bar indicates 0.1 substitutions per site. The amino acids for G6PDH from various organisms are extracted from nr database in GenBank. The tree was constructed with neighbor-joining method using Phylip software. The tree was viewed using TreeView software

6PGDH 处于同一个大分支, 进化关系较近。

3 讨论

水稻全基因组序列资料的公布(Yu *et al.*, 2002; Goff *et al.*, 2002)为在单子叶模式植物中研究各种重要的生理生化事件提供了便利(黄骥等, 2002b)。本文分别利用来自其他物种的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因的氨基酸序列, 通过电子克隆的策略, 从水稻中克隆了上述两个酶的同源基因, 这是在同一物种中 4 个基因

的首次分离, 在分子水平上促进了戊糖磷酸途径的深入研究。本文主要报道了编码戊糖磷酸途径两个关键酶基因(胞质葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因 *OsG6PDH1* 及其质体酶基因 *OsG6P-DH2*、胞质 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因 *Os6PGDH1* 及其质体酶基因 *Os6PGDH2*)在基因结构、mRNA 表达水平以及进化地位上的异同, 认为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因明显具有不同的进化方式, 为高等植物及质体的进化起源研究提供了新的资料。

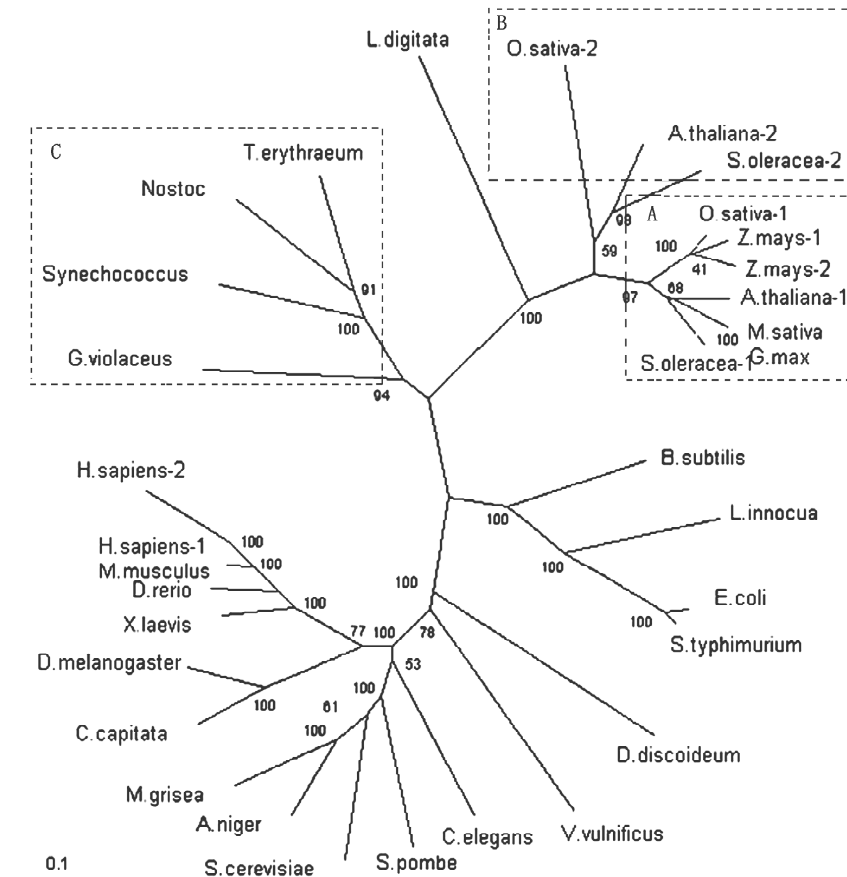


图3 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6PGDH)的系统发生树分析

虚线框 A 表示来自于高等植物胞质 6PGDH, 虚线框 B 表示来自高等植物质体 6PGDH, 虚线框 C 则表示来自于蓝细菌 6PGDH。左下方标尺为 0.1 进化距离单位。系统发生树中的各种生物的 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶的氨基酸序列来源于 GenBank。系统发生树采用相邻连接法绘制

Fig.3 Unrooted phylogenetic tree inferred from amino acid sequences of 6PGDH genes from various organisms. The cytosolic 6PGDH in higher plants (boxed in A), plastid 6PGDH in higher plants (B) and 6PGDH from cyanobacteria (C) are boxed respectively. The scale bar indicates 0.1 substitutions per site. The amino acids for 6PGDH from various organisms are extracted from nr database in GenBank. The tree was constructed with neighbor-joining method using Phylip software

OsG6PDH1、*OsG6PDH2* 以及拟南芥的 G6PDH 基因都含有多个内含子结构, 但胞质 G6PDH 比质体 G6PDH 的内含子数目要多(表 2)。在氨基酸序列上, 胞质 G6PDH 与质体 G6PDH 也有较大差异。结合系统发生树的绘制结果, 我们认为高等植物 G6PDH 的胞质酶和质体酶基因的进化方式可能不同。根据已经测序完成的部分古细菌的基因组测序结果, G6PDH 基因在古细菌中是不存在的, 对

此 Wendt 等(1999)的解释是, 要么古细菌在进化中丢失了 G6PDH, 要么是真细菌中才进化出现的, 而后再通过内共生转移进入了真核生物基因组中。但系统发生树的结果(图 2)并不能证实 G6PDH 的内共生起源。根据 G6PDH 的胞质基因与质体基因在进化及基因结构上的差异, 我们假设, 在内共生发生之前, 动植物分化之前的原始真核生物的基因组就已经具备了 G6PDH 基因, 逐步进化形成

了今天的高等植物和动物的胞质基因；对于质体 G6PDH，可能是蓝细菌的 G6PDH 基因在内共生过程中丢失，被原始真核生物基因组中的另一种 G6PDH 基因所取代。究竟 G6PDH 有没有在古细菌中存在过还难以定论，如果没有，对于目前古细菌是真核生物直接起源的假说可能是一个挑战。

6PGDH 的系统发生树结果表明了高等植物的胞质和质体 6PGDH 基因的内共生起源。Os6PGDH1、Os6PGDH2 以及拟南芥的 6PGDH 基因在编码区都没有内含子结构，也很好地佐证了 6PGDH 起源于原核生物。可能的假说是蓝细菌的 6PGDH 通过内共生进入原始植物基因组，分别形成了胞质酶基因和质体酶基因，质体酶基因重新返回质体行使功能。系统发生树的结果还表明，动物和真菌的 6PGDH 明显区别于植物与蓝细菌的 6PGDH 基因，但是与其他真细菌的 6PGDH 相对较近，表明了在于原始真核生物的内共生之前，6PGDH 基因即存在于原始真核生物基因组中，动物和真菌 6PGDH 基因的多内含子结构(如稻瘟病菌的 6PGDH 基因具有 5 个内含子，资料未列)也证实了这一点，但在后来的内共生过程中，原

始蓝细菌通过内共生成为了高等植物的质体，同时 6PGDH 基因进入植物基因组，取代了原来的植物 6PGDH 基因，在研究 3-磷酸甘油酸激酶的进化起源(Brinkmann and Martin, 1996)中也发现了类似的规律。根据 6PGDH 基因的结构和进化分析，我们假设，在内共生之前的原始真核生物进化早期即具备了 6PGDH 基因，线粒体内共生可能引入了来自紫细菌的 6PGDH，形成了今天的动物和真菌；而蓝细菌的内共生则替换了原始植物基因组中的 6PGDH 基因，形成了今天的高等植物。与 G6PDH 相同，我们也没有在古细菌基因组中发现 6PGDH 基因，G6PDH 与 6PGDH 不存在于古细菌中的现象势必对真核生物的起源研究具有重要的影响。

G6PDH 和 6PGDH 是戊糖磷酸途径的氧化阶段的两个关键酶，除了参与戊糖磷酸途径之外，尚未报道它们可能的其他功能或参与其他途径。进化分析表明了高等植物 G6PDH 和 6PGDH 基因的两个截然不同的进化方式，但是不是这种不同质性也暗示了两个基因在进化过程中的相对独立性以及除了参与戊糖磷酸途径之外，两个基因还存在其他生物学功能？

参 考 文 献

- 黄骥, 王建飞, 张红生 (2004) 植物戊糖磷酸途径及其两个关键酶研究进展. 植物学通报, 21: 189-194
- 黄骥, 王建飞, 张红生, 曹雅君, 林长发, 王东, 杨金水 (2002a) 水稻葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 cDNA 的电子克隆. 遗传学报, 29: 1012-1016
- 黄骥, 张红生, 曹雅君, 钱晓茵, 杨金水 (2002b) 水稻功能基因的电子克隆策略. 中国水稻科学, 16: 295-298
- Brinkmann H, Martin W (1996) Higher plant chloroplast and cytosolic 3-phosphoglycerate kinases: a case of endosymbiotic gene replacement. *Plant Molecular Biology*, 30: 65-75
- Fahrendorf T, Ni W, Shorrosh BS, Dixon RA (1995) Stress responses in alfalfa (*Medicago sativa* L.) XIX. transcriptional activative pentose phosphate pathway genes at the onset of the isoflavonoid phytoalexin response. *Plant Molecular Biology*, 28: 885-900
- Goff SA, Ricke D, Lan TH, Presting G, Wang R, Dunn M, Glazebrook J, Sessions A, Oeller P, Varma H, Hadley D, Hutchison D, Martin C, Katagiri F, Lange BM, Moughamer T, Xia Y, Budworth P, Zhong J, Miguel T, Paszkowski U, Zhang S, Colbert M, Sun WL, Chen L, Cooper B, Park S, Wood TC, Mao L, Quail P, Wing R, Dean R, Yu Y, Zharkikh A, Shen R, Sahasrabudhe S, Thomas A, Cannings R, Gutin A, Pruss D, Reid J, Tavtigian S, Mitchell J, Eldredge G, Scholl T, Miller RM, Bhatnagar S, Adey N,

- Rubano T, Tusneem N, Robinson R, Feldhaus J, Macalma T, Oliphant A, Briggs S (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science*, **296**: 92-100
- Graeve K, Schaewen A, Scheibe R (1994) Purification characterization and cDNA sequence of glucose-6-phosphate dehydrogenase from potato. *The Plant Journal*, **5**: 353-361
- Huang J, Zhang HS, Wang JF, Yang JS (2003) Molecular cloning and characterization of rice 6-phosphogluconate dehydrogenase gene that is up-regulated by salt stress. *Molecular Biology Reports*, **30**: 223-227
- Knight JS, Emes MJ, Phillip MD (2001) Isolation and characterization of a full-length clone encoding a plastidic glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Nicotiana tabacum*. *Planta*, **212**: 499-507
- Krepinsky K, Plaumann M, Martin W, Schnarrenberger C (2001) Purification and cloning of chloroplast 6-phosphogluconate dehydrogenase from spinach. *European Journal of Biochemistry*, **268**: 2678-2686
- Nemoto Y, Sasakuma T (2000) Specific expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) gene by salt stress in wheat. *Plant Science*, **158**: 53-60
- Redinbaugh MG, Campbell WH (1998) Nitrate regulation of the oxidative pentose phosphate pathway in maize (*Zea mays* L.) root plastids: induction of 6-phosphogluconate dehydrogenase activity, protein and transcript levels. *Plant Science*, **134**: 129-140
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for the construction of phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*, **4**: 406-425
- Schaewen A, Langenkamper G, Graeve K (1995) Molecular characterization of the plastidic glucose-6-phosphate dehydrogenase from potato in comparison to its cytosolic counterpart. *Plant Physiology*, **109**: 1327-1335
- Schnarrenberger C, Flechner A, Martin W (1995) Enzymatic evidence for a complete oxidative pentose phosphate pathway in chloroplasts and an incomplete pathway in the cytosol of spinach leaves. *Plant Physiology*, **108**: 609-614
- Tanksley SD, Kuehn GD (1985) Genetics, subcellular localization, and molecular characterization of 6-phosphogluconate dehydrogenase isozymes in tomato. *Biochemical Genetics*, **23**: 441-454
- Weeden NF (1981) Genetic and biochemical implications of the endosymbiotic origin of the chloroplast. *Journal of Molecular Evolution*, **17**: 133-139
- Wendt UK, Hauschild R, Lange C, Pietersma M, Wenderoth I, von Schaewen A (1999) Evidence for functional convergence of redox regulation in G6PDH isoforms of cyanobacteria and higher plants. *Plant Molecular Biology*, **40**: 487-494
- Wood T (1986) Distribution of the pentose phosphate pathway in living organisms. *Cell Biochemistry and Function*, **4**: 235-240
- Yu J, Hu S, Wang J, Wong GK, Li S, Liu B, Deng Y, Dai L, Zhou Y, Zhang X, Cao M, Liu J, Sun J, Tang J, Chen Y, Huang X, Lin W, Ye C, Tong W, Cong L, Geng J, Han Y, Li L, Li W, Hu G, Huang X, Li W, Li J, Liu Z, Li L, Liu J, Qi Q, Liu J, Li L, Li T, Wang X, Lu H, Wu T, Zhu M, Ni P, Han H, Dong W, Ren X, Feng X, Cui P, Li X, Wang H, Xu X, Zhai W, Xu Z, Zhang J, He S, Zhang J, Xu J, Zhang K, Zheng X, Dong J, Zeng W, Tao L, Ye J, Tan J, Ren X, Chen X, He J, Liu D, Tian W, Tian C, Xia H, Bao Q, Li G, Gao H, Cao T, Wang J, Zhao W, Li P, Chen W, Wang X, Zhang Y, Hu J, Wang J, Liu S, Yang J, Zhang G, Xiong Y, Li Z, Mao L, Zhou C, Zhu Z, Chen R, Hao B, Zheng W, Chen S, Guo W, Li G, Liu S, Tao M, Wang J, Zhu L, Yuan L, Yang H (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science*, **296**: 79-92