

• 综述 •

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2017.09.06

## 黄色条纹/黄色条纹样蛋白与植物中的铁转运功能

董晓雨, 郝梦琪, 郭东林\*

(黑龙江省分子细胞遗传与遗传育种重点实验室 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院 哈尔滨 150025)

**摘要** 黄色条纹/黄色条纹样蛋白(yellow stripe/yellow stripe like, YS/YSL)在植物金属转运,尤其是在微量营养元素铁的分配和利用过程中发挥重要作用。近年来,植物的铁长距离运输机制已成为研究的热点之一。YS/YSL转运蛋白涉及铁的转移、运输、装载和卸载。鉴定并精确解析YS/YSL的功能对于阐明铁的长距离运输机制具有重要的意义。本文综述了YS/YSL的蛋白质性质、金属转运活性、底物特异性及其功能表达,以期对植物YS/YSL相关铁转运机制研究奠定基础,并为提高作物籽粒铁营养提供理论依据。

**关键词** 黄色条纹/黄色条纹样蛋白; 铁转运; 功能机制

中图分类号 Q78

### YS/YSL Protein and Its Iron Transport Function in Plants

DONG Xiao-Yu, HAO Meng-Qi, GUO Dong-Lin \*

(Key Laboratory of Molecular Cytogenetics and Genetic Breeding of Heilongjiang Province, College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China)

**Abstract** Yellow stripe/yellow stripe like (YS/YSL) protein plays an important role in metal transport of plants, especially in the process of transport and utilization of the micronutrient iron. YS/YSL transporters are involved in the transportation, loading and unloading of iron. Recently, long-distance iron transport has become one hot topic in plant nutrition studies. And identification and accurate analysis of YS/YSL is of great significance for understanding the mechanism of long-distance iron transport. This paper introduces characteristics of the protein, its transfer activity, substrate specificity and expression characteristics, in order to lay the foundation for mechanistic research on YS/YSL-related iron transport in plants and provide a theoretical basis for improving iron nutrition of crop seeds.

**Key words** yellow stripe/yellow stripe like(YS/YSL) protein; iron transport; function mechanism

生物体维持生命活动所需元素的运输和分配依赖于稳定而可调控的转运系统。转运蛋白在机体与环境及机体内的物质交换中发挥十分重要的作用。植物中的铜(Cu)<sup>[1]</sup>、硼(B)<sup>[2]</sup>等转运蛋白已经被发现和研究,但金属转运的调节机制还不甚明了。黄

色条纹/黄色条纹样蛋白(YS/YSL)亚科属于植物寡肽转运蛋白家族,主要参与螯合态金属如铁(Fe)、锌(Zn)、铬(Cd)<sup>[3]</sup>、锰(Mn)<sup>[4]</sup>和铜(Cu)等的转运。玉米的突变体黄色条纹蛋白(yellow stripe, YS)最早被发现,由于其缺乏铁转运能力而表

收稿日期: 2017-06-07; 修回日期: 2017-07-02; 接受日期: 2017-08-04

国家高技术研究发展计划项目(863计划, No. 2013AA102607); 黑龙江省自然科学基金(No. C201308); 国家转基因生物新品种培育重大专项(No. 2016ZX08004-002)和林木遗传育种国家重点实验室(东北林业大学)开放基金资助

\* 通讯作者 Tel: 13613652617; E-mail: gdl\_hsd@163.com

Received: June 7, 2017; Revised: July 2, 2017; Accepted: August 4, 2017

Supported by National High Technology Research and Development Program of China (863 Program, No. 2013AA102607); Natural Science Foundation of Heilongjiang Province(No. C201308); National Major Projects of Transgenic Organisms Breeding New Varieties(No. 2016ZX08004-002); State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding (Northeast Forestry University)

\* Corresponding author Tel: 13613652617; E-mail: gdl\_hsd@163.com

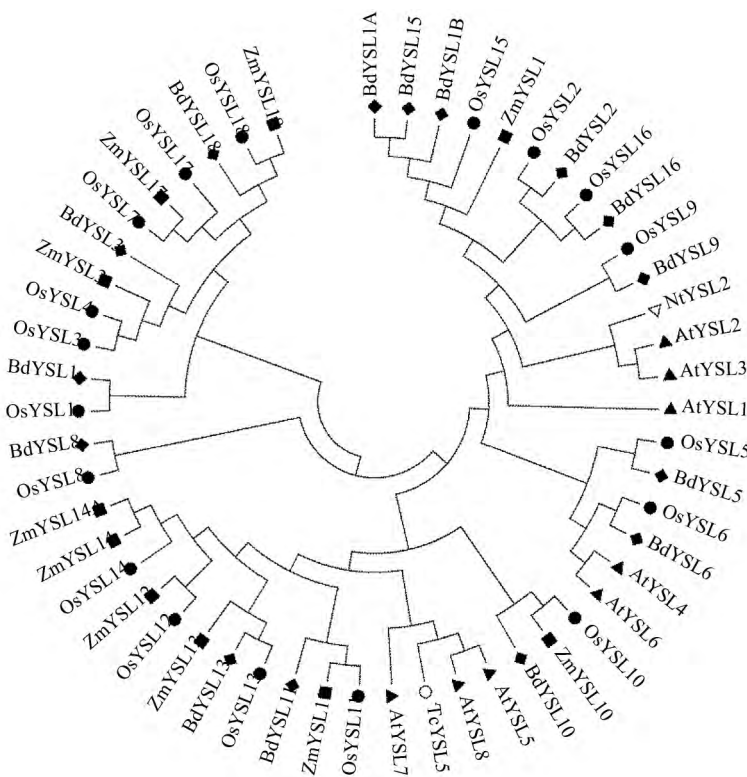
现出叶片黄色条纹状失绿,并由此得名。随后,在单子叶和双子叶植物中都发现类似 *YS* 的基因,被命名为黄色条纹样蛋白基因(yellow stripe like, *YSL*)。玉米<sup>[5]</sup>、水稻<sup>[6]</sup>、拟南芥<sup>[7]</sup>、二穗短柄草<sup>[8]</sup>、遏蓝菜<sup>[9]</sup>和龙葵<sup>[3]</sup>等多种植物黄色条纹/黄色样蛋白基因(*YS/YSL*)已被鉴定。

铁是维持植物生长发育必不可少的微量营养元素<sup>[10]</sup>,有  $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{Fe}^{2+}$  两种价态。 $\text{Fe}^{3+}$  是土壤中的主要形式,但溶解性极低,不利于吸收。为应对这种状况,植物开发了高效的铁吸收机制<sup>[11]</sup>。双子叶和非禾本科单子叶植物采用策略 I,还原  $\text{Fe}^{3+}$  为  $\text{Fe}^{2+}$ ,再转运到细胞内;禾本科植物基于螯合的策略 II,合成植物铁载体(phytosiderophores, PS)招募  $\text{Fe}^{3+}$ ,由 YS/YSL 摄取 Fe-PS 复合物转运至根细胞内<sup>[12]</sup>。YS/YSL 是策略 II 的重要组成部分,但 Fe 螯合物的直接摄取也可能发生在采用策略 I 植物中,拟南芥 *AtYSL3* 在缺 Fe 的根中表达上调,表明策略 I 和策略

II 并不互相排斥<sup>[13]</sup>。

## 1 黄色条纹/黄色条纹样蛋白亚科

YS/YSL 是一组高度同源的基因。YS/YSL 蛋白的分子质量范围为 11.10 ~ 84.70 kD, pI 值范围为 4.99 ~ 11.64, 一般具有 15 个左右跨膜结构域<sup>[14]</sup>。α 螺旋和无规则卷曲是其最常见的结构<sup>[15]</sup>。大部分 YS/YSL 蛋白定位于质膜, 少数定位于细胞器膜。对 120 个 YS/YSL 的结构研究表明, 有 5 种禾本科 (大麦、二穗短柄草、谷子、玉米、水稻) 中的 YS/YSL 高度保守<sup>[15]</sup>。本文利用 MEGA 软件构建了拟南芥、二穗短柄草、水稻、烟草、玉米、遏蓝菜的 YS/YSL 基因的系统进化树, 如图 1。这些 YS/YSL 分为 4 个进化枝, 其中之一仅包含禾本科植物, 其他的禾本科植物和双子叶植物散在分布于 3 个分支, 最大的进化枝中含有与 *ZmYS1* 密切相关的 YS/YSL 基因。



**Fig.1 Phylogenetic analysis of the YS/YSL subfamily**

gene sequences including *Arabidopsis thaliana* , At; *Brachypodium distachyon* , Bd; *Oryza sativa* , Os; *Nicotiana tabacum* , Nt; *Zea mays* , Zm and *Thlaspi caerulescens* , Tc for multiple sequence alignment. Comparing the results using the MEGA5 system , parameter settings are as follows: genetic distance , Poisson distance; the number of sampling , 1000; Other parameters by default

## 2 黄色条纹/黄色条纹样蛋白的转运活性和底物特异性

转运蛋白吸收和转移金属需要螯合剂。禾本科

植物在根际分泌 PS, 溶解  $\text{Fe}^{3+}$ 。PS 家族包括强金属螯合剂麦角酸类<sup>[16]</sup>, 该类有机酸的产生由底物中的铁浓度调节。禾本科中, PS 是尼克酰胺 (nicotianamine, NA) 的衍生物, 而在双子叶和非禾本

科单子叶植物中,尼克酰胺是终产物。尼克酰胺和 PS 都作为金属螯合剂参与植物体内金属离子的分配与再利用<sup>[17]</sup>。有两个实验方法常被用来在体外验证 YS/YSL 转运蛋白的转运活性和底物特异性:酵母金属转运缺陷突变体的功能互补实验和爪蟾卵母细胞电生理学实验。

### 2.1 酵母金属转运缺陷突变体的功能互补实验

酵母的铁吸收突变体 *fet3fet4* 在低铁条件下生长缺陷,转入具有铁吸收功能的基因则能够生长。利用这种方法不仅能确证转入基因的转运功能,还能区分不同的底物。利用互补试验确证如下蛋白质的转运活性和底物: ZmYS1<sup>[5,18]</sup> ( $\text{Fe}^{3+}$ -PS、 $\text{Fe}^{2+}$ -NA、 $\text{Fe}^{3+}$ -NA), HvYS1<sup>[19]</sup> 和 OsYSL15<sup>[20]</sup> ( $\text{Fe}^{3+}$ -PS), OsYSL18<sup>[21]</sup> ( $\text{Fe}^{3+}$ -DMA), TcYSL3<sup>[9]</sup> 和 AtYSL2<sup>[22]</sup> ( $\text{Fe}^{2+}$ -NA)。Chu 等研究表明,虽然拟南芥不合成 PS, AtYSL3 在酵母中也可以转运  $\text{Fe}^{3+}$ -PS<sup>[23]</sup>。AtYSL1 无法利用任何 Fe 源恢复 *fet3fet4* 生长,不具有转运铁的能力<sup>[24]</sup>。尼克酰胺对其他金属离子特别是 Zn 离子具有亲和力,使用锌 (*zrt1zrt2*) 或铜 (*ctr1*) 转运突变酵母菌株表达测试 ZmYS1 运输其他金属-NA 复合物的可能性。结果表明,其还具有 Zn-PS、Cu-PS、Ni-PS、Ni-NA 等转运活性<sup>[18]</sup>。OsYSL6 能够转运 Mn-NA<sup>[25]</sup>。微酸条件下, TcYSL3 介导吸收  $\text{Ni}^{2+}$ -NA 螯合物<sup>[9]</sup>。

### 2.2 爪蟾卵母细胞的电生理学实验

底物诱导非洲爪蟾卵母细胞产生的感应电流,可以证明其转运活性。感应电流的强弱还可以反映转运能力的大小。以  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Co}^{2+}$  金属-DMA 螯合物作为底物,测试 HvYS1 和 HvYSL2 时,观察到清晰的感应电流。对于 HvYS1,  $\text{Fe}^{3+}$ -DMA 诱导产生的电流,比  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$  大 2 倍,表明 HvYS1 优先转运  $\text{Fe}^{3+}$ -DMA。而对于 HvYSL2,所有金属-DMA 螯合物的表达相似,表明 HvYSL2 响应金属-DMA 螯合物的转录水平一致<sup>[26]</sup>。利用此方法确定 ZmYS1 介导的底物包括  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$ <sup>[18,19]</sup>; OsYSL2 介导的底物为  $\text{Fe}^{2+}$ -NA 和  $\text{Mn}^{2+}$ -NA,但不包括  $\text{Fe}^{3+}$ -DMA、 $\text{Mn}^{2+}$ -DMA、 $\text{Zn}^{2+}$ -NA、 $\text{Cu}^{2+}$ -NA 或其他金属-螯合物<sup>[6]</sup>; OsYSL18 介导的底物为  $\text{Fe}^{3+}$ -DMA,但不包括  $\text{Fe}^{2+}$ -NA、 $\text{Zn}^{2+}$ -DMA 或  $\text{Zn}^{2+}$ -NA。AtYSL2 的介导底物不包括  $\text{Fe}^{2+}$ -NA、 $\text{Fe}^{3+}$ -NA 或  $\text{Ni}^{2+}$ -NA<sup>[27]</sup>。

## 3 黄色条纹/黄色条纹样蛋白基因在植物中的表达特性

基因表达调控的研究,有助于了解相应蛋白质

的作用。结合生理学方法显示的强烈差异表明, YS/YSL 的表达受缺铁、高铁状态调控,且具有明显的组织特异性。部分 YS/YSL 基因受其他金属胁迫诱导表达。

### 3.1 胁迫诱导黄色以条纹/黄色条纹样蛋白基因表达

缺铁条件下, OsYSL2、OsYSL15 和 OsYSL16 特异性高表达<sup>[20,28]</sup>; HvYS1 根中上调表达, HvYSL5 被高度诱导<sup>[29]</sup>; BdYS1A 和 BdYS1B 在根中上调表达,且 BdYS1A 的转录水平明显高于 BdYS1B。BdYSL6A、BdYSL6B、BdYSL9 的表达水平较高,其中 BdYSL9 的转录水平最高<sup>[8]</sup>。OsYSL13 在缺铁条件下表达降低, OsYSL18 在根部的表达不受缺铁诱导, AtYSL2 在铁充足条件下表达,缺铁或缺锌条件下被强烈抑制。铁过量诱导 AtYSL3 转录,缺铁条件下转录受抑制。缺铁条件下, BdYSLs 在芽中的表达下调或不变,其中 BdYSL3 表达水平降低最大。BdYSL12 和 BdYSL14 在根和芽中的表达不受铁的影响。根系的 OsYSL15 和 OsYSL16 响应高铁胁迫表达下调。高铁胁迫 3 d, OsYSL15 在根中的表达量低于对照,胁迫处理 3 周, OsYSL16 的表达量明显高于处理 3 d 的表达量<sup>[30]</sup>。

研究表明, YS/YSL 也受其他金属营养状态或非生物胁迫的调控。AtYSL2 可能参与铁、铜和锌的侧向转运<sup>[27]</sup>。TcYSL 受镍诱导表达水平升高<sup>[9]</sup>。Cu 过量条件下, YSL1 和 YSL3 的上调导致 Cu 的高度积累<sup>[31]</sup>。OsYSL1 和 OsYSL17 响应非生物胁迫诱导表达上调<sup>[32]</sup>。水杨酸诱导 YSL1 和 YSL3 表达,表明 YSL3 是水杨酸信号调控的下游基因,与茉莉酸信号的相互作用涉及对病原体的防御,提供了病原体防御中的生物学功能新见解<sup>[31]</sup>。硅通过增加黄瓜根的摄取和从根到茎的转移,增强植物对铁缺乏的耐受性。硅处理使 YS/YSL 表达增加,有效增强铁从老叶到幼叶的再活化<sup>[33]</sup>。NaCl 可以缓解铁缺乏诱导的萎黄症,施加外源性 NaCl 显著增加缺铁条件下的拟南芥 YSL2 的表达<sup>[34]</sup>。龙葵 SnYSL3 在涉及 Cd 和 Fe 的胁迫反应中尤为重要<sup>[3]</sup>。

### 3.2 黄色条纹/黄色条纹样蛋白基因的组织特异性表达

YS/YSL 亚科在植物的根、茎、叶片维管束组织、花粉粒和种子中都有表达,体现了 YS/YSL 亚科生物功能的多样性和复杂性。在根中表达的,有 OsYSL2、OsYSL15、OsYSL16、HvYS1、HvYSL5、BdYS1A、BdYS1B、BdYSL6A、BdYSL6B、BdYSL9、

*AtYSL2* 和 *SnYSL3* 这些 YS/YSL 尤其是缺铁胁迫上调表达基因,可能直接参与根系的铁摄取。在地上部表达的 YS/YSL 基因也有很多。*AtYSL1* 在叶、萼片和花瓣的木质部薄壁、*AtYSL2* 在生殖器官以及叶的木质部表达<sup>[27]</sup>。遏蓝菜 *TcYSL5* 在地上器官中的表达水平较高,*TcYSL3* 在根、根茎、叶、花和花茎中的表达水平几乎相同,*TcYSL7* 主要在花和叶中表达。*OsYSL13* 在茎中优先表达;*OsYSL18* 主要在生殖和营养器官中表达。*SnYSL3* 在叶的维管组织中高水平表达。茎部表达的 YS/YSL 与金属长距离运输功能相关。叶中组织特异性表达的 YS/YSL 参与细胞内金属转运和再分配,在细胞器水平,如叶绿体、囊泡、液泡转运中发挥作用;生殖器官表达的 YS/YSL 可能参与种子发育等重要的生命过程。

#### 4 黄色条纹/黄色条纹样蛋白基因在植物中的功能

禾本科植物(策略 II 植物)通过尼克酰胺合成 PS,PS 增加 Fe 溶解度并与金属形成络合物(例如  $\text{Fe}^{2+}$ -PS,  $\text{Zn}^{2+}$ -PS),然后通过 YS/YSL 转运蛋白家族将其吸收到植物根中。尽管非禾本科植物也具有产生尼克酰胺的能力,但不能合成 PS。YS/YSL 的植物根铁吸收功能主要集中在禾本科植物,这方面的研究也相对深入。而 YS/YSL 在长距离运输、细胞内、细胞间传递等功能方面的研究还有所欠缺,是下一步研究的方向。

##### 4.1 黄色条纹/黄色条纹样蛋白基因在长距离运输中的作用

在植物中 PS 和尼克酰胺共存表明 YS/YSL 可能参与根的 Fe 获取或/和植物内部的 Fe 循环。两种策略型植物在韧皮部和木质部的长距离运输中都使用尼克酰胺<sup>[35]</sup>。基于对 Fe 及其他金属循环中尼克酰胺生理功能的认可,YS/YSL 的功能很可能有助于植物内 Fe 及其他金属长距离循环和分布。YS/YSL 亚科成员可能参与如下过程:1) 通过木质部薄壁细胞参与木质部汁液的金属卸载;2) 通过韧皮部相关细胞参与韧皮部筛管的装载;3) 木质部和韧皮部间的交换。

在禾本科模式植物水稻中,Fe 以  $\text{Fe}^{3+}$ -DMA 复合物的形式被 *OsYSL16* 转运入木质部<sup>[28]</sup>。在非禾本科植物中,Fe 载入木质部的转运蛋白尚不清楚,通常认为在中性 pH 的胞质中 Fe 可能与 NA 螯合<sup>[36]</sup>,因此推测,YS/YSL 蛋白将 Fe 以  $\text{Fe}^{2+}$ -NA 的形式载入木质部。木质部中  $\text{Fe}^{3+}$ -NA 复合体可以

通过 YS/YSL 转运。Roschzttardtz 等提出,叶木质部汁液中的 Fe 可能被柠檬酸盐转运蛋白(ferric reductase defective, *FRD3*)卸载,然后由 YS/YSL 摄取<sup>[37]</sup>。Koike 等提出,在叶肉细胞摄取前  $\text{Fe}^{3+}$  还原,使从  $\text{Fe}^{3+}$ -DMA (*OsYSL16*) 到  $\text{Fe}^{2+}$ -NA (*OsYSL2*) 复合物相应地发生特异性相变<sup>[6,28]</sup>。

*AtYSL2* 在木质部薄壁细胞的侧膜中表达,表明其在叶脉内 Fe 的横向运动中起作用。Fe 转移到枝条以木质部卸载结束。存在于木质部汁液中的微量金属元素被周围的细胞吸收,并在叶组织中交替运输,或者在叶片中继续分布于原生质体。交替运输最有可能通过 Fe 与尼克酰胺的螯合以及来自 YS/YSL 家族的转运蛋白来完成<sup>[35,38,39]</sup>。在拟南芥和水稻韧皮部维管组织中,YS/YSL 转运蛋白能够运输 Fe-NA 复合物<sup>[35]</sup>。在韧皮部中存在 Fe-NA 的复合物,因为韧皮部汁液的中性至碱性 pH 值适于 Fe-NA 形成<sup>[36,40]</sup>。水稻 *OsYSL2* 定位于侧质膜,参与韧皮部输送 Fe-NA,*OsYSL2* 负责  $\text{Fe}^{2+}$ -NA 在韧皮部的转运,并能将铁转运至籽粒中<sup>[6]</sup>。*OsYSL16* 在维管束  $\text{Fe}^{3+}$ -DMA 的分配中发挥重要作用<sup>[28]</sup>。

尽管 YS/YSL 的表达通常局限于维管组织,其中的一些能促进木质部韧皮部的 Fe 交换<sup>[35]</sup>。相对而言,原生质体的酸性 pH 值有利于金属与酸的络合,因此使得铁的配体转移不太可能<sup>[41]</sup>。这表明,有 2 种可能性:(1) 在木质部卸载地进行额外的生物化学转化,和/或(2) 其他转运蛋白的参与。已知 YS/YSL 蛋白质可以转运金属-DMA 和金属-NA 复合物,一部分载入木质部的铁由 YS/YSL 蛋白质家族转运。

##### 4.2 黄色条纹/黄色条纹样蛋白基因在细胞内的转运功能

铁通过长距离运输进入到叶肉细胞中,铁的转移包括进入叶肉细胞,转移到叶绿体、液泡或者囊泡中,转移到叶绿体中的铁主要被叶绿体使用,液泡或者囊泡储铁并涉及到铁的再次分配。YS/YSL 蛋白在金属长距离和细胞内运输中起作用<sup>[35]</sup>,可以将尼克酰胺-金属螯合物转运到植物细胞膜上<sup>[13]</sup>。YS/YSL、 $\text{Fe}^{3+}$  氧化还原酶(ferric reductase oxidase, *FRO*) 和铁调转运蛋白(iron-regulated transporter, *IRT*) 都可以参与细胞 Fe 的吸收。Fe 可能会有几种形式,在质外体中有可能是  $\text{Fe}^{3+}$ -柠檬酸盐的形式,而在细胞质中 Fe-NA 复合物的形式更为可能。

光合作用和呼吸作用发生在叶绿体和线粒体这两个 Fe 发挥功能最重要的细胞器中。然而,Fe 传

递到这些细胞器的靶向机制及其内部的 Fe 稳态知识仅有少量零散的信息<sup>[42-44]</sup>。大多数 Fe 位于叶绿体中,同 *FRO*、*FRD3* 基因一样, *AtYSL6* 最近被描述为叶绿体膜上的 Fe 输出基因。虽然大多数 Fe 位于叶绿体中,但液泡对于早期发育阶段的 Fe 再分配是必不可少的。已知铁通过液泡铁转运蛋白(vacuolar iron transporter, VIT1)和铁调蛋白(iron-regulated protein, IREG2)导入液泡,并通过天然抗性相关巨噬蛋白(natural resistance-associated macrophage protein, NRAMP)输出到细胞质中。蛋白质组学研究发现, *AtYSL4* 和 *AtYSL6* 也位于液泡膜上,但功能未知<sup>[35]</sup>。虽然已知 YSL 家族的几个成员, *AtYSL1*、*AtYSL2*、*AtYSL3*、*OsYSL2* 和 *OsYSL15* 也可能参与叶细胞的 Fe 摄取,其转运底物的特异性仍未知。

#### 4.3 黄色条纹/黄色条纹样蛋白基因在植物生殖器官中的功能

4.3.1 在开花期的花粉中 花粉和种子代表拟南芥中的主要 Fe 槽,与这些器官中 YSL 基因的高表达一致。拟南芥缺失突变研究表明, *YS/YSL* 转运蛋白参与花粉粒和种子的发育。*AtYSL1* 和 *AtYSL3* 基因都在不同阶段的花粉粒中表达, *AtYSL1* 表达仅在花芽的花粉中检测到,其后在花药丝的维管组织上定位<sup>[24]</sup>;而 *AtYSL3* 在开花的花粉中强烈表达<sup>[7]</sup>。表达 *ysl1ysl3* 花药产生的花粉粒很少且大部分不育<sup>[7]</sup>。Fe 补充大大增加 *ysl1ysl3* 的花粉产量,尽管该研究没有提供花粉中的金属含量,但仍表明 Fe 缺乏导致缺陷。转录组学研究表明,除 *AtYSL1* 和 *AtYSL3* 外,在雄蕊中 *AtYSL2*、5、6 和 7 的表达也增强。拟南芥 *ysl5ysl7* 双突变体几乎不产生有活性的花粉粒。花粉活性分析表明,铁离子浓度较低对梨花粉的萌发和花粉管的生长有利, *PbrYSL4* 的表达可以恢复高铁培养基中酵母钙离子敏感突变体的生长。表明 *PbrYSL4* 参与花粉管生长过程中铁的运输<sup>[45]</sup>。

4.3.2 在植物种子和果实中 除非使用特异的转运蛋白,否则金属不能穿过植物囊胚屏障而被排除在胚胎组织之外。*YS/YSL* 在植物生殖器官中的表达可以增加 Fe-NA 向谷粒中的转移,改变谷粒中的 Fe 含量。*AtYSL1* 和 *AtYSL3* 在铁运输中是重要的,还负责将叶子中的 Fe、Cu 和 Zn 加载到种子中。*AtYSL4* 和 *AtYSL6* 参与铁运输和动员金属进入种子。*AtYSL1* 和 *AtYSL2* 的转运功能部分与 *AtYSL3* 在营养结构中的功能重叠,但与 *AtYSL3* 在生殖器官中不同。反向遗传学研究表明, *AtYSL1* 发生突变

时植株地上部分尼克酰胺含量升高,而种子中的铁含量低于对照,表明 *AtYSL1* 能将铁从茎和叶转移到种子中<sup>[24]</sup>。反向遗传学确定, *YSL5* 的 RNA 是植物种子中核酸酶降解的推定靶点, *YSL5* 突变体种子更不易萌发,说明 *YSL5* 在萌发过程的完成中发挥重要作用<sup>[46]</sup>。在橄榄成熟果实中,脱落控制的转录组分析数据显示, *YSL1* 和 *YSL3* 在成熟果实脱落期间表达上调<sup>[47]</sup>。在拟南芥叶片衰老期间表达上调的 240 个转运蛋白基因中,包括 *YS/YSL* 亚科的一些成员<sup>[48]</sup>。

#### 5 利用黄色条纹/黄色条纹样蛋白基因对植物的铁强化策略

增加粮食作物籽粒中的铁含量,是满足人类铁营养需求的主要方式,而 Fe 进入种子是一个限速环节。铁蛋白在铁离子稳态维持、细胞增殖以及细胞凋亡等过程中具有重要作用<sup>[49]</sup>。过表达铁蛋白、尼克酰胺合成酶等基因进行水稻的 Fe 生物强化,已经取得了一些成果,协同表达或使用特异性启动子的策略更加成功。尽管如此,要满足推荐的膳食铁水平(精米中至少 15  $\mu\text{g Fe/g}$  干重),过表达铁蛋白的策略仍不能满足需求,仍需要新策略来实现铁的进一步增加。Fe 通过叶和包被组织进入种子,在灌浆期这些组织中, Fe 转运基因表达的增加非常重要。*YS/YSL* 家族成员可以进行整合铁的再活化,从衰老器官中还原铁,并可能使  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$  转运到共生体中。因此,将 *YS/YSL* 与其他控制铁稳态的关键组件相结合,有望改善种子的 Fe 质量,达到 Fe 营养强化的目的。已经对 *YS/YSL* 家族的几个成员进行评估,组织特异性过表达 *YS/YSL* 增加谷物中的 Fe 浓度<sup>[50]</sup>。Gómez-Galera 等发现, *HvYS1* 在水稻中的转基因表达使叶片铁含量增加 1.5 倍,但种子中的铁含量并没有明显变化<sup>[51]</sup>。大麦 *HvYS1* 在水稻中的表达特异性地增加 Fe 的吸收、转移和种子加载,并通过选择性 Fe 转运排除了其他重金属的积累<sup>[52]</sup>。*OsYSL15* 的组成型表达导致水稻铁含量增加 1.2 倍<sup>[53]</sup>。由组成型 35S 启动子驱动的 *OsYSL2* 过表达导致种子和茎中 Fe 浓度降低。然而,由韧皮部定位的蔗糖转运蛋白 *SUT1* 启动子驱动的过表达导致种子 Fe 浓度增加 4 倍<sup>[54]</sup>。

#### 6 问题及展望

利用 *YS/YSL* 转运蛋白是增加植物籽粒 Fe 含量的新策略之一,但 *YS/YSL* 在植物中 Fe 的长距离

运输、亚细胞区域化及成熟组织的活化与再分配中的作用仍未阐明。具有相同表达域的 YS/YSL 缺失突变体不产生异常表型,而同一亚类表达域不同的 YS/YSL 缺失突变体变异显著,表明每个 YS/YSL 子类别具有不同的作用和不同的特异性底物。未来需要对不同 YS/YSL 的转运底物和特性进行甄别,进一步研究其在 Fe 分配利用中的生理作用和分子机制。今后的研究重点是 YS/YSL 蛋白的调控机制,精确解析 YS/YSL 转运蛋白在种子 Fe 装载中的功能。有望在今后的作物铁营养品质改良中,合理有效地利用 YS/YSL 以取得更好的效果。

## 参考文献(References)

- [1] 刘关君,曲春浦,刘明坤,等. 西伯利亚铜伴侣蛋白基因在盐胁迫条件下的表达分析[J]. 中国生物化学与分子生物学报(Liu GJ, Qu CP, Liu MK, et al. Real-time PCR analysis of copper chaperone protein gene expression in polygonum sibiricum laxm under salt stress[J]. Chin J Biochem Mol Biol), 2008, **24** (11): 1034-1039
- [2] 夏金婵,何奕骥. 植物对硼元素的吸收转运机制[J]. 中国生物化学与分子生物学报(Xia JC, He YK. Mechanisms of boron transport in plants[J]. Chin J Biochem Mol Biol), 2009, **25**(8): 702-707
- [3] Feng S, Tan J, Zhang Y, et al. Isolation and characterization of a novel cadmium-regulated Yellow Stripe-Like transporter (SnYSL3) in Solanum nigrum[J]. Plant Cell Rep, 2017, **36** (2): 281-296
- [4] Vatansever R, Ozyigit II, Filiz E. Essential and beneficial trace elements in plants, and their transport in roots: a review[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2017, **181**(1): 464-482
- [5] Curie C, Panaviene Z, Loulergue C, et al. Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake[J]. Nature, 2001, **409**(6818): 346-349
- [6] Koike S, Inoue H, Mizuno D, et al. OsYSL2 is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem[J]. Plant J, 2004, **39**(3): 415-424
- [7] Waters BM, Chu HH, Didonato RJ, et al. Mutations in Arabidopsis yellow stripe-like1 and yellow stripe-like 3 reveal their roles in metal ion homeostasis and loading of metal ions in seeds[J]. Plant Physiol, 2006, **141**(4): 1446-1458
- [8] Yordem BK, Conte SS, Ma JF, et al. Brachypodium distachyon as a new model system for understanding iron homeostasis in grasses: phylogenetic and expression analysis of Yellow Stripe-Like (YSL) transporters[J]. Ann Bot, 2011, **108**(5): 821-833
- [9] Gendre D, Czernic P, Conéjéro G, et al. TcYSL3, a member of the YSL gene family from the hyper-accumulator Thlaspi caerulescens, encodes a nicotianamine-Ni/Fe transporter[J]. Plant J, 2007, **49**(1): 1-15
- [10] 李素贞,陈景堂. 植物锌铁转运相关蛋白家族的研究进展[J]. 生物技术通报(Li SZ, Chen JT. Progresses in studying of protein families involved in Zn/Fe transporting in plants[J]. Lett Biotechnol), 2013, **1**(2): 8-14
- [11] Meredith D, Boyd CA. Structure and function of eukaryotic peptide transporters[J]. Cell Mol Life Sci, 2000, **57**(5): 754-778
- [12] Roberts LA, Pierson AJ, Panaviene Z, et al. Yellow stripe1. Expanded roles for the maize iron-phytosiderophore transporter[J]. Plant Physiol, 2004, **135**(1): 112-120
- [13] Abadía J, Vázquez S, Rellán-Álvarez R, et al. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis[J]. Plant Physiol Biochem, 2011, **49**(5): 471-482
- [14] Yen MR, Tseng YH, Saier MH Jr. Maize Yellow Stripe1, an iron-phytosiderophore uptake transporter, is a member of the oligopeptide transporter (OPT) family[J]. Microbiology, 2001, **147**(11): 2881-2883
- [15] Mallikarjuna MG, Nepolean T, Mittal S, et al. In-silico characterisation and comparative mapping of yellow stripe like transporters in five grass species[J]. Indian J Agric Sci, 2016, **86**(5): 621-627
- [16] 吴慧兰,王宁,凌宏清. 植物铁吸收、转运和调控的分子机制研究进展[J]. 植物学报(Wu HL, Wang N, Ling HQ. Uptake, translocation and regulation of iron in plants[J]. Acta Bot Sin), 2007, **24**(6): 779-788
- [17] Pich A, Manteuffel R, Hillmer S, et al. Fe homeostasis in plant cells: does nicotianamine play multiple roles in the regulation of cytoplasmic Fe concentration? [J]. Planta, 2001, **213**(6): 967-976
- [18] Schaaf G, Ludewig U, Erenoglu BE, et al. ZmYSL1 functions as a proton-coupled symporter for phytosiderophore- and nicotianamine-chelated metals[J]. J Biol Chem, 2004, **279** (10): 9091-9096
- [19] Murata Y, Ma JF, Yamaji N, et al. A specific transporter for iron(III)-phytosiderophore in barley roots[J]. Plant J, 2006, **46**(4): 563-572
- [20] Inoue H, Kobayashi T, Nozoye T, et al. Rice OsYSL15 is an iron-regulated iron(III)-deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings[J]. J Biol Chem, 2009, **284**(6): 3470-3479
- [21] Aoyama T, Kobayashi T, Takahashi M, et al. OsYSL18 is a rice iron(III)-deoxymugineic acid transporter specifically expressed in reproductive organs and phloem of lamina joints[J]. Plant Mol Biol, 2009, **70**(6): 681-692
- [22] DiDonato RJ Jr, Roberts LA, Sanderson T, et al. Arabidopsis yellow stripe-Like2 (YSL2): a metal-regulated gene encoding a plasma membrane transporter of nicotianamine-metal complexes[J]. Plant J, 2004, **39**(3): 403-414
- [23] Chu HH, Chiecko J, Punshon T, et al. Successful reproduction requires the function of Arabidopsis Yellow Stripe-Like1 and Yellow Stripe-Like3 metal-nicotianamine transporters in both vegetative and reproductive structures[J]. Plant Physiol, 2010, **154**(1): 197-210
- [24] Le Jean M, Schikora A, Mari S, et al. A loss-of-function mutation in AtYSL1 reveals its role in iron and nicotianamine seed loading[J]. Plant J, 2005, **44**(5): 769-782
- [25] Sasaki A, Yamaji N, Xia J, et al. OsYSL6 is involved in the detoxification of excess manganese in rice[J]. Plant Physiol, 2011, **157**(4): 1832-1840
- [26] Araki R, Murata J, Murata Y. A novel barley yellow stripe 1-like transporter (HvYSL2) localized to the root endodermis transports metal-phytosiderophore complexes[J]. Plant Cell Physiol, 2011, **52**(11): 1931-1940
- [27] Schaaf G, Schikora A, Häberle J, et al. A putative function for the Arabidopsis Fe-Phytosiderophore transporter homolog AtYSL2 in Fe and Zn homeostasis[J]. Plant Cell Physiol, 2005, **46** (5): 762-774
- [28] Kakei Y, Ishimaru Y, Kobayashi T, et al. OsYSL16 plays a role in the allocation of iron[J]. Plant Mol Biol, 2012, **79**(6): 583-594
- [29] Zheng L, Fujii M, Yamaji N, et al. Isolation and characterization of a barley yellow stripe-like gene, HvYSL5[J]. Plant Cell Physiol, 2011, **52**(5): 765-774
- [30] Quinet M, Vromman D, Clippe A, et al. Combined transcriptomic and physiological approaches reveal strong differences between short- and long-term response of rice (Oryza sativa) to iron toxicity[J]. Plant Cell Environ, 2012, **35**(10): 1837-1859
- [31] Chen CC, Chien WF, Lin NC, et al. Alternative functions of Arabidopsis Yellow Stripe-Like3: from metal translocation to pathogen defense[J]. PLoS One, 2014, **9**(5): e98008
- [32] Finatto T, de Oliveira AC, Chaparro C, et al. Abiotic stress and

- genome dynamics: specific genes and transposable elements response to iron excess in rice[J]. *Rice*( NY) ,2015 ,**8**: 13
- [33] Pavlovic J , Samardzic J , Kostic L , *et al.* Silicon enhances leaf remobilization of iron in cucumber under limited iron conditions [J]. *Ann Bot* ,2016 ,**118**( 2) : 271-280
- [34] Zhu XF , Wu Q , Zheng L , *et al.* NaCl alleviates iron deficiency through facilitating root cell wall iron reutilization and its translocation to the shoot in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Soil* , 2017 , 1-13
- [35] Curie C , Cassin G , Couch D , *et al.* Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters [J]. *Ann Bot* ,2009 ,**103**( 1) : 1-11
- [36] Rellón-Alvarez R , Abadía J , Alvarez-Fernández A. Formation of metal-nicotianamine complexes as affected by pH, ligand exchange with citrate and metal exchange. A study by electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom* ,2008 ,**22**( 10) : 1553-1562
- [37] Roschztardtz H , Grillet L , Isaure MP , *et al.* Plant cell nucleolus as a hot spot for iron [J]. *J Biol Chem* , 2011 ,**286**( 32) : 27863-27866
- [38] Conte SS , Walker EL. Transporters contributing to iron trafficking in plants [J]. *Mol Plant* ,2011 ,**4**( 3) : 464-476
- [39] Hassan Z , Aarts MGM. Opportunities and feasibilities for biotechnological improvement of Zn , Cd or Ni tolerance and accumulation in plants [J]. *Environ Exp Bot* ,2011 ,**72**( 1) : 53-63
- [40] von Wiren N , Klair S , Bansal S , *et al.* Nicotianamine chelates both FeIII and FeII. Implications for metal transport in plants [J]. *Plant Physiol* ,1999 ,**119**( 3) : 1107-1114
- [41] Rellón-Álvarez R , Giner-Martínez-Sierra J , Orduna J , *et al.* Identification of a tri-iron( III) , tri-citrate complex in the xylem sap of iron-deficient tomato resupplied with iron: new insights into plant iron long-distance transport [J]. *Plant Cell Physiol* , 2010 ,**51**( 1) : 91-102
- [42] Pilon-Smits EA , Quinn CF , Tapken W , *et al.* Physiological functions of beneficial elements [J]. *Curr Opin Plant Biol* , 2009 ,**12**( 3) : 267-274
- [43] Palmer CM , Guerinot ML. Facing the challenges of Cu , Fe and Zn homeostasis in plants [J]. *Nat Chem Biol* , 2009 ,**5**( 5) : 333-340
- [44] Puig S , Peñarrubia L. Placing metal micronutrients in context: transport and distribution in plants [J]. *Curr Opin Plant Biol* , 2009 ,**12**( 3) : 299-306
- [45] Yang J , Chen J , Chen X , *et al.* Phylogenetic and expression analysis of pear yellow stripe-like transporters and functional verification of PbrYSL4 in pear pollen [J]. *Plant Mol Biol Report* ,2016 ,**34**( 4) : 737-747
- [46] Basbous-Serhal I , Pateyron S , Cochet F , *et al.* 5 ' to 3 ' mRNA decay contributes to the regulation of *Arabidopsis* seed germination by dormancy [J]. *Plant Physiol* , 2017 ,**173**( 3) : 1709-1723
- [47] Gil-Amado JA , Gomez-Jimenez MC. Transcriptome analysis of mature fruit abscission control in olive [J]. *Plant Cell Physiol* , 2013 ,**54**( 2) : 244-269
- [48] van der Graaff E , Schwacke R , Schneider A , *et al.* Transcription analysis of *arabidopsis* membrane transporters and hormone pathways during developmental and induced leaf senescence [J]. *Plant Physiol* ,2006 ,**141**( 2) : 776-792
- [49] 徐麒麟,康波,姜冬梅. 铁蛋白介导细胞凋亡的作用机制 [J]. *中国生物化学与分子生物学报* ( Xu QL ,Kang B ,Jiang DM. Mechanism of apoptosis mediated by ferritin [J]. *Chin J Biochem Mol Biol* ) ,2016 ,**32**( 11) : 1213-1218
- [50] Paul S , Ali N , Sarkar SN , *et al.* Loading and bioavailability of iron in cereal grains [J]. *PCTOC* ,2013 ,**113**( 3) : 363-373
- [51] Gómez-Galera S , Sudhakar D , Pelacho AM , *et al.* Constitutive expression of a barley Fe phytosiderophore transporter increases alkaline soil tolerance and results in iron partitioning between vegetative and storage tissues under stress [J]. *Plant Physiol Biochem* ,2012 ,**53**: 46-53
- [52] Banakar R , Fernández ÁA , Abadía J , *et al.* The expression of heterologous Fe ( III) phytosiderophore transporter HvYS1 in rice increases Fe uptake , translocation and seed loading and excludes heavy metals by selective Fe transport [J]. *Plant Biotechnol J* , 2017 ,**15**( 4) : 423-432
- [53] Lee S , Chiecko JC , Kim SA , *et al.* Disruption of OsYSL15 leads to iron inefficiency in rice plants [J]. *Plant Physiol* , 2009 ,**150**( 2) : 786-800
- [54] Ishimaru Y , Masuda H , Bashir K , *et al.* Rice metal-nicotianamine transporter , OsYSL2 , is required for the long-distance transport of iron and manganese [J]. *Plant J* ,2010 ,**62**( 3) : 379-390