

## 植物水通道蛋白研究进展

王彦梅<sup>1,2</sup>, 张正斌<sup>1</sup>, 柴团耀<sup>2</sup>, 徐 萍<sup>1</sup>, 赵鸿彬<sup>1</sup>

(1 中国科学院遗传与发育生物学研究所 农业资源研究中心, 河北 石家庄 050021;

2 中国科学院研究生院 生物系, 北京 100049)

**[摘要]** 高等植物细胞质膜、液泡膜上存在着丰富的水通道蛋白, 它广泛分布于几乎所有器官和组织, 并具有一定的组织特异性。文章介绍了植物水通道蛋白的发现、结构、分类以及近年来在亚细胞定位、基因表达和功能方面的研究进展, 初步探讨了植物水通道蛋白研究中存在的问题及今后的研究热点。

**[关键词]** 植物; 水通道蛋白; 亚细胞定位; 基因表达

**[中图分类号]** Q946.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2005)11-0106-07

水通道蛋白大量存在于动物、植物等多种生物中<sup>[1]</sup>。1988 年美国 John Hopkins 大学的 Peter Agre 研究小组从红细胞和肾小管中分离纯化了一种分子量为 28 ku 的蛋白<sup>[2]</sup>, 并根据其分子量大小将该蛋白命名为 CHIP28 (Channel-Forming integral membrane protein 28 ku)<sup>[3]</sup>。考虑到 CHIP28 很可能是水通道蛋白, 所以用微管注入的方法将其 mRNA 注入到爪蟾卵母细胞(xenopus oocytes)内, 结果发现 CHIP28 基因在爪蟾卵母细胞中表达, 形成膜蛋白, 嵌合到卵细胞膜上后增加了膜的水分渗透性。在溶液中加入高渗透压介质后, 表达了 CHIP28 的卵母细胞迅速膨胀直至破裂, 而未表达 CHIP28 的细胞几乎没有变化。于是水通道蛋白第一次被明确鉴定出来, CHIP28 蛋白也被重新命名为 1 号水通道蛋白(aquaporin 1, AQP1)<sup>[4]</sup>。随后, 在许多动物、植物及微生物中相继发现了类似的专一性运输水的通道蛋白, 并将其统称为水通道蛋白(AQP), 至此水分的跨细胞途径才更为清楚。

第一个植物水通道蛋白  $\gamma$ -TIP 是从拟南芥中分离出来的<sup>[5]</sup>, 它位于液泡膜上; 因此被命名为 TIP (tonoplast intrinsic protein), 通过爪蟾卵母细胞表达系统分析确认了 T-TIP 蛋白运输水的专一性功能<sup>[6]</sup>。随后, 第一个植物质膜 AQP——拟南芥 RD28 也被发现<sup>[7]</sup>。到目前为止, 在拟南芥、烟草、玉米、豌

豆、水稻等多种植物中都发现了 AQP。另外, 从蛋白数据库中也发现了大量 AQP 的同源物, 它广泛存在于单子叶和双子叶植物、C<sub>3</sub> 和 C<sub>4</sub> 代谢植物中。根据氨基酸序列的同源性分析, 它们可能也是 AQP<sup>[8]</sup>。越来越多的研究表明, 植物中往往存在多个 AQP 同源物且含量丰富, 有时甚至是细胞膜的一个主要成分。如菜豆子叶中含丰富的  $\alpha$ -TIP 同源物, 约占细胞可抽提总蛋白的 2%; 在拟南芥中, PIP1 蛋白占叶与根质膜蛋白的 1% 以上; 菠菜叶肉细胞中含丰富的质膜 AQP, 占其质膜总蛋白的 20%<sup>[9]</sup>。

### 1 水通道蛋白的分类和结构

水通道蛋白属于古老的通道蛋白 MIP (Membrane intrinsic protein) 成员, 根据水通道蛋白(AQP)的亚细胞定位, 结合序列同源性, AQP 大致分为 4 种类型: plasma intrinsic proteins (PIPs), tonoplast intrinsic proteins (TIPs), NOD26-like intrinsic proteins (NIPs) 和 small basic intrinsic proteins (SIPs)<sup>10~16</sup>。PIP 又可再分为 PIP1、PIP2 和 PIP3 3 类, TIP 可再分为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ TIP 4 类。模式植物拟南芥含有 35 个 MIP 类似蛋白, 其中 10 个属于液泡膜水通道及其类似蛋白, 13 个为质膜水通道及其类似蛋白, 12 个属于 NLM 类, 如图 1 所示。

**[收稿日期]** 2005-03-04

**[基金项目]** 中国科学院知识创新重要方向项目(KSCXZ-SW-327); 国家基础理论重大课题(2003CB114301); 国家 863 节水重大专项(2002AA2Z4011); 国家自然科学基金项目(30270821)

**[作者简介]** 王彦梅(1974—), 女, 陕西靖边人, 助理研究员, 在读博士, 主要从事抗旱作物节水生理遗传育种研究。E-mail: wangyanmei990@sohu.com

**[通讯作者]** 张正斌(1962—), 男, 陕西合阳人, 研究员, 博士, 主要从事抗旱作物节水生理遗传育种研究。

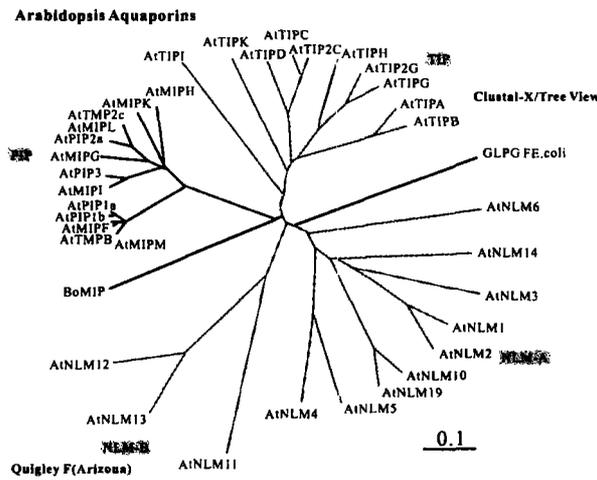


图 1 拟南芥水通道蛋白分类示意图

Fig. 1 Classification of *Arabidopsis* aquaporins

水通道蛋白基因由两个重复单元组成,表明 MIP 可能由串连的重复基因进化而来,它的整个分子由两部分组成,即 N 端部分(由一个大的外显子

编码)和 C 端部分(2~4 个小的外显子编码)(图 2),两部分在细胞中可能具有不同的功能,N 端部分在不同成员之间同源性较高,推测其可能负责一般或共同的功能,C 端部分得到了分化,含有水通道蛋白特异的保守区<sup>[17]</sup>。表 1 给出的是拟南芥 35 个 AQP 基因的结构信息。AQP 蛋白的单体分子量在 23~30 ku,由 6 个跨膜结构域(通过 5 个亲水环相连)和两端短的 NH<sub>2</sub>...C 端组成,其中 B 环和 D 环位于膜细胞质一侧,A 环、C 环和 E 环位于膜的另一侧(图 3)。一些氨基酸残基在不同的 AQP 中很保守,如位于第 1、4 个跨膜结构域中的一个谷氨酸(E)残基,位于第 3、6 个跨膜结构域中的一个甘氨酸(G)残基等,这些保守残基可能对其结构和功能具有重要意义。LoopB 中有一个 NPA motif 的保守序列 SGXHXNPAVT, LoopE 中也存在一个类 NPA motif,LoopB 环中的方向相反。大多数 AQP 均有一个对汞敏感的残基 Cys,其邻近的 NPA motif 结合汞后水通道受阻塞。

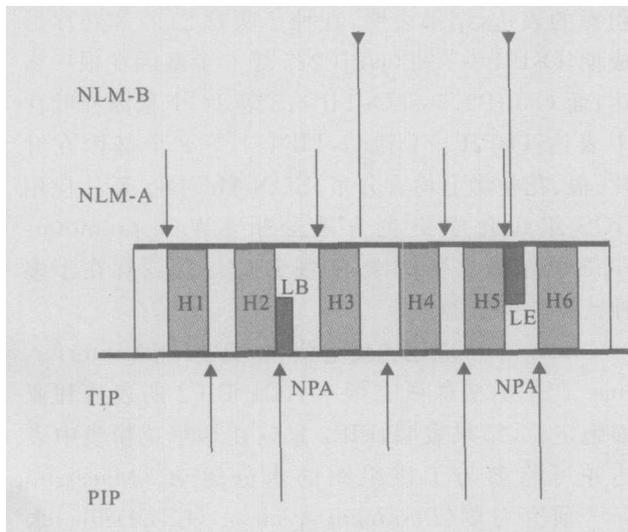


图 2 拟南芥水通道蛋白基因内含子和外显子结构

Fig. 2 Structure of *Arabidopsis* aquaporins genes

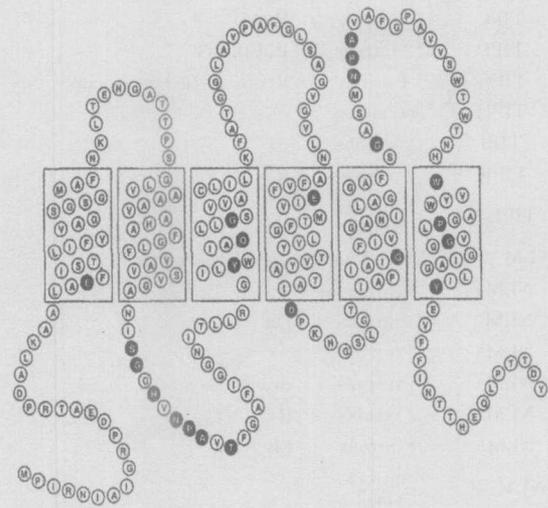


图 3 植物水通道蛋白结构示意图

Fig. 3 Structure of aquaporins

## 2 水通道蛋白基因的表达及功能研究

水通道蛋白的发现对于研究植物的水分关系具有重要意义<sup>[16]</sup>。但到目前为止,对于每一个 AQP 以及整个植株 AQP 在不同生理条件下功能的研究仍然较少。AQP 基因研究较为清楚的是模式植物拟南芥、水稻和烟草等,已经从许多植物中分离鉴定出了 AQP,玉米中的 36 种 AQP 基因已经被测序<sup>[18]</sup>,拟

南芥中有 35 种<sup>[14,16]</sup>,水稻中有 33 种<sup>[19]</sup>。目前,对 AQP 基因的研究主要集中在特定 AQP 蛋白的组织 and 亚细胞定位(利用 AQP 与标记蛋白嵌和形成融合蛋白、免疫定位),以及基因的表达量发生变化时(RNA 干涉、RNA 抑制或超量表达)植株有关生理和形态指标的变化等方面<sup>[20~31]</sup>。拟南芥 AQP 基因的结构和组织特异性表达的信息见表 1。

表 1 拟南芥水通道蛋白基因家族  
Table 1 Aquaporin gene family from  
*Arabidopsis thaliana*

名称 Name	基因结构 Gene structure	组织特异性 Tissue specificity
PIP 亚家族 PIP-Plasma membrane sub-family		
PIP1a	3 introns	R, AG, FB
PIP1b	3 introns	R, AG
TMPB	3 introns	GS, FB, AG, R, ripening fruit
PIP2a	3 introns	R, GS, FB, AG
MIPL	3 introns	R
PIP3	3 introns	R, FB, GS, AG
MIPF	3 introns	R, GS, FB, AG
MIPG	3 introns	R
MIPH	3 introns	FB, AG
MIPK	3 introns	GS
MIPI	3 introns	R, FB
MIPM	3 introns	GS, R, FB, AG
TMP2c	3 introns	R, GS
TIP 亚家族 TIP-Tonoplast sub-family		
TIP2c	1 intron	whole plant
TIP2g	1 intron	R, AG, GS
TIPA	2 introns	DS, GS, developing embryo
TIPB	2 introns	DS, rosette leaves
TIPC	1 intron	R, AG
TIPD	2 introns	R, FB, AG
TIPG	1 intron	R, other vegetave organs
TIPH	no intron	—
TIP1	2 introns	—
TIPK	2 introns	R
TIPL #	1 intron, small	—
NLM 亚家族 NLM-Nodulin-like MIP sub-family		
NLM1	4 introns	R
NLM2	4 introns	DS
NLM3	3 introns	—
NLM4	4 introns	rosette leaves
NLM5	3 introns	R
NLM6	4 introns	FB
NLM7 #	4 introns, small	—
NLM8 #	4 introns	—
NLM9	4 (long) introns	—
NLM10	4 introns	—
NLM11	4 introns	R
NLM12	2 introns	R, AG
NLM13	2 introns	R, AG
NLM140	3 introns	—

## 2.1 AQP 的分布及组织和亚细胞定位

AQP 大量存在于参与水分、离子集流的细胞中,这些细胞往往是正在分裂和伸长的细胞及幼嫩部位,如表皮细胞、雄穗、正在发育的根和芽等,其分布表现出明显的器官、组织和细胞特异性。一种 AQP 可能存在于整个植物的各器官,也可能只存

在于某一部分器官,同一 AQP 在各个器官中表达量不同<sup>[32]</sup>;而不同种 AQP 可能同时存在于某一个器官,但表达量不一定完全相同。

Shisong 等<sup>[33]</sup>利用 GFP-TIP1;1 融合蛋白研究表明,拟南芥 TIP1;1 基因产物位于多孔的叶肉细胞液泡膜上,在叶肉栅栏组织细胞液泡膜近质膜的部位也有很强表达,表达最强的部位是维管组织。Loque 等<sup>[34]</sup>从拟南芥中分离出了两个编码 TIP 家族水通道蛋白的基因 AtTIP2;1 和 AtTIP2;3,应用绿色荧光融合蛋白标记发现 AtTIP2;1 和 AtTIP2;3 蛋白定位在植株液泡膜上。Jang 等<sup>[35]</sup>研究了编码拟南芥 13 个 PIP 基因家族在干旱、寒冷、高盐、ABA 处理条件下的表达,利用定量 RT-PCR 分析表明,在外界条件刺激下有几个 PIP 基因主要在根或花之一中表达,PIP1;1,PIP1;2 和 PIP2;7 在二者之中都有大量表达,而 PIP1;4,PIP2;1,PIP2;4 和 PIP2;5 在二者之中的表达量都很弱。

Sakurai 等<sup>[19]</sup>鉴定了 33 个水稻 AQP 基因,应用半定量 RT-PCR 研究了 AQP 在叶片、根以及花粉囊的表达,结果表明,在种子萌发 21 d 和花序形成期,OsPIP2;4 和 OsPIP2;5 等 6 个基因在根中表达;而 OsPIP2;7 和 OsTIP1;2 等 14 个基因在叶片中表达;OsPIP1;1 和 OsTIP4;1 等 8 个基因在叶片、根、花粉囊上均有分布。SUN Mei-hao 等<sup>[36]</sup>应用 GUS 组织化学染色方法分析 RWC3 promoter-GUS 转基因水稻植株,发现 RWC3 广泛存在于多种营养和生殖器官上。

Bots 等<sup>[37]</sup>应用免疫定位和 PIP2 RNA interference 产生的植株研究烟草 AQP PIP2 的表达和亚细胞定位,结果表明,PIP2 家族在烟草花粉囊中表达并可能参与了该组织的水分运动。Maestrini 等<sup>[38]</sup>研究海草 (*Posidonia oceanica* (L.) Delile) 水分传输机制时分离得到了两个 AQP 的编码基因 PoPIP1;1 和 PoTIP1;1,通过在 *Xenopus oocytes* 中表达, PoPIP1;1 和 PoTIP1;1 均编码功能蛋白,二者均在叶片中组成型表达,且在幼嫩叶片组织中的表达比分化叶片中多。Daniel 等<sup>[39]</sup>应用烟草悬浮细胞系研究花椰菜 AQP BobTIP26-1 基因的表达,将 gfp 序列连接在 BobTIP26-1 编码区的下游,结果融合蛋白 BobTIP26 [1;: GFP I 在 *Xenopus oocytes* 中表达时的活性较 BobTIP26-1 蛋白本身低。而在与农杆菌共培养时,该融合蛋白很好地定位到了悬浮细胞系的液泡膜上。Marc 等<sup>[40]</sup>在研究高等植株的有性生殖过程时发现,烟草中至少有 15 个

水通道蛋白基因在生殖器官中表达,通过对 RNA 和蛋白的研究表明,PIP1 和 PIP2 基因在生殖器官中的表达水平不相同;PIP1 RNA 在柱头累积,PIP1 和 PIP2 RNA 在花粉囊的几乎所有组织中多有表达。Gerbeau 等<sup>[28]</sup>从烟草细胞中分离得到了一个与液泡膜内在蛋白同源的 cDNA,命名为 Nt-TIPa。对 Nt-TIPa 进行免疫定位研究表明,该蛋白定位于液泡膜上。

Hukin 等<sup>[41]</sup>应用 RT-PCR 和羧基荧光标记研究发现,两个玉米质膜 AQP 基因在根部幼嫩区的表达水平比远离根尖的老根区高得多,而一个液泡膜 AQP 在这两个区域的分布相同。

Rosario 等<sup>[42]</sup>研究表明,冰草在甘露醇诱导渗透胁迫条件下,水通道蛋白 McTIP1;2 在液泡膜上的数量增加,并在其他膜组织重新分配。Yamada 等<sup>[30]</sup>比较了冰草 PIP McMipA 和 PIP McMipB 的组织 and 细胞特异性,将包含有 McMipA 启动子区域的一段 2.2 kb DNA 与 GUS 编码区融合后在转基因烟草中表达,结果表明 McMipA 的 promoter 在根部中柱鞘和皮层细胞、与韧皮部相连的细胞、根部与中柱鞘相连的细胞中均有活性;绿色叶片组织、叶肉细胞、次级叶脉均表现出 GUS 活性,而主叶脉上无;花组织中未成熟花芽组织雌蕊、雄蕊和成熟的雌蕊和花粉粒也表现出 GUS 活性;顶端分生组织和根尖细胞均不表现 GUS 活性;McMipA 和 McMipB promoter 的组织特异性表明,Mc-MIPA 和 Mc-MIPB 两种 PIP 蛋白具有不同的功能。

Higuchi 等<sup>[26]</sup>研究了萝卜主根液泡中的膜内在蛋白 VM23,发现 VM23 具有两种同分异构形式 gamma-VM23 和 delta-VM23,分别编码 253 和 248AA 的多肽,二者的氨基酸序列具有 60% 的同源性,两种形式中 gamma-VM23 含量最多。在爪蟾卵母细胞中注射两种 mRNA,发现卵母细胞的水分渗透性比对照增加了 6 倍。两种同分异构形式在生长的胚轴和幼嫩叶片中表达量均很高,但在苗期的根上未检测到 delta-VM23 的表达。

## 2.2 AQP 基因的表达及功能

Shisong 等<sup>[33]</sup>利用 RNA 干涉 (RNAi) 获得了 TIP1;1 表达程度不同的拟南芥株系,发现 RNAi 的主要表型特征是,通过碳水化合物的有害影响和葡萄糖供应的减少影响细胞正常的生命活动,认为 TIP1;1 对代谢物在液泡中和液泡膜间的运输具有重要作用,具体表现为 RNAi 作用最强的植株很小就死亡,其表型由与 TIP1;1 同源的 McMIP-F 部分

互补。干涉作用相对较弱的系,其植株表现早衰的受损性状,在 TIP1;1 RNAi 的植株中相对含水量无明显影响,但碳的新陈代谢受到了干扰,表现在对碳的获取和呼吸作用、膜的运输、信号传导的影响和严重的氧胁迫。Loque 等<sup>[34]</sup>通过改进的 yeast complementation approach 研究发现,AtTIP2;1 和 AtTIP2;3 在中高 pH 值时转运酵母中的铵和甲胺。AtTIP2;1 基因在爪蟾卵母细胞中随着 pH 值的增加,可以增加 14 C-甲胺的积累。AtTIP2;1 基因表达加强后,转基因植株根部的铵积累量没有变化,而野生型的 AtTIP2;1 mRNA 水平在相同条件下有所提高。研究表明,AtTIP2;1 和 AtTIP2;3 可以介导甲胺和 NH<sub>3</sub> 的跨膜运输,从而参加了液泡中铵的区室化。Jang 等<sup>[43]</sup>研究表明,拟南芥 PIP2;5 基因的表达受寒胁迫的正调控,而绝大多数 PIP 基因受寒胁迫的负调控。干旱条件下 PIP 基因的表达也受到显著的正负调节,但高盐条件对 PIP 的调节相对较弱。不同 AQP 对于 ABA 调节的反应不同,说明 AQP 表达的调控包括了依赖 ABA 和不依赖于 ABA 两种信号途径。

Sakurai 等<sup>[19]</sup>研究表明,水稻 AQP 基因 Os-PIP2;4 和 OsPIP2;5 在 yeast 中表达时能够使水通道的活性增强,而 OsPIP1;1 和 OsPIP1;2 相反。此外,根中 OsPIP2;4 和 OsPIP2;5 的 mRNA 水平有明显的日变化,即在开始光照 3 h 后达到最高点,在黑暗 3 h 后达到最低点。寒胁迫时包括 OsPIP2;4 和 OsPIP2;5 在内的 10 个基因在根中的 mRNA 水平显著下降,温度上升后又能够恢复正常。SUN Meihao 等<sup>[36]</sup>研究表明,GA 能够增加水稻转基因植株细胞、悬浮细胞以及叶片的 GUS 活性,而 GA 合成的一种抑制剂 ancymidol 能够降低 GUS 活性。蔗糖能够降低 GA 增加时产生的作用,表明 GA 和蔗糖在 REC3 基因表达的信号通路上可能有一个交叉。

Marc 等<sup>[40]</sup>研究表明,PIP1 和 PIP2 基因在生殖器官中的表达水平不相同;PIP1 RNA 在柱头累积,PIP1 和 PIP2 RNA 在花粉囊的几乎所有组织中多有表达。Bots 等<sup>[37]</sup>研究表明,PIP2 家族的水通道蛋白基因参与了烟草花粉囊组织的水分运动,该基因的表达在花粉囊发育时期受到了调节。此外,PIP2 RNA interference 的植株与对照相比花粉囊的脱水和裂开慢,证明 PIP2 家族的水通道蛋白对裂开前花粉囊的脱水具有重要作用。Rosa 等<sup>[43]</sup>以两种烟草株系 (wildtype 和 antisense mutant) 为对象,研究了 NtAQP1 基因的表达受到抑制时对 ar-

buscular mycorrhizal (AM) funga 的侵染方式和共生效率的影响,结果发现二者在干旱和正常浇灌情况下根的侵染方式相似,但在干旱胁迫条件下野生型植株生长较反义植株快。NtAQP1 基因的表达也决定着植株的气体交换,从而决定生物量的增加,干旱胁迫条件下 NtAQP1 介导的水分运输增强对 AM 共生效率有很大影响。Gerbeau 等<sup>[28]</sup>将烟草液泡膜水通道蛋白 Nt-TIPa 在爪蟾卵母细胞中表达,发现 Nt-TIPa 允许水分、尿素和甘油等中性溶液透过。

Aroca 等<sup>[44]</sup>以一个寒敏感、一个耐寒的玉米品种为材料,研究了寒冷对根水分传导率的影响,以及其与根皮层原生质体水分渗透、AQP 基因表达、AQP 丰度、AQP 磷酸化、根部过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)积累以及根部电解液渗漏(组织液外渗)的关系。结果表明,耐寒植株寒胁迫之后根水分传导率恢复的可能原因是 AQP 的量和活性增强,避免或修复了膜的损伤。认为膜的损伤阻止了根水分传导率的恢复,水通道蛋白的反应对于寒损伤的恢复很重要但不是足够的,植株还必须能够避免伴随着寒胁迫的氧化(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)伤害。Hukin 等<sup>[41]</sup>应用 AQP 的抑制剂汞调节玉米植株根部细胞的水分渗透性,结果表明,20 mmol/L HgCl<sub>2</sub> 能够减少根伸长约 75%,其中老细胞中减少的最多,根尖附近幼嫩细胞受影响较小。

Daniel 等<sup>[39]</sup>研究表明,花椰菜液泡膜水通道蛋白 BobTIP26-1 在 *Xenopus leavis* oocytes 中表达时具有 AQP 活性,而融合蛋白 BobTIP26-1::GFP 1 在爪蟾卵母细胞的表达不影响细胞生长速度,但能够增加其体积。因此,猜想细胞体积的增加是由于融合蛋白增加了液泡的体积。Yuko 等<sup>[46]</sup>研究了转大麦 AQP 基因 HvPIP2;1 的水稻叶片,HvPIP2;1 基因过量表达后 CO<sub>2</sub> diffusion (gi) 和 CO<sub>2</sub> assimilation rate 的导度,结果表明,Aq-anti-HvPIP2;1 表达量最大的转基因水稻叶片 gi 值较野生型增加了 40%,伴随 gi 值增加还有 14% CO<sub>2</sub> 同化率和 27% 气孔导度(gs)增加。Aq-anti-HvPIP2;1 表达水平低的转基因植株 gi 和 CO<sub>2</sub> 同化速率都有所下降。Aq-anti-HvPIP2;1 表达量高的植株叶片的叶肉细胞体积减小,表皮和叶肉细胞的细胞壁增厚,说明叶片表现出了抗旱特征。

Maestrini 等<sup>[38]</sup>通过在爪蟾卵母细胞中表达海草 AQP 基因 PoPIP1;1 和 PoTIP1;1 发现,海生植物中也存在适应机制,不同盐浓度决定了 PoPIP1;1 和 PoTIP1;1 表达量的不同。

Higuchi 等<sup>[26]</sup>研究表明,萝卜主根液泡中的膜内在蛋白 VM23 在光照时,两种同分异构形式 gamma-和 delta-VM23 的基因在子叶和根上的表达明显增加,而在胚轴上的表达受到了抑制,表明 VM23 的表达与细胞的伸长密切相关。

### 3 存在问题及未来研究热点

在水通道蛋白水分通透性研究中常用的可逆抑制剂为 HgCl<sub>2</sub>。但 HgCl<sub>2</sub> 不能专一抑制水通道蛋白,它同时还是一些巯基蛋白酶的抑制剂。爪蟾卵母细胞是一个常用的表达体系,一般通过观察其细胞体积和生长情况研究水通道蛋白基因的表达。但是植物基因在动物细胞中表达时会遇到偏爱密码子等转基因沉默问题。这些问题还有待于进一步深入研究。

水通道蛋白的鉴定和研究为进一步探讨植物水分关系提供了新的思路。水分在植株中的运输受特定水通道蛋白基因的表达、调控以及亚细胞定位的修饰。水通道蛋白是调节水分在细胞间运输和植株水分传导的分子基础,因此可以通过研究表达不同膜蛋白的转基因植株(如对汞敏感和对汞不敏感),将分子生物学与植物生理学相结合来确定 AQP 在植株水分运输中的作用。但是目前对于一些重要的农作物,如小麦 AQP 的研究还很少,仅仅克隆了 3 个 PIP 基因(PIP1,PIP2,PIP3)和 3 个 TIP(TIP2;1,TIP2;2,TIP2;3)基因,对于其表达和功能的研究也较少,仅有 Ehler 等<sup>[46]</sup>在筛选零度以下寒胁迫小麦冠层 cDNA 文库时发现两个小麦 PIP 克隆,经过序列比较与 AQP 高度同源。

植物的蒸腾和水分利用效率与其他性状一样,是受一些基因和蛋白控制的,但具体受哪些基因和蛋白调控,目前仍无定论。气孔上的有关信号蛋白和水通道蛋白、不同组织中的水通道蛋白、细胞间的连丝、维管系统(导管、筛管、筛胞)对蒸腾和水分利用效率决定作用的大小,以及与 AQP 基因表达调控有关的信号传递等还有待进一步深入研究。

### [参考文献]

- [1] 张正斌. 作物抗旱节水的生理遗传育种基础[M]. 北京: 科学出版社, 2003. 84-96.
- [2] Denker B M, Smith B L, Kuhaida F P, et al. Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28 000 integral membrane

- protein from erythrocytes and renal tubules[J]. *J Biol Chem*, 1998, 263(30):15634—15642.
- [3] Preston G M, Agre P. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons; member of an ancient channel family[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1991, 88:11110—11114.
- [4] Preston G M, Carroll T P, Guggino W B, et al. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein[J]. *Science*, 1992, 17(256):385—387.
- [5] Hofte G M, Hubbard L, Reizer J, et al. Vegetative and seed-specific isoforms of a putative solute transporter in the tonoplast of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Physiol*, 1992, 99:561—570.
- [6] Maurel C, Reizer J, Schroeder J I, et al. The vacuolar membrane protein gamma-TIP creates water specific channels in *Xenopus* oocytes[J]. *The EMBO Journal*, 1993, 12:2241—2247.
- [7] Daniels M J, Mirkov T E, Chrispeels M J. The plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* contains a mercury-insensitive aquaporin that is a homolog of the tonoplast water channel protein TIP[J]. *Plant Physiology*, 1994, 106(4):1325—1333.
- [8] Schäffner A R. Aquaporin function, structure and expression: are there more surprises to surface in water relations?[J]. *Planta*, 1998, 204:131—139.
- [9] 曹志方, 赵南明, 刘 强. 植物膜水通道蛋白[J]. *生命的化学*, 2000, 20(1):13—16.
- [10] Kjellbom P, Larsson C, Johansson I, et al. Aquaporins and water homeostasis in plants[J]. *Trends Plant Sci*, 1999, 4:308—314.
- [11] Tyerman S D, Bohnert H J, Maurel C, et al. Plant aquaporins; their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations[J]. *J Exp Bot*, 1999, 50:1055—1071.
- [12] Johansson I, Karlsson M, Johanson U, et al. The role of aquaporins in cellular and whole plant water balance[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1465:324—342.
- [13] Santoni V, Gerbeau P, Javot H, et al. The high diversity of aquaporins reveals novel facets of plant membrane functions[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, 3:476—481.
- [14] Johanson U, Karlsson M, Johansson I, et al. The complete set of genes encoding major intrinsic proteins in *Arabidopsis* provides a framework for a new nomenclature for major intrinsic protein in plants[J]. *Plant Physiol*, 2001, 126:1358—1369.
- [15] Maurel C, Chrispeels M J. Aquaporins; a molecular entry into plant water relations[J]. *Plant Physiol*, 2001, 125:135—138.
- [16] Quigley F, Rosenberg J M, Shachar-Hill Y, et al. From genome to function; the *Arabidopsis* aquaporins[J]. *Genome Biol*, 2002, 3:1—17.
- [17] Reizer J, Reizer A, Saier M H Jr. The MIP family of integral membrane channel proteins; sequence comparisons, evolutionary relationships, reconstructed pathway of evolution, and proposed functional differentiation of the two repeated halves of the proteins[J]. *Biochemistry and Molecular Biology*, 1993, 28(3):235—257.
- [18] Chaumont F, Barrieu F, Wojcik E, et al. Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize[J]. *Plant Physiol*, 2001, 125:1206—1215.
- [19] Sakurai J, Ishikawa F, Yamaguchi T, et al. Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function[J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(9):1568—1577.
- [20] Kaldenhoff R, Kolling A, Meyers J, et al. The blue light-responsive *AthH2* gene of *Arabidopsis thaliana* is primarily expressed in expanding as well as in differentiating cells and encodes a putative channel protein of the plasmalemma[J]. *Plant J*, 1995, 7:87—95.
- [21] Yamada S, Katsuhara M, Kelly W B, et al. A family of transcripts encoding water channel proteins; tissue-specific expression in the common ice plant[J]. *Plant Cell*, 1995, 7:1129—1142.
- [22] Kaldenhoff R, Kolling A, Richter G. Regulation of the *Arabidopsis thaliana* aquaporin gene *AthH2* (*PIP1b*) [J]. *J Photochem Photobiol (B)*, 1996, 36:351—354.
- [23] Sarda X, Tusch D, Ferrare K, et al. Two TIP-like genes encoding aquaporins are expressed in sunflower guard cells[J]. *Plant J*, 1997, 12:1103—1111.
- [24] Barrieu F, Thomas D, Marty-Mazars D, et al. Tonoplast intrinsic proteins from cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*); immunological analysis, cDNA cloning and evidence for expression in meristematic tissues[J]. *Planta*, 1998, 204:335—344.
- [25] Chaumont F, Barrieu F, Herman E M, et al. Characterization of a maize tonoplast aquaporin expressed in zones of cell division and elongation[J]. *Plant Physiol*, 1998, 117:1143—1152.
- [26] Higuchi T, Suga S, Tsuchiya T, et al. Molecular cloning, water channel activity and tissue specific expression of two isoforms of radish vacuolar aquaporin[J]. *Plant Cell Physiol*, 1998, 39:905—913.
- [27] Gao Y P, Young L, Bonham-Smith P, et al. Characterization and expression of plasma and tonoplast membrane aquaporins in primed seed of *Brassica napus* during germination under stress conditions[J]. *Plant Mol Biol*, 1999, 40:635—644.
- [28] Gerbeau P, Güclü J, Ripoche P, et al. Aquaporin Nt-TIPa can account for the high permeability of tobacco cell vacuolar membrane to small neutral solutes[J]. *Plant J*, 1999, 18:577—587.
- [29] Chaumont F, Barrieu F, Jung R, et al. Plasma membrane intrinsic proteins from maize cluster in two sequence subgroups with differential aquaporin activity[J]. *Plant Physiol*, 2000, 122:1025—1034.

- [30] Yamada S, Bohnert H J. Expression of the PIP aquaporin promoter-MIPA from the common ice plant in tobacco[J]. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41: 719-725.
- [31] Dixit R, Rizzo C, Nasrallah M, et al. The *Brassica MIP-MOD* gene encodes a functional water channel that is expressed in the stigma epidermis[J]. *Plant Mol Biol*, 2001, 45: 51-62.
- [32] 张军锋, 邓西平, 慕小倩. 植物的水通道蛋白[J]. *植物生理学通讯*, 2002, 38(1): 88-91.
- [33] Shisong Ma, Tanya M Quist, Alexander Ulanov, et al. Loss of TIP1;1 aquaporin in *Arabidopsis* leads to cell and plant death[J]. *The Plant Journal*, 2001, 10(6): 845-859.
- [34] Loque D, Ludewig U, Yuan L, von Weren N. Tonoplast intrinsic proteins AtTIP2;1 and AtTIP2;3 facilitate NH<sub>4</sub><sup>+</sup> transport into the vacuole[J]. *Plant Physiol*, 2005, 137(2): 671-680.
- [35] Jang J Y, Kim D G, Kim Y O, et al. An expression analysis of a gene family encoding plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Mol Biol*, 2001, 51(5): 713-725.
- [36] SUN Mei-hao, ZHANG Min-hua, LIU Hong-yan, et al. Distribution of water channel protein RWC3 and its regulation by GA and sucrose in rice (*Oryza sativa*)[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2001, 16(9): 1056-1061.
- [37] Bois M, Vergeldt F, Wolters Arts M, et al. Aquaporins of the PIP2 class are required for efficient anther dehiscence in tobacco[J]. *Plant Physiol*, 2005, 137(3): 1019-1056.
- [38] Maestri P, Giordani T, Lunardi A, et al. Isolation and expression of two aquaporin encoding genes from the marine phanerogam *Posidonia oceanica*[J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, 15(12): 1838-1847.
- [39] Daniel Reisen, Nathalie Leborgne Castel, Cengiz Ozalp, et al. Expression of a cauliflower tonoplast aquaporin tagged with GFP in tobacco suspension cells correlates with an increase in cell size[J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52(2): 387-400.
- [40] Marc Bois, Richard Feron, Norbert Uehlein, et al. PIP1 and PIP2 aquaporins are differentially expressed during tobacco anther and stigma development[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(109): 113-121.
- [41] Hokin D, Doering-Saad C, Thomas C R, et al. Sensitivity of cell hydraulic conductivity to mercury is coincident with symplasmic isolation and expression of plasmalemma aquaporin genes in growing maize roots[J]. *Planta*, 2002, 215(6): 1047-1056.
- [42] Rosario Vera Estrella, Bronwyn J Barkla, Hans J Bohnert, et al. Novel regulation of aquaporins during osmotic stress[J]. *Plant Physiology*, 2001, 115: 2318-2329.
- [43] Rosa Poreci, Manuel Gómez, Ralf Kaldenhoff, et al. Impairment of *AtAQP1* gene expression in tobacco plants does not effect root colonization pattern by arbuscular mycorrhizal fungi but decreases their symbiotic efficiency under drought[J]. *Mycorrhiza*, 2005, 15(6): 117-123.
- [44] Aroca R, Amodeo G, Fernandez-Illescas S, et al. The role of aquaporins and membrane damage in chilling and hydrogen peroxide induced changes in the hydraulic conductance of maize roots[J]. *Plant Physiol*, 2005, 137(1): 311-353.
- [45] Yuko T Hanba, Mineo Shibasaki, Yasuyuki Hayashi, et al. Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases internal CO<sub>2</sub> conductance and CO<sub>2</sub> assimilation in the leaves of transgenic rice plants[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2001, 45(5): 521-529.
- [46] Ehler Linda, Herman L, Eliot M. Identification and cloning of an aquaporin that shows enhanced expression in response to cold and freezing temperatures in *Triticum aestivum*[EB/OL]. [http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?SEQ\\_NO\\_115=121873](http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?SEQ_NO_115=121873).

## Advances in the studies on plant aquaporins

WANG Yan-mei<sup>1,2</sup>, ZHANG Zheng-bin<sup>1</sup>, CHAI Tuan-yao<sup>2</sup>, XU Ping<sup>1</sup>, ZHAO Hong-bin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Center for Agricultural Resources Research, Institute of Genetic and Developmental Biology, CAS, Shijiazhuang, Heilbei 050021, China;

<sup>2</sup> Graduate School of CAS, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Aquaporin belongs to a highly conserved group of membrane proteins called major intrinsic proteins that facilitate water transport across biological membranes. Plant MIPs can be subdivided into the plasma membrane intrinsic protein, tonoplast intrinsic protein, and NOD26-like intrinsic protein subfamilies, which are distributed over almost all organs of the plant and tissue-specifically expressed. We introduced the discovery, structure, classification and the latest research progress of the AQP localization, tissue- and cell-specific expression and function. Problems existing in the research and future directions were also discussed.

**Key words:** plant; aquaporin; AQP localization; tissue- and cell-specific expression