

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.23290

CSTR: 32231.14.PSJ.2095-0837.23290

贾雁茹, 靳雨璠, 焦元, 周映旭, 石杨, 陈稷, 陈雅妮, 黄衍焱, 黄进. 植物 Phytocyanin 蛋白家族研究进展 [J]. 植物科学学报, 2024, 42 ( 5 ) : 644~653

Jia YR, Jin YF, Jiao Y, Zhou YX, Shi Y, Chen J, Chen YN, Huang YY, Huang J. A review on the research progress of the Phytocyanin (PC) protein family [J]. *Plant Science Journal*, 2024, 42 ( 5 ) : 644~653

## 植物 Phytocyanin 蛋白家族研究进展

贾雁茹<sup>1</sup>, 靳雨璠<sup>1</sup>, 焦元<sup>1</sup>, 周映旭<sup>1</sup>, 石杨<sup>1</sup>,  
陈稷<sup>2</sup>, 陈雅妮<sup>1</sup>, 黄衍焱<sup>3\*</sup>, 黄进<sup>1\*</sup>

( 1. 成都理工大学生态环境学院, 成都 610059; 2. 四川农业大学农学院, 成都 611130;

3. 四川农业大学, 西南作物基因资源发掘与利用国家重点实验室, 成都 611130 )

**摘要:** 质体蓝素 (Phytocyanin, PC) 是植物特有的一类 I 型小分子蓝铜蛋白, 可在植物生长发育及应对逆境胁迫过程中发挥调控作用。但目前对 PC 蛋白的功能研究较为有限, 其分子作用机制尚不清楚。本文综述了 PC 蛋白的结构特征、分类及其基因的表达模式, 并对近年来 PC 蛋白调控植物生长发育、应对生物及非生物胁迫方面的研究进展进行了总结。此外, 对未来研究方向及面临的挑战进行了讨论, 旨在为进一步理解 PC 蛋白的分子作用机制及植物抗逆品种的选育提供参考。

**关键词:** 质体蓝素; 基因功能; 分子机制; 逆境胁迫

中图分类号: Q946.1

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837 ( 2024 ) 05-0644-10

## A review on the research progress of the Phytocyanin (PC) protein family

Jia Yanru<sup>1</sup>, Jin Yufan<sup>1</sup>, Jiao Yuan<sup>1</sup>, Zhou Yingxu<sup>1</sup>, Shi Yang<sup>1</sup>, Chen Ji<sup>2</sup>,  
Chen Yani<sup>1</sup>, Huang Yanyan<sup>3\*</sup>, Huang Jin<sup>1\*</sup>

( 1. College of Ecology and Environment, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China; 2. College of Agriculture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 3. State Key Laboratory of Crop Gene Exploration and Utilization in Southwest China, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China )

**Abstract:** Phytocyanins (PCs) are a class of plant-specific type I small-molecule blue-copper proteins involved in regulating plant growth, development, and stress responses. Despite their importance, functional analysis of PC proteins remains limited, and their molecular mechanisms are not fully understood. This review examines the structural features, classification, and expression patterns of PC proteins. In addition, it summarizes recent advancements in the study of PC proteins, focusing on their roles in plant growth, development, and responses to biotic and abiotic stresses. Unresolved issues and challenges in PC research are also discussed. This work aims to provide a theoretical reference for understanding the molecular mechanisms of PC proteins and for breeding stress-resistant crop cultivars.

**Key words:** Phytocyanin; Gene function; Molecular mechanism; Stress

铜 (Cu) 作为细胞维持正常生理功能所必需的一种微量元素, 主要以离子形式 ( $\text{Cu}^{2+}$  或  $\text{Cu}^+$ )

与蛋白质结合形成铜蛋白, 参与细胞内的电子传递、光合磷酸化、氧运输、铁代谢等一系列生命

收稿日期: 2023-10-11, 接受日期: 2023-12-01。

基金项目: 四川省自然科学基金项目 (2023NSFSC1270); 西南作物基因资源发掘与利用国家重点实验室开放基金课题 (SKL-KF202316)。

作者简介: 贾雁茹 (2001-), 女, 硕士研究生, 研究方向为分子生物学与基因工程 (E-mail: 2685611134@qq.com)。

\* 通信作者 (Authors for correspondence. E-mail: huangjin18@cdut.edu.cn; hyy@sicau.edu.cn)。

活动<sup>[1]</sup>。为了便于对数量大、种类庞杂的铜蛋白家族进行研究, Malkin 等<sup>[2]</sup>利用光谱分析和电子顺磁共振波谱分析等方法, 将铜蛋白分为 I、Ⅱ、Ⅲ型。蓝铜蛋白 (Blue copper proteins, BCP) 属于 I 型铜蛋白, 是一种顺磁性的 Cu<sup>2+</sup>结合蛋白, 主要包括小分子蓝铜蛋白 (Small blue proteins)、蓝铜氧化酶 (Blue oxidases)、凝血因子 (Coagulation factors) 3 个亚类<sup>[3]</sup>。研究表明, BCP 最早于细菌中被发现, 随后发现也广泛存在于植物中, 且在细菌和植物中多以小分子蓝铜蛋白的形式存在<sup>[4]</sup>。此外, BCP 可能主要通过调控电子从供体转移至受体的过程来参与光合玫瑰菌和植物的光合作用<sup>[5]</sup>。

质体蓝素 (Phytocyanin, PC) 是一类植物特有的 I 型小分子蓝铜蛋白, 具有典型的蓝色吸收峰和紫外荧光发射峰<sup>[6]</sup>。大部分 PC 蛋白都具有铜结合中心。在铜结合中心, Cu<sup>2+</sup>与 PC 蛋白上的两个组氨酸 (His)、一个半胱氨酸 (Cys)、一个甲硫氨酸 (Met) 或一个谷氨酰胺 (Gln) 残基配位, 形成一个四配位平面正方形结构<sup>[7-9]</sup> (图 1)。根据是否具有铜结合中心及配位氨基酸残基的种类, 植物 PC 蛋白可被进一步分为 4 个亚家族: 早期结瘤素样蛋白 (Early nodulin-like protein, ENODL)、花青苷样蛋白 (Uclacyanin-like protein, UCL)、漆树蓝样蛋白 (Stellacyanin-like protein, SCL) 和质体蓝素样蛋白 (Plantacyanin-like protein, PLCL)<sup>[10, 11]</sup>。4 个亚家族成员间的氨基酸组成存在明显差异 (附图 1<sup>1</sup>), 这可能是造成植物

PC 蛋白结合其他分子或者互作能力差异的原因, 同时也使得 PC 家族成员的功能呈现多样性。

PC 蛋白广泛存在于不同的植物当中, 可能参与多种生理、生化过程, 如电子传递、氧化还原反应、根瘤形成和叶片衰老等。PC 蛋白家族成员间功能上的不同, 除了氨基酸组成的差异, 还可能与其在不同植物种类、组织、发育阶段及环境影响下表达模式的差异, 以及其在细胞中的定位差异有关。如, UCL 蛋白主要存在于拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) 等双子叶植物中, 定位于细胞质外体, 可能参与花粉壁发育或凯氏带的形成和稳定过程<sup>[12-14]</sup>, 而另一亚家族的 SCL 蛋白则多在细胞质和细胞器中高表达, 主要参与抗氧化反应和激素的合成<sup>[15-18]</sup>。此外, PLCL 蛋白也被发现主要定位于叶绿体中, 可能参与植物光合作用电子传递和信号传导等过程<sup>[19-22]</sup>, 而 ENODL 蛋白则主要在豆科植物的根瘤中表达, 可能参与根瘤形成和固氮等过程<sup>[23, 24]</sup>。

近年来, 随着基因组测序技术的发展和应用, 研究人员已经对拟南芥<sup>[25]</sup>、水稻<sup>[10]</sup> (*Oryza sativa* L.)、玉米<sup>[26]</sup> (*Zea mays* L.)、蒺藜苜蓿<sup>[27]</sup> (*Medicago truncatula* Gaertn.)、白菜<sup>[28]</sup> (*Brassica rapa* var. *glabra* Regel)、甘蓝型油菜<sup>[29]</sup> (*Brassica napus* L.)、棉花<sup>[30, 31]</sup> (*Gossypium hirsutum* spp.)、铁皮石斛<sup>[32]</sup> (*Dendrobium officinale* Kimura & Migo)、蝴蝶兰<sup>[33]</sup> (*Phalaenopsis aphrodite* Rchb. f.)、杨<sup>[34]</sup> (*Populus*)、大豆<sup>[35]</sup> (*Glycine max* (L.) Merr.) 等植物中 PC 蛋白基因家族成员的分布、分类和进化关系进行了较为系统的研究。其中, 我们对拟南芥、水稻、棉花和大豆的 PC 蛋白进化关系进行了分析并作图 (相关序列见附表 1<sup>2</sup>), 由图 2 可以了解这些植物之间的亲缘关系。此外, 对其在不同组织、发育阶段以及不同环境条件下的表达模式也进行了分析比较<sup>[10, 25-35]</sup>。同时, 通过转基因技术和分子生物学方法, 研究者对 PC 蛋白在植物生长发育和环境适应过程中所发挥的作用也进行了探索。如, 在豆科植物中, 一些 PC 蛋白被证实能够促进植物根瘤的形成, 并提高固氮效率<sup>[23, 24, 36]</sup>。在拟南芥中, PC 蛋白受 PIFs 转录因子和 miR408 的调控, 参与调

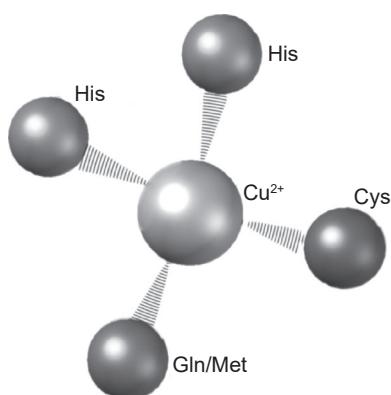
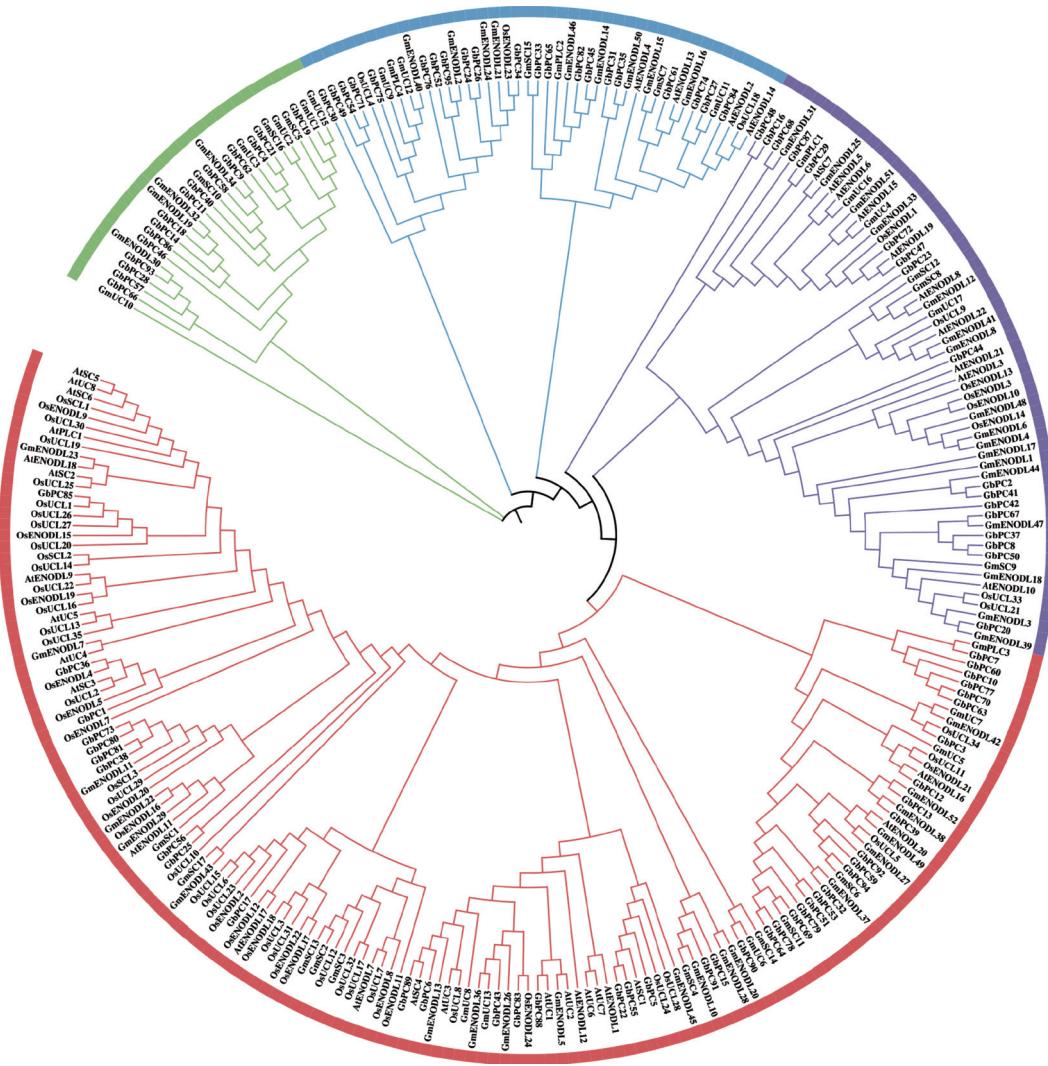


图 1 PC 蛋白氨基酸残基和 Cu 构成的四配位平面正方形结构

Fig. 1 Four coordinate planar square structure composed of four amino acid residues and Cu



不同颜色代表 PC 蛋白的不同分支。

Different color represents different branches of PC proteins.

图2 不同植物中PC蛋白的系统发育分析  
Fig. 2 Phylogenetic analysis of PC proteins from different plant species

节叶片衰老过程<sup>[21]</sup>。这些研究结果为揭示 PC 蛋白在植物生命活动中的重要作用提供了依据。

总之，PC蛋白作为一类具有结构特异性和功能多样性的I型蓝铜蛋白，其家族成员在结构域、铜配体残基、光谱特性等方面存在的差异，反映了它们可能在不同的生理过程和逆境胁迫适应过程中发挥着不同的作用。然而，目前对于PC蛋白的研究尚处于初级阶段，需要进一步探究其在植物生长发育以及抗逆境胁迫中发挥的生物学功能和相关作用机制。本文总结了PC蛋白的结构特征、分类和表达模式，并讨论了PC蛋白功能研究中所面临的挑战和问题，为进一步在分子水平上阐明其生物学功能提供参考。

## 1 植物PC蛋白的结构特征及基因表达模式分析

## 1.1 结构特征及分类

植物 PC 蛋白由一条或两条多肽链组成，每条多肽链约 100 个氨基酸残基。大多数植物 PC 蛋白的分子量在 10~20 kDa。PC 蛋白的三级结构一般由 8 个反向平行  $\beta$  折叠和两个  $\alpha$  螺旋组成，形成一个类似桶状的结构，而其结合的  $Cu^{2+}$  则位于桶顶部的中心位置<sup>[37]</sup>。此外，PC 蛋白一般由 4 个结构域组成。其中，结构域 I 为内质网靶向信号序列（Signal peptide, SP），负责将 PC 蛋白运输到细胞外。结构域 II 为铜结合结构域（Plastocyanin-）

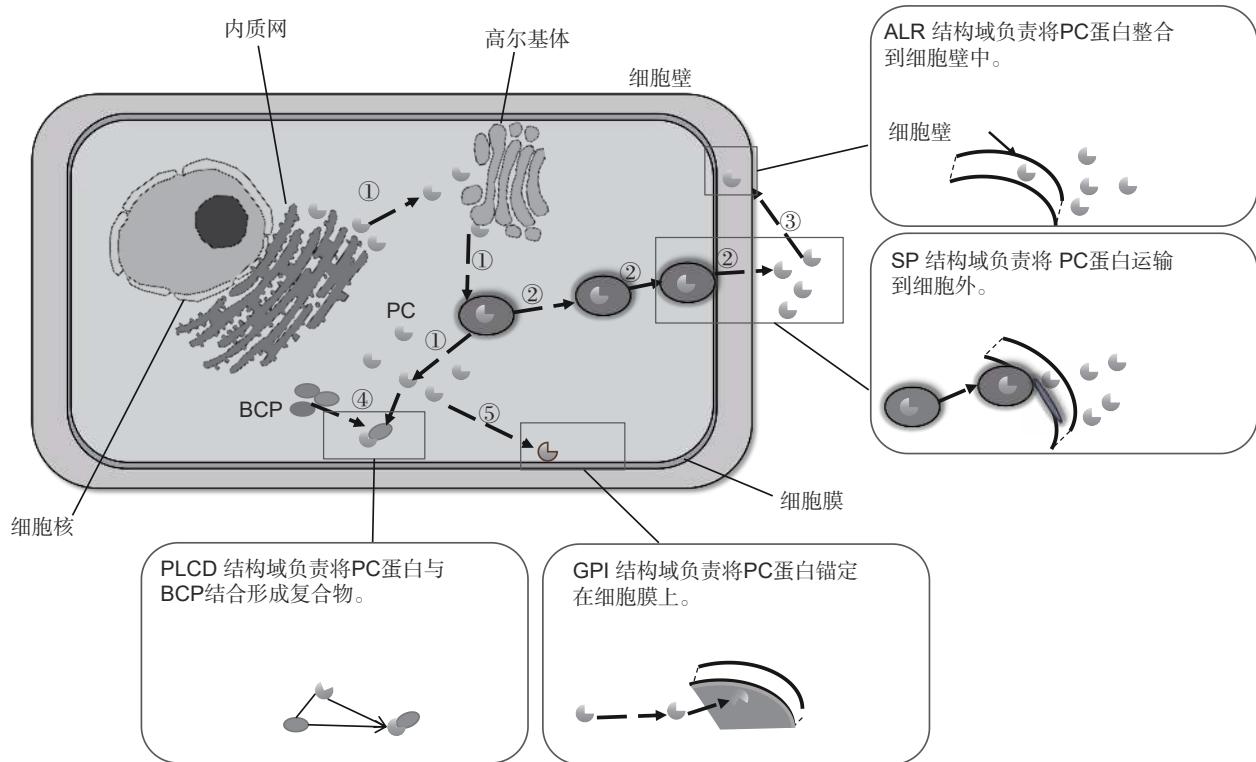
like domain, PLCD), 属于铜氧还蛋白 (Cupredoxin), 具有 I型蓝铜蛋白结合位点, 并含有 N-连接糖基化位点。结构域Ⅲ为类似于植物细胞壁糖蛋白的阿拉伯半乳糖蛋白 (Arabinogalactan protein (AGP)-like region, ALR) 结构, 富含 Ala、Pro、Ser、Thr 和 Gly 等残基, 并含有回文序列, 可确保 PC 蛋白能够被整合到细胞壁中并完成组装<sup>[38, 39]</sup>。结构域Ⅳ为 Glycosylphosphatidylinositol (GPI) 锚定信号序列, 使带有 GPI 的 PC 蛋白具有锚定到细胞膜的能力<sup>[11]</sup> (图 3)。这些结构域共同决定了 PC 蛋白的结构和功能特性、亚细胞定位及潜在的生物学功能。

根据 4 个结构域的存在与否及数量差异, PC 蛋白可被划分为 I~IX 型 9 个亚类 (图 4)。除 VII~IX 型外, 其他类型的 PC 蛋白因具有蛋白分泌所需的 N 端信号肽 (SP), 可被引导至内质网并进入分泌途径。V 和 VI 型有两个 PLCD, 这可能源于结构域的复制。II、IV、VI 和 VIII 型则具有 C 端

GPI anchor signal (GAS), 暗示这些类型的 PC 蛋白可通过 GPI 锚定到质膜。此外, 同时含有 SP 和 ALR 域的 4 类 (III~VI 型) PC 蛋白被划入 AGP 蛋白家族<sup>[36]</sup>。不同植物中的 PC 蛋白家族成员数目和结构特征存在较大差异, 反映出它们在进化过程中可能发生了复杂的扩增和重组事件, 因此, PC 蛋白家族成员间的进化关系尚待进一步明确<sup>[28]</sup>。

## 1.2 基因表达模式

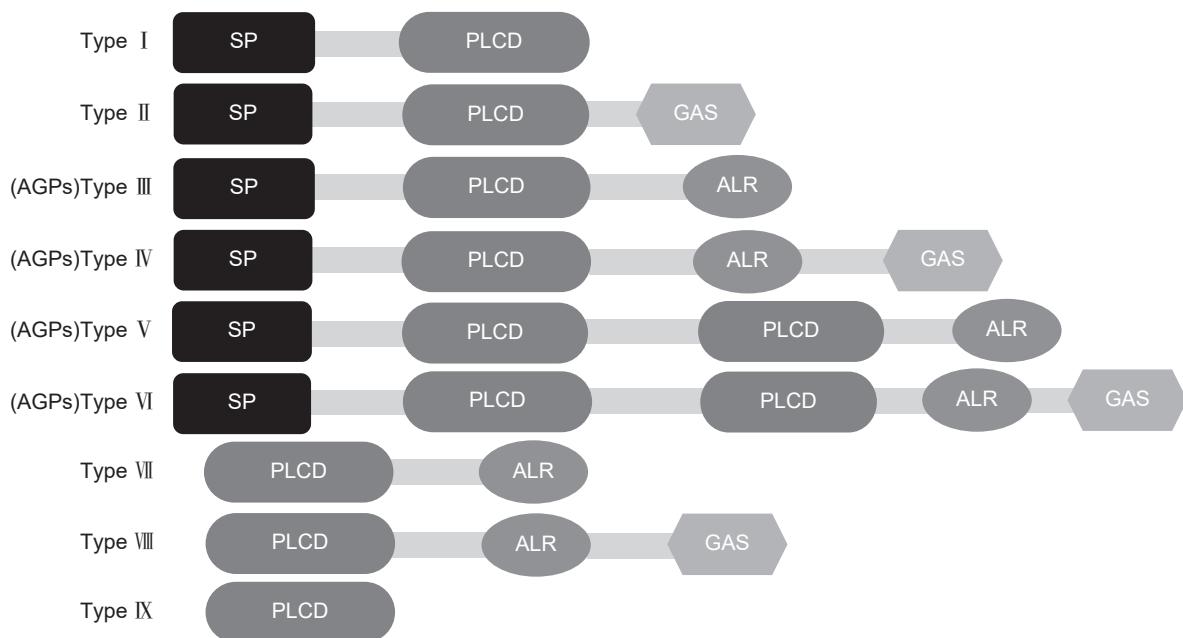
PC 蛋白基因受生长周期、环境等信号因子的调控, 其表达模式在不同植物、组织、发育阶段也呈现明显差异。这也是造成 PC 蛋白功能多样性的原因之一。研究表明, 在豆科植物中, PC 蛋白基因的主要表达部位为根瘤, 其表达水平主要受共生菌侵染及氮素水平的调控, 这可能是根瘤形成及固氮功能相关机制的一部分<sup>[23, 24]</sup>。PC 蛋白基因在茎、叶、花等器官中也可表达, 但其表达水平通常受干旱、盐分等逆境胁迫的诱导, 可能与



①: PC 蛋白合成、修饰及释放的过程; ②: PC 蛋白利用其 SP 结构域被运输至细胞外; ③: PC 蛋白利用 ALR 结构域被组装到细胞壁中; ④: PC 蛋白利用 PLCD 结构域与 BCP 互作并组成复合体; ⑤: PC 蛋白利用 GPI 结构域将自己锚定在细胞膜上。

①: Process of PC protein synthesis, modification, and release; ②: PC protein is transported to the extracellular space using the SP domain; ③: PC protein is assembled into the cell wall using the ALR domain; ④: PC protein utilizes PLCD domain to interact with BCP and form a complex; ⑤: PC protein utilizes the GPI domain to anchor itself on the cell membrane.

图 3 PC 蛋白结构及其功能  
Fig. 3 Structures and functions of PC proteins



SP: 信号肽; PLCD: 质体蓝素样结构域/铜结合结构域; ALR: 类似阿拉伯半乳糖蛋白区域; GAS: 糖基磷脂酰肌醇锚定信号。

SP: Signal peptide; PLCD: Plastocyanin like domain/Copper binding domain; ALR: Arabinogalactan protein (AGP)-like region similar to arabinogalactan protein region; GAS: Glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor signal.

图 4 基于结构域组成的 PC 蛋白分类 (改自孙亚丽<sup>[36]</sup>)

Fig. 4 Classification of PC proteins based on domain composition (modified from Sun<sup>[36]</sup>)

其抗氧化防御和渗透调节功能相关<sup>[27, 36]</sup>。在棉花中，不同 PC 蛋白基因在纤维发育过程中往往有截然不同的表现，一些基因在纤维伸长期表达上调，而另一些则在纤维次生壁形成期表达下调，表明这些 PC 蛋白基因可能与纤维形成及品质调控相关<sup>[40]</sup>。其他植物中的 PC 蛋白基因也具有多样性的表达模式。如，水稻 PC 蛋白基因主要在茎中高度表达，且受低温诱导，可能与水稻抗寒能力相关<sup>[41]</sup>；在铁皮石斛 (*Dendrobium officinale* Kimura et Mi-go) 中，PC 蛋白基因主要在花中高度表达，且受光周期影响，可能与开花时间调控相关<sup>[27]</sup>。对不同植物 PC 蛋白基因的表达模式进行分析，可为进一步揭示其功能及其参与的分子调控机制提供依据。

## 2 PC 蛋白在植物生长发育过程中的作用

### 2.1 参与植物的花粉壁发育过程

花粉壁作为种子植物雄配子体表面的一层致密结构，由内壁和外壁组成，在保护花粉、促进授精和调节花药开裂等方面发挥重要作用<sup>[42]</sup>。植物花粉壁发育是一个复杂的过程，涉及多种基因、

酶和代谢途径的协同调控。目前已在多种作物中鉴定出了大量与花粉发育相关的基因，如 *DEX1*、*NEF1*、*EFD*、*NPU* 等<sup>[43]</sup>。然而，对于植物花粉壁发育机制的研究还不够深入，植物如何在分子水平上调控花粉壁的合成与沉积过程尚未明确。

近年来，一些研究发现，PC 蛋白在花粉壁发育过程中发挥重要作用。水稻 *OsUCL23* 受 *Os-miR528* 的负调控作用，通过影响黄酮类化合物的代谢和沉积，从而调节花粉内壁的形成<sup>[44]</sup>（图 5、附表 2<sup>1)</sup>）。此外，*OsUCL8* 也在调控水稻产量和花粉壁发育中发挥重要作用。在此过程中，*Os-miR408* 可通过沉默 *OsUCL8*，提高植物体内可溶性 Cu<sup>2+</sup> 的含量，进而促进叶绿素和类胡萝卜素的合成，最终提高水稻的光合效率和产量。同时，受 *OsmiR408* 的抑制，*OsUCL8* 的下调表达也造成了花粉壁厚度和强度的下降，从而引起花粉管萌发和生长速度的加快，最终造成水稻产量的提高<sup>[22, 45]</sup>。然而，目前尚未将 PC 蛋白与其他已知花粉壁发育调控信号通路建立联系。

### 2.2 参与植物凯氏带的形成过程

凯氏带 (Caspary strip, CS) 是植物根内

1) 如需查阅附表内容请登录《植物科学学报》网站 (<http://www.plantscience.cn>) 查看本期文章。



图 5 植物 PC 蛋白基因的功能、作用机制与表型  
Fig. 5 Functions, mechanisms, and phenotypes of plant PC protein genes

皮层细胞壁中形成的木质化和木栓化的带状增厚结构，其主要功能是控制皮层和维管柱之间的物质运输，从而保证根对水分和溶质的有效吸收和运输<sup>[46]</sup>。此外，CS 可以保护中柱细胞，使其免受外界有害物质的侵入<sup>[47]</sup>。因此，CS 在植物抵御盐分、金属、干旱等非生物胁迫过程中发挥着重要作用<sup>[48, 49]</sup>。近年来，多种参与调控 CS 形成的蛋白被陆续发现，包括：能够激活 *ESB1* 表达并调节内皮层分化和次生壁合成的转录因子 MYB36、特异性定位于内皮层细胞壁的凯氏带域蛋白 CASP、能够感知根系养分状态并通过磷酸化 GSK3 来调节 MYB36 活性的受体样激酶 SCHENG1/SGN1 等<sup>[50]</sup>。深入研究这些蛋白在参与 CS 形成过程中的功能和作用机制，将有助于进一步揭示 CS 在植物应对非生物胁迫中发挥的作用。

已有研究发现，拟南芥 PC 蛋白家族成员 Uclacyanin (UCC) 在凯氏带形成中发挥重要作用。*UCC1* 和 *UCC2* 定位于 CS，但与其他 CS 定位蛋白相比，更靠近 CS 的中心区域（图 5、附表 2）。*UCC1* 和 *UCC2* 基因功能缺失的拟南芥突变体，其根部内皮层 CS 中心区域木质素的沉积受到了影响<sup>[14]</sup>，但目前影响 UCC 蛋白亚细胞定位的因素及其影响木质素沉积的机制尚不清楚。此外，不同

植物种类之间 CS 的形成机制是否存在差异也不清楚。

### 2.3 参与暗诱导的植物叶片衰老过程

衰老作为叶片发育的最后一个阶段，不仅是植物的一个重要生命过程，还直接影响作物的多种农艺性状，对粮食产量及品质造成极大影响<sup>[51]</sup>。叶片衰老是多因素共同作用、多机制协同调控的一种复杂生理过程。近年来，通过研究衰老相关基因 (Senescence-associated gene, SAG) 的功能，研究者对植物激素和环境胁迫等多种因素共同调控的叶片衰老过程有了更为深入的认识<sup>[52]</sup>。

有研究证实，位于细胞内膜的衰老相关蛋白 SAG14 和 PC 蛋白家族成员 PCY 可互作，组成 PCY-SAG14 复合体，该复合体的形成是发生暗诱导叶片衰老的必要条件（图 5、附表 2）。黑暗条件下，稳定的光敏色素相互作用因子 PIF3/4/5 抑制 *miR408* 的表达，而被 *miR408* 负调控的 PCY-SAG14 复合体则可以在叶片细胞内积累，进而引发叶片启动衰老进程<sup>[21]</sup>。但 PCY-SAG14 复合体介导的拟南芥叶片衰老的分子机制还不明晰。进一步研究蓝铜蛋白参与的植物体内铜离子稳态调控与衰老调控机制之间的关系，可能是深入理解叶片衰老分子机理的突破口。

### 3 PC 蛋白在植物应对逆境胁迫过程中的作用

#### 3.1 参与植物应对氧化胁迫过程

非生物胁迫是指温度、光照、水分、盐分等环境因素对植物生长发育造成的影响。植物为了适应非生物胁迫，进化出了一系列复杂的应答机制，包括感知胁迫信号、信号转导、基因表达调控以及产生功能性蛋白分子等<sup>[53-55]</sup>。PC 蛋白作为蓝铜蛋白，在各种非生物胁迫下会表现出抗氧化活性，同时，也可能参与植物线粒体和叶绿体的电子传递链，对能量代谢产生影响，进而使植物更好地适应环境。然而，在某些逆境下，如盐胁迫时，PC 蛋白可能会通过参与离子运输和调节通道蛋白的表达，帮助植物维持离子平衡。而在干旱胁迫下，PC 蛋白则可能通过调节水分通道蛋白的表达来维持植物的水分平衡。面对复杂的非生物胁迫，筛选并研究植物胁迫相关基因，可为耐逆品种的选育提供遗传资源和理论依据。

臭氧 ( $O_3$ ) 由于其强大的氧化能力，可严重威胁植物细胞的生理状态。 $O_3$  及其在叶绿体中被降解后产生的活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 均可对植物细胞造成直接的氧化损伤<sup>[56]</sup>。拟南芥基因组中约有 30 个 PC 蛋白编码基因，其中，*AtUC5* 最先被发现能够提高拟南芥对  $O_3$  胁迫的耐受能力。该基因过表达后，能够提高叶片中抗氧化酶活性和抗氧化物质含量，有助于清除 ROS，进而减轻细胞死亡和叶片损伤<sup>[56]</sup>。除 *AtUC5* 外，其他 PC 蛋白编码基因，如 *AtUC6* 和 *AtSC3*，其上调表达也可提高对  $O_3$  的耐受性。PC 蛋白对抗氧化作用的调控可能是其保护植物免受氧化应激因子损害的机制之一<sup>[56, 57]</sup> (图 5、附表 2)。

#### 3.2 参与植物应对病原微生物过程

植物在自然环境中经常遭受各种生物胁迫，如病原菌、害虫的侵害。生物胁迫发生时，PC 蛋白可能会通过参与植物的抗氧化防御来维持细胞的稳态；同时，也可能在植物与其他生物互作方面发挥功能。

植物对生物胁迫的响应机制涉及激素的调节和互作、细胞壁的结构和功能变化、次生代谢产物的合成和分泌，以及微生态系统的影响和互惠

关系等诸多方面<sup>[58-60]</sup>。但植物如何识别和响应不同类型和程度的生物胁迫，以及如何调节免疫信号网络和效应分子的表达，都还有待进一步研究。

研究发现，在黄萎病致病菌大丽轮枝菌 (*Verticillium dahliae*) 胁迫及水杨酸 (Salicylic acid, SA) 信号刺激下，棉花中编码分泌蛋白 GhENODL6 的 *GhENODL6* 基因表达上调，且其在抗病品种中的表达量要高于易感品种，表明 *GhENODL6* 可能通过参与 SA 信号途径正向调节棉花对黄萎病的抗性，在棉花应对真菌胁迫过程中发挥重要作用<sup>[30]</sup> (图 5、附表 2)。但该研究未对 PC 蛋白基因的组织表达特异性、活性及其与其他信号分子或效应分子的互作机制进行分析。未来可对 PC 蛋白在应对病原微生物过程中的信号通路和作用机制方面进行更为深入的解析，从而为优良抗病品种的培育提供遗传资源和理论基础。

### 4 展望

PC 蛋白在植物生长发育、抗逆响应、信号转导等多个方面发挥着重要作用。然而，目前对其的研究尚处于起步阶段，对其功能和作用机制尚不清晰。

PC 蛋白基因的命名在不同植物之间尚无统一标准，不利于研究成果之间的比较与整合。今后可利用已有的基因组测序资源，对植物 PC 蛋白家族进行全面鉴定和系统进化分析，建立统一命名规则，促进对 PC 蛋白的深入研究。

目前，已阐明功能的 PC 蛋白基因很少。针对这一问题，可借助过表达、基因编辑及各类组学分析技术，以揭示 PC 蛋白基因的潜在功能。例如，我们团队通过转录组数据分析和转基因技术，成功鉴定了一个水稻 *UCL* 基因，并对其在水稻响应重金属胁迫过程中的功能进行了系统分析。此外，可利用 X 射线晶体衍射或冷冻电镜等先进技术手段，解析 PC 蛋白的三维结构，以探索 PC 蛋白结构域特征及其与配体结合的特性。

已知功能的少数 PC 蛋白基因显示出明显的功能多样性。尽管含有相同的保守序列，也属于同一个蛋白家族，但不同 PC 蛋白的功能并不统一。功能上的差异可能源于 PC 蛋白的分布与亚细胞定位的多样性。如，有些定位于细胞质，而大多数

则定位于细胞膜。此外, 目前已知的3个保守基序可能并非这些蛋白的关键序列, 真正的关键基序是否存在于非保守序列中, 还有待探索。同时, PC蛋白与其他蛋白之间的互作可能也造成了其功能上的多样性。因此, 对互作蛋白进行筛选鉴定, 并对其进行功能研究, 可能也是未来探索PC蛋白功能的一个方向。

有研究认为PC蛋白在光合作用中发挥重要作用。深入研究PC蛋白或将有助于进一步揭示植物光合过程中电子传递和能量传递的机制, 完善人们对植物光合机制的理解。

PC蛋白家族在植物响应非生物或生物胁迫过程中的生物学功能意义重大。深入研究这些蛋白的功能, 可为培育逆境抵抗力更强、产量和营养价值更高的农作物品种提供科学依据。

#### 参考文献:

- [1] Yruela I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions[J]. *Funct Plant Biol*, 2009, 36 ( 5 ): 409–430.
- [2] Malkin R, Malmström BG. The state and function of copper in biological systems[M]//Nord FF, ed. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 1970: 177–244.
- [3] Kataoka K, Tsukamoto K, Kitagawa R, Ito T, Sakurai T. Compensatory binding of an asparagine residue to the coordination-unsaturated type I Cu center in bilirubin oxidase mutants[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 371 ( 3 ): 416–419.
- [4] Rydén LG, Hunt LT. Evolution of protein complexity: the blue copper-containing oxidases and related proteins[J]. *Mol Evol*, 1993, 36 ( 1 ): 41–66.
- [5] Shi Y, Xin YY, Wang C, Blankenship RE, Sun F, Xu XL. Cryo-EM structures of the air-oxidized and dithionite-reduced photosynthetic alternative complex III from *Roseiflexus castenholzii*[J]. *Sci Adv*, 2020, 6 ( 31 ): eaba2739.
- [6] Guzzi R, Sportelli L, Sato K, Cannistraro S, Dennison C. Thermal unfolding studies of a phytocyanin[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1784 ( 12 ): 1997–2003.
- [7] Dennison C, Harrison MD, Lawler AT. Alkaline transition of phytocyanins: a comparison of stellacyanin and umecyanin[J]. *Biochem J*, 2003, 371 ( Pt 2 ): 377–383.
- [8] Harrison MD, Yanagisawa S, Dennison C. Investigating the cause of the alkaline transition of phytocyanins[J]. *Biochemistry*, 2005, 44 ( 8 ): 3056–3064.
- [9] Battistuzzi G, Bellei M, Dennison C, Di Rocco G, Sato K, et al. Thermodynamics of the alkaline transition in phyto-
- cyanins[J]. *J Biol Inorg Chem*, 2007, 12 ( 6 ): 895–900.
- [10] Ma HL, Zhao HM, Liu Z, Zhao J. The phytocyanin gene family in rice (*Oryza sativa* L.): genome-wide identification, classification and transcriptional analysis[J]. *PLoS One*, 2011, 6 ( 10 ): e25184.
- [11] Nersessian AM, Valentine JS, Immoos C, Hill MG, Hart PJ, et al. Uclacyanins, stellacyanins, and plantacyanins are distinct subfamilies of phytocyanins: plant-specific mononuclear blue copper proteins[J]. *Protein Sci*, 1998, 7 ( 9 ): 1915–1929.
- [12] Buitrón S. The role of the small GTPases and the Phyto-cyanins during secondary cell wall synthesis in *Arabidopsis thaliana*[D]. Manchester: The University of Manchester, 2018: 188.
- [13] Tello J, Torres-Pérez R, Flutre T, Grimplet J, Ibáñez J. Vvi-UCC1 Nucleotide diversity, linkage disequilibrium and association with rachis architecture traits in grapevine[J]. *Genes ( Basel )*, 2020, 11 ( 6 ): 598.
- [14] Reyt G, Chao ZF, Flis P, Salas-González I, Castrillo G, et al. Uclacyanin proteins are required for lignified nano-domain formation within casparyan strips[J]. *Curr Biol*, 2020, 30 ( 20 ): 4103–4111.e6.
- [15] Harrison MD, Dennison C. Characterization of *Arabidopsis thaliana* stellacyanin: a comparison with umecyanin[J]. *Proteins*, 2004, 55 ( 2 ): 426–435.
- [16] Schininà ME, Maritano S, Barra D, Mondovì B, Marchesini A. Mavicyanin, a stellacyanin-like protein from zucchini peelings: primary structure and comparison with other cupredoxins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1996, 1297 ( 1 ): 28–32.
- [17] Hart PJ, Eisenberg D, Nersessian AM, Valentine JS, Herrmann RG, Nalbandyan RM. A missing link in cupredoxins: crystal structure of cucumber stellacyanin at 1.6 Å resolution[J]. *Protein Sci*, 1996, 5 ( 11 ): 2175–2183.
- [18] Lan YG, Zhang KM, Wang YM, Wu J, Lin M, et al. Comparative analysis of the stellacyanins (SCs) family and focus on drought resistance of *PtSC18* in *Populus trichocarpa*[J]. *Gene*, 2022, 813: 146106.
- [19] Pan JW, Huang DH, Guo ZL, Kuang Z, Zhang H, et al. Overexpression of microRNA408 enhances photosynthesis, growth, and seed yield in diverse plants[J]. *J Integr Plant Biol*, 2018, 60 ( 4 ): 323–340.
- [20] Dong J, Kim ST, Lord EM. Plantacyanin plays a role in reproduction in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 2005, 138 ( 2 ): 778–789.
- [21] Hao C, Yang YZ, Du JM, Deng XW, Li L. The PCY-SAG14 phytocyanin module regulated by PIFs and miR408 promotes dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119 ( 3 ): e2116623119.

- [22] Zhang F, Zhang YC, Zhang JP, Yu Y, Zhou YF, et al. Rice *UCL8*, a plantacyanin gene targeted by miR408, regulates fertility by controlling pollen tube germination and growth[J]. *Rice*, 2018, 11 ( 1 ): 60.
- [23] Greene EA, Erard M, Dedieu A, Barker DG. MtENOD16 and 20 are members of a family of phytocyanin-related early nodulins[J]. *Plant Mol Biol*, 1998, 36 ( 5 ): 775–783.
- [24] 王玉洁. *MtENOD20* 在蒺藜苜蓿共生固氮过程中的功能研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019: 32.
- [25] Mashiguchi K, Asami T, Suzuki Y. Genome-wide identification, structure and expression studies, and mutant collection of 22 early nodulin-like protein genes in *Arabidopsis*[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2009, 73 ( 11 ): 2452–2459.
- [26] Cao J, Li X, Lv YQ, Ding LN. Comparative analysis of the phytocyanin gene family in 10 plant species: a focus on *Zea mays*[J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 515.
- [27] Sun YL, Wu ZF, Wang YJ, Yang JY, Wei GH, Chou MX. Identification of phytocyanin gene family in legume plants and their involvement in nodulation of *Medicago truncatula*[J]. *Plant Cell Physiol*, 2019, 60 ( 4 ): 900–915.
- [28] Li J, Gao GZ, Zhang TY, Wu XM. The putative phytocyanin genes in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.): genome-wide identification, classification and expression analysis[J]. *Mol Genet Genomics*, 2013, 288 ( 1-2 ): 1–20.
- [29] 张帅, 林科运, 候纯朴, 方玉洁, 王幼平. 甘蓝型油菜 phytocyanin 家族全基因组鉴定和表达分析 [J]. 中国油料作物学报, 2022, 44 ( 1 ): 116–129.
- Zhang S, Lin KY, Hou CP, Fang YJ, Wang YP. Genome-wide identification and expression analysis of phytocyanin family in *Brassica napus*[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2022, 44 ( 1 ): 116–129.
- [30] Zhang M, Wang XF, Yang J, Wang ZC, Chen B, et al. *GhENOD6* isoforms from the phytocyanin gene family regulated verticillium wilt resistance in cotton[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 ( 6 ): 2913.
- [31] Bilal Tufail M, Yasir M, Zuo DY, Cheng HL, Ali M, et al. Identification and characterization of phytocyanin family genes in cotton genomes[J]. *Genes*, 2023, 14 ( 3 ): 611.
- [32] 宋争, 李潞滨, 梁立雄, 王涛. 铁皮石斛 *phytocyanin* 基因家族全基因组分析 [J]. 林业科学研究, 2018, 31 ( 2 ): 98–106.
- Song Z, Li LB, Liang LX, Wang T. Genome-wide analysis of *phytocyanin* gene family in *Dendrobium officinale*[J]. *Forest Research*, 2018, 31 ( 2 ): 98–106.
- [33] Xu L, Wang XJ, Wang T, Li LB. Genome-wide identification, classification, and expression analysis of the phytocyanin gene family in *Phalaenopsis equestris*[J]. *Biol Plant*, 2017, 61 ( 3 ): 445–452.
- [34] Luo SS, Hu WF, Wang Y, Liu B, Yan HW, Xiang Y. Genome-wide identification, classification, and expression of phytocyanins in *Populus trichocarpa*[J]. *Planta*, 2018, 247 ( 5 ): 1133–1148.
- [35] Wang L, Zhang JY, Li HC, Zhang GZ, Hu DD, et al. Genome-wide identification of the phytocyanin gene family and its potential function in salt stress in soybean (*Glycine max* ( L. ) Merr.) [J]. *Agronomy*, 2023, 13 ( 10 ): 2484.
- [36] 孙亚丽. 豆科植物 Phytocyanin 基因家族分析及其在蒺藜苜蓿结瘤过程中的功能研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019: 17.
- [37] Guss JM, Merritt EA, Phizackerley RP, Freeman HC. The structure of a phytocyanin, the basic blue protein from cucumber, refined at 1.8 Å resolution[J]. *J Mol Biol*, 1996, 262 ( 5 ): 686–705.
- [38] Huang HT, Miao YJ, Zhang YT, Huang L, Cao JS, Lin SE. Comprehensive analysis of arabinogalactan protein-encoding genes reveals the involvement of three *BrFLA* genes in pollen germination in *Brassica rapa*[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 ( 23 ): 13142.
- [39] 马浩力, 余礼, 梁荣洪, 赵洁. 高等植物阿拉伯半乳糖蛋白的功能研究 [J]. 中国科学: 生命科学, 2015, 45 ( 2 ): 113–123.
- Ma HL, Yu L, Liang RH, Zhao J. Functional studies of arabinogalactan proteins in higher plants[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2015, 45 ( 2 ): 113–123.
- [40] 李莹. 棉花 (*Gossypium hirsutum*) 蓝铜蛋白 BCP4 在纤维细胞伸长中的功能研究 [D]. 武汉: 华中师范大学, 2015: 52.
- [41] Sun MZ, Yang JK, Cai XX, Shen Y, Cui N, et al. The opposite roles of *OsmiR408* in cold and drought stress responses in *Oryza sativa*[J]. *Mol Breed*, 2018, 38 ( 10 ): 120.
- [42] Li HJ, Kim YJ, Yang L, Liu Z, Zhang J, et al. Grass-specific *EPAD1* is essential for pollen exine patterning in rice[J]. *Plant Cell*, 2020, 32 ( 12 ): 3961–3977.
- [43] Liu C, Shen LP, Xiao Y, Vyshedsky D, Peng C, et al. Pollen PCP-B peptides unlock a stigma peptide-receptor kinase gating mechanism for pollination[J]. *Science*, 2021, 372 ( 6538 ): 171–175.
- [44] Zhang YC, He RR, Lian JP, Zhou YF, Zhang F, et al. OsmiR528 regulates rice-pollen intine formation by targeting an uclacyanin to influence flavonoid metabolism[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117 ( 1 ): 727–732.
- [45] Zhang JP, Yu Y, Feng YZ, Zhou YF, Zhang F, et al. MiR408 regulates grain yield and photosynthesis via a phytocyanin protein[J]. *Plant Physiol*, 2017, 175 ( 3 ): 1175–1185.
- [46] Nakayama T, Shinohara H, Tanaka M, Baba K, Ogawa-

- Ohnishi M, Matsubayashi Y. A peptide hormone required for Caspary strip diffusion barrier formation in *Arabidopsis* roots[J]. *Science*, 2017, 355 ( 6322 ): 284–286.
- [47] 崔亚宁, 满奕, 宋程威, 张曦, 钱虹萍, 林金星. 植物凯氏带化学成分、生理功能及相关调控机制的研究进展 [J]. 中国科学: 生命科学, 2020, 50 ( 2 ): 102–110.
- Cui YN, Man Y, Song CW, Zhang X, Qian HP, Lin JX. Chemical components, physiological functions and regulation mechanism of plant Caspary strips[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2020, 50 ( 2 ): 102–110.
- [48] 翁群清, 郑秀娟, 解慧芳, 孙新立. 植物凯氏带形成分子机制及功能特点的研究进展 [J]. 西北植物学报, 2017, 37 ( 7 ): 1450–1456.
- Weng QQ, Zheng XJ, Xie HF, Sun XL. Molecular mechanism of formation and functional characteristics of Caspary strip[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica*, 2017, 37 ( 7 ): 1450–1456.
- [49] Li PX, Yu QZ, Gu X, Xu CM, Qi SL, et al. Construction of a functional caspary strip in non-endodermal lineages is orchestrated by two parallel signaling systems in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Curr Biol*, 2018, 28 ( 17 ): 2777–2786. e2.
- [50] Zhuang Y, Zuo DQ, Tao YH, Cai HQ, Li L. Laccase3-based extracellular domain provides possible positional information for directing Caspary strip formation in *Arabidopsis*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117 ( 27 ): 15400–15402.
- [51] Guo YF, Ren GD, Zhang KW, Li ZH, Miao Y, Guo HW. Leaf senescence: progression, regulation, and application[J]. *Mol Hortic*, 2021, 1 ( 1 ): 5.
- [52] Ahmad S, Guo YF. Signal transduction in leaf senescence: progress and perspective[J]. *Plants ( Basel )*, 2019, 8 ( 10 ): 405.
- [53] Kumar V, Kumar Srivastava A, Wani SH, Shriram V, Penna S. Transcriptional and post-transcriptional mechanisms regulating salt tolerance in plants[J]. *Physiol Plant*, 2021, 173 ( 4 ): 1291–1294.
- [54] Nahar S, Sahoo L, Tanti B. Screening of drought tolerant rice through morpho-physiological and biochemical approaches[J]. *Biocatal Agric Biotechnol*, 2018, 15: 150–159.
- [55] Li WM, Wang YJ, Ren H, Guo ZH, Li N, et al. Transcriptomic and physiological analyses identifying Lanzhou lily (*Lilium davidii* var. *unicolor*) drought adaptation strategies[J]. *Hortic Plant J*, 2023, 9 ( 1 ): 145–157.
- [56] Saji S, Saji H, Sage-Ono K, Ono M, Nakajima N, Aono M. Phytocyanin-encoding genes confer enhanced ozone tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Sci Rep*, 2022, 12 ( 1 ): 21204.
- [57] Ezaki B, Gardner RC, Ezaki Y, Matsumoto H. Expression of aluminum-induced genes in transgenic *Arabidopsis* plants can ameliorate aluminum stress and/or oxidative stress[J]. *Plant Physiol*, 2000, 122 ( 3 ): 657–666.
- [58] Xie KL, Li LL, Zhang HH, Wang R, Tan XX, et al. Abscisic acid negatively modulates plant defence against rice black-streaked dwarf virus infection by suppressing the jasmonate pathway and regulating reactive oxygen species levels in rice[J]. *Plant Cell Environ*, 2018, 41 ( 10 ): 2504–2514.
- [59] Mo HJ, Wang XF, Zhang Y, Zhang GY, Zhang JF, Ma ZY. Cotton polyamine oxidase is required for spermine and camalexin signalling in the defence response to *Verticillium dahliae*[J]. *Plant J*, 2015, 83 ( 6 ): 962–975.
- [60] Shaban M, Miao YH, Ullah A, Khan AQ, Menghwar H, et al. Physiological and molecular mechanism of defense in cotton against *Verticillium dahliae*[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2018, 125: 193–204.

(责任编辑: 李惠英)