

植物线粒体热激蛋白的生物学功能

冯海霞, 郭尚敬, 李妹芳, 孟庆杰, 王光全

(聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252059)

摘要: 线粒体热激蛋白具有分子伴侣活性, 与植物耐热性和耐冷性有关, 对逆境条件下植物氧化磷酸化的电子传递具有保护作用。现就植物线粒体热激蛋白生物学功能的研究进展作简要介绍, 并对今后此领域的研究作以展望。

关键词: 线粒体; 热激蛋白; 耐热性; 耐冷性; 电子传递

中图分类号: Q 946.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)06-0115-04

热激蛋白(Heat shock protein, HSP)是生物体受到不良环境因素(如高温、缺氧、饥饿、重金属离子等)影响时诱导合成的一类应激蛋白^[13]。多数学者认为 HSP 的出现与细胞耐热潜力的发挥有关^[45]。根据分子量的大小, 将其分为高分子量热激蛋白(分子量> 50 kD)和低分子量热激蛋白(分子量< 50 kD)两大类。植物热激蛋白的显著特点是小分子量热激蛋白(small heat shock protein, sHSP)相当丰富, sHSP 广泛存在于植物细胞膜、细胞质、叶绿体、线粒体等组织中。sHSP 在多数生物体中由高温诱导产生。家族成员的分子量从12 ~ 42kD

不等, 在 C 末段有约 100 个氨基酸的保守序列。高等植物的 sHSP 种类繁多, 它们至少属于 5 种保守的核基因家族, 包含 2 种截然不同的种类: 细胞质 I 类 sHSP、细胞质 II 类 sHSP 和 3 种细胞器 sHSP, 即叶绿体 sHSP(CP-sHSP)、线粒体 sHSP (MTsHSP)和内膜 sHSP(一般指的是内质网 sHSP 即 ERsHSP)。细胞器 sHSP 似乎对植物有很独特的作用^[9]。

MTsHSP 是定位于线粒体中的一类 sHSP, 它的研究起步比细胞质 sHSP 和 CPsHSP 晚。近年来的研究发现, MTsHSP 与 CPsHSP 的结构相似, 在 C 末端附近有 2 个同源保守区, 其中一个是在 C 末端“热休克区域”, 另一个是约 70%的氨基酸同源保守区域^[7]。MTsHSP 除了具有一般 sHSP 所具有分子伴侣功能外^[8], MTsHSP 在植物应对外界环境温度变化时起一定的作用, 如热激时 MTsHSP 可以提高植物的耐热性^[7,9-10]。刘箭和庄野真理子^[11]发现低温能够诱导 MTsHSP 在番茄叶片中表达。此外, MTsHSP 可以保护氧化磷酸化过程中的电子传递^[9]。

第一作者简介: 冯海霞(1983-), 女, 硕士, 研究方向为植物分子遗传学。E-mail: fenghaixiadoctor@163.com.

通讯作者: 郭尚敬(1970-), 男, 山东聊城人, 博士, 副教授, 现从事植物分子遗传学研究。E-mail: guoshangjing@lcu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30671242)。

收稿日期: 2009-01-27

The Study of Ecological Effect of the Interaction between AMF and Soil Nutrient

WANG Xiao-ying^{1,2}, WANG Dong-mei¹

(1. Key Laboratory of Soil and Water Conservation and Desertification Combating, Ministry of Education, College of Soil and Water Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. Water and Land Eco-Environment Technology Institute, Beijing 100080, China)

Abstract: Soil nutrient influenced genus, species richness, frequency and density of AMF. Meanwhile host plant, soil microorganism and edaphon was affected by AMF. The research results summarized on the interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and soil nutrient. This paper analyzed impacts of soil nutrient factors such as nitrogen, phosphorus, kalium and organic matter on growth and community diversity of AMF. It was analyzed the influence on growth and nutrient absorbed of host plant inoculation with different AMF in different soil nutrient environment, and the impact of soil edaphon with AMF. Finally, several important research topics were suggested on the interaction between AMF and soil, they could form the basis for the further research on AM diversity and biology diversity.

Key words: Arbuscular mycorrhizal fungi; Soil nutrient; Interaction; Ecological effect

1 MTsHSP 的分子伴侣功能

植物中很多 sHSP 具有分子伴侣活性。在热激和热激恢复时, 15 ~ 18 kD 的 sHSP 在细胞质和细胞器之间穿梭, 起着分子伴侣的作用, 具有保护细胞不受高温伤害, 修补被损伤的蛋白质的作用^[12]。有些研究报道认为 sHSP 的分子伴侣活性与其 C 末端的 α -晶体结构密切相关^[13-14]。不同类型的 sHSP 在胁迫条件下(如高温)诱导产生后结合某些底物蛋白质使其结构发生相应改变, 从而阻止底物蛋白质间的聚合, 保持了蛋白质的动态平衡^[15]。对大麦线粒体和叶绿体的 10 和 12 kD 的 sHSP 进行了研究, 发现 MTsHSP 10 在蛋白质折叠和装配中确实起着重要的作用^[8]。MTsHSP 作为 sHSP 家族成员之一, 也具有分子伴侣功能, 在逆境条件下对线粒体蛋白质具有保护作用, 从而保证了植物体内某些生理生化反应的正常进行。

2 MTsHSP 与植物的耐热性

MTsHSP 与植物的耐热性有关。在玉米的线粒体中, ZmHSP22 在热激过程中大量积累, 其最大量表达发生在经 42℃热激 5 h 后的黄化苗的线粒体中。在无热胁迫时, ZmHSP22 的表达量又出现下降趋势。这说明 ZmHSP22 与植物个体耐热性有关, 高温胁迫下对线粒体起保护作用^[7]。LeHSP23.8 基因的表达在 36℃下几乎检测不到, 但在 40℃下 LeHSP23.8 基因合成的蛋白质快速积累, 说明 LeHSP23.8 与番茄在高温下的应激反应有关^[16]。

转基因过量表达 MTsHSP 可以提高植物的耐热性。刘箭和庄野真理子^[17]认为常温下野生型植物叶片不含 MTsHSP, LeHSP23.8 基因导入后, 转基因烟草叶片中出现组成性表达的 MTsHSP, 且表达的 MTsHSP 累积在线粒体中。对高温下野生型烟草线粒体和转基因烟草线粒体量进行了比较, 发现即高温下转基因烟草线粒体氧化磷酸化的效率高于野生型。说明高温下转基因烟草线粒体活性较高, MTsHSP 提高了线粒体的耐热性。为了进一步搞清楚 MTsHSP 在热激反应中的功能 Sanniya 等^[10]将番茄的 MTsHSP 基因转入烟草中。研究结果表明, 25℃的常温下, 在野生型、载体控制型和反义表达型中均检测不到 MTsHSP, 而正义表达型中可以检测到。46℃热激 2 h, 发现野生型、载体控制型中 MTsHSP 少量积累, 正义表达型中 MTsHSP 大量积累。而反义表达型的植株却受到严重高温伤害。48℃热激 2 h, 对野生型、载体控制型和反义表达型的植株均有大的伤害, 但对正义表达型植株的生存影响很微弱。50℃对所有的植株都是致命的。Nautiyal 等^[18]认为番茄 MTsHSP 28 基因的过量表达可以增强其耐热性。但在对 MTsHSP 是否提高线粒体的耐热性, 以及 MTsHSP 是否对细胞和个体植物的耐热性有帮助方面还需要更

多的实验证据。

3 MTsHSP 与植物的耐冷性

对植物进行热激预处理, 可以提高植物组织耐低温的能力。研究发现, 热激后绿豆下胚轴在 2.5℃低温条件下生长 9 d 受到的冷害比未经热激处理的对照轻的多^[19]。认为热激诱导产生的 HSP 低温时保留在绿豆下胚轴中, 从而在某种程度上增加了下胚轴组织的抗冷性^[20]。Sabehat 等^[21]将番茄果实在 38℃高温下热激 48 h 后, 在低温(2℃)下处理, 发现热激可以提高果实的抗冷性, 其影响效果可长达 21 d。利用染色、放射性标记以及免疫杂交的方法研究表明, 热激产生的 HSP70、HSP18.1 和 HSP23 存在于低温处理的果实中。Soto 等^[22]的研究结果表明, 低温处理可以诱导 CsHSP17.5 基因在栗子根、茎中的表达。sHSP 表达量的不同可能是由于不同植物、不同器官对低温的反应不同造成的。黄上志等^[23]将水稻幼苗进行热激处理后, 发现其对寒冷的抗性有所提高。郭尚敬等^[24]用 Northern 杂交方法检测到甜椒的 CaHSP18 基因在经低温处理 2 d 的叶片、茎中表达。Wang 等^[25]认为过量表达 CPsHSP 可以提高番茄的抗寒性。因而认为低温下其它类型 sHSP 的表达可以减轻低温危害。估计低温下表达的 sHSP 有可能存在于植物的其它细胞器中。

有资料表明 MTsHSP 与植物的耐冷性有关。Sabehat 等^[21]发现番茄果实的 MTsHSP 的表达是由热激引起并非冷激, 尽管番茄果实细胞可以使热激后的 MTsHSP 在低温下保持相当长的时间。但是, 刘箭和庄野真理子^[26]的研究发现低温能够诱导 LeHSP23.8 在番茄叶片的线粒体中表达, 而且这是对冷激诱导 MTsHSP 表达的首次报道。并据此推测在植物的叶中可能含有果实中没有的某种未知的调节物质, 这种组织特异性的物质使 sHSP 可以被低温诱导。Western 杂交结果表明, 只有在线粒体中可以检测到, 说明 LeHSP23.8 是线粒体所特有的蛋白质。其它植物叶中的 MTsHSP, 或者其它组织中不同分子量的 MTsHSP 是否也具有冷诱导特性值得进一步的研究。

4 MTsHSP 与植物氧化磷酸化中的电子传递

MTsHSP 可以保护电子传递。线粒体主要通过氧化磷酸化为植物体提供能量, 其中呼吸链存在于线粒体内膜上, 呼吸链中的各种复合物容易受外界环境影响, 而 MTsHSP 被证明与植物应对多种胁迫有关。目前的研究发现, MTsHSP 对氧化磷酸化的耐热性起着非常重要的作用的原因是植物在热激中产生的 MTsHSP 可以保护电子传递^[9]。

MTsHSP 保护氧化磷酸化中的电子传递的途径在于, 电子传递存在于呼吸链中, 呼吸链包括 NADH 呼吸链和 FADH₂呼吸链, 其中复合物 I、III、IV 组成主要的

NADH 呼吸链, 催化 NADH 的氧化。在呼吸链的所有复合物中, 复合物 I (NADH-CoQ 还原酶) 是最不耐热的氧化磷酸化复合物。热激下 MTsHSP 可以增加从复合物 I 到复合物 III、IV 的电子传递。并且 MTsHSP 使从复合物 I 到复合物 III、IV 的电子传递在热环境产生适应性, 原因为热激中复合物 I 受到了保护, 说明复合物 I 可能是线粒体氧化磷酸化的一个重要的不耐热组分。这是在 MTsHSP 对氧化磷酸化的耐热性起着非常重要的作用方面首次得到的直接证据。MTsHSP 对植物应对热激是相当重要的。MTsHSP 在热激条件下保护了 NADH 呼吸链, 从而保证线粒体行使其正常的生物学功能。

热胁迫下, MTsHSP 对柠檬酸合成酶 (CS) 起保护作用。柠檬酸循环即三羧酸循环 (TCA 循环) 在线粒体中进行, 在 TCA 循环中, 丙酮酸进行脱羧和脱氢反应, 羧基形成 CO_2 , 氢原子则随着载体 (NAD⁺ 和 FAD) 进入电子传递链参与氧化磷酸化作用。CS 是定位于线粒体内的对高温敏感的酶, 刘箭和庄野真理子^[17] 认为高温 (38 °C) 造成严重 CS 失活消失 80%, 失活后 CS 在回到较低的温度 (22 °C) 时, 还可以部分复性, CS 活性可恢复到原始活性的 40%。将 MTsHSP 与等摩尔的 CS (均按单体计算) 混合, 38 °C 下 CS 变性的速度相对较慢, 60 min 后 CS 丧失活性 60%, 再将反应试管转移到 22 °C 下, CS 酶活性可以恢复到原始活性的 90% 以上。说明 MTsHSP 不但可减慢 CS 的热变性, 而且促进热变性的 CS 复性, 减少不可逆变性 CS 的比例并使 CS 大部分恢复活性^[9]。Bykova 等 (2003) 通过质谱学和双向凝胶电泳, 在马铃薯块茎的线粒体中分离得到 14 种新的磷酸蛋白, 其中有 2 种为 MTsHSP, 所有这些磷酸蛋白均对线粒体内的 TCA、ATP 合成酶以及电子传递的调节和信号互作起一定的作用。Tiroli 和 Ramos^[27] 也认为甘蔗 (*Saccharum spontaneum*) SsHSP17.9 可以有效地促进 CS 和苹果酸脱氢酶的合成与积累。所有这些说明 MTsHSP 通过保护 CS, 促进了植物氧化磷酸化的电子传递。

转基因研究进一步表明了 MTsHSP 对植物氧化磷酸化的作用。刘箭和庄野真理子^[17] 对导入 LeHSP23.8 基因的转基因烟草和野生型烟草线粒体的氧化磷酸化进行了比较, 发现随温度的上升, 野生型烟草线粒体氧化磷酸化的 P/O 下降的较快, 在 40 °C 和 42.5 °C 时野生型烟草和转基因烟草线粒体内氧化磷酸化的 P/O 出现明显的差异, 即高温下转基因烟草线粒体氧化磷酸化的效率高于野生型。MTsHSP 的和线粒体内的其它相关基因或蛋白可能具有某些相互作用, 对氧化磷酸化中的电子传递起保护作用。

5 展望

植物在热激下合成数量丰富而又种类不同的 sHSP, 与细胞质 sHSP 和 CPsHSP 一样, 植物在热激时有 MTsHSP 生成并且被认为对耐热性特别重要。低温胁迫时, MTsHSP 在植物的叶片对细胞也有保护作用。MTsHSP 在植物热激中可以保护电子传递, 在其它逆境下 (如冷激、氧化、强光、重金属和干旱等) MTsHSP 是否也可能保护线粒体内的电子传递还有待进一步研究。并且认为在不同的遗传型和表型中 MTsHSP 的表达对细胞以及生物体的抗逆性起决定性的作用。MTsHSP 保护复合物 I 的哪一部分和哪一功能尚且未知。此外, 有资料显示, 一些 MTsHSP 定位在线粒体基质中, 一些在线粒体内膜上^[28]。但是哪些在基质中, 哪些在内膜上, 这些基因尚待分离和鉴定。还有资料表明 MTsHSP22 可以延长果蝇寿命, 并且可以提高果蝇的耐氧胁迫能力^[29-30], 植物体内的 MTsHSP 是否也和植物生命周期长短有关系有待进一步研究。

目前对热激蛋白一系列特殊的生理机制尚不十分清楚。近年来研究者采用不同植物的不同组织对 sHSP 基因进行表达, 表明 sHSP 分子量的多样性是由基因的多样性决定的, 因此深入到基因水平的研究对认识 sHSP 的生物学意义是有益的。不同类型植物中 CPsHSP 和 MTsHSP 的基因分离、表达、转化和功能分析的研究都有助于揭示 sHSP 的作用机制。Rikhvanov 等^[31] 对拟南芥的 HSP 进行研究表明在 37 °C 条件下, 为了避免热诱导引起的细胞死亡, 拟南芥 MTsHSP 和核 sHSP 还存在互作, 这种线粒体 HSP 与其它种类 HSP 之间的相互作用是否具有普遍性, 值得进一步研究。

参考文献

- [1] Gabai V L, Kabakov A E. Rise in heat-shock protein level confers tolerance to energy Deprivation [J]. FEBS Lett, 1993, 327: 247-250.
- [2] Banti V, Loreti E, Novi G, et al. Heat acclimation and cross-tolerance against anoxia in Arabidopsis [J]. Plant Cell Environ 2008 31(7): 1029-1037.
- [3] Matuszewska E, Kwiatkowska J, Kuczynska-Wisnik D, et al. Escherichia coli heat-shock proteins HspA/B are involved in resistance to oxidative stress induced by copper [J]. Microbiology, 2008, 154(6): 1739-1747.
- [4] Tang L, Kwon S Y, Kim S H, et al. Enhanced tolerance of transgenic potato plants expressing both superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in chloroplasts against oxidative stress and high temperature [J]. Plant Cell Rep, 2006, 25(12): 1380-1386.
- [5] Zhao C M, Shono M, Sun A Q, et al. Constitutive expression of an endoplasmic reticulum small heat shock protein alleviates endoplasmic reticulum stress in transgenic tomato [J]. J Plant Physiol 2007, 164(12): 835-841.
- [6] Downs C A, Jones L R, Heckathorn S A. Evidence for a novel set of small heat-shock proteins that associates with the mitochondria of murine PC12 cells and protects NADH: ubiquinone oxidoreductase from heat and oxidative stress [J]. Arch Biochem Biophys 1999, 365(2): 344-350.
- [7] Lund A A, Blum P H, Bhattaramakki D, et al. Heat-stress response of

maize mitochondria[J]. Plant Physiol, 1998, 116: 1097-1110.

[8] Hartman D J, Dougan D, Hoogenraad N J, et al. Heat shock proteins of barley mitochondria and chloroplasts Identification of organellar hsp 10 and 12: putative chaperonin 10 homologues[J]. FEBS Lett, 1992, 305: 147-150.

[9] Downs C A, Heckathorn S A. The mitochondrial small heat-shock protein protects NADH: ubiquinone oxidoreductase of the electron transport chain during heat stress in plants[J]. FEBS Lett, 1998, 430: 246-250.

[10] Sanniya K, Suzuki K, Egawa Y, et al. Mitochondrial small heat-shock protein enhances thermotolerance in tobacco plants[J]. FEBS Lett, 2004, 557: 265-268.

[11] 刘箭, 庄野真理子. 小分子热激蛋白基因在番茄花药中的转录[J]. 园艺学报, 2001, 28(5): 403-408.

[12] Jinn T L, Chen Y M, Lin C Y. Characterization and physiological function of class I low-molecular-mass heat-shock protein complex in soybean[J]. Plant Physiol, 1995, 108: 693-701.

[13] Ganea E. Chaperone-like activity of α -crystallin and other small heat shock proteins[J]. Curr Prot Prot Sci, 2001(2): 205-225.

[14] Haslbeck M. sHsps and their role in the chaperone network[J]. Cell Mol Life Sci, 2002, 59: 1649-1657.

[15] Haslbeck M, Franzmann T, Weinfurter D, et al. Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins[J]. Nature Struct Mol Biol, 2005, 12: 842-846.

[16] Liu J, Shono M. Characterization of mitochondria-located small heat shock protein from tomato (*Lycopersicon esculentum*)[J]. Plant Cell Physiol, 1999, 40(12): 1297-1304.

[17] 刘箭, 庄野真理子. 高温下线粒体小分子热激蛋白对柠檬酸合成酶、线粒体和花粉粒的保护作用[J]. 植物生理学报, 2001, 27(5): 375-380.

[18] Nautiyal P C, Shono M, Egawa Y. Enhanced thermotolerance of the vegetative part of MT-sHSP transgenic tomato line[J]. Scientia Horticulturae, 2005, 105: 393-409.

[19] Collins G G, Nie X L, Saltveit M E. Heat shock increases chilling tolerance of mung bean hypocotyls tissue[J]. Physiol Plantarum, 1993, 89: 117-124.

[20] Collins G G, Nie X L, Saltveit M E. Heat shock proteins and chilling sensitivity of mung bean hypocotyls[J]. J Exp Bot, 1995, 46: 795-802.

[21] Sabehat A, Weiss D, Lurie S. The correlation between heat-shock protein accumulation and persistence and chilling tolerance in tomato fruit[J]. Plant Physiol, 1996, 110: 531-537.

[22] Soto A, Allona I, Collada C, et al. Heterologous expression of a plant small heat-shock protein enhances Escherichia coli viability under heat and cold stress[J]. Plant Physiol, 1999, 120: 521-528.

[23] 黄上志, 黄祥富, 林晓东, 等. 热激对水稻幼苗耐冷性及热激蛋白合成的诱导[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(2): 189-194.

[24] 郭尚敬, 陈娜, 郭鹏, 等. 甜椒细胞质小分子量热激蛋白基因(CaHSP18)的cDNA克隆与表达[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(4): 409-416.

[25] Wang L, Zhao C M, Wang Y J, et al. Overexpression of chloroplast-localized small molecular heat-shock protein enhances chilling tolerance in tomato plant[J]. J Plant Physiol Mol Biol, 2005, 31(2): 167-174.

[26] 刘箭, 庄野真理子. 番茄线粒体和内质网小分子热激蛋白基因的分子克隆[J]. 植物学报, 2001, 43(2): 138-145.

[27] Tirol A O, Ramos C H I. Biochemical and biophysical characterization of small heat shock proteins from sugarcane Involvement of a specific region located at the N-terminus with substrate specificity[J]. Int J Biochem Cell B, 2007, 39: 818-831.

[28] Lenne C, Douce R. A low molecular mass heat-shock protein is localized to higher plant mitochondria[J]. Plant Physiol, 1994, 105: 1255-1261.

[29] Morrow G, Battistini S, Zhang P, et al. Decreased lifespan in the absence of expression of the mitochondrial small heat shock protein Hsp22 in Drosophila[J]. J Biol Chem, 2004, 279(42): 43382-43385.

[30] Morrow G, Samson M, Michaud S, et al. Overexpression of the small mitochondrial Hsp22 extends Drosophila life span and increases resistance to oxidative stress[J]. FASEB J, 2004, 18(3): 598-599.

[31] Rikhvanov E G, Gamborg K Z, Varakina N N, et al. Nuclear-mitochondrial cross-talk during heat shock in Arabidopsis cell culture[J]. Plant J, 2007, 52(4): 763-778.

Biological Functions of Plant Mitochondria-localized HSP

FENG Hai-xia, GUO Shang-jing, LI Mei-fang, MENG Qing-jie, WANG Guang-quan

(College of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059, China)

Abstract: The molecular chaperone ability of plant mitochondria-localized heat shock proteins was analysed. The correlation between plant mitochondria-localized heat shock proteins and the acquirement of heat tolerance and chilling tolerance, and electron transport protection of oxidative phosphorylation under stress were reviewed. In this paper, advanced researches about mitochondria-localized heat shock proteins were introduced and perspected.

Key words: Mitochondria; Heat shock proteins; Heat tolerance; Chilling tolerance; Electron transport