

叶绿体小分子量热激蛋白与植物 光系统保护研究进展

郭尚敬, 冀芦沙

(聊城大学, 山东 聊城 252059)

摘要: 对叶绿体小分子量热激蛋白的研究进行了简要的回顾和总结。详细介绍了植物遇到冷、热胁迫时, 叶绿体小分子量热激蛋白对光合系统的保护; 初步分析了叶绿体小分子量热激蛋白与植物的耐热性和耐冷性关系及其潜在的作用方式。

关键词: 叶绿体; 小分子量热激蛋白; 植物光系统保护

中图分类号: Q74 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)10-0010-04

Chloroplast-localized Small Heat Shock Proteins and the Protection of PS I and PS II in Plants

GUO Shang-jing, JI Lu-sha

(Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract: This paper summarized the research on chloroplast-localized small heat shock proteins. Chloroplast-localized small heat shock proteins efficiently protect the PS II during the chilling and heat stress. In this paper, the relation between heat or chilling tolerance and these proteins was discussed. Also, their chaperone function was analyzed.

Key words: chloroplast; small heat shock proteins; the protection of PS I and PS II

低温是我国北方地区甜椒、黄瓜等冷敏感植物冬春育苗和日光温室等保护地生产中的主要障碍因素。在冬春保护地生产中, 低温危害发生频率较高, 恢复期较长, 对作物生长和产量影响很大。因此, 研究植物的抗冷机制, 通过现代分子生物学手段提高其抗冷性, 对于指导喜温蔬菜抗逆栽培和育种具有重要的理论和实践意义。

热激蛋白(heat shock proteins, HSP)是一类在生物体受高温、盐渍、干旱、饥饿、重金属离子等环境胁迫刺激后大量表达的蛋白, 是生物对逆境胁迫短期适应的必需响应因子, 对减轻逆境胁迫引起的伤害有较大作用。有机体在受到逆境胁迫后, 体内大部分蛋白质和 mRNA 的合成受到抑制, 同时体内迅速合成一些变性蛋白, 热激蛋白作为一种分子伴侣

可以与变性蛋白有效结合, 编码热激蛋白的基因称为热激基因。早在 20 世纪 90 年代, 科学家已证明热激基因广泛存在于其他生物中, 而且热激基因编码的相应热激蛋白在几乎所有的活细胞中都起着重要的作用。小分子量热激蛋白(sHSP)是植物中最重要的一类热激蛋白, 高等植物中至少有 5 种多基因家族编码此类蛋白, 其广泛分布于细胞质、线粒体、叶绿体等组织中, 目前研究表明, sHSP 在植物体响应逆境胁迫中起到重要作用。

1 sHSP 对植物的低温保护作用

近年来, 热处理诱导植物抗冷性的研究已逐渐成为人们关注的焦点。低温诱导合成的某些蛋白可能与热激处理诱导产生的蛋白相互作用, 试验证实,

收稿日期: 2012-05-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671242); 山东省高等学校科技计划(J12LE07)

作者简介: 郭尚敬(1970-), 男, 山东聊城人, 副教授, 博士, 主要从事分子生物学与生物化学研究。

E-mail: jilu2060@163.com

冷驯化和热激诱导下植物体内合成蛋白质的功能显著不同,但测序结果却证实两类蛋白的序列有较高的同源性。蛋白质印迹法分析发现冷激的大豆、菠菜和玉米体内积累了大量分子量不同的 HSP,在冷激处理后的大豆中编码 27 kD HSP 的 mRNA 含量显著提高,且菠菜冷驯化过程中积累的 79 kD 蛋白质与 HSP 同源性高达 90%。

在提高植物低温抗性的过程中,人们发现 HSP 对处于低温胁迫下的植物具有特殊的保护作用。HSP 是高温诱导蛋白,具有分子伴侣作用,在高温胁迫条件下对植物有保护作用^[1-2]。后来发现 HSP 对处于低温胁迫下的植物也具有保护作用,如对豌豆和绿豆下胚轴具有低温保护作用^[3-4]。也有研究表明,HSP 能够延长番茄果实在低温条件下的保鲜时间^[5-6]。将细胞质 *sHSP* 基因在大肠杆菌中表达,增强了大肠杆菌细胞在低温(4 °C)逆境条件下的细胞活性^[7-8]。低温处理后,转叶绿体 *sHSP* 基因番茄的冷害症状轻于未转基因的番茄;转基因番茄细胞电解质外渗较少、花青素和 MDA 积累量较低;净光合速率和叶绿体含量高于未转基因的番茄,表明叶绿体 *sHSP* 基因可以提高植物的抗冷性^[9]。

2 *sHSP* 对植物光系统的保护作用

低温对喜温植物的危害是多方面的,而对光合机构的影响尤为重要。当植物遇到低温胁迫时,由于其碳同化能力下降而对光能的利用减少,即使在中等光强甚至弱光下也会出现激发能过剩,从而导致植物发生光抑制、光氧化破坏。低温与强光胁迫会引起光系统 II (PS II) 反应中心 D1 蛋白的降解,而光系统 I (PS I) 在低温弱光胁迫下易发生光氧化破坏^[10-12]。近年来的研究表明,PS I 对低温弱光比 PS II 更敏感^[11-16]。我们的研究表明,与失活的 PS II 反应中心能在较短时间内恢复不同,低温弱光胁迫后 PS I 往往需要较长时间才能恢复功能^[12]。低温胁迫下植物发生光抑制被认为主要是由于低温降低了碳同化过程中的酶活性,从而降低了光合能量利用^[17]。同时,低温导致冷敏感植物 CO₂ 同化能力下降,光下还原力(NADPH)不能被及时利用,O₂ 在 PS I 的受体则被还原为 O₂⁻,活性氧产生,而活性氧则会攻击电子受体,从而启动 *PsaB* 基因编码蛋白降解,PS I 功能丧失^[15,18]。另外,有研究者认为,低温条件下植物膜系统是最先受到伤害的部位^[19],而植物生物膜完整性的破坏及膜脂组成的改变与活性氧的产生有很大关系,与低温弱光条件下 PS I 光抑制密切相关^[20]。

在逆境条件下,HSP 保护 PS II 的电子传递链也可以保护类囊体膜,从而提高植物对胁迫的耐性。番茄离体试验证实,高温条件下,叶绿体 *sHSP* 可以保护 PS II 的电子传递^[21]。将 *sHSP* 在耐热性不同的植物基因型中进行超表达研究表明,*sHSP* 作为分子伴侣可有效结合光合电子传递中最易受高温影响的组分。Török 等^[22]研究表明,在热激时蓝细菌 *sHSP* 可以和其他分子伴侣一起结合变性的蛋白,并使之进一步折叠,也可以与膜脂结合以稳定类囊体膜。

3 *sHSP* 维持植物膜脂稳定性

前人的研究表明,HSP 对植物的保护作用主要通过 2 种方式降低活性氧的伤害程度:一是做为分子伴侣维持蛋白质的稳定性^[1],二是维持膜脂的稳定性^[21]。Tsvetkova 则指出,*sHSP* 可以调节膜脂的多态性,稳定膜的液晶相,并且增加液体相分子排列的有序性;同时 *sHSP* 结合于膜脂双分子层的磷脂头部,并且对疏水区也有影响。他认为在高温下 *sHSP* 和膜的相互作用可以降低膜的流动性,保护膜的完整性^[23]。在高温处理时,向离体的类囊体膜添加外源叶绿体 HSP21 可提高 PS II 电子传递效率^[22-26],说明在温度逆境条件下叶绿体 *sHSP* 对光合系统有一定的保护作用。Guo 等将甜椒叶绿体 *sHSP* 基因转入烟草,对转基因烟草 P700 的测定表明,叶绿体小分子量蛋白的表达减轻低温弱光条件下 PS I 的光抑制^[10-13]。但叶绿体 *sHSP* 减轻 PS I 的光抑制的机制是通过保护 PS I 电子传递链的蛋白以减轻光氧化伤害的程度,还是通过保护类囊体膜从而增加膜脂的稳定性尚不清楚。

高温条件下大多 HSP 参与蛋白质的保护,而在低温条件下 HSP 参与维持膜脂稳定性的基因仅有 *Synechocystis HSP17*^[23]。尽管人们已经克隆了叶绿体 *sHSP* 基因,并且研究了高温条件下对光系统的保护作用。但是,针对叶绿体 *sHSP* 对光合机构的研究仅限于转基因植株经低温胁迫后光合参数和荧光参数表象的分析。而以前的研究表明,PS I 的光抑制在很大程度上都是由活性氧的伤害引起的,尤其是对 PS I 反应中心组分 *psaB* 蛋白的伤害。低温条件下,HSP 对光合机构的保护是通过何种方式进行的,其具体保护机制的研究对于提高植物的低温抗性具有十分重要的理论意义和实践价值。

4 展望

植物中某些热激蛋白的表达具有组织和发育的

特异性。在具有转录活性的大部分植物组织中都有热激蛋白的表达,热激基因的转录和热激蛋白的合成在所有营养组织中都会发生,包括半成熟的种子、吸涨种子的糊粉层和发芽的胚胎。截至目前,在植物胚胎发育早期的前鱼雷期和花粉萌发期仍未检测到热激蛋白的表达,胚胎发育早期能检测到有明显数量的热激蛋白,在成熟的胚胎中已经检测出编码处于翻译活性状态的热激蛋白的 mRNA。低分子量热激蛋白不仅存在于胚胎发生早期,而且其第 I 类家族成员在豌豆和小麦种子中特异表达,此家族第 II 类成员在未受高温刺激的玉米和百合的大孢子发生阶段也特异表达。豌豆种子发育过程中,细胞质 I、II 类 sHSP 的表达受发育调控,而且在干种子中也检测到此类蛋白的表达^[2]。在小麦胚中也检测到发育依赖的热激蛋白,其功能可能与种子耐脱水性、胚发育、休眠、萌发、耐热性、寿命形成及维持都有密切关系^[27]。

甜椒为双子叶植物,利用农杆菌介导法进行基因转化,国内外已有成功的报道^[28]。聊城大学植物环境生理学实验室也建立了完善的甜椒再生体系。因此,实验室小分子量热激蛋白课题组将利用自己克隆的 *CPsHSP26* 基因,构建正义和反义的表达载体转化甜椒,研究叶绿体 sHSP 与喜温植物甜椒低温抗性、PS I 光抑制之间的关系,阐明叶绿体 sHSP 与 PS I 光抑制之间的作用机制,并获得转叶绿体 sHSP 基因甜椒种质新材料。热激蛋白的表达受到热激因子的调控。外界因素影响热激因子与热激元件的结合,然后调控热激蛋白的表达。能诱导热激蛋白基因表达的外界因子主要有温度、光照、理化因素、机械损伤等。然而,这些逆境条件对热激蛋白基因表达的诱导是否具有普遍性,或者对于某种植物的某种热激蛋白来说,有哪些逆境可以诱导该蛋白的产生,逆境条件下热激蛋白产生的时间以及产生量的多少,都有待进一步研究。

热激蛋白的产生受到热激时间的影响。在热激后对植物材料进行恢复发现,随着恢复时间的增加热激蛋白的表达量逐渐减少,几个小时后就检测不到其表达,然而这种现象的普遍性有待进一步验证。热激蛋白基因在生物体不同部位或不同生物体中表达的影响因素(乙醇、砷、重金属、氨基酸类似物等)有待进一步验证。热胁迫过程中,植物的超微结构会发生改变,核仁、质膜、液泡膜、线粒体、叶绿体等结构遭到破坏,而经热锻炼后的细胞结构基本正常,这些是否是热激蛋白在起作用,具体是哪种热激蛋白起的作用,有待进一步研究。目前高温逆境条件

下热激蛋白基因的表达与光合作用的关系的研究有很大进展,但是对低温、干旱等逆境条件下 sHSP 是否可以保护光系统研究较少。用常规的方法热激使植物产生热激蛋白,然后进行低温或者干旱等逆境处理,往往造成逆境交叉伤害,很难说明是否是 HSP 尤其是 sHSP 在起作用。

目前对植物中 sHSP 作用方式的研究亟待进一步深入,如 sHSP 究竟在植物响应高温胁迫下起何种作用;sHSP 在正常生长植物中的表达作用模式及其响应逆境胁迫的分子通路等等。近年来,分子生物学研究技术的进步也为研究 sHSP 的功能提供了方便,人们对在无热激的情况下 sHSP 参与细胞过程的研究,可以为了解 sHSP 在高温诱导下的作用方式提供很好的借鉴。由于 sHSP 在不同物种间具有高度的进化保守性,因此,在其他生物中 sHSP 的研究工作同样可以给人们提供有益的启示。

参考文献:

- [1] Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1991, 42: 579-620.
- [2] Waters E R, Lee G J, Vierling E. Evolution, structure and function of the small heat shock protein in plants [J]. J Exp Bot, 1996, 47: 325-338.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] Sabehat A, Lurie S, Weiss D. Expression of small heat-shock proteins at low temperatures [J]. Plant Physiol, 1998, 117: 651-658.
- [7] 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.
- [8] 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, 120: 521-528.
- [9] 王丽, 赵春梅, 王义菊, 等. 过量表达叶绿体小分子热激蛋白提高番茄的抗寒性 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(2): 167-174.
- [10] Guo S J, Zhou H Y, Zhang X S, et al. Overexpression

- of *CaHSP26* in transgenic tobacco alleviates photoinhibition of PSII and PSI during chilling stress under low irradiance[J]. *Plant Physiol*, 2007, 2(163): 126-136.
- [11] Li X G, Meng Q W, Zou Q, *et al.* The susceptibility of cucumber and sweet pepper to chilling under low irradiance is related to energy dissipation and water-water cycle[J]. *Photosynthetica*, 2003, 41(2): 259-265.
- [12] Li X G, Duan W, Meng Q W, *et al.* The function of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco during chilling stress under low irradiance[J]. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45(1): 103-108.
- [13] Terashima I, Funayama S, Sonoike K. The site of photoinhibition in leaves of *Cucumis sativus* L. at low temperatures is photosystem I, not system II [J]. *Planta*, 1994, 193: 300-306.
- [14] Havaux M, Davaud A. Photoinhibition of photosynthesis in chilled potato leaves is not correlated with loss of photosystem II activity. Preferential inactivation of Photosystem I [J]. *Photosynth Res*, 1994, 40: 75-92.
- [15] Sonoike K. Photoinhibition of photosystem I. Its physiological significance in the chilling sensitivity of plants[J]. *Plant Cell Physiol*, 1996, 37: 239-247.
- [16] Li X G, Duan W, Meng Q W, *et al.* The function of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco during chilling stress under low irradiance[J]. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45: 103-106.
- [17] Kingston-Smith A H, Harbinson J, William J, *et al.* Effect of chilling on carbon assimilation, enzyme activation, and photosynthetic electron transport in the absence of photoinhibition in maize leaves[J]. *Plant Physiol*, 1997, 114: 1039-1046.
- [18] Tjus S E, Moller B L, Scheller H V. Photoinhibition of photosystem I damages both reaction centre proteins PSI-A and PSI-B and acceptor-side located small photosystem I polypeptides[J]. *Photosyn Res*, 1999, 60: 75-86.
- [19] Aro E M, Virgin V, Andersson B. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1993, 1143: 113-134.
- [20] 李新国, 毕玉平, 赵世杰, 等. 短时低温胁迫对甜椒叶绿体超微结构和光系统的影响[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(6): 1226-1231.
- [21] Preczewski P, Heckathorn S A, Downs C A, *et al.* Photosynthetic thermotolerance is positively and quantitatively correlated with production of specific heat-shock proteins among nine genotypes of tomato [J]. *Photosynthetica*, 2000, 38: 127-134.
- [22] Török Z, Goloubinoff P, Horvath I, *et al.* Synechocystis HSP17 is an amphitropic protein that stabilizes heat-stressed membranes and binds denatured proteins for subsequent chaperone-mediated refolding [J]. *PNAS*, 2001, 98: 3098-3103.
- [23] Tsvetkova N M, Horvath I, Török Z, *et al.* Small heat-shock proteins regulate membrane lipid polymorphism[J]. *PNAS*, 2002, 99: 13504-13509.
- [24] Neta-Sharir I, Isaacson T, Lurie S, *et al.* Dual role for tomato heat shock protein 21: protecting photosystem II from oxidative stress and promoting color changes during fruit maturation[J]. *Plant Cell*, 2002, 17: 1829-1838.
- [25] Downs C A, Ryan S L, Heckathorn S A. The chloroplast small heat-shock protein: Evidence for a general role in protecting photosystem II against oxidation stress and photoinhibition[J]. *Plant Physiol*, 1999, 155: 488-496.
- [26] Heckathorn S A, Downs C A, Sharkey T D, *et al.* The small, methionine rich chloroplast heat shock protein protects photosystem II electron transport during heat stress[J]. *Plant Physiol*, 1998, 116: 439-444.
- [27] Joshi C P, Klueva N Y, Morrow K J, *et al.* Expression of a unique plastid-localized heat-shock protein is genetically linked to acquired thermotolerance in wheat [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 834-841.
- [28] 杨广东, 朱祯, 李燕娥, 等. 转修饰豇豆胰蛋白酶抑制剂基因(*scf*)抗虫甜椒植株的获得[J]. *应用与环境生物学报*, 2002, 8(3): 239-244.