

植物质膜内在水通道蛋白 PIPs 的分子生物学研究进展

何勇清¹, 方佳¹, 余敏芬¹, 方仲相¹, 江波¹, 潘寅辉², 郑炳松¹

(1. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300; 2. 浙江省龙游县林业局, 浙江 龙游 324400)

摘要: 水是植物细胞的重要组成成分, 植物水通道蛋白是细胞间和细胞内水分快速运输的主要通道, 作为植物水通道蛋白的一个亚类, 质膜内在蛋白 PIPs 定位于原生质膜, 为典型的高水分选择性通道蛋白。主要介绍了 PIPs 的结构特征、生物学功能及其调控机制。高等植物 PIPs 存在 2 个高度保守的区域: GGGANXXXXGY 和 TGI/TNPARSL/FGAAI/VI/VFWF/YN。PIP_s 分为 PIP1 和 PIP2 亚类, PIP1 比 PIP2 具较长的 N-端和较短的 C-端, 并且具有各自的保守氨基酸。通过转基因和非洲爪蟾卵 *Xenopus oocytes* 母细胞异源表达研究表明 PIPs 不仅是水和二氧化碳、甘油等中性小分子选择性通道蛋白, 同时还具有许多生理功能, 是一类多功能蛋白。蛋白翻译后修饰、异聚化、pH 值、二价阳离子等都能调控 PIPs 的运输功能。表 1 参 51

关键词: 植物学; 质膜内在蛋白; 功能; 调控机制; 综述

中图分类号: Q74; S718.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2011)03-0446-07

Advances in molecular biology for plasma membrane intrinsic proteins (PIPs): a review

HE Yong-qing¹, FANG Jia¹, YU Min-fen¹, FANG Zhong-xiang¹, JIANG Bo¹, PAN Yin-hui², ZHENG Bing-song¹

(1. The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. Forest Enterprise of Longyou County, Longyou 324400, Zhejiang, China)

Abstract: Water is an important component in plant cells with plant aquaporin being the major protein for water transport in and between plant cells. As a subfamily of plant aquaporins, the plasma membrane intrinsic proteins (PIPs) located in the plasma membrane are classic, high water, selective channel proteins. This paper focuses on recent advances in the molecular biology of PIPs concerning structural characteristics, biological function, and a regulation mechanism. PIPs possess two highly conserved domains: GGGANXXXXGY and TGI/TNPARSL/FGAAI/VI/VFWF/YN. PIPs can also be divided into two phylogenetic subgroups named PIP1 and PIP2. PIP1 possesses longer N terminal sequences and shorter C terminal sequences than PIP2 with conserved amino acid sequences respectively. Studies of transgenic plants and expression in *Xenopus oocytes* cells indicate that PIPs not only may facilitate transport of water and small neutral solutes like CO₂ and glycerin, but they also possess many physiological functions. The functions of plant aquaporins are regulated by many factors including post-translational modification, heteromerization, pH value, and divalent cations. These results indicated that PIPs act as a pivotal role in water and small neutral solutes transport in plants. [Ch, 1 tab. 51 ref.]

Key words: botany; plasma membrane intrinsic proteins (PIPs); function; regulation mechanism; review

水分对于植物的生长、发育和繁殖是非常重要的。植物不断地从根部吸收水分, 又不断地由气孔蒸

收稿日期: 2011-07-08; 修回日期: 2011-09-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31070604); 浙江省科学技术重大项目(2008C12019)

作者简介: 何勇清, 从事森林培育研究。E-mail: 657908092@qq.com。通信作者: 郑炳松, 教授, 博士, 从事植物分子生理生化研究。E-mail: bszheng@zafu.edu.cn

腾水分。水分在植物体内运输有 3 种途径^[1]：质外体途径、共质体途径和跨细胞途径。后 2 种统称为细胞到细胞途径^[2]。水分的跨膜运输有 3 种方式：通过脂双层(胞膜)的自由扩散运输^[3]、通过膜转运蛋白的运输^[4]和通过水通道蛋白(也称水孔蛋白, aquaporin, 简称 AQP)的被动运输^[5]。不同的植物或不同的生理状态, 其运输途径和运输方式可能存在差别。作为主要内在蛋白(membrane intrinsic protein, MIP)大家族的成员之一, 水通道蛋白有利于水分和其他小分子物质如过氧化氢^[6]等的跨膜运输, 参与了植物水分的长距离运输、细胞渗透平衡的调控以及气孔运动, 种子萌发等生长发育过程^[7]。根据 AQP 的定位及序列同源性和结构特征, 目前通常将植物 AQPs 分为 5 类: 位于质膜上的质膜内在蛋白(plasma membrane intrinsic proteins, PIPs), 又可分为 PIP1 和 PIP2 亚类; 位于液泡膜上的液泡膜内在蛋白(tonoplast intrinsic proteins, TIPs), 又分为 α -TIP, β -TIP, γ -TIP, δ -TIP 和 ε -TIP 等 5 个亚类; 存在于共生根瘤类菌体周围膜上的类 Nod26 膜内在蛋白(nodulin 26-like intrinsic proteins, NIPs); 小分子碱性膜内在蛋白(small and basic intrinsic proteins, SIPs), 分为 SIP1 和 SIP2 亚类; 类 GlpF(glycerol facilitator)膜内在蛋白(GlpF-like intrinsic proteins, GIPs)^[8-10]。球蒴藓 *Sphaerotheciella sphaerocarpa* 基因组中除具有 PIPs, TIPs, NIPs, SIPs 和 GIPs 等 5 类 AQP 外, 还具有 HIP (hybrid intrinsic proteins)和 XIPs (X intrinsic proteins)2 个新类别。目前, HIP 仅发现于球蒴藓中, 而 XIPs 还存在于多种双子叶植物中。本文主要对植物质膜内在蛋白 PIPs 的结构特征、生理功能和调控机制等方面的研究进展进行介绍。

1 质膜内在蛋白 PIPs 的结构特征

PIPs 定位于原生质膜上, 所有的 PIPs 均高度保守, 与植物种类无关^[11]。孔道狭窄, 为典型的高水分选择性通道蛋白。在所有已知的高等植物 PIPs 中, 存在 2 个高度保守的区域: GGGANXXXXGY 和 TGI/TNPARSL/FGAAI/VI/VFWF/YN, 分别位于 C 环和 E 环, 可能与 PIPs 功能的特异性有关。PIPs 分为 PIP1 和 PIP2 亚类^[12-14], 两者的区别在 N-端和 C-端的不同^[12]。PIP1 比 PIP2 具较长的 N-端和较短的 C-端, 而且在序列当中各有相应的保守氨基酸。

2 质膜内在蛋白 PIPs 的功能

PTPs 不仅是水和中性小分子选择性通道蛋白, 同时还具有许多生理功能, 是一类多功能蛋白(表 1)。

表 1 质膜内在蛋白的结构特性及其功能

Table 1 Structural characters and function of the plasma membrane intrinsic proteins

亚家族	名称	底物专一性	调控物质	生理功能	参考文献
PIP1	NtAQP1	水, 甘油, 尿素, 二氧化碳	赤霉素(GA), 脱落酸(ABA)	根系水分运输, 偏上性叶片运动, 气孔开放, 光合作用	[15-17]
	PsPIP1;1	甘油, 甘氨酸	未检测到	干种子再吸水	[18]
	AtPIP1;2	水	蓝光, GA, ABA, pH 依赖型通道	细胞水分运输	[12, 19-21]
	ZmPIP1;1	未检测到	昼夜表达, PIP 亚型的异聚化	未检测到	[22-24]
	ZmPIP1;2	未检测到	PIP 亚型的异聚化	未检测到	[22-23]
PIP2	AtPIP2;1	水	pH 依赖型通道	未检测到	[20]
	AtPIP2;2	水	pH 依赖型通道, 干旱胁迫	根系渗透水分运输	[20, 25-26]
	ZmPIP2;1	水	昼夜表达, PIP 亚型的异聚化	根系水分运输	[22-23]
	SsAQP2	水	昼夜表达, 周期性表达	小叶运动	[27]
	HvPIP2;1	水, 二氧化碳	未检测到	二氧化碳同化	[28]
	SoPIP2;1	水	磷酸化, 质外体水势, pH 依赖型通道	调节细胞膨压	[29-31]

2.1 PIP1

在拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 中, 各 PIP1 之间的氨基酸序列具有 90%相似性^[32]。尽管 PIP1 在选择透性功能区域的氨基酸残基与 PIP2 类似^[33], 但它们的渗透性和在细胞中的生物学功能不尽相同。作为质膜

PIP1 家族成员之一, 烟草 *Nicotiana tabacum* NtAQP1 表达下降引起根系水分通透性下降, 并降低烟草的抗旱性^[15]。这些结果在拟南芥 PIP1/PIP2 反义突变体的研究中也得到了证实^[34]。在豌豆 *Pisum sativum* 种子吸胀过程中, PIP1 在吸收水分方面起到了非常重要的作用^[18]。但是 PIP1 在爪蟾 *Xenopus oocytes* 卵母细胞或其他表达系统的异源表达中则显示没有或非常低的水通道蛋白活性^[22-23,27,35-36], PIP2 转运水分的能力比 PIP1 大得多^[12,22]。PIP1 的低水分运输能力, 不知是植物本身的一种调控水分运输的机制, 还是由于爪蟾卵母细胞异源表达系统不能对它进行正确的翻译、折叠、定位或调控所致^[37]。与此相反, 在某些情况下其运输小分子物质如甘油、二氧化碳(CO₂)的渗透性增加了^[16,35]。实验研究证明烟草 NtAQP1 在爪蟾卵母细胞表达中具有运输二氧化碳的功能^[16]。该卵母细胞注射了 NtAQP1 的 cRNA 和碳酸酐酶(碳酸酐酶的功能是加速二氧化碳转化为 HCO₃⁻), 因此, 加快了二氧化碳从胞外跨膜运输到胞内, 从而导致了细胞内 pH 值降低^[38]。研究发现, 转烟草 NtAQP1 的爪蟾卵母细胞二氧化碳吸收量比对照高了 45%。二氧化碳运输功能最早是在人的 AQP1 中发现^[39], 并且证明与水通道蛋白的通气功能有关, 而不是膜脂组成成分或膜内在其他基因的表达对爪蟾卵母细胞二氧化碳渗透吸收的影响^[40]。

随着 AQP 在动物中介导二氧化碳运输的生理机理不断地得到验证, 有关 AQP 在植物中介导二氧化碳运输的生理机制也越来越清楚。在超表达 AQP 转基因烟草或反义表达 AQP 转基因烟草的研究中都证明了它对水分运输和依赖二氧化碳的光合作用影响^[15-16]。当用低浓度的氯化汞(HgCl₂)处理蚕豆 *Vicia faba* 或菜豆 *Phaseolous vulgaris* 的离体叶片圆盘时, 其质膜水分渗透性下降了 70%~80%, 同时光合作用固定二氧化碳能力和二氧化碳从细胞间隙转运到叶绿体基质的导度也都下降了。这表明植物是通过叶肉细胞质膜由汞敏感的水通道蛋白来吸收二氧化碳^[41]。在生长良好条件下, 过表达拟南芥 AtPIP1;2 基因的烟草可以显著提高蒸腾速率, 增加气孔密度和光合效率^[19]。近期研究表明, 在拟南芥水分运输中 AtPIP1;2 是关键组成部分^[42]。因此 PIP1 水通道蛋白不仅具有水分运输的功能, 而且具有运输小分子物质或气体的功能, 如 HvPIP1;3 和 HvPIP1;4 能运输硼^[43]。

2.2 PIP2

水通道蛋白 PIP2 亚家族似乎比 PIP1 运输水分的效率更高。在各种利用爪蟾卵母细胞或酵母膜囊泡作为异源表达系统的研究表明, 水通道蛋白 PIP2 的水分渗透性比对照增加 5~20 倍^[4,44]。一般情况下, 水通道蛋白 PIP2 具有较短的氨基末端和较长的羧基末端。迄今为止, PIP2 亚家族的各个蛋白在不同的物种中具有不同的生物学功能, 并已证明它们对植物不同的生理进程起到非常重要的作用。这些水通道蛋白可在根系、叶片^[24,34]、生殖器官^[45-46]和种子萌发等^[18]生长发育过程中参与水的运输。

Chaumont 等^[22]从玉米 *Zea mays* 中克隆到一个水通道蛋白 ZmPIP2, 研究发现在爪蟾卵母细胞中瞬时表达 ZmPIP2, 其水分膜透性可增加 8 倍以上。氯化汞可以可逆抑制水通道蛋白 ZmPIP2 的功能。Moshelion 等^[27]从豆科 Leguminosae 雨豆树 *Samanea saman* 叶枕细胞膜上克隆到一个 PIP2 蛋白 SsAQP2, 研究表明, SsAQP2 的表达可提高水分膜透性 20 倍以上。同时 SsAQP2 的功能不仅能被氯化汞所抑制, 而且也能被另一种水分运输抑制剂根皮素(phloretin)所抑制。

烟草 *NtPIP2;1* 是与有性生殖有关的基因, 它对花粉粒附着在子房上的水合作用很重要, 它促进了水分在细胞间或组织间的运动^[45]。Marc 等^[46]利用烟草 PIP2 的 RNAi 植株和免疫定位技术分析 PIP2 的定位模式。在花粉囊发育过程中 PIP2 的表达受到调控; 与对照相比, 烟草 PIP2 的 RNAi 植株的花粉脱水作用更慢, 开裂更迟。PIP2 亚家族的成员在烟草的花粉囊有效开裂中是必需的。

PIP2s 的表达也具有发育阶段的特异性。野生马铃薯 *Solanum chacoense* 的 ScPIP2A 由受精诱导, 在花瓣近成熟时减少, 但在伸长的花柱、雄蕊、受精后的子房中强烈表达。花柱中大量表达与花柱伸长及表皮组织的形成有关。ScPIP2A 在生长的果实中也强烈表达, 它在发育成熟细胞的膨胀中起作用^[47]。

Johansson 等^[31]从菠菜 *Spinacia oleracea* 中克隆到一个 PIP2 类蛋白 SoPIP2;1, 它定位于叶片质膜。Tornroth 等^[30]进一步研究表明, 蛋白 SoPIP2;1 多聚体化构成的通道的开闭是由于 2 个丝氨酸残基的磷酸化和去磷酸化而引起的。2 个丝氨酸残基分别是胞质环 B 中的 Ser¹¹⁵ 和 C 末端的 Ser²⁷⁴。Ser¹¹⁵ 去磷酸化后, D 环的 Arg¹⁹⁰ 和 Asp¹⁹¹ 通过带 3 个水分子的氢键网络与侧链的 Arg¹¹⁸(在 PIPs 中严格保守)和 Gly³⁰ 相连, 通过二价阳离子互作把 D 环锚定与 N 末端的短 α -螺旋上。Ser¹¹⁵ 的磷酸化使把 D 环锚定与 N 末端的氢键网络瓦解。Ser²⁷⁴ 与邻近单体的 Pro¹⁹⁹ 和 Leu²⁰⁰ 主链上的氮发生互作。当这些互作丧失时, C 末端絮乱,

且原先 Ser²⁷⁴ 侧链所占的位置被 Leu¹⁹⁷ 主链羰基上的氧取代。因此消除了空间排列的冲撞，螺旋 5 的 N 末端能额外反方向转 180° 伸向细胞质，于是取代 Leu¹⁹⁷ 并打开了水通道。

除了运输水分之外，水通道蛋白 PIP2 也能运输二氧化碳。通过大麦 *Hordeum vulgare* 水通道蛋白 HvPIP2;1 在水稻 *Oryza sativa* 中过量表达证明 PIP2 有助于促进二氧化碳运输^[28]。叶肉细胞气孔导度是由叶片的气体交换和碳同位素的比值来决定的。研究发现：HvPIP2;1 与气孔导度密切相关，表明水稻叶片 HvPIP2;1 具有促进二氧化碳运输的作用。但水通道蛋白的表达和二氧化碳通透性的增加是否仅仅与 HvPIP2;1 的功能有关还有待于进一步研究。

3 质膜内在蛋白 PIPs 的调控机制

3.1 PIP1s

到目前为止，研究发现 TIPS 和 NIPS 具有磷酸化调控机制，但 PIP1 却没有这个功能。因为当玉米 *Zea mays* PIP1;2 在卵母细胞中表达时，增加蛋白激酶 A 激活剂或磷酸酶抑制剂都未能增加其水分渗透性^[22]。但 PIP1 具有翻译后修饰的功能，Western 杂交结果表明 PIP1 在根系和叶片中表达不同。大于 28 kDa 的水通道蛋白多肽可以在根系细胞中表达，但在叶片细胞中却没有表达，因此可能是由于 PIP1 存在翻译后调控如磷酸化或糖基化的作用。最近，通过水通道蛋白异聚化作用对水分渗透率的影响的研究表明，与单个玉米 PIP1 蛋白表达相比，2 个玉米 PIP1 亚型共表达可以增加其质膜透水性^[23]。这些结果进一步证明了 PIP1 异聚化对它发挥运输水分功能是必需的。

3.2 PIP2s

二价阳离子和 pH 值也能够影响质膜透性^[48]。细胞液导度是通过在拟南芥的悬浮细胞使用细胞压力传感器和添加不同的溶质来测定的。添加钙离子可以降低细胞液导度 4 倍以上。这个结果也在纯化的质膜囊泡和停流分光光度计的测量 (stopped flow spectrophotometer measurements) 中得到证实。在拟南芥细胞内由于缺氧而酸化导致了根细胞膜水分渗透下降^[20]。在爪蟾卵母细胞内异源表达拟南芥水通道蛋白时 pH 值下降导致水分渗透性降低的研究表明，水通道蛋白的关闭受 H⁺ 的影响。后来的研究证明：在 AtPIP2;2 组氨酸残基 D 环 197 位氨基酸被确定为主要的 pH 感应点^[20,49]。在 AtPIP2;2 的结构模型中有质子化 His¹⁹⁷，导致 D 环在孔隙折叠，引起蛋白质的关闭。Tomroth 等^[30]研究揭示，在淹水条件下由于缺氧而使细胞质的 pH 值下降，PoPIP2;1 的 His¹⁹³ 残基 (在 PIPs 中严格保守) 会发生质子化。当 His¹⁹³ 残基被质子化时，组氨酸残基侧链的单一旋转能使它与 Asp²⁸ 残基 (在 PIPs 中 Asp 或 Glu 残基保守) 之间形成盐桥。在这一模式下，由于 Ser¹¹⁵ 残基的磷酸化而丧失的、由氢键所调控的把 D 环锚定于 N 末端的作用得以恢复，水通道蛋白的胞质一侧被 D 环加帽，由 Leu¹⁹⁷，Pro¹⁹⁵ 和 Val¹⁹⁴ 残基有效地阻塞了水通道。

除了上述调控机制外，膜蛋白多聚化也能调控水通道蛋白的运输功能^[50]。为了研究多聚化对水通道蛋白 PIPs 功能的影响，不同的 PIP1s 和 PIP2s 在爪蟾卵母细胞中共表达^[23,36]。研究表明：注入玉米水通道蛋白 3 ng PIP2 的 cRNA，同时加 3~12 ng 的 PIP1 cRNA 能够提高水的通透性。通过构建 PIP1-GFP 载体，转基因研究也发现 PIP1 蛋白表达明显增强。最新研究发现，大麦 HvPIP2 不仅在爪蟾卵母细胞中单独表达时显示出水通道活性，而且在 HvPIP1 和 HvPIP2 共表达时活性显著增强^[51]。水分通透性的增强可能是由于形成 PIP1 和 PIP2 的异源多聚体。通过镍柱层析技术也直接证明了它们的相互作用。通过 PIP1 和 PIP2 的有效折叠，增强了蛋白之间的稳定性，从而增加了水的通透性。

ZmPIP1;2 和不同的 ZmPIP2 在爪蟾卵母细胞中共表达，不同组合在水通道蛋白活性上均表现阳性协同作用，这可能是质膜靶向作用提高的结果^[23]。利用亲和层析证实了 ZmPIP1;2 和 ZmPIP2 间的物理相互作用导致质膜上异源四聚体中 ZmPIP1;2 的高表达^[23]。尽管 ZmPIP1;1 和 ZmPIP1;2 在分别表达时活性较低，但当它们共表达时活性提高。ZmPIP1;2 和 ZmPIP2;5 共表达也提高水通道蛋白活性，但 ZmPIP1;1 和 ZmPIP2;5 之间未见互作。在这些共表达实验中，ZmPIP1;1LE 突变体发挥的作用与 ZmPIP1;2 相同。因此推断，ZmPIP1 在这些异源四聚体行使水通道功能时是必不可少的。

PIP1 和 PIP2 亚型几乎存在于所有植物组织器官中如根系和叶片。这些植物组织器官具有完全不同的形态和生理功能，如：关于水或二氧化碳的运输。因此，不同的植物细胞具有不同的水分或气体渗透性，水通道蛋白的功能是根据各个植物组织或细胞需要而不同。在一些叶片细胞膜 PIP 可能充当小分子

物质或气体的运输通道,而在根系中这些 PIP 可以通过修饰或与其他水通道蛋白的互动而起到运输水分的功能。由于试验研究证明高透水性 PIP 亚类可能是共质体和质外体水分运输的主要途径,因此通过不同的调控机制,水通道蛋白能够通过各种细胞到细胞的运输途径的调控来响应生物胁迫和非生物胁迫。

4 展望

目前,人们对 PIP 的研究正逐步深入,但究竟有多少种水通道蛋白参与水分和小分子物质的运输,它们之间的相互关系以及它们对运输水分和小分子物质的调控机制还有待进一步探讨。因此,明确水通道蛋白的种类及其基因表达调控,并联系它们在植物生长发育过程中的生物学功能是揭示水通道蛋白的必然途径。

参考文献:

- [1] STEUDLE E, PETERSON C A. How does water get through roots [J]. *J Expl Bot*, 1998, **49**: 775 – 788.
- [2] CHULER I, MILON A, NAKATANI Y, *et al.* Differential effects of plant sterols on water permeability and on acyl chain ordering of oyebean phosphatidylcholine bilayers [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**: 6926 – 6930.
- [3] CHOU C L, MA Tonghui, YANG Baoxue, *et al.* Fourfold reduction of water permeability in inner medullary collecting duct of aquaporin-4 knockout mice [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1998, **274**: 549 – 554.
- [4] PRESTON G M, CARROLL T P, GUGGINO W B, *et al.* Appearance of water channels in *Xenopus oocytes* expression red cell CHIP28 protein [J]. *Science*, 1992, **256**: 385 – 387.
- [5] CABANERO F J, MARTINEZ-BALLESTA M C, TERUEL J A, *et al.* New evidences about the relationship between water channel activity and calcium in salinity stressed pepper plants [J]. *Plant Physiol*, 2005, **13**: 745 – 752.
- [6] HOOIJMAIJERS C, RHEE J Y, KWAK K J, *et al.* Hydrogen peroxide permeability of plasma membrane aquaporins of *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Plant Res*, 2011, **12**: 3723 – 3726.
- [7] EISENBARTH D A, WEIG A R. Dynamics of aquaporins and water relations during hypocotyls elongation in *Ricinus communis* L. seedlings [J]. *J Exp Bot*, 2005, **56**: 1831 – 1842.
- [8] GUSTAVSSON S, LEBRUN A S, NORDEN K, *et al.* A novel plant major intrinsic protein in *Physcomitrella patens* most similar to bacterial glycerol channels [J]. *Plant Physiol*, 2005, **139** (1): 287 – 295.
- [9] POSTAIRE O, VERDOUCQ L, MAUREL C. Aquaporins in plants: from molecular structures to integrated functions [J]. *Adv Bot Res*, 2008, **46**: 75 – 136.
- [10] WUDICK M M, LUU D T, MAUREL C. A look inside: localization patterns and functions of intracellular plant aquaporins [J]. *New Phytol*, 2009, **184** (2): 289 – 302.
- [11] 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.
- [12] KAMMERLOHER W, FISCHER V, PIECHOTTA G P, *et al.* Water channels in the plant plasma membrane cloned by immunoselection from an expression system [J]. *Plant J*, 1994, **6**: 187 – 199.
- [13] 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.
- [14] WEIG A, DESWARTE C, CHRISPEEL M J. The major intrinsic protein family of *Arabidopsis* has 23 members that from three distinct groups with functional aquaporins in each group [J]. *Plant Physiol*, 1997, **114**: 1347 – 1357.
- [15] SIEFRITZ F, TYREE M T, LOVISOLO C, *et al.* PIP1 plasma membrane aquaporins in tobacco: from cellular effects to function in plants [J]. *Plant Cell*, 2002, **14**: 869 – 876.
- [16] UEHLEIN N, LOVISOLO C, SIEFRITZ F, *et al.* The tobacco aquaporin NtAQPI is a membrane CO₂ pore with physiological functions [J]. *Nature*, 2003, **425**: 734 – 737.
- [17] SIEFRITZ F, OTTO B, BIENERT G P, *et al.* The plasma membrane aquaporin NtAQPI is a key component of the leaf unfolding mechanism in tobacco [J]. *Plant J*, 2004, **37**: 147 – 155.
- [18] SCHUURMANS J A, DONGEN J T, RUTJENS B P, *et al.* Members of the aquaporin family in the developing pea seed coat include representatives of the PIP, TIP, and NIP subfamilies [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, **53**: 633 – 645.
- [19] AHARON R, SHAHAK Y, WININGER S, *et al.* Overexpression of a plasma membrane aquaporin in transgenic to-

- bacco improves plant vigor under favorable growth conditions but not under drought or salt stress [J]. *Plant Cell*, 2003, **15**: 439 – 447.
- [20] TOURNAIRE-ROUX C, SUTKA M, JAVOT H, *et al.* Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins [J]. *Nature*, 2003, **425**: 393 – 397.
- [21] KALDENHOFF R, KOLLING A, RICHTER G. Regulation of the *Arabidopsis thaliana* aquaporin gene AthH2 (PIP1b) [J]. *B Biol*, 1996, **36**: 351 – 354.
- [22] 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.
- [23] FETTER K, WILDER V V, MOSHELION M, *et al.* Interactions between plasma membrane aquaporins modulate their water channel activity [J]. *Plant Cell*, 2004, **16**: 215 – 228.
- [24] LOPEZ F, BOUSSER A, SISOEFF I, *et al.* Diurnal regulation of water transport and aquaporin gene expression in maize roots: contribution of PIP2 proteins [J]. *Plant Cell Physiol*, 2003, **44**: 1384 – 1395.
- [25] ALEXANDERSSON E, FRAYSSE L, SJOVALL-LARSEN S, *et al.* Whole gene family expression and drought stress regulation of aquaporins [J]. *Plant Mol Biol*, 2005, **59**: 469 – 484.
- [26] JAVOT H, LAUVERGEAT V, SANTONI V, *et al.* Role of a single aquaporin isoform in root water uptake [J]. *Plant Cell*, 2003, **15**: 509 – 522.
- [27] MOSHELION M, BECKER D, BIELA A, *et al.* Plasma membrane aquaporins in the motor cells of *Samanea saman*: diurnal and circadian regulation [J]. *Plant Cell*, 2002, **14**: 727 – 739.
- [28] HANBA Y T, SHIBASAKA M, HAYASHI Y, *et al.* Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants [J]. *Plant Cell Physiol*, 2004, **45**: 521 – 529.
- [29] FOTIADIS D, JENO P, MINI T, *et al.* Structural characterization of two aquaporins isolated from native spinach leaf plasma membranes [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 1707 – 1714.
- [30] TORNORTH-HORSEFELD S, WANG Y, HEDFALK K, *et al.* Structural mechanism of plant aquaporin gating [J]. *Nature*, 2005, **439** (7077): 688 – 694.
- [31] JOHANSSON I, LARSSON C, EK B, *et al.* The major integral proteins of spinach leaf plasma membranes are putative aquaporins and are phosphorylated in response to Ca²⁺ and apoplastic water potential [J]. *Plant Cell*, 1996, **8**: 1181 – 1191.
- [32] 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 proteins in plants [J]. *Plant Physiol*, 2001, **126**: 1358 – 1369.
- [33] WALLACE I S, ROBERTS D M, Homology modeling of representative subfamilies of *Arabidopsis* major intrinsic proteins, classification based on the aromatic/arginine selectivity filter [J]. *Plant Physiol*, 2004, **135**: 1059 – 1068.
- [34] MARTRE P, MORILLON R, BARRIEU F, *et al.* Plasma membrane aquaporins play a significant role during recovery from water deficit [J]. *Plant Physiol*, 2002, **130**: 2101 – 2110.
- [35] BIELA A, GROTE K, OTTO B, *et al.* The *Nicotiana tabacum* plasma membrane aquaporin NtAQP1 is mercury-insensitive and permeable for glycerol [J]. *Plant J*, 1999, **18**: 565 – 570.
- [36] TEMMEI Y, UCHIDA S, HOSHINO D, *et al.* Water channel activities of *Mimosa pudica* plasma membrane intrinsic proteins are regulated by direct interaction and phosphorylation [J]. *FEBS Lett*, 2005, **579**: 4417 – 4422.
- [37] 于秋菊, 吴铤, 林忠平, 等. 植物水孔蛋白研究进展 [J]. 北京大学学报, 2002, **38**: 855 – 866.
YU Qiuju, WU Qi, LIN Zhongping, *et al.* Advance of plant aquaporins research [J]. *Acta Sci Nat Univ Pekinensis*, 2002, **38**: 855 – 866.
- [38] COOPER G J, ZHOU Yuehan, BOUYER P, *et al.* Transport of volatile solutes through AQP1 [J]. *J Physiol*, 2002, **542**: 17 – 29.
- [39] NAKHOUL N L, DAVIS B A, ROMERO M F, *et al.* Effect of expressing the water channel aquaporin-1 on the CO₂ permeability of *Xenopus oocytes* [J]. *Am J Physiol*, 1998, **274**: C543 – C548.
- [40] COOPER G J, BORON W F. Effect of PCMBs on CO₂ permeability of *Xenopus oocytes* expressing aquaporin 1 or its C189S mutant [J]. *Am J Physio*, 1998, **275**: C1481 – C1486.

- [41] TERASHIMA I, ONO K. Effects of HgCl₂ on CO₂ dependence of leaf photosynthesis: evidence indicating involvement of aquaporins in CO₂ diffusion across the plasma membrane [J]. *Plant Cell Physiol*, 2002, **43**: 70 – 78.
- [42] POSTAIRE O, TOURNAIRE-ROUX C, GRONDIN A, *et al.* A PIP1 aquaporin contributes to hydrostatic pressure-induced water transport in both the root and rosette of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2010, **152** (3): 1418 – 1430.
- [43] FITZPATRICK KL, REID R. The involvement of aquaglyceroporins in transport of boron in barley root [J]. *Plant Cell Environ*, 2009, **32**: 1357 – 1365.
- [44] DANIELS M J, MIRKOV T E, CHRISPPEELS 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 Physiol*, 1994, **106**: 1325 – 1333.
- [45] BOTS M, FERON R, UEHLEIN N, *et al.* PIP1 and PIP2 aquaporins are differentially expressed during tobacco anther and stigma development [J]. *J Exp Bot*, 2005, **56**: 113 – 121.
- [46] BOTS 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**: 1049 – 1056.
- [47] MARTIN D, CHARLES B, DANIEL P. Characterization of a fertilization-induced and developmentally regulated plasma-membrane aquaporin expressed in reproductive tissues in the wild potato *Solanum chaconense* Bitt. [J]. *Planta*, 2002, **215**: 485 – 493.
- [48] GERBEAU P, AMODEO G, HENZLER T, *et al.* The water permeability of *Arabidopsis* plasma membrane is regulated by divalent cations and pH [J]. *Plant J*, 2002, **30**: 71 – 81.
- [49] CHAUMONT F, MOSHELION M, DANIELS M J. Regulation of plant aquaporin activity [J]. *Biol Cell*, 2005, **97**: 749 – 764.
- [50] VEENHOFF L M, HEUBERGER E H, POOLMAN B, Quaternary structure and function of transport proteins [J]. *Trends Biochem Sci*, 2002, **27**: 242 – 249.
- [51] HORIE T, KANEKO T, SUGIMOTO G, *et al.* Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots [J]. *Plant Cell Physiol*, 2011, **52** (4): 663 – 675.