

植物 ATP 结合盒(ABC)转运蛋白研究进展

邵若玄, 沈忆珂, 周文彬, 方 佳, 郑炳松

(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)

摘要: ABC (ATP-binding cassette)转运蛋白家族庞大, 种类繁多, 包括全转运子和半转运子等 2 种类型。全转运子的核心单元包括 2 个核苷酸结构域(NBD)和 2 个跨膜结构域(TMD), 而半转运子只含有 1 个膜结构域(MSD)和 1 个 NBD。植物 ABC 转运蛋白不仅参与植物体内激素、脂质、金属离子、次生代谢物和外源物质的运输, 并且有利于植物与病原体间的相互作用和植物体内离子通道调控等重要的生理过程的进行, 是一类重要的跨膜运输蛋白家族。HUGO 系统中 ABC 家族分为 A~H 8 个亚族, 模式植物基因组测序的完成极大促进了 ABC 转运蛋白的研究与发现, 近几年已从多种植物中克隆了不同亚族的基因并研究其表达与功能, 但目前的研究主要集中在 ABCB, ABCC, ABCG 等三大亚族。植物 ABC 转运蛋白各亚族的结构与功能截然不同, 在不同植物中的表达部位也千差万别。综述了植物 ABC 转运蛋白家族的研究进展, 根据 ABC 家族中已知的重要成员, 系统阐述植物中各亚族 ABC 转运蛋白的结构特征、在植物中的表达及其生物学功能, 并为今后可能的研究提出展望。表 1 参 49

关键词: 植物学; ABC 转运蛋白; 结构; 表达; 生物学功能; 综述

中图分类号: S718.3; Q943.2

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2013)05-0761-08

Recent advances for plant ATP-binding cassette transporters

SHAO Ruoxuan, SHEN Yike, ZHOU Wenbin, FANG Jia, ZHENG Bingsong

(The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: The ATP-binding cassette(ABC) transporter family is a large protein family, including complete and half transporter proteins, with a variety of functions. The core unit of the complete ABC transporter protein contains two nucleotide-binding domains (NBDs) and two transmembrane domain (TMD) regions, while the half transporter consists of only one MSD and one NBD. The plant ABC transporter is not only relevant to transportation of hormones, lipids, metal ions, secondary metabolites, and exogenous substance in plants, but it is also beneficial to many important physiological processes, such as plant and pathogen interactions and ion channel regulation in plants. Thus, it is an important plant membrane transport protein family. The plant ABC transporter is divided into eight subfamilies(A-H). Genome sequencing in pattern plants has enhanced the discovery and study of ABC transporter genes. In recent years various subfamily genes have been cloned from different plants followed by their expression and functional analysis. Recent studies have concentrated mainly on members of the ABCB, ABCC, and ABCG subfamilies, but the structure and function of every subfamily varies widely with their expressions differing in manifold ways. This paper summarizes recent advances in the ABC transporter family; systematically elaborates the structure, expression, and biological function of plant ABC transporter genes; and proposes further research. [Ch, 1 tab. 49 ref.]

Key words: botany; ABC transporter; structure; expression; biological function; review

ABC(ATP-binding cassette)转运蛋白因其蛋白质中含有的核苷酸结合域而得名, 是存在于所有生物

收稿日期: 2012-08-17; 修回日期: 2012-12-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31070604, 31270716); 浙江省自然科学基金杰出青年项目(LR13C160001)

作者简介: 邵若玄, 从事生物技术研究。E-mail: nerissa.ruoxuan@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

中的一类重要的跨膜运输蛋白。至今研究发现的 ABC 转运蛋白数目已经超过 100 多种^[1], 其中在人基因组中找到 48 个, 在哺乳动物和微生物系统中已得到了广泛鉴定。具有转运活性的 ABC 转运蛋白依赖于三磷酸腺苷(ATP)水解产生的能量实现底物在细胞内外的跨膜转运, 在生物体内参与诸多重要的生理过程, 如细菌耐药性、次生代谢产物积累、生物及非生物胁迫反应和肿瘤细胞的抗药性等。与其他生物 ABC 转运蛋白的研究相比, 植物 ABC 转运蛋白的研究相对滞后。随着拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 和水稻 *Oryza sativa* 等全基因组测序的完成, 人们对植物基因组中的 ABC 转运蛋白的情况有了进一步了解。序列分析显示拟南芥基因组中有 129 个 ABC 转运蛋白基因, 水稻基因组中 128 个^[2], 在目前完成全基因组测序的生物中数量远远超过其他生物, 其原因可能与植物复杂的代谢有关。近几年的研究表明, 植物 ABC 转运蛋白不仅参与植物体内激素、脂质, 金属离子, 次生代谢物和外源物质的运输, 而且有利于植物与病原体间的相互作用和植物体内离子通道的调控^[3]。本综述对最新研究发现的植物 ABC 转运蛋白的结构特征进行综述, 介绍其蛋白在底物跨膜运输过程中的生物学功能, 并对植物 ABC 转运蛋白的研究进行展望。

1 ABC 转运蛋白家族

ABC 转运蛋白广泛存在于植物细胞的质膜、液泡、线粒体和过氧化物酶体中, 并且转运底物的差异使之在植物生长素的极性转运、外源毒素的解毒、植物抗病、抗重金属离子、脂质降解和气孔调节等诸多生理活动中发挥作用, 是植物器官生长, 营养物质运输, 抵抗病原体, 胁迫反应等过程中至关重要的转运蛋白。各类植物中含有的 ABC 基因的类型与数目各不相同, 表达的部位也千差万别。其中部分亚族的基因只在植物的特定部位如根中表达, 而有些亚族基因却在植物各部位随机表达。

ABC 转运蛋白有全转运子和半转运子 2 种^[4]。全转运子的核心单元包括 2 个核苷酸结构域(nucleotide binding domains, NBD)和 2 个跨膜结构域(trans membrane domains, TMD)等 4 个结构域。具有亲水性的 NBD 结构域嵌于细胞膜而向细胞质中突出, 由几个高度保守的 Walker A 和 Walker B 序列, 保守性略差的 H 环、Q 环组成和 ABC 蛋白特异性位点构成。2 个 NBD 共同结合并水解 ATP 供能, 具有多个 α 螺旋跨膜片段的两个疏水性 TMD 结构域则利用 NBD 水解三磷酸腺苷(ATP)产生的能量将与其结合的底物转出质膜。其中的转运底物包括脂、氨基酸、生物碱、有机酸、金属与非金属离子、重金属螯合物、蛋白质、类固醇、细胞代谢产物和药物等^[5-6]。而半转运子只含 1 个膜结构域(membrane spanning domain, MSD)和 1 个 NBD, 常需要通过同型二聚化或者异型二聚化而行使功能^[4]。

ABC 转运蛋白家族庞大, 存在范围广且数目多, 命名系统繁杂混乱。有的依据突变体表型来确定名称, 有的根据 ATP 结合结构域的系统发育关系命名, 有些又是按照核心结构域结合和组织的方式来命名等等。在 HUGO 命名系统中^[7-8], ABC 家族分 ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF, ABCG 和 ABCH 为 8 个亚族。而在 Sánchez-Fernández 命名系统中, ABCA 被细分为 AOH 和 ATH; MDR, TAP 和 ATM 对应 ABCB; ABCC, ABCD, ABCE, ABCF 分别被 MRP, PMP, RLI 和 GCN 代替; WBC 和 PDR 则是 HUGO 系统中的 ABCG(表 1)。不同的命名方式造成 ABC 家族名称混乱甚至互相冲突, 并且植物 ABC 转运蛋白数目仍在不断增加, 于是 Paul 等^[3]比较综合了之前常用的几种命名法则, 提出了一个统一的植物 ABC 转运蛋白命名系统, 使之能较好地地区分各亚族, 但目前还没有得到广泛的应用。

2 ABC 转运蛋白的结构与功能

ABC 转运蛋白普遍存在于各类生物体中。自 1992 年国际上报道了第 1 个从拟南芥中克隆的植物 ABC 转运蛋白 *AtPGP1*(又称为 *AtMDR1*)^[9]。此后, 研究人员对植物 ABC 转运蛋白进行了多方面的研究。随着模式植物拟南芥基因组测序的完成, 人们对其基因组中的 ABC 转运蛋白的研究已较为透彻。研究者在拟南芥和水稻的基因组中发现了所有类型的真核 ABC 系统^[10], 序列分析显示拟南芥基因组中的 129 个转运蛋白涉及 MDR, MRP, PDR, WBC, ATM 等多达 13 个亚家族^[2], 主要集中在 ABCB, ABCC 和 ABCG 亚族。而水稻中具有更多的 PDR 亚族和较少的 ABCA 亚族, 编码的 ABC 转运蛋白主要在植物体内参与转运大分子物质与次生代谢物质。水稻与拟南芥的基因组差异很大, 但编码 ABC 转运蛋白的基

表 1 ABC 转运蛋白家族两种常用命名系统对照表

Table 1 Comparison table between two common naming system of ABC transporter family

HUGO 命名系统	Sánchez-Fernández 命名系统
ABCA	ABC1 homologue (AOH)
	ABC2homologue (ATH)
	Multidrug resistance (MDR)
ABCB	Transporter associated with antigen processing (TAP)
	ABC transporter of the mitochondria (ATM)
ABCC	Multidrug resistance associated protein (MRP)
ABCD	Peroxisomal membrane protein (PMP)
ABCE	RNase L inhibitor (RLI)
ABCF	General control nonrepressible (GCN)
ABCG	White-brown complex homologue (WBC)
	Pleiotropic drug resistance (PDR)
ABCH	None

因数量十分接近。植物 ABC 转运蛋白的研究进展迅速，最近几年的许多研究渐渐脱离了拟南芥等模式植物，开始在小麦 *Triticum aestivum*，长春花 *Catharanthus roseus*，东北红豆杉 *Taxus cuspidata*，银杏 *Ginkgo biloba*，杨树 *Populous trichocarpa*，玉米 *Zea mays* 等多种植物中开展。研究人员已从这些植物中克隆出了不同亚族的 ABC 转运蛋白基因，并对基因的结构与功能有一定的研究，主要集中在 ABCB，ABCC，ABCG 等三大亚族。

2.1 ABCB 亚族

ABCB 亚族蛋白成员有药物抗性相关蛋白 MDR（包括 p-糖蛋白，p-GP），线粒体 ABC 转运蛋白 ATM，以及抗原肽相关运载蛋白体 TAP，此类植物 ABC 转运蛋白功能多样。Kaneda 等^[11]发现 ABCB 亚族基因与其它 ABC 基因协调表达，参与拟南芥茎的木质化过程，在植物茎中发挥运输生长素的功能。Pomahacova 等^[12]发现 CjMDR1 在长春花中起转运各种单萜生物碱的作用。目前，对 PGP 蛋白的功能研究也涉及内源生长素的运输。如拟南芥根中的 *AtPGP* 基因与弱光下拟南芥下胚轴的细胞伸长有关，主要在根和茎顶端细胞的质膜上表达 *AtPGP1* 蛋白，作为输出泵转移与细胞伸长相关的多肽类激素。拟南芥中的 *AtATM* 则编码一种线粒体蛋白，主要功能是协助线粒体基质铁硫蛋白的输出并参与形成铁硫簇^[13]。对于 TAP 基因及其蛋白功能的研究甚少，目前只有报道称 *AtTAP2* 蛋白在提高拟南芥植株对铝的毒抗性方面发挥重要作用^[3]。

2.1.1 MDR 类型 MDR 蛋白又称多药耐药性蛋白 (multi-drugresistance)，共有 29 个成员，主要参与植物次生代谢物质的跨膜运输。Helvoort 等^[14]认为 MDR1 和 MDR2 可引起脂质的重排，因为它能将单层膜上的类脂转移到另一层膜上。最初发现的人类 ABC 转运蛋白 P-GP 即为一种由 *MDR1* 基因编码的跨膜糖蛋白。由于这类蛋白能对肿瘤化疗的药物产生耐药性，已成为当下肿瘤治疗研究中的热点。而在植物中首次获得的 MDR 型基因是 Robert Dudle 等^[15]克隆出的 *AtPGP1*，其编码的蛋白质与拟南芥对除草剂的交叉抗性有关，参与拟南芥体内有毒物质的外排过程。此后，Shitan 等^[16]通过同源 RT-PCR 法在黄芪 *Astragalus membranaceus* 中克隆到一类 MDR 亚族基因 *Cjmdr1*，发现 CjMDR1 蛋白定位于黄芪的细胞质膜上，能识别黄连素并将其作为底物向细胞内转运，发现了第 1 个具有向内转运底物功能的 ABC 转运蛋白。近几年，金宏滨等^[17-18]从能产生重要次生代谢产物的药用植物长春花、东北红豆杉和银杏中，成功克隆到了同类 MDR 族基因的完整 cDNA，分别为 *Crmdr1*，*Tcmdr1* 和 *Gbmdr1*。*Crmdr1* 全长 4 395 bp，含有一个 3 801 bp 的开放阅读框，编码一个具有 1 266 个氨基酸残基的蛋白。*Tcmdr1* 全长 4 485 bp，ORF 为 3 951 bp，编码 1 316 个氨基酸。*Gbmdr1* 全长 4 275 bp，ORF 为 3 840 bp，编码 1 279 个氨基酸。分析发现这 3 个基因所编码的蛋白质都为全分子 ABC 转运蛋白，具有 2 个跨膜域 TMD 和 2 个核苷酸结合域 NBD，按照正向的“TMD1-NBD1-TMD2-NBD2”顺序排列。同时蛋白序列中也存在着所有 ABC 转运蛋白共同的高度保守基序“WalkerA”“WalkerB”和 C 基序，可能在特定底物的转运过程中进行

ATP 水解, 以及在识别结合特异底物时发挥作用。另外还发现 GbMDR1 和 TcMDR1 蛋白结构中具有 CjMDR 等内向摄取蛋白中的 N 末端突出卷曲的共同特殊性序列, 因此, 推测 GbMDR1 和 TcMDR1 可能也具有内向摄取功能^[17]。目前, 聂智毅等^[19]通过筛选消减文库并结合 cDNA 末端快速扩增技术(RACE)在橡胶树 *Hevea brasiliensis* 中获得了 *HbMDR1* 基因的全长 cDNA 序列。该基因开放阅读框的长度为 3 753 bp, 共编码 1 251 个氨基酸残基。结构分析表明 HbMDR1 蛋白的氨基酸序列具有 2 个跨膜域及 2 个核苷酸结合域(NBD), 是一个全分子的 ABC 转运蛋白。其 4 个结构单元排列方式为 TMD1-NBD1-TMD2-NBD2。该基因的获得有利于进一步研究 MDR 蛋白在植物次生代谢物质转运中的作用。不同植物中的 MDR 基因的表达部位存在较大差异, 表达量也受不同外界因素的影响。Sasaki 等^[20]从小麦根端分离了一个 ABC 转运蛋白基因 *TaMDR1*, 并用 5~50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理小麦植株后进行表达量测定, 发现铝毒害能有效诱导 *TaMDR1* 表达。此外钙通道抑制剂镧、钆、钕红等也能诱导 *TaMDR1* 大量表达。BoslNoh 等^[21]发现拟南芥中 MDR1 和 PGP1 的表达受生长素的诱导, 说明这 2 个基因在拟南芥中起控制生长素分布的关键作用, 是植株正常生长不可或缺的。

2.1.2 ATM 类型 ATM 是 ABC 家族中成员较少的一个亚族, 也称为线粒体 ABC 转运蛋白家族(ABC transporter of the mitochondria, ATM), 只有一个跨膜域和一个核酸结合域, 属于半分子转运蛋白。拟南芥基因组中只有 3 个 ATM 成员, 其中 *AtATM1* 和 *AtATM2* 位于拟南芥 IV 号染色体上, 之间的距离不超过 582 bp, 而 *AtATM3* 存在于 V 号染色体上。目前, 在水稻中仅发现 1 个, 杨树中也只有 2 个 ATM 亚族成员, 它们都与 *AtATM3* 相近^[13,22-24]。*AtATM1* 与 *AtATM2* 的序列相似性高达近 85%, 而两者与 *AtATM3* 的相似性略低。经过染色体复制研究和序列相关性分析推测前 2 个基因很可能由 *AtATM3* 多次复制而来, 这同时一定程度上解释了水稻和杨树中的 ATM 成员与 *AtATM3* 具有较高的同源性的原因。*AtATM1* 和 *AtATM2* 编码的蛋白功能与 *AtATM3* 有所不同, 它们丧失了 AtATM3 蛋白的部分功能, 但同时获得了一些新的功能。AtATMs 在植物体中起到抵抗重金属的作用^[13], 可在重金属的诱导下大量表达。CHEN 等^[22]发现 *AtATM1* 参与维持拟南芥细胞铁离子的平衡, 铁离子浓度增大能提高其表达量, 而钙离子能够诱导 *AtATM3* 在拟南芥根中大量表达。另有研究发现拟南芥中的 *AtATM* 在根中的过量表达可以使植株对镉和铅的抗性提高^[13]。

2.2 ABCC 亚族

此亚族成员在相关的报导中一般以 MRP 为名。在已发现的 129 个 ABC 基因中有 15 个编码 MRP 蛋白^[23], 但目前仅对拟南芥中的 MRP 家族的结构功能有一定的研究。植物 MRP 基因的最初发现是因为观察到谷胱甘肽化合物进入植物液泡是依赖 ATP 提供能量而非依靠膜内外质子电势差的^[24]。拟南芥中的 *AtMRP1* 与 *AtMRP2* 都具有谷胱甘肽共运转活性, 并且 *AtMRP2* 较 *AtMRP1* 的活性强^[25]。*AtMRP2* 基因全长 12 kb, 有 28 个内含子, cDNA 长 5.3 kb, 编码蛋白包含 1 632 个氨基酸残基, 与 *AtMRP1* 的相似度高达 97%。位于拟南芥 III 号染色体上的 *AtMRP6* 基因全长 5.2 kb, 含有 9 个内含子, cDNA 编码 1466 个氨基酸残基, 相对分子量为 164.4 kDa。*AtMRP6* 的 5' 端和 3' 端分别是 *AtMRP7* 和 *AtMRP3*, 3 个基因的同源性较高, 编码的蛋白质有一定的相似性, 可能来自于 2 个基因的连续复制过程。预测 AtMRP6 蛋白至少含 15 个跨膜螺旋结构, 每个半分子有 6 个跨膜螺旋, 1 个 TMD0 和至少 3 个跨膜区^[23]。*AtMRP5* 则主要是利用对细胞膜离子通道的调节和对肌醇六磷酸的高亲和力在拟南芥保卫细胞的信号转导、水分利用以及植酸储存中发挥作用^[26-28]。MRP 基因家族的共同特征是具有 2 个核苷酸结合域 NBD1 和 NBD2, 每个核酸结合域除了含有 ABC 家族共同的 WalkerA, WalkerB, C 基序和 12 个预测的跨膜域外, 还包括结合在 NBD1 上的 2 个连续调节域。此结构编码多种氨基酸残基, 而且在 192~223 氨基酸残基处的 N 端延伸处共同含有 5 个亲水氨基酸^[25]。

2.3 ABCG 亚族

ABCG 亚家族是 NBD-TMD 反向序列结构域类型的转运子, 包括 PDR 和 WBC 等 2 个类型。其中 PDR 只在植物与真菌中存在, 并且是 ABC 转运蛋白家族中数量最多的一个类型。

2.3.1 PDR 类型 PDR 亚族大量分布于各种植物中, 当前分别在拟南芥和水稻中发现了 15 个和 23 个 PDR 基因^[29]。植物受到一些外界胁迫如高盐胁迫、组织缺氧、重金属胁迫、细菌感染等时就会表达 PDR 基因。PDR 型转运蛋白参与众多有毒物质与代谢物质的吸收、积累和外排过程, 在机体防御过程

中起关键作用。PDR 型转运蛋白中既有全转运子也有半转运子, 其全转运子的核苷酸结构域的 Walker A 和 Walker B 区域在 N 端和 C 端的序列上有一定差异, 而其独特之处即在于 PDR 型转运蛋白的 NBD 比 TMD 更接近 N 端, 这与 MDR, ABCA 和 MRP 等家族正好相反^[30]。Ducos 等^[31]通过同源基因克隆从烟草 *Nicotiana tabacum* 植株中获得一个在缺乏铁离子的条件下表达的基因 *NpPDR3*。对其研究发现在 *NpPDR3* 基因的启动子区域存在一个保守元件 IDE-1, 在缺乏铁离子时, IDE-1 元件激活 *NpPDR3* 的启动子, 从而促使基因表达^[32]。Eichhorn 等^[33]采用小片段分离法在大豆 *Glycine max* 中得到了 cDNA 全长 4 750 bp 的 *GmPDR12*, 该基因在水杨酸及其功能类似物质的诱导下能够快速并大量表达。*GmPDR12* 编码的蛋白质共有 1 447 个氨基酸残基, 具有 2 个相似的重复单元, 为典型的全分子转运蛋白。尚毅等^[34]用发病毒性因子 DON 处理小麦植株, 根据预测的基因序列设计引物, 并经过可转化人工染色体(TAC)文库筛选, 从小麦穗组织中克隆出了 *TaPDR1*。*TaPDR1* 属于Ⅳ族 PDR 基因, 位于小麦的 5A 染色体上, 基因全长 7 377 bp, 包含 19 个外显子。其编码蛋白序列(CDS)长 4 308 bp, 编码 1 435 个氨基酸, 蛋白分子量为 161 kD。已知 *TaPDR1* 的表达可由 DON 因子、禾谷镰刀菌 *Fusarium graminearum*, 铝离子 (Al^{3+})和游离钙离子 (Ca^{2+})的诱导, 而不受生物胁迫与非生物胁迫因子的影响, 但是目前此基因的功能和调控模式尚不清楚。通过邻接法构建的进化树共将植物 PDR 基因分成了 I~V 5 个亚族, 每个亚族中均有拟南芥、水稻和苜蓿 *Medicago sativa* 的基因, 烟草、小麦等其他植物的多向耐药性(PDR)基因则分散地分布于不同的族中。推测可能是因为植物体代谢途径的多样性造成了各族 PDR 基因数目之间的差异^[35]。第一个被鉴定的植物 PDR 基因浮萍 *Spirodella polyrhiza* 的 *SpTUR2* 基因与 *OsPDR9*, *AtPDR12* 等同属于 I 族, 其表达受 ABA、低温胁迫和盐胁迫的诱导^[28]。Ⅱ族 PDR 基因的表达具有较强的组织特异性。拟南芥中的 *AtPDR5*, 6, 7, 9, 11 和 12 等主要在根部表达。其中 *AtPDR12* 的表达受金属离子、缺氧等非生物胁迫诱导, *AtPDR12* 表达越强的拟南芥植株对铅的耐受力越强。Kang 等^[36]还发现 *AtPDR12* 的表达能够增强植物的抗旱能力, 因为它可介导植物细胞吸收脱落酸。Ⅲ族中的 *AtPDR8* 在受到干旱和盐胁迫时上调表达, 表达部位集中在地面部分组织中, 表达产物参与多种抗原菌诱导的生物胁迫反应。已知Ⅳ族 PDR 基因中的 *TaPDR1* 在小麦中参与植物抗病防御反应, 而进一步的研究证实了这种的抗病反应与赤霉病抗性有关^[34]。最新研究发现 PDR 亚族中的 *ABCG32* 基因表达产物还参与植物角质层细胞壁的形成过程^[37]。最终通过对 PDR 各族基因的表达与功能进行整体分析发现, 这些基因在不同组织或者器官中表达, 可被多种生物和非生物胁迫所调节, 各基因的同源性与其功能之间没有十分密切的联系。

2.3.2 WBC 类型 WBC 亚族共 29 个成员^[38]。骆斌等^[39]从陆地棉 *Gossypium hirsutum* 纤维 cDNA 文库中分离到 *GhWBC1* 基因, 该基因在纤维细胞发育中起作用。*GhWBC1* 在棉花纤维细胞的伸长期高水平表达, 并且表达量与纤维细胞的伸长相一致。而在子叶、叶片、茎等组织中表达量少, 在根中甚至检测不到转录本。当纤维停止生长后, *GhWBC1* 在棉花纤维细胞中的表达也基本停止^[38]。拟南芥中有一个与 *GhWBC1* 高度同源的 *AtWBC11* 基因, 该基因在花和果荚中大量表达, 叶片和茎中有少量的表达, 而在根中几乎不表达^[38]。Bird 等^[40]研究发现 *AtWBC11* 是拟南芥角质正常形成过程中重要的转运蛋白。研究人员将 *GhWBC1* 基因转入拟南芥后检测其表达量, 发现 *GhWBC1* 在拟南芥短果荚植株中的表达量比正常果荚植株中的高^[39]。由此可知外源 *GhWBC1* 基因的过量表达可造成果荚长度的变化。WBC 蛋白均为半转运子, 只含 1 个 NBD 和 1 个 TMD, 必须通过形成二聚体来发挥转运功能。洋葱 *Allium cepa* 表皮细胞中的 EGFP 蛋白融合实验说明 *GhWBC1* 蛋白位于细胞膜上, 可能介导物质的跨膜转运或胞间运输^[39]。Bird 等^[40]通过向拟南芥基因组中插入 T-DNA 获得了 *AtWBC11* 突变体, 经研究发现 *AtWBC11* 的功能是参与分泌拟南芥角质层脂质, 在植物角质层的形成过程中不可缺少。随后 McFarlane 等^[41]发现 *AtWBC11* 是 *ABCG12* 具有生理活性的前提, 因为 *ABCG12* 蛋白只有与 *AtWBC11* 蛋白结合后才能发挥从拟南芥表皮到角质层运输脂质的作用。同时 *AtWBC11* 还可以与其他多种 *ABCG* 半分子分别结合形成各种具有不同功能的全分子转运蛋白。

2.4 其他亚族的结构与功能

在 ABC 转运蛋白家族中, ABCE 和 ABCF 亚族仅位于细胞质中, 蛋白质无跨膜区域, 因而不具有转运功能^[42]。ABCH 亚族在昆虫、鱼类、棘皮动物和黏菌 *Myxomycophyta* 中大量分布, 但在植物中尚未发

现。ABCA 亚族则存在于动物的上皮细胞、巨噬细胞以及神经元等细胞中^[43], 功能为参与动物内源性脂质的跨膜运输^[44], 具体的转运底物仍有待鉴定^[45]。植物中 ABCA 亚族的相关研究较少, 其中 Byrne 等^[46]发现黑麦草 *Lolium perenne* 叶片中的 ABCA 家族基因 *ATH* 在亚硒酸钠的诱导下表达量显著增加, 而其在植物体内的功能尚不明确。研究发现 *ABCC/MRP* 基因在拟南芥的根、茎、叶中都有表达。其中 *AtMRP1* 与 *AtMRP2* 蛋白均具有谷胱甘肽共轭转运活性。*AtMRP3* 蛋白主要在拟南芥根中与植物对重金属的抗性有关。*AtMRP5* 则主要在叶片中参与叶片保卫细胞的信号传递与水分分配。Bovet 等^[47]发现拟南芥的 15 个 *MRP* 基因中有 14 个同时在根与叶中表达, 用镉处理植株后叶中的表达量无明显变化, 而根中的 *AtMRP3*, 6, 7 和 14 的表达明显增加, 其中以 *AtMRP3* 的增加量最为显著。在其他物种如玉米中, Marrs 等^[48]通过突变体分析推测 *MRP* 蛋白参与酚类糖苷转运进入液泡的过程。ABCD 即 PMP 亚族, 也称作过氧化物酶体跨膜运输蛋白, 大多数成员属于半转运子, 主要以同源或异源二聚体形式将脂肪酸输入过氧化物酶体中。拟南芥只有 2 种转运蛋白属于 ABCD 亚族^[49], 其中 *AtPMP2* 的功能是将脂肪酸运输进入过氧化物酶体以进行 β -氧化和乙醛酸循环, 种子中该基因的突变将导致萌发缺陷。而 *AtPMP1* 是质体半转运子蛋白, 其功能有待进一步研究^[3]。

3 展望

ABC 转运蛋白家族庞大、功能广泛。水稻、拟南芥等模式植物基因组的测序完成极大地促进了 ABC 转运蛋白基因的发现与研究, 并且近年来逐渐开始在其他的一些物种如小麦、大豆、银杏、东北红豆杉等植物中克隆出了 ABC 转运蛋白基因。但是对于整个大家族来说, 已有的研究还是微不足道的。与动物 ABC 基因的研究相比, 克隆出的植物 ABC 基因甚少, 尤其在木本植物中。而且研究的物种仍比较单一, 已克隆基因的功能大部分还未阐明。目前对一些植物如拟南芥中的几个 ABC 蛋白亚族的结构与功能已经有了较深入的研究, 但是我们不能简单地将一种生物体中获得的研究结果直接应用于其他的生物体中, 因为各植物体中的 ABC 转运蛋白不尽相同。如在拟南芥和水稻中, PDR 亚族在数量上便差异显著, 说明不同植物体的代谢途径多样性可能造成了其转运蛋白的结构功能千差万别。此外, 绝大部分转运蛋白的底物尚未确定, 同种转运蛋白可能具有多种不同的底物。因而我们还远不能整体观察 ABC 基因家族, 而需要借助生物信息学、遗传学等方法研究各族 ABC 基因的功能, 或者异源性表达研究其功能和相应底物, 亦可以通过基因序列相似性比较研究发现基因功能的相关性。

参考文献:

- [1] ALICIA P S. Availability and applications of ATP-binding cassette (ABC) transporter blockers [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, **76**: 279 – 286.
- [2] SCHULZ B, KOLUKISA OGLU H U. Genomics of plant ABC transporters: the alphabet of photosynthetic life forms or just holes in membranes? [J]. *Febs Letters*, 2006, **580**: 1010 – 1016.
- [3] VERRIER P J, BIRD D, BURLA B, *et al.* Plant ABC proteins: a unified nomenclature and updated inventory [J]. *Trends Plant Sci*, 2008, **13**: 151 – 159.
- [4] 徐杏, 邱杰, 徐扬, 等. 水稻 ABCB 转运蛋白基因的分子进化和表达分析 [J]. 中国水稻科学, 2012, **26** (2): 127 – 136.
XU Xing, QIU Jie, XU Yang, *et al.* Molecular evolution and expression analysis of subfamily ABCB transporter genes in rice [J]. *Chin J Rice Sci*, 2012, **26**(2): 127 – 136.
- [5] GOOSSENS A, HAKKINEN S T, LAAKSO I, *et al.* Secretion of secondary metabolites by ATP binding cassette transporters in plant cell suspension cultures [J]. *Plant Physiol*, 2003, **131**: 1161 – 1164.
- [6] THEODOULOU F L. Plant ABC transporters [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1465**: 79 – 103.
- [7] DEAN M, HAMON Y, CHIMINI G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily [J]. *J Lipid Res*, 2001, **42**: 1007 – 1017.
- [8] DEAN M, ANNILO T. Evolution of the ATP-binding cassette(ABC) transporter superfamily in vertebrates [J]. *Ann Rev Genomics Human Gen*, 2005, **6**: 123 – 142.
- [9] DUDLER R, HERTIG C. Structure of an mdr-like gene from *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Biol Chem*, 1992, **267**(9):

5882 – 5888.

- [10] GARCIA O, BOUIGE P, FORESTIER C, *et al.* Inventory and comparative analysis of rice and *Arabidopsis* ATP-binding cassette (ABC) systems [J]. *J Mol Biol*, 2004, **343**: 249 – 265.
- [11] KANEDA M, SCHUETZ M, LIN B S P, *et al.* ABC transporters coordinately expressed during lignification of *Arabidopsis* stems include a set of ABCBs associated with auxin transport [J]. *J Exp Bot*, 2011, **62**(6): 2063 – 2077.
- [12] POMAHACOV B, DUSEK J, DUSKOVO J. Improved accumulation of ajmalicine and tetrahydroalstonine in *Catharanthus* cells expressing an ABC transporter [J]. *J Plant Physiol*, 2009, **166**: 1405 – 1412.
- [13] KIM D Y, BOVET L, KUSHNIR S, *et al.* *AtATM3* is involved in heavy metal resistance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2006, **140**(3): 922 – 932.
- [14] van HELVOORT A, SMITH A J, SPRONG H, *et al.* MDR1 P-Glycoprotein is a lipid translocase of broad specificity, while MDR3 P-Glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine [J]. *Cell*, 1996, **87**(3): 507 – 517.
- [15] DUDLER R, HERTIG C. Structure of an mdr-like gene from *Arabidopsis thaliana* evolutionary implications [J]. *J BiolChem*, 1992, **267**(9): 5882 – 5888.
- [16] SHITAN N, BAZIN I, DAN K, *et al.* Involvement of *CjMDR1*, a plant multidrug-resistance-type ATP-binding cassette protein, in alkaloid transport in *Coptis japonica* [J]. *Proceed National Acad Sci USA*, 2003, **100**: 751 – 756.
- [17] 金宏滨. 药用植物 ABC 转运蛋白基因的克隆与特征研究[D]. 上海: 上海交通大学博士学位论文, 2007.
JIN Hongbin. *Cloning and Characterization of ABC Transporter Gene in Medicinal Plants* [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2007.
- [18] JIN Hongbin, LIU Donghui, ZUO Kaijing, *et al.* Molecular cloning and characterization of Crmdr1, a novel MDR-type ABC transporter gene from *Catharanthus roseus* [J]. *Mitochondrial DNA Jan*, 2007, **18**(4): 316 – 325.
- [19] 聂智毅, 李波, 白瑞璞, 等. 橡胶树一个胶乳高表达 MDR 型 ABC 转运蛋白的克隆与表达研究[J]. 中国农学通报, 2011, **27**(12): 181 – 186.
NIE Zhijun, LI Bo, BAI Purui, *et al.* Cloning and expression analysis of a MDR-type ABC transporter abundant in rubber tree latex [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2011, **27**(12): 181 – 186.
- [20] SASAKI T, EZAKI B, MATSUMOTO H. A gene encoding multidrug resistance (MDR)-like protein is induced by aluminum and inhibitors of calcium flux in wheat [J]. *Plant Cell Physiol*, 2002, **43**(2): 177 – 185.
- [21] NOH B, MURPHY A S, SPALDING E P. Multidrug resistance-like genes of *Arabidopsis* required for auxin transport and auxin-mediated development [J]. *Plant Cell*, 2001, **13**: 2441 – 2454.
- [22] CHEN Sixue, SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ R, LYVER E R, *et al.* Functional characterization of *AtATM1*, *AtATM2*, and *AtATM3*, a subfamily of *Arabidopsis* half-molecule ATP-binding cassette transporters implicated in iron homeostasis [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282**(29): 21561 – 21571.
- [23] GAILLARD S, JACQUET H, VAVASSEUR A, *et al.* *AtMRP6/AtABCC6*, an ATP-binding cassette transporter gene expressed during early steps of seedling development and up-regulated by cadmium in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMC Plant Biol*, 2008, **8**: 22. doi:10.1186/1471-2229-8-22.
- [24] MARTINOIA E, GRILL E, TOMMASINI R, *et al.* ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump in the vacuolar membrane of plants [J]. *Nature*, 1993, **364**: 247 – 249.
- [25] LU Yuping, LI Zesheng, DROZDOWICZ Y M, *et al.* *AtMRP2*, an *Arabidopsis* ATP binding cassette transporter able to transport glutathione S-conjugates and chlorophyll catabolites: functional comparisons with *AtMRP1* [J]. *Plant Cell*, 1998, **10**(2): 267 – 282.
- [26] MARKUS K, LAETITIA P B, ANNIE F, *et al.* The plant multidrug resistance ABC transporter *AtMRP5* is involved in guard cell hormonal signalling and water use [J]. *Plant J*, 2003, **33**: 119 – 129.
- [27] SU Jinshi, YONG Fengwei, ANNIE F, *et al.* The ATP binding cassette transporter *AtMRP5* modulates anion and calcium channel activities in *Arabidopsis* guard cells [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282**: 1916 – 1924.
- [28] NAGY R, GROB H, WEDER B, *et al.* The *Arabidopsis* ATP-binding cassette protein *AtMRP5/AtABCC5* is a high affinity inositol hexakisphosphate transporter involved in guard cell signaling and phytate storage [J]. *J Biol Chem*, 2009, **284**: 33614 – 33622.
- [29] REA P A. Plant ATP-binding cassette transporters [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 2007, **58**: 347 – 375.

- [30] VANDEN BRULE S, SMART C C. The plant PDR family of ABC transporters [J]. *Planta*, 2002, **216**: 95 – 106.
- [31] DUCOS E, FRAYSSE S, BOUTRY M. *NtPDR3*, an iron-deficiency inducible ABC transporter in *Nicotiana tabacum* [J]. *FEBS Lett*, 2005, **579**(30): 6791 – 6795.
- [32] KOBAYASHI T, SUZUKI M, MLNOUE H, *et al.* Expression of iron-acquisition-related genes in iron-deficient rice is co-coordinately induced by partially conserved iron-deficiencyresponsive elements [J]. *J Exp Bot*, 2005, **56**: 1305 – 1316.
- [33] EICHHORN H, KLINGHAMMER M, BECHT P, *et al.* Isolation of a novel ABC-transporter gene from soybean induced by salicylic acid [J]. *J Exp Bot*, 2006, **57**: 2193 – 2201.
- [34] SHANG Yi, XIAO Jin, MA Lulin, *et al.* Characterization of a PDR type ABC transporter gene from wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Chin Sci Bull*, 2009, **54**(18): 3249 – 3257.
- [35] 张儒, 黄景嘉, 谢小雷, 等. 植物 PDR 型 ABC 转运蛋白的结构及功能 [J]. 生命的化学, 2011, **31**(1): 112 – 119.
- ZHANG Ru, HUANG Jingjia, XIE Xiaolei, *et al.* Structure and function of plant PDR family of ABC transporters [J]. *Chem Life*, 2011, **31**(1): 112 – 119.
- [36] KANG J, HWANG J U, LEE M, *et al.* PDR-type ABC transporter mediates cellular uptake of the phytohormone abscisic acid [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2010, **107**(5): 2355 – 2360.
- [37] BESSIRE M, BOREL S, FABRE G, *et al.* A member of the pleiotropic drug resistance family of ATP binding cassette transporters is required for the formation of a functional cuticle in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2011, **23**: 1958 – 1970.
- [38] 骆斌, 朱勇清, 上官小霞, 等. 棉花、拟南芥 ABC 转运蛋白(GhWBC1 和 AtWBC11)的研究 [C]//中国植物生理学会第 9 次全国会议论文摘要汇编, 2004: 133.
- [39] 朱勇清, 许可香, 骆斌, 等. 一个在棉纤维细胞中高表达的 ABC 转运蛋白基因的分离与分析 [C]//中国植物生理学会全国学术年会暨成立 40 周年庆祝大会学术论文摘要汇编, 2003: 335.
- [40] BIRD D, BEISSON F, BRIGHAM A, *et al.* Characterization of *Arabidopsis ABCG11/WBC11*, an ATP binding cassette (ABC) transporter that is required for cuticular lipid secretion [J]. *Plant J*, 2007, **52**: 485 – 498.
- [41] MCFARLANE H, SHIN J H, BIRD D, *et al.* Arabidopsis ABCG Transporters, which are required for export of diverse cuticular lipids, dimerize in different combinations [J]. *Plant Cell*, 2010, **22**: 3066 – 3075.
- [42] STOLARCZYK E L, CASSANDRA J R, CHRISTIAN M P. Regulation of ABC transporter function via phosphorylation by protein kinases [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2011, **12**(4): 621 – 635.
- [43] BEERS M F, HAWKINS A, SHUMAN H, *et al.* A novel conserved targeting motif found in ABCA transporters mediates trafficking to early post-Golgi compartments [J]. *J Lip Res*, 2011, **52**(8): 1471 – 1482.
- [44] AKIYAMA M. The roles of ABCA12 in keratinocyte differentiation and lipid barrier formation in the epidermis [J]. *Dermato Endocrinol*, 2011, **3**(2): 107 – 112.
- [45] MOLDAI R S, ZHONG Ming, QUAZI F. The role of the photoreceptor ABC transporter ABCA4 in lipid transport and stargardt macular degeneration [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, **1791**(7): 573 – 583.
- [46] BYRNE S L, DURANDEAU K, NAGY I, *et al.* Identification of ABC transporters from *Lolium perenne* L. that are regulated by toxic levels of selenium [J]. *Planta*, 2010, **231**: 901 – 911.
- [47] BOVET L, EGGMANN T, MEYLAN B M. Transcript levels of *AtMRPs* after cadmium treatment: induction of *AtMRP3* [J]. *Plant Cell Environ*, 2003, **26**: 371 – 381.
- [48] MARRS K A, ALFENITO M R, LLOYD A M, *et al.* A glutathione S-transferase involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene Bronze-2 [J]. *Nature*, 1995, **375**: 397 – 400.
- [49] WANDER R J A, VISSER W F, van ROERMUND C W T, *et al.* The peroxisomal ABC transporter family [J]. *Pflugers Arch Eu J Physiol*, 2007, **453**: 719 – 734.