

植物水孔蛋白研究进展

张璐, 杜相革*

(中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193)

摘要: 水孔蛋白是植物重要的膜功能蛋白, 不仅介导植物各组织间水分的高效转运, 还参与植物体内其他物质的跨膜转运, 同时在植物光合作用、生长发育、免疫应答以及信号转导等生理过程中也发挥重要作用。本文主要综述了植物水孔蛋白结构特征和分类, 多种生理功能, 以及其转录水平和转录后水平活性调节等方面的最新研究进展, 并就如何系统全面地开展水孔蛋白参与植物生长发育过程的分子调控机制研究提出展望。植物水孔蛋白的深入研究有助于阐明植物体内物质转运的分子机理及其生理作用机制, 对指导农业生产中作物的生长发育调控有重要理论意义。

关键词: 植物水孔蛋白; 水分转运; 生理功能; 活性调节

中图分类号: Q513; Q945. 17

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2014)03-0304-11

Recent Advances in Plant Aquaporins

ZHANG Lu, DU Xiang-Ge*

(China Agricultural University, College of Agriculture and Biotechnology, Beijing 100193, China)

Abstract: Aquaporins are important functional proteins in plants, which not only transport water between different plant tissues but also participate in other nutrient transmembrane movement. Aquaporins also play a significant role in many physiological processes such as photosynthesis, plant growth and development, immune response, and signal transduction. We reviewed recent research progress on the structural features, classification, and physiological functions, as well as transcriptional and post-transcriptional regulation of aquaporins, and provided good study prospects on the processes plant AQPs take part in for plant growth. Detailed research on aquaporins could contribute to a better understanding of the physiological functions and molecular mechanisms of nutrient movement in plants, thus providing a theoretical base for growth and development regulation in crop production.

Key words: Plant aquaporin; Water transportation; Physiological function; Activity regulation

水孔蛋白(aquaporins, AQPs)主要参与生物体内水分的快速跨膜运输, 是细胞膜上能选择性高效转运水分子的水通道蛋白, 属于膜内蛋白 MIP (major intrinsic protein) 家族^[1]。第一个水孔蛋白(AQP1)是 Agre 研究小组 1988 年从人的红细胞质膜中分离得到的, 并利用爪蟾卵母细胞异源表达系统证实 AQP1 的透水功能, 首次揭示了细胞膜上存在蛋白质介导的水分跨膜运输^[2,3]。植物中首个

水孔蛋白 γ -TIP 是由 Maurel 等 1993 年从拟南芥中分离并证明其转运水分的功能^[4]。目前, 人们已从细菌、酵母、动物、植物中成功分离出多种水孔蛋白的同源基因, 在鉴定其运输水分功能的同时, 也深入研究了水孔蛋白的其它生理功能及分子调控机制。本文主要对植物不同 AQPs 进行系统介绍, 同时对其结构、功能及活性调控等方面的最新研究进展进行阐述。

收稿日期: 2013-07-04, 修回日期: 2014-01-21。

作者简介: 张璐(1987-), 女, 博士研究生, 研究方向为植物营养、植物生理与分子生物学(E-mail: luzhangcau@hotmail.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: duxge@cau.edu.cn)。

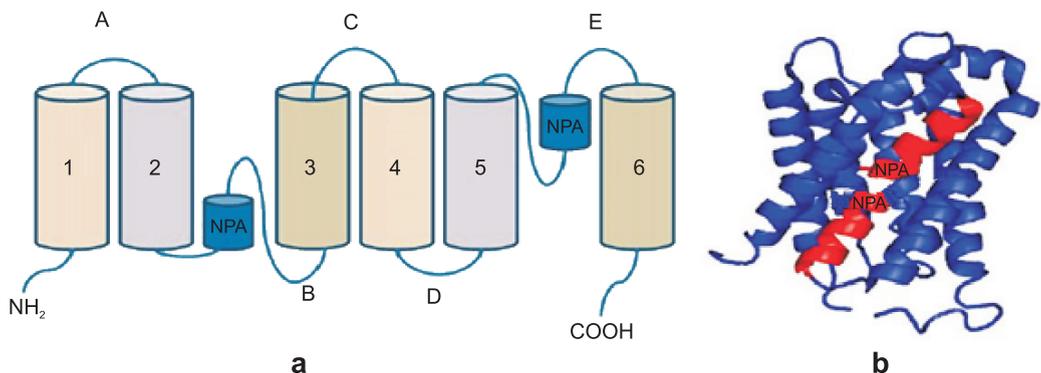
1 植物水孔蛋白的结构

水孔蛋白独特的分子结构决定了它特殊的生物学功能。利用 X 射线晶体学对微生物、动物和植物中 AQP 分析表明, AQP 家族具有 MIP 家族高度保守的结构特征^[5]。每个 AQP 单体分子质量为 23 ~ 31 kDa, 由 6 个跨膜螺旋结构(通过 5 个亲水短环 A ~ E 相连)和两端伸入细胞质的 N-端、C-端组成, B 环(Loop B)和 D 环(Loop D)位于膜内, A 环(Loop A)、C 环(Loop C)和 E 环(Loop E)位于膜外, 膜内 B 环和膜外 E 环都拥有一段高度保守的氨基酸序列 NAP (Asn-Pro-Ala), 各自形成半个跨膜螺旋, 折叠进膜内形成“水漏模型”(hour-glass model), 参与 AQPs 的活性调节^[5,6](图 1: a)。两个 NPA 序列随之重叠相互作用形成狭窄的跨膜水孔(water pore), 即 NPA 区域, 可以双向运输水分子(图 1: b)。在距离 NPA 区域外侧 0.8 nm 处存在一个更为狭窄收缩的芳香族化合物/精氨酸(aromatic/Arg, ar/R)区域, 由螺旋 2(Helix 2)、螺旋 5(Helix 5)各一个氨基酸残基和 E 环上两个碱基组成四聚体结构^[7]。与 NPA 区域相比, ar/R 在 AQP 选择性转运其它小分子物质过程中起更重要的作用, 是预测不同植物中 AQP 转运功能的一个重要位点^[8,9]。虽然每个水孔蛋白单体都可形成独立的水通道, 但氨基酸序列拓扑学及三维结构分析表明, AQP1 在活体膜中是以四聚体结构存在的, 这一结构对于蛋白质的结构稳定和功能行使的正确性有重

要作用^[10,11]。

2 植物水孔蛋白的分类

AQPs 由多个基因编码, 广泛存在于动物、植物及微生物中, 具有丰富的多样性, 而植物 AQP 拥有更多的亚家族及种类。迄今在模式植物拟南芥中已发现 35 个 AQP 基因, 水稻中也发现有 33 个 AQP 基因^[12,13], 在玉米、烟草、菠菜、胡萝卜、马铃薯、蚕豆、桃、棉花等多种植物中均陆续发现 AQP 家族^[6,14-16]。根据氨基酸序列同源性及结构特征, 植物 AQP 家族分为四类(表 1): 质膜内在蛋白(plasma membrane intrinsic proteins, PIPs); 液泡膜内在蛋白(tonoplast intrinsic proteins, TIPs); 类 Nod26 膜内在蛋白(nodulin 26-like intrinsic proteins, NIPs); 小分子膜内在蛋白(small and basic intrinsic proteins, SIPs)^[12]。其中, PIPs 主要位于质膜, 根据 N-端与 C-端序列的同源性差异分为 PIP1、PIP2 和 PIP3 三类; TIPs 主要分布于液泡膜上, 根据组织定位不同分为 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ 五类, 它们是植物中重要的水通道蛋白^[12]; NOD26 是植物中发现的第一个 MIP 家族成员, 定位于大豆与根瘤菌的共生体膜上, 根据水孔蛋白 ar/R 结构差异以及转运底物专一性不同, NIPs 分为 NIPI、NIPII 和 NIPIII 三类, 这一亚家族可转运除水分子以外的其它物质^[17,18]; SIPs 是植物中 AQP 最小的家族, 主要定位于内质网膜上, 根据 N-端及 B 环上 NPA 序列不同分为 SIP1 和 SIP2 两类^[19]。



b 图中红色部分表示植物水孔蛋白的 NPA 结构
Red stands for NPA structure of plant AQP in Fig. 1: b.

图 1 植物水孔蛋白结构(修改自参考文献^[6])

Fig. 1 Structure of plant aquaporins (Modified according to reference^[6])

表 1 植物水孔蛋白的分类和亚细胞定位
Table 1 Classification and subcellular location of plant aquaporins

| 植物水孔蛋白 AQPs | 类型 Classification | 亚细胞定位 Subcellular location |
|-------------|--|----------------------------|
| PIPs | PIP1、PIP2、PIP3 | 质膜 |
| TIPs | α -TIP、 β -TIP、 γ -TIP、 δ -TIP、 ϵ -TIP | 液泡膜 |
| NIPs | NIPI、NII、NIIII | 细胞内膜 |
| SIPs | SIP1、SIP2 | 内质网膜 |

人们在某些低等植物中也发现了其它 AQPs 家族。2005 年, Gustavsson 等^[20]在苔藓植物中鉴定出甘油特异性水孔蛋白 GIPs (GlpF-like intrinsic proteins, GIPs), 类似于大肠杆菌中的甘油转运通道 GlpF (Glycerol facilitator, GlpF)。2008 年, Danielson 等^[21]认为苔藓植物中 AQPs 除了 PIPs、TIPs、NIPs、SIPs 及 GIPs 外, 还有 HIPs (Hybrid intrinsic proteins, HIPs) 和 XIPs (X intrinsic proteins, XIPs) 两个新的 MIP 亚家族 (图 2)。XIPs 在原核生物、真菌以及某些非单子叶植物中发现, 而 HIPs 至今未在高等植物中发现^[21,22]。这些 AQPs 亚家族的发现及其功能鉴定为系统性研究 AQPs 的生物多样性及进化过程提供了参考依据。

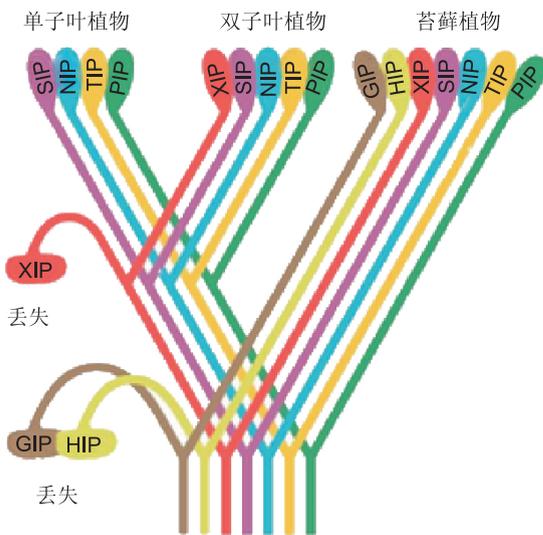


图 2 植物水孔蛋白的进化过程 (修改自参考文献^[27])
Fig. 2 Evolution of plant aquaporins (Modified according to reference^[27])

3 植物水孔蛋白的功能

植物 AQPs 是重要的多功能膜蛋白, 在物质转

运、种子萌发、蒸腾作用、光合作用、气孔调节及抗逆应答等过程中起重要作用。

3.1 参与植物体内水分运输

AQPs 存在于植物的不同部位, 根部 70%~80% 的水分由 AQPs 来运输, 这是水进入植物细胞的主要途径^[23]。利用 GUS 组织染色方法研究发现, 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) *AtPIP2;2* 在根、皮质、内皮层及中柱等组织中有较高表达量, 将此基因沉默后会导致根部水分传导率明显降低^[24]。经荧光实时定量 PCR (quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR) 和组织化学免疫方法检测表明, 玉米 (*Zea mays* L.) *ZmPIPs* (除 *ZmPIP2;7*) 在叶的伸长区表达量较高, 而在成熟叶中表达量较低, 这一表达模式与叶的发育过程相关, 可能该蛋白参与了叶尤其是维管束和叶肉组织中水分的径向运输^[25]。此外, γ -TIP 在所有植物组织中均有表达, 但以根和叶中表达量较高, 这可能与细胞伸长有关^[26,27]。*AtTIP2;1* (δ -TIP) 主要在茎的维管束中表达, 参与幼嫩维管束中水的流动及成熟维管束组织中水通透性的保持, 在水分长距离运输中起主要作用^[26]。

3.2 参与其它物质的跨膜转运

异源表达体系 (爪蟾卵母细胞和酵母) 证明, 大部分 AQPs 具有转运水分功能, 同时 AQPs 也有转运其它小分子物质、营养元素及金属离子的功能^[7]。烟草 (*Nicotiana tabacum*) *NtTIPa* (*TIP4*) 具有转运水、甘油和尿素的功能^[28]。杨树 (*Populus tomentosa*) *PtXIPs* 在爪蟾卵母细胞体系中表达并呈现出不同的水分转运能力^[22]。基因敲除 *TIP1;1* 的拟南芥突变体与野生型同时在 50 mmol/L 甘油环境下生长, 前者根系长度明显减少, 仅为野生型的 60%; 由于 *AtTIP1;1* 在爪蟾卵母细胞中表达后具有较低的甘油转运活性, 推测其可能参与植物体内甘油解毒过程^[29]。小麦 (*Triticum aestivum* L.) *TaTIP2;1* 在爪蟾卵母细胞中表达可明显提高膜对 NH_3 的通透性^[30]。酵母异源表达功能互补实验结果显示, 西葫芦 (*Cucurbita pepo* L.) *CpNIP1* 及拟南芥的 γ -TIP 和 δ -TIP 能够有效的转运尿素分子^[31]。此外, *AtNIP5;1* 转录水平受缺硼诱导, 并经爪蟾卵母细胞异源表达分析表明, *AtNIP5;1* 具

有转运硼酸的功能,但对水具有较低的渗透性^[32]。*AtNIP6;1*也具有硼转运功能,同时还可以转运尿素、甘油及甲酰胺,但对水没有渗透性^[33]。水稻(*Oryza sativa*)是喜硅植物,硅常在其茎中积累形成物理屏障抵御外界生物胁迫和非生物胁迫的干扰,*OsNIP2;1*对硅元素的吸收、转运具有调节作用,而*OsNIP2;2*则参与硅元素由木质部进入茎中的转运过程^[34]。爪蟾卵母细胞异源表达验证表明,玉米根中表达的*ZmNIP2;1*和在叶鞘表达的*ZmNIP2;2*都能够有效转运硅元素,但两者的表达均不受硅元素的诱导^[35]。此外,NIPs家族也是转运重金属离子的通道,其中*AtNIP7;1*、*AtNIP1;1*和*OsNIP2;1*等对亚砷酸盐具有转运功能,这对研究砷在植物体内的转运过程以及植物耐砷机制有重要意义^[36,37]。

3.3 参与种子成熟与萌发

植物TIPs可调节细胞的迅速膨胀和紧缩,荧光蛋白标记显示在种子成熟及发芽早期拟南芥*AtTIP3;1*(α -TIP)和*AtTIP3;2*(β -TIP)在胚中分布^[38],它可能参与种子萌发过程中贮存蛋白质液泡体积的调节,而在种子萌发、幼苗生长阶段*AtTIP1;1*(γ -TIP)逐渐代替*AtTIP3;1*(α -TIP),参与幼苗组织细胞的伸长分化过程^[14]。利用爪蟾异源表达体系证实了蓖麻(*Ricinus communis* L.)*RcPIP2;1*的水转运活性,同时利用原位杂交技术证明其表达定位于子叶胚轴,通过对比伸长区和非伸长区的水分相关参数,推测*RcPIP2;1*参与幼苗下胚轴的伸长和生长^[39]。Northern印迹杂交和qRT-PCR分析表明,棉花(*Gossypium hirsutum* L.)*GhPIP1;2*和*GhTIP1*在纤维细胞伸长发育阶段有较高的表达量,可能参与调节水分快速流入液泡等过程^[40]。

3.4 参与植株开花和果实发育

月季(*Rosa hybrid* 'Samantha')*RhPIP2;1*在花瓣表皮细胞中表达量较高,且表达模式与开花周期相似,外源施加乙烯会降低其表达,证明*RhPIP2;1*参与乙烯抑制开花的过程^[41]。罗静等^[16]以低温休眠桃(*Prunus persica*)的花芽为材料,根据AQP基因保守区设计简并引物,成功克隆并鉴定出三个水孔蛋白基因*PpPIP1;1*、*PpPIP1;2*和

PpPIP2;1,推测AQPs参与花芽的休眠及发育调控。RNA干扰技术证实烟草*NtPIP2*的表达缺失可引起花药开裂延迟的现象^[42]。李登弟等^[43]发现棉花*GhAQP1*在胚珠发育中特异性表达,且开花后9 d表达量最高,随后逐渐下降,至胚珠发育到30 d左右时丧失活性,据此推测*GhAQP1*可能参与胚珠细胞的分裂发育。另外, γ -TIP同系物在梨的幼果中表达量较高,并且TIP蛋白表达水平随着果实成熟而增高^[44]。番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill)中7个*LePIP1*和*LePIP2;2*同源基因在果实发育早期具有较高的表达量^[45]。Northern杂交结果显示,草莓(*Fragaria* \times *ananassa*)*FaPIP1;1*在果实发育过程中表达量较高,且其表达量受外源生长素处理的抑制^[46]。

3.5 参与气孔运动及光合作用

烟草*NtAQP1*(PIP1)在质膜和叶绿体内膜上表达,通过RNA干扰技术或超表达方法发现*NtAQP1*会影响植物中CO₂电导率及光合作用效率,证明*NtAQP1*参与调节CO₂在叶肉细胞内运输^[47,48]。沙漠块菌(*Terfezia clavaryi*)*TcAQP1*在酵母异源体系中表达可明显提高水和CO₂的传导性^[49]。向日葵(*Helianthus annuus*)*SunTIP7*存在于保卫细胞中,且其表达量随着气孔的关闭而增高^[50]。此外,菠菜(*Spinacia oleracea*)*SoPIP1;1*、蚕豆(*Vicia faba*)*VfPIP1*和玉米*ZmPIP1;2*、*Zm2;1*等在叶中的保卫细胞质膜上均有较高的表达量^[25,51],这表明AQPs可能通过改变作物叶细胞内外渗透势从而引发气孔的开放与关闭,参与植物体内CO₂运输,影响光合作用效率。

3.6 参与免疫应答及信号转导

H₂O₂是植物免疫响应中的信号分子,酵母异源表达体系证实*AtPIP2;1*具有转运H₂O₂的能力,且提高了H₂O₂对酵母的毒性作用,*AtPIP2;1*可能通过调节活性氧(reactive oxygen species, ROS)参与植物的免疫应答反应^[52]。*AtTIP1;1*也可转运H₂O₂,基因敲除后不影响拟南芥的正常生长,但会影响植株对渗透胁迫的敏感性^[29]。*AtNIP2;1*普遍在根中表达,受缺氧胁迫诱导表达,是乳酸转运蛋白,其功能是调节植物适应缺氧胁迫下的乳酸发酵^[53]。利用反义技术降低烟草中*NtAQP1*的表

达会引起根部水分传导率降低,从而导致植株对渗透胁迫敏感^[54],在盐胁迫环境下,该基因超表达后能够提高植物对水的吸收、导水率以及产量^[55]。与野生型拟南芥比较,蚕豆 *VfPIP1* 在拟南芥中超表达可以加快植株生长速度、降低蒸腾速率以及提高抗寒性^[56]。通过比较根、叶的形态及测定生物产量,人参 (*Panax ginseng*) *PgTIP1* 在拟南芥中超表达后可减缓盐胁迫、干旱及冷害等不良环境因素对植株生长的影响^[57]。超表达拟南芥 *AtPIP2;5* 可以缓解低温胁迫对细胞渗透性以及植株正常生长的危害^[58]。小麦 *TaNIP* 在拟南芥中超表达可提高 K^+ 、 Ca^{2+} 及脯氨酸的含量,提高植株的抗逆性^[59]。而采用发根农杆菌转化幼苗子叶方法表明,大豆 (*Glycine max*) *GmXIP* 的过表达则会提高植株对于干旱和盐胁迫的敏感性,导致植株枯萎干死^[60]。这些研究均表明植物 AQPs 在转运水分或其它物质的同时,也进行信号转导,直接或间接参与抗逆过程中植物的免疫应答。

4 植物水孔蛋白的活性调节

植物中 AQPs 不仅种类繁多,而且不同的 AQPs 在表达上存在时空及组织差异性,其活性调节也存在多种方式,基本可分为转录水平调节和转录后水平调节。

4.1 转录水平调节

植物 AQPs 转录水平调节与植物的生长发育阶段、激素水平以及各种内外环境刺激有关。一些植物 AQPs 受生长发育阶段调控,例如,在拟南芥种子萌发以及幼苗生长过程中 γ -TIP 逐渐代替 α -TIP^[12,26]; 有些 AQPs 在特定组织中表达并参与水分及其它物质的吸收、转运;有些 AQPs 则参与植株的开花及果实成熟过程;而有些 AQPs 的表达受光周期调控。Moshelion 等^[61]报道雨豆 (*Samanea saman*) 叶片运动细胞质膜上 *SsAQP2* 主要参与叶枕的昼夜节律运动, Siefert 等^[62]发现烟草质膜上的 *NtAQP1* 在早晨叶片展开时表达量高,晚上则很低。植物 AQPs 也受激素及环境因素等影响,拟南芥水孔蛋白 *AthH2* 在蓝光 (400 ~ 550 nm)、白光、外源赤霉素 (GA_3) 及脱落酸 (ABA) 条件下可被激活表达^[63,64], 启动子分析表明该基因的序

列元件与 ABA 和 GA_3 诱导的其它基因调控元件具有同源性^[23]。另外,植物 AQPs 还受 pH 值和二价阳离子 Ca^{2+} 的调节, pH 值的降低会引起拟南芥根中 *AtPIP2;2 D* 环上 His197 残基的质子化,与其它碱基作用后关闭水通道,减少拟南芥根部细胞内水分流动^[5,65]; 辣椒 (*Capsicum annuum* L.) AQP 在 Ca^{2+} 含量较低时无活性,随着 Ca^{2+} 浓度升高其活性逐渐增加,加入 Ca^{2+} 通道阻塞剂后, AQP 又失去活性,推测 Ca^{2+} 与 AQP 的活性密切相关^[66]。除此之外,渗透胁迫对植物 AQPs 的表达也有影响, *NtAQP1* 在渗透胁迫 (PEG 处理) 下大量表达,提高细胞导水性,缓解植物的渗透压力^[54]。

4.2 转录后水平调节

植物 AQPs 转录后水平调节主要是磷酸化作用,其活性受磷酸化调控^[67]。质谱分析、放射性标记以及爪蟾卵母细胞异源表达体系都证明了此调节方式的存在。许多研究表明植物 AQPs 的磷酸化位点大多是在 N-端或 C-端的 Ser,但某些 AQPs 具有多个磷酸化位点^[68]。早在 1995 年, Maurel 等^[69]利用爪蟾卵母细胞表达体系发现 α -TIP 含有三个磷酸化位点 (Ser7, Ser23, Ser99), 突变磷酸化位点会降低膜的水转运活性,而且这些位点的直接磷酸化可以增强 α -TIP 水通道活性,其中 Ser7 和 Ser99 对 α -TIP 活性调节更为重要。此外,很多蛋白激酶和蛋白磷酸酶也参与了植物 AQPs 的磷酸化和去磷酸化过程。 Ca^{2+} 对植物 AQPs 的调节是通过钙依赖蛋白激酶 (CDPK) 磷酸化作用实现的^[1], 菠菜叶片质膜上 *PM28A* 的水通道活性不仅受干旱诱导,还受 Ca^{2+} 依赖的磷酸化作用诱导^[70]; 质谱分析证明菜豆 (*Phaseolus vulgaris*) 种子 *PvTIP3;1* 活性受膜相关 Ca^{2+} 依赖激酶的磷酸化调控^[71]。Vera 等首次发现冰草 (*Mesembryanthemum crystallinum*) 液泡膜 *McTIP1;2* 受 cAMP 的调节^[72], 并且 Ser123 是水通道活性必需的磷酸化位点^[73]。植物 AQPs 的磷酸化作用还受环境影响。大豆中 *NOD26* 的 Ser262 磷酸化可促进水分转运,利用一种磷酸特异性抗体发现活体 *NOD26* 的磷酸化作用不仅受生长发育周期的调控,水分胁迫和盐胁迫都可以促进 *NOD26* 的磷酸化,进而提高膜的导水性,提高植株的抗胁迫能力^[67]; 正常生长条

件下,菠菜 SoPIP2;1 中 B 环 Ser115 和 C-端 Ser274 磷酸化,保持水通道开放,当植株受到干旱胁迫时,两个 Ser 位点发生脱磷酸化且引起 D 环空间构象改变,形成疏水屏障关闭水通道^[5]。植物 AQPs 磷酸化也受温度及光照的影响,当生长温度降至 5℃时,郁金香花瓣中质膜 AQP 去磷酸化,水通道失活,进而引起花瓣关闭,当温度升高至 20℃时,AQP 重新磷酸化,水通道活性恢复,花瓣开放^[74];黑暗条件处理下拟南芥莲座丛的导水率高于光照条件处理下的导水率,这一与光相关的调节方式与 AtPIP2;1 Ser280 和 Ser283 的脱磷酸化作用有关^[75]。AQPs 的糖基化和甲基化作用也参与活性调节,Vera 等^[72]运用免疫荧光标记证明冰草 McTIP1;2 受渗透胁迫(甘露醇处理)时会在液泡膜上重新分布,这一过程涉及该基因的糖基化和 cAMP 依赖的信号转导;Santoni 等^[76]在拟南芥 AtPIP2;1 N-端发现 Lys3 和 Glu6 两个甲基化位点,它们可分别发生双甲基化和单甲基化且相互影响,但 Lys3 和 Glu6 的甲基化作用并不影响 AtPIP2;1 对水的渗透性。

4.3 重金属离子调控

在 AQPs 的 NPA 区域有对 Hg²⁺敏感的保守 Cys 残基,Hg²⁺与之结合可改变蛋白空间构象,水孔受阻从而影响水分子的转运,抑制水的跨膜流动。但在爪蟾卵母细胞中表达植物 AQPs,TIPs 均对 Hg²⁺敏感,但有些 PIPs 对 Hg²⁺不敏感^[77]。而其它重金属如 Ag 和 Au 的化合物被认为是通过与蛋白质的巯基相互作用抑制 AQPs 的水转运活性^[78]。

4.4 聚合调控

玉米中 *ZmPIP1;2* 与不同的 *ZmPIP2s* 在爪蟾卵母细胞中共同表达时,相互作用形成异源四聚体,增加膜对水的渗透性,并且爪蟾卵母细胞膜对水的渗透能力与注入 *ZmPIP1;2* 的 cRNA (complimentary RNA) 量成比例^[79]。同样在烟草中 *NtPIP1;1* 和 *NtPIP2;1* 也有相同的调控机制存在^[80]。另外,含羞草 (*Mimosa pudica*) MpPIP1;1 缺乏水通道活性,而 MpPIP2;1 具有水通道活性,免疫沉淀分析表明当两者共表达时,MpPIP1;1 与 MpPIP2;1 形成聚合体提高水通道活性^[81]。

5 展望

作为生物界中重要的膜功能性蛋白,植物 AQPs 参与了多种重要的生理过程。近年来植物 AQPs 的相关研究备受关注,随着越来越多的植物 AQPs 成功分离、功能鉴定以及调控机理的深入解析,人们逐步从生理生化角度转为分子机制的探讨,对其在物质跨膜转运和生理代谢过程中所起的重要作用已有全面了解。

植物 AQPs 种类繁多,功能复杂,参与植物体内多种生理发育过程,有许多方面值得进一步探索。如在生物学功能方面,水分通过跨膜转运进入植物根部后,再进入木质部等组织自下而上在植物体内运输;许多外界营养物质也是通过根部进入植物体内,另外,叶片也是外界物质进入植物体内的主要组织器官,这些转运过程可能由 AQPs 及其它物质转运蛋白共同协作完成。在生物系统进化方面,植物 AQPs 中新成员(XIPs 和 HIPs)的序列分析及功能鉴定可帮助我们更好的理解植物整个进化分类过程。在生理代谢功能方面,植物 AQPs 在不同组织以及器官中的表达存在差异性,而这些 AQPs 的转运功能也不尽相同,这表明植物 AQPs 的表达定位与生理功能有着紧密联系;植物体内的生理代谢是一个复杂的过程,不同的 AQPs 是否相互作用共同参与其中以及它们如何进行协同作用也需进一步了解。在活性调控方面,植物 AQPs 的活性受多种方式调控,在逆境胁迫(盐胁迫、冷害、干旱、高温等)及免疫应答过程中起到重要作用,但所涉及信号通路以及转录后甲基化、糖基化、蛋白质间的聚合调控等分子机制还不明确。此外,植物 AQPs 与其它膜转运蛋白是否具有相互作用关系,共同参与植物膜上的生理生化反应也需进一步研究。以上问题的解决可以让我们系统、深入、全面、正确的理解植物生长发育过程中的生理生化过程,更好的阐明植物 AQPs 的生理作用机制,为农作物的生长发育调控及高产优质提供重要的理论基础。

参考文献:

- [1] Maurel C, Verdoucq L, Luu DT, Santoni V. Plant aquaporins: membrane channels with multiple in-

- tegrated functions [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 595–624.
- [2] Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP, Agre P. Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules[J]. *J Biol Chem*, 1988, 263(30): 15634–15642.
- [3] Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus oocytes* expressing red cell CHIP28 protein[J]. *Science*, 1992, 256(5055): 385–387.
- [4] Maurel C, Reizer J, Schroeder JI, Chrispeels MJ. The vacuolar membrane protein γ -TIP creates water specific channels in *Xenopus oocytes*[J]. *EMBO J*, 1993, 12(6): 2241–2247.
- [5] Törnroth-Horsefield S, Wang Y, Hedfalk K, Johanson U, Karlsson M, Tajkhorshid E, Neutze R, Kjellbom P. Structural mechanism of plant aquaporin gating [J]. *Nature*, 2006, 439(7077): 688–694.
- [6] Gomes D, Agasse A, Thiébaud P, Delrot S, Gerós H, Chaumont F. Aquaporins are multifunctional water and solute transporters highly divergent in living organisms [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1788(6): 1213–1228.
- [7] Yool AJ, Campbell EM. Structure, function and translational relevance of aquaporin dual water and ion channels [J]. *Mol Aspects Med*, 2012, 33(5–6): 553–561.
- [8] Azad AK, Yoshikawa N, Ishikawa T, Sawa Y, Shibata H. Substitution of a single amino acid residue in the aromatic/arginine selectivity filter alters the transport profiles of tonoplast aquaporin homologs [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818(1): 1–11.
- [9] Bansal A, Sankararamakrishnan R. Homology modeling of major intrinsic proteins in rice, maize and *Arabidopsis*: comparative analysis of transmembrane helix association and aromatic/arginine selectivity filters [J]. *BMC Struct Biol*, 2007, 7(1): 27.
- [10] Kozono D, Yasui M, King LS, Agre P. Aquaporin water channels: atomic structure and molecular dynamics meet clinical medicine [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(11): 1395–1399.
- [11] Wang Y, Tajkhorshid E. Molecular mechanisms of conduction and selectivity in aquaporin water channels[J]. *J Nutri*, 2007, 137(6): 1509S–1515S.
- [12] Johanson U, Karlsson M, Johansson I, Gustavsson S, Sjövall S, Fraysse L, Weig AR, Kjellbom P. The complete set of genes encoding major intrinsic proteins in *Arabidopsis* provides a framework for a new nomenclature for major intrinsic proteins in plants [J]. *Plant Physiol*, 2001, 126(4): 1358–1369.
- [13] Sakurai J, Ishikawa F, Yamaguchi T, Uemura M, Maeshima M. Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function [J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(9): 1568–1577.
- [14] 李红梅, 万小荣, 何生根. 植物水孔蛋白最近研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2010, 37(1): 9–35.
- [15] 崔香环, 郝福顺, 陈惠, 蔡敬辉, 陈珈, 王学臣. 蚕豆类水孔蛋白基因的克隆及表达 [J]. *自然科学进展*, 2005, 15(5): 559–564.
- [16] 罗静, 刘正富, 武峥, 漆巨容, 谢永红, 王武, 程杨. 桃水孔蛋白基因克隆及序列分析 [J]. *经济林研究*, 2012, 30(1): 77–80.
- [17] Rougé P, Barre A. A molecular modeling approach defines a new group of nodulin26-like aquaporins in plants [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367(1): 60–66.
- [18] Mitani-Ueno N, Yamaji N, Zhao FJ, Ma JF. The aromatic/arginine selectivity filter of NIP aquaporins plays a critical role in substrate selectivity for silicon, boron, and arsenic [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(12): 4391–4398.
- [19] Ishikawa F, Suga S, Uemura T, Sato MH, Maeshima M. Novel type aquaporin SIPs are mainly localized to the ER membrane and show cell-specific expression in *Arabidopsis thaliana* [J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(25): 5814–5820.
- [20] Gustavsson S, Lebrun AS, Nordén K, Chaumont F, Johanson U. A novel plant major intrinsic protein in *Physcomitrella patens* most similar to bacterial glycerol channels [J]. *Plant Physiol*,

- 2005, 139(1): 287–295.
- [21] Danielson JA, Johanson U. Unexpected complexity of the aquaporin gene family in the moss *Physcomitrella patens*[J]. *BMC Plant Biol*, 2008, 8(1): 45.
- [22] Lopez D, Bronner G, Brunel N, Auguin D, Bourgerie S, Brignolas F, Carpin S, Tournaire-Roux C, Maurel C, Fumanal B, Martin F, Sakr S, Label P, Julien JL, Gousset-Dupont A, Venisse JS. Insight into *Populus* XIP aquaporins: evolutionary expansion, protein functionality, and environmental regulation [J]. *J Exp Bot*, 2012, 63(5): 2217–2230.
- [23] 于秋菊, 吴锴, 林忠平, 李景富. 植物水孔蛋白研究进展[J]. 北京大学学报: 自然科学版, 2002, 38(6): 855–866.
- [24] Javot H, Lauvergeat V, Santoni V, Martin-Laurent F, Güçlü J, Vinh J, Heyes J, Franck KI, Schäffner AR, Bouchez D, Maurel C. Role of a single aquaporin isoform in root water uptake [J]. *Plant Cell*, 2003, 15(2): 509–522.
- [25] Hachez C, Heinen RB, Draye X, Chaumont F. The expression pattern of plasma membrane aquaporins in maize leaf highlights their role in hydraulic regulation [J]. *Plant Mol Biol*, 2008, 68(4–5): 337–353.
- [26] Hunter PR, Craddock CP, Di Benedetto S, Roberts LM, Frigerio L. Fluorescent reporter proteins for the tonoplast and the vacuolar lumen identify a single vacuolar compartment in *Arabidopsis* cells [J]. *Plant Physiol*, 2007, 145(4): 1371–1382.
- [27] Gattolin S, Sorieul M, Hunter PR, Khonsari RH, Frigerio L. *In vivo* imaging of the tonoplast intrinsic protein family in *Arabidopsis* roots[J]. *BMC Plant Biol*, 2009, 9(1): 133.
- [28] Gerbeau P, Güçlü J, Ripoche P, Maurel C. Aquaporin Nt-TIPa can account for the high permeability of tobacco cell vacuolar membrane to small neutral solutes[J]. *Plant J*, 1999, 18(6): 577–587.
- [29] Beebo A, Thomas D, Der C, Sanchez L, Leborgne-Casted N, Marty F, Schoefs B, Bouhidel K. Life with and without AtTIP1;1, an *Arabidopsis* aquaporin preferentially localized in the apposing tonoplasts of adjacent vacuoles [J]. *Plant Mol Biol*, 2009, 70(1–2): 193–209.
- [30] Holm LM, Jahn TP, Møller AL, Schjoerring JK, Ferri D, Klaerke DA, Zeuthen T. NH₃ and NH₄⁺ permeability in aquaporin-expression *Xenopus oocytes*[J]. *Pfluegers Arch*, 2005, 450(6): 415–428.
- [31] Klebl F, Wolf M, Sauer N. A defect in the yeast plasma membrane urea transporter Dur3p is complemented by CpNIP1, a Nod26-like protein from zucchini (*Cucurbita pepo* L.), and by *Arabidopsis thaliana* δ-TIP or γ-TIP [J]. *FEBS Lett*, 2003, 547(1–3): 69–74.
- [32] Takano J, Wada M, Ludewig U, Schaaf G, von Wirén N, Fujiwara T. The *Arabidopsis* major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation [J]. *Plant Cell*, 2006, 18(6): 1498–1509.
- [33] Tanaka M, Wallace IS, Takano J, Roberts DM, Fujiwara T. NIP6;1 is a boric acid channel for preferential transport of boron to growing shoot tissues in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2008, 20(10): 2860–2875.
- [34] Ma JF, Tamai K, Yamaji N, Mitani N, Konishi S, Katsuhara M, Ishiguro M, Murata Y, Yano M. A silicon transporter in rice [J]. *Nature*, 2006, 440(7084): 688–691.
- [35] Mitani N, Yamaji N, Ma JF. Identification of maize silicon influx transporters [J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50(1): 5–12.
- [36] Ali W, Isayenkov SV, Zhao FJ, Maathuis FJ. Arsenite transport in plants [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(14): 2329–2339.
- [37] Isayenkov SV, Maathuis FJ. The *Arabidopsis thaliana* aquaglyceroporin AtNIP7;1 is a pathway for arsenite uptake [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(11): 1625–1628.
- [38] Gattolin S, Sorieul M, Frigerio L. Mapping of tonoplast intrinsic proteins in maturing and germinating *Arabidopsis* seeds reveals dual localization of embryonic TIPs to the tonoplast and plasma membrane [J]. *Mol Plant*, 2011, 4(1): 180–189.
- [39] Eisenbarth DA, Weig AR. Dynamics of aquapo-

- rins and water relations during hypocotyl elongation in *Ricinus communis* L. seedlings [J]. *J Exp Bot*, 2005, 56(417): 1831–1842.
- [40] Liu D, Tu L, Wang L, Li Y, Zhu L, Zhang X. Characterization and expression of plasma and tonoplast membrane aquaporins in elongating cotton fibers [J]. *Plant Cell Rep*, 2008, 27(8): 1385–1394.
- [41] Ma N, Xue J, Li Y, Liu X, Dai F, Jia W, Luo Y, Gao J. *Rh-PIP2;1*, a rose aquaporin gene, is involved in ethylene-regulated petal expansion [J]. *Plant Physiol*, 2008, 148(2): 894–907.
- [42] Bots M, Vergeldt F, Wolters-Arts M, Weterings K, van As H, Mariani C. Aquaporins of the PIP2 class are required for efficient anther dehiscence in tobacco [J]. *Plant Physiol*, 2005, 137(3): 1049–1056.
- [43] 李登弟, 黄耿青, 谭新, 王杰, 王秀兰, 许文亮, 吴雅洁, 汪虹, 李学宝. 棉花 GhAQP1 基因克隆及其在胚珠发育中的特异表达 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2006, 32(5): 543–550.
- [44] Shiratake K, Kanayama Y, Maeshima M, Yamaki S. Changes in H⁺-pumps and a tonoplast intrinsic protein of vacuolar membranes during the development of pear fruit [J]. *Plant Cell Physiol*, 1997, 38(9): 1039–1045.
- [45] Shiota H, Sudoh T, Tanaka I. Expression analysis of genes encoding plasma membrane aquaporins during seed and fruit development in tomato [J]. *Plant Science*, 2006, 171(2): 277–285.
- [46] Mut P, Bustamante C, Martinez G, Alleva K, Sutka M, Civello M, Amodeo G. A fruit-specific plasma membrane aquaporin subtype PIP1;1 is regulated during strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit ripening [J]. *Physiol Plantarum*, 2008, 132(4): 538–551.
- [47] Flexas J, Ribas-Carbó M, Hanson DT, Bota J, Otto B, Cifre J, McDowell N, Medrano H, Kaldenhoff R. Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to CO₂ *in vivo* [J]. *Plant J*, 2006, 48(3): 427–439.
- [48] Uehlein N, Otto B, Hanson DT, Fischer M, McDowell N, Kaldenhoff R. Function of *Nicotiana tabacum* aquaporins as chloroplast gas pores challenges the concept of membrane CO₂ permeability [J]. *Plant Cell*, 2008, 20(3): 648–657.
- [49] Navarro-Ródenas A, Ruíz-Lozano JM, Kaldenhoff R, Morte A. The aquaporin TcAQP1 of the desert truffle *Terfezia claveryi* is a membrane pore for water and CO₂ transport [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2012, 25(2): 259–266.
- [50] Sarda X, Tousch D, Ferrare K, Legrand E, Dupuis JM, Casse-Delbart F, Lamaze T. Two TIP-like genes encoding aquaporins are expressed in sunflower guard cells [J]. *Plant J*, 1997, 12(5): 1103–1111.
- [51] Heinen RB, Ye Q, Chaumont F. Role of aquaporins in leaf physiology [J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(11): 2971–2985.
- [52] Dynowski M, Schaaf G, Loque D, Moran O, Ludewig U. Plant plasma membrane water channels conduct the signalling molecule H₂O₂ [J]. *Biochem J*, 2008, 414: 53–61.
- [53] Choi WG, Roberts DM. *Arabidopsis* NIP2;1, a major intrinsic protein transporter of lactic acid induced by anoxic stress [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(33): 24209–24218.
- [54] Siefritz F, Tyree MT, Lovisolo C, Schubert A, Kaldenhoff R. PIP1 plasma membrane aquaporins in tobacco from cellular effects to function in plants [J]. *Plant Cell*, 2002, 14(4): 869–876.
- [55] Sade N, Gebretsadik M, Seligmann R, Schwartz A, Wallach R, Moshelion M. The role of tobacco aquaporin1 in improving water use efficiency, hydraulic conductivity, and yield production under salt stress [J]. *Plant Physiol*, 2010, 152(1): 245–254.
- [56] Cui XH, Hao FS, Chen H, Chen J, Wang XC. Expression of the *Vicia faba* *VfPIP1* gene in *Arabidopsis thaliana* plants improves their drought resistance [J]. *J Plant Res*, 2008, 121: 207–214.
- [57] Peng Y, Lin W, Cai W, Arora R. Overexpression of a *Panax ginseng* tonoplast aquaporin alters salt tolerance, drought tolerance and cold acclimation ability in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. *Planta*, 2007, 226(3): 729–740.
- [58] Lee SH, Chung GC, Jang JY, Ahn SJ, Zwiazek JJ. Overexpression of PIP2;5 aquaporin alleviates

- effects of low root temperature on cell hydraulic conductivity and growth in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 2012, 159(1): 479–488.
- [59] Gao Z, He X, Zhao B, Zhou C, Liang Y, Ge R, Shen Y, Huang Z. Overexpressing a putative aquaporin gene from wheat, *TaNIP*, enhances salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51(5): 767–775.
- [60] 张大勇, 易金鑫, 胡国民, 许玲, 袁玲玲, 徐照龙, 何晓兰, 黄益洪, 刘晓庆, 马鸿翔. 一个大豆 *GmXIP* 基因的克隆与表达分析[J]. 华北农学报, 2012, 27(4): 12–17.
- [61] Moshelion M, Becker D, Biela A, Uehlein N, Hedrich R, Otto B, Levi H, Moran N, Kaldenhoff R. Plasma membrane aquaporins in the motor cells of *Samanea saman*: diurnal and circadian regulation[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(3): 727–739.
- [62] Siefritz F, Otto B, Bienert GP, van der Krol A, Kaldenhoff R. The plasma membrane aquaporin NtAQP1 is a key component of the leaf unfolding mechanism in tobacco[J]. *Plant J*, 2004, 37(2): 147–155.
- [63] Kaldenhoff R, Kölling A, Richter G. Regulation of the *Arabidopsis thaliana* aquaporin gene *AthH2* (PIP1b)[J]. *J Photoch Photobio B*, 1996, 36(3): 351–354.
- [64] Kaldenhoff R, Kölling A, Richter G. A novel blue light and abscisic acid inducible gene of *Arabidopsis thaliana* encoding an intrinsic membrane protein[J]. *Plant Mol Biol*, 1993, 23(6): 1187–1198.
- [65] Tournaire-Roux C, Sutka M, Javot H, Gout E, Gerbeau P, Luu DT, Blligny R, Maurel C. Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins[J]. *Nature*, 2003, 425(6956): 393–397.
- [66] Cabañero FJ, Martínez-Ballesta MC, Teruel JA, Carvajal M. New evidence about the relationship between water channel activity and calcium in salinity-stressed pepper plants[J]. *Plant Cell Physiol*, 2006, 47(2): 224–233.
- [67] Guenther JF, Chanmanivone N, Galetovic MP, Wallace IS, Cobb JA, Roberts DM. Phosphorylation of soybean nodulin 26 on serine 262 enhances water permeability and is regulated developmentally and by osmotic signals[J]. *Plant Cell*, 2003, 15(4): 981–991.
- [68] Maurel C. Plant aquaporins: novel functions and regulation properties[J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(12): 2227–2236.
- [69] Maurel C, Kado RT, Guern J, Chrispeels MJ. Phosphorylation regulates the water channel activity of the seed-specific aquaporin α -TIP[J]. *EMBO J*, 1995, 14(13): 3028–3035.
- [70] Johansson I, Karlsson M, Shukla VK, Chrispeels MJ, Larsson C, Kjellbom P. Water transport activity of the plasma membrane aquaporin PM28A is regulated by phosphorylation[J]. *Plant Cell*, 1998, 10(3): 451–459.
- [71] Daniels MJ, Yeager M. Phosphorylation of aquaporin PvTIP3;1 defined by mass spectrometry and molecular modeling[J]. *Biochemistry*, 2005, 44(44): 14443–14454.
- [72] Vera-Estrella R, Barkla BJ, Bohnert HJ, Pantoja O. Novel regulation of aquaporins during osmotic stress[J]. *Plant Physiol*, 2004, 135(4): 2318–2329.
- [73] Amezcua-Romero JC, Pantoja O, Vera-Estrella R. Ser123 is essential for the water channel activity of McPIP2;1 from *Mesembryanthemum crystallinum*[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(22): 16739–16747.
- [74] Azad AK, Sawa Y, Ishikawa T, Shibata H. Characterization of protein phosphatase 2A acting on phosphorylated plasma membrane aquaporin of tulip petals[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68(5): 1170–1174.
- [75] Prado K, Boursiac Y, Tournaire-Roux C, Monneuse JM, Postaire O, Da Ines O, Schäffner AR, Hem S, Santoni V, Maurel C. Regulation of *Arabidopsis* leaf hydraulics involves light-dependent phosphorylation of aquaporins in veins[J]. *Plant Cell*, 2013, 25(3): 1029–1039.
- [76] Santoni V, Verdoucq L, Sommerer N, Vinh J, Pflieger D, Maurel C. Methylation of aquaporins in plant plasma membrane[J]. *Biochem J*, 2006, 400(1): 189–197.

- [77] Biela A, Grote K, Otto B, Hoth S, Hedrich R, Kaldenhoff R. The *Nicotiana tabacum* plasma membrane aquaporin NtAQP1 is mercury-insensitive and permeable for glycerol [J]. *Plant J*, 1999, 18(5): 565–570.
- [78] Haddoub R, Rützler M, Robin A, Flitsch SL. Design, synthesis and assaying of potential aquaporin inhibitors[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2009 (190): 385–402.
- [79] Fetter K, Van Wilder V, Moshelion M, Chaumont F. Interactions between plasma membrane aquaporins modulate their water channel activity[J]. *Plant Cell*, 2004, 16(1): 215–228.
- [80] Mahdieh M, Mostajeran A, Horie T, Katsuhara M. Drought stress alters water relations and expression of PIP-type aquaporin genes in *Nicotiana tabacum* plants[J]. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49(5): 801–813.
- [81] Temmei Y, Uchida S, Hoshino D, Kanzawa N, Kuwahara M, Sasaki S, Tsuchiya T. Water channel activities of *Mimosa pudica* plasma membrane intrinsic proteins are regulated by direct interaction and phosphorylation[J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(20): 4417–4422.

(责任编辑: 刘艳玲)