

水稻锌铁转运蛋白 ZIP 基因家族研究进展

孟璐, 孙亮, 谭龙涛

中国科学院亚热带农业生态研究所, 长沙 410125

摘要: 锌(zinc, Zn)和铁(iron, Fe)是水稻(*Oryza sativa* L.)生长必需的矿质元素, 也是人体必需的微量元素。水稻体内 Zn、Fe 含量维持在适宜水平有利于提高其产量和品质, 提高稻米中 Zn、Fe 含量能够在一定程度上解决人体 Zn、Fe 营养缺乏的问题。因此, 研究水稻中 Zn 和 Fe 等微量元素转运蛋白的具体功能对于提高水稻产量和稻米品质具有重要意义。锌铁转运蛋白(zinc-regulated transporters and iron-regulated transporter-like protein, ZIP)负责 Zn 和 Fe 等离子体的吸收、转运和分配, 是维持水稻中 Zn 和 Fe 平衡的重要转运蛋白, 其表达水平受 Zn 和 Fe 水平影响。ZIP 基因家族在自然群体中具有丰富的等位变异, 而且某些单倍型存在明显的籼粳分化, 这可能造成了不同品种间籼、粳稻中 Zn 和 Fe 积累的差异。目前, 已有大量关于 ZIP 基因家族的研究, 但只有 *OsZIP3* 的作用机制研究的较为清楚。另外, 对 Zn、Fe 在籽粒中的积累机制研究和自然群体中 ZIP 基因的等位变异研究还不够深入。因此, ZIP 转运蛋白家族仍存在较大的研究空间。本文详细介绍了 ZIP 转运蛋白在水稻体内的亚细胞定位、表达模式、转运机制以及在自然群体中的等位变异等, 以期研究水稻稻米微量元素的积累提供理论基础, 为提高稻米品质提供借鉴。

关键词: ZIP 基因; 锌; 铁; 转运机制; 自然变异

Progress in ZIP transporter gene family in rice

Lu Meng, Liang Sun, Longtao Tan

Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China

Abstract: Zinc and iron are essential mineral elements for the growth of *Oryza sativa* L. and also micronutrients for human health. Therefore, it is vital to study biofortification of rice with Zn and Fe in order to improve the yield and quality of rice, as well as to enhance nutritional states of humans. The zinc-regulated transporters and iron-regulated transporter-like proteins (the ZIP family) control the absorption and translocation of Zn and Fe and maintain their homeostasis in rice. Reciprocally, the expression of the ZIP family is induced by the concentration of Zn and Fe. There are abundant natural allelic variations of the ZIP genes, and some haplotypes only occur in *indica* or *japonica*, which could affect Zn and Fe accumulation levels between these subspecies. Currently, emerging functional studies of the accumulation mechanism of Zn and Fe in grains reveal that a lot still needs to be learned about the allele variations of ZIP genes. In fact, only *OsZIP3* is

收稿日期: 2017-07-19; 修回日期: 2017-11-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31470443)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31470443)]

作者简介: 孟璐, 博士研究生, 研究方向: 作物逆境分子生物学与生态育种。E-mail: 2286240938@qq.com

通讯作者: 谭龙涛, 博士后, 助理研究员, 研究方向: 作物逆境分子生物学与生态育种。E-mail: tanlongtao@isa.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.17-238

网络出版时间: 2018/1/3 13:32:53

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20180103.1332.001.html>

functional characterized. In this review, we summarize the latest progress in the molecular characteristics of the ZIP transporters, including protein localization, gene expression patterns, transport mechanism, metal ion interaction, and natural allelic variations.

Keywords: ZIP genes; zinc; iron; transport mechanism; natural variation

锌(Zn)和铁(Fe)作为水稻生长必需的矿物元素,在其生长发育过程中发挥着重要作用。Zn 是 300 多种酶和重要蛋白质的结构辅助因子,在生物体代谢、生物膜稳定和基因的表达调控等生理机能中发挥重要的作用。Fe 在植物细胞呼吸、光合作用和金属蛋白的催化反应过程中起着重要作用^[1~3]。水稻(*Oryza sativa* L.)体内 Zn、Fe 含量的适当增加可提高作物产量和品质,而缺乏将对水稻的生长发育造成严重影响,导致产量和品质下降,其中主要表现为植株矮小和水稻籽粒中 Zn、Fe 含量不足^[4~6]。

Zn 和 Fe 也是人体必需的微量元素,其在体内的累积与人体健康密切相关。水稻是世界上多数人口的主食,但稻米中 Zn 和 Fe 的含量相对较低,容易导致人体营养不良。通过生物强化措施,提高水稻中 Zn、Fe 含量能够安全、有效地解决 Zn、Fe 营养缺乏问题^[7]。因此,研究水稻体内 Zn 和 Fe 等微量元素转运的相关蛋白,了解各种转运蛋白家族成员在吸收、转运和分配金属元素中的作用,对提高水稻产量和稻米品质具有重要意义。

各种转运蛋白在植物体内主要通过协同作用来吸收、转运和分配金属元素,控制植物体内金属离子的平衡,这些转运蛋白包括阳离子扩散协助蛋白(cation diffusion facility protein, CDF)、重金属 ATP 酶(heavy metal ATPases of the P1B-type ATPase, HMA)、自然抵抗相关巨噬细胞蛋白(natural resistance associated macrophage proteins, NRAMP)、锌铁调控转运相关蛋白(zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like protein, ZIP)等^[8~14]。其中,CDF 主要负责将 Zn 从胞内转移到胞外^[10,11,13];HMA 主要是通过 ATP 水解释放的能量进行转运金属离子^[10,11];NRAMP 主要参与二价金属阳离子的转运^[10,14];ZIP 主要参与金属离子的吸收、转运和分配过程。ZIP 转运蛋白不仅能转运 Zn 和 Fe 等必需的营养元素,还能转运 Cd、Pb、Ni 等有害重金属元素^[10,15~17]。因

此,本文概述了 ZIP 转运蛋白在水稻体内的亚细胞定位、表达模式、转运机制和调节金属离子互作,以及在自然群体中的等位变异等,为研究水稻稻米微量元素的积累提供理论基础。

1 ZIP 基因家族的结构特征和分布

ZIP 转运蛋白包括锌调控转运蛋白(zinc-regulated transporter, ZRT)和铁调控转运蛋白(iron-regulated transporter, IRT)^[18]。目前已知水稻 ZIP 基因家族包含 16 个成员,其中 14 个为锌调控转运蛋白基因,2 个为铁调控转运蛋白基因^[19,20]。ZIP 基因家族成员在水稻 1~8 号染色体上均有分布(图 1),而且在 5 号染色体上有 *OsZIP5*、*OsZIP6*、*OsZIP7*、*OsZIP9* 和 *OsZIP11* 基因,是拥有 ZIP 基因最多的一条染色体,其中 *OsZIP5* 和 *OsZIP9* 两个基因串联,位置临近^[19]; *OsIRT1* 和 *OsIRT2* 在 3 号染色体上串联分布^[21,22],序列相似度为 86%。这说明 ZIP 基因分布可能不是随机的。另外,利用水稻 ZIP 家族 16 个基因的 mRNA 序列进行系统进化分析(MEGA7.0.14),直观揭示了 ZIP 基因之间的亲缘关系(图 2)。

ZIP 转运蛋白一般由 326~425 个氨基酸残基组成^[15],对水稻 ZIP 家族成员的氨基酸序列分析发现,多数 ZIP 转运蛋白含有 8 个跨膜结构域(图 3),而且在第 III 第 IV 跨膜区之间有一个位于胞内的富含组氨酸残基的可变区,该区可能与金属离子的结合、转运有关^[15,19,23]。另外,金属离子和转运蛋白结合可形成八面体、四面体和平面等多种结构^[24]。

2 ZIP 基因家族生物学功能

对水稻 ZIP 家族大部分基因已进行了初步研究(表 1)。利用酵母营养缺陷型突变体互补实验证明 *OsIRT1*、*OsIRT2*、*OsZIP1*、*OsZIP3*、*OsZIP4*、

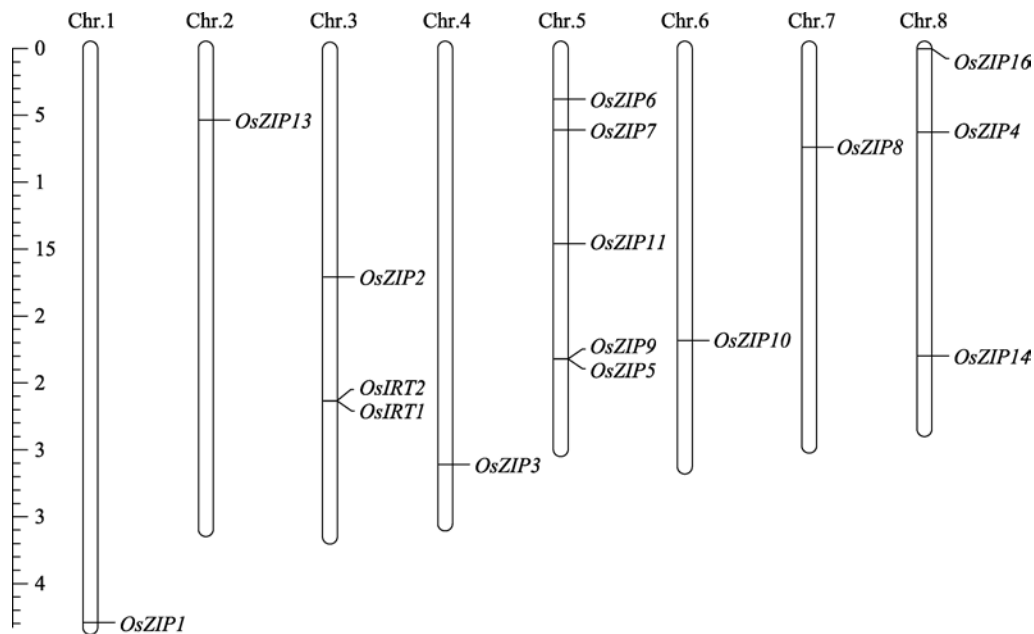


图 1 水稻部分 ZIP 基因分布图

Fig. 1 The genetic map of ZIP genes in rice

OsIRT1 : LOC_Os03g46470.1 ; *OsIRT2* : LOC_Os03g46454.1 ; *OsZIP1* : LOC_Os01g74110.1 ; *OsZIP2* : LOC_Os03g29850.1 ; *OsZIP3* : LOC_Os04g52310.1 ; *OsZIP4* : LOC_Os08g10630.1 ; *OsZIP5* : LOC_Os05g39560.1 ; *OsZIP6* : LOC_Os05g07210.1 ; *OsZIP7* : LOC_Os05g10940.1 ; *OsZIP8* : LOC_Os07g12890.1 ; *OsZIP9* : LOC_Os05g39540.1 ; *OsZIP10* : LOC_Os06g37010.1 ; *OsZIP11* : LOC_Os05g25194.1 ; *OsZIP13* : LOC_Os02g10230.1 ; *OsZIP14* : LOC_Os08g36420.5 ; *OsZIP16* : LOC_Os08g01030.1。

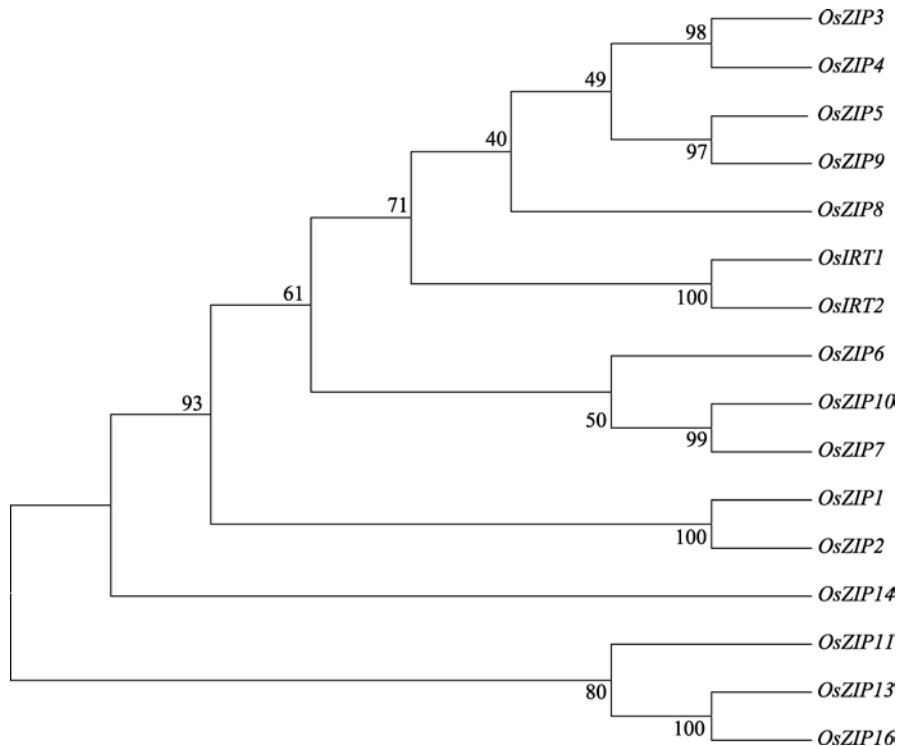


图 2 水稻 ZIP 基因家族系统进化树

Fig. 2 A phylogenetic tree of ZIP genes in rice

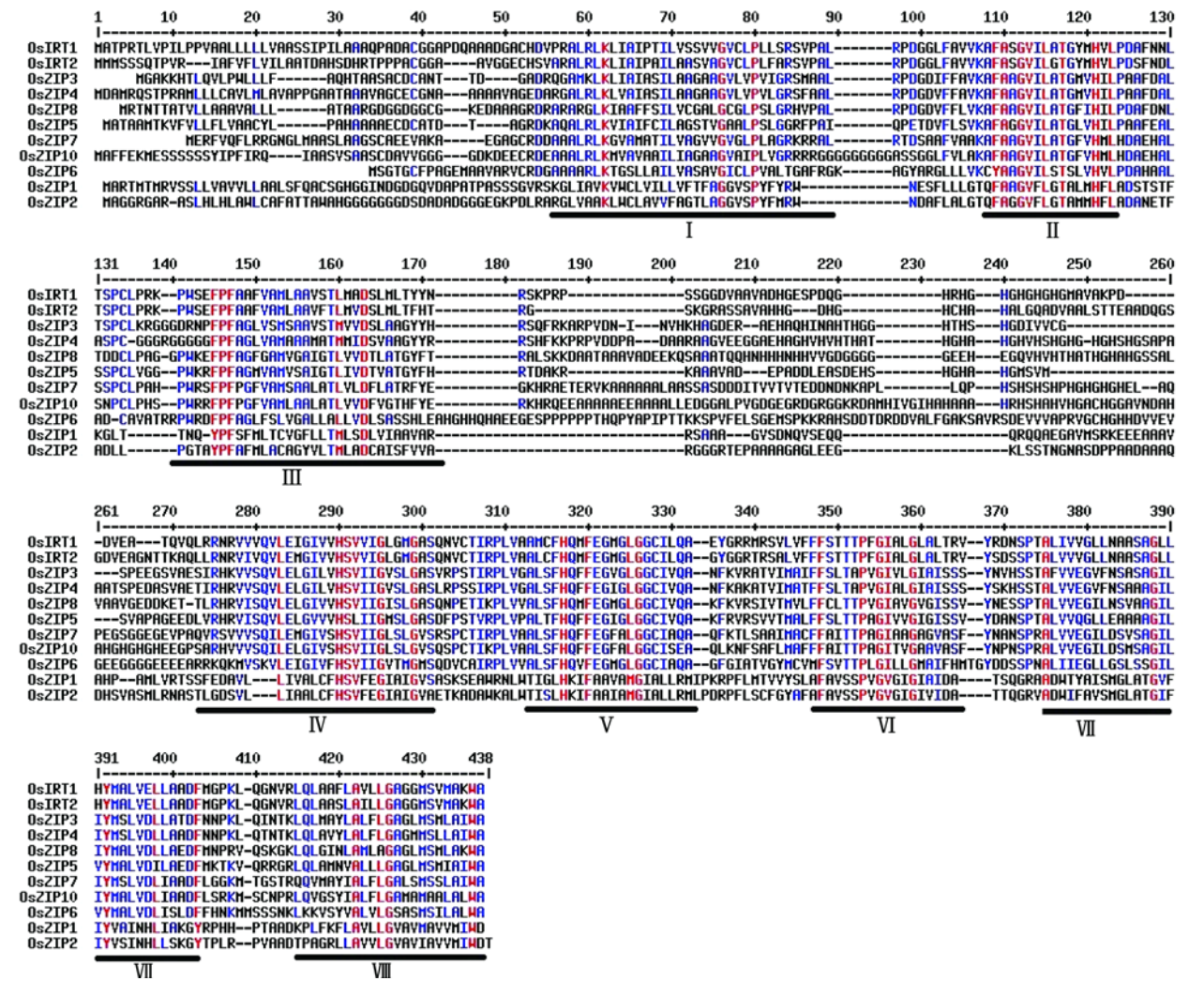


图 3 水稻 ZIP 转运蛋白氨基酸序列比对结果
Fig. 3 Amino acid alignment of the predicted ZIP transporters in rice

表 1 水稻 ZIP 基因家族部分成员及可能的功能
Table 1 The potential function of *OsZIP* members

<i>OsZIPs</i>	表达部位	诱导条件	可能功能	参考文献
<i>OsZIP1</i>	根和花穗	缺 Zn	吸收和转运 Zn, 转运 Cd	[19,26]
<i>OsZIP2</i>	根	缺 Zn	吸收 Fe	[26]
<i>OsZIP3</i>	各组织和茎节	无	Zn 分配	[19,28]
<i>OsZIP4</i>	地上部和根	缺 Zn	转运 Zn	[25,30]
<i>OsZIP5</i>	根	缺 Zn、Mn	吸收 Zn	[31]
<i>OsZIP6</i>	地上部和根部	缺 Zn、Fe、Mn	吸收 Zn 及向地上部转运	[24]
<i>OsZIP7</i>	地上部和根	缺 Zn	—	[25]
<i>OsZIP8</i>	根和地上部	缺 Fe	吸收和分配 Zn	[29]
<i>OsIRT1</i>	根和茎的韧皮部	缺 Fe	吸收和转运 Fe、Zn、Cd	[21,32~34]
<i>OsIRT2</i>	根	缺 Fe	吸收 Fe, 吸收和转运 Cd	[21,33,34]

OsZIP5 和 OsZIP8 等家族成员均有转运 Zn、Fe 的功能^[19,21,25~29]。研究发现,OsZIP10 可能定位于叶绿体,其他 ZIP 转运蛋白主要定位于细胞膜^[19,22],说明 ZIP 转运蛋白是金属离子跨膜转运的重要转运蛋白。

2.1 铁调控转运体

ZIP 家族两个转运蛋白基因 *IRT1* 和 *IRT2* 在水稻、拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)、大麦(*Hordeum vulgare* L.)和大豆(*Glycine max* L.)等多种植物中研究的较为清楚。OsIRT1 和 OsIRT2 在水稻 ZIP 家族中主要负责 Fe 的转运,缺 Fe 诱导条件下根部基因表达量升高^[21]。另外,OsIRT1 还能转运 Zn 和 Cd^[32,33]。OsIRT1 过表达材料不仅提高了 OsIRT1 的表达水平,还能提高苗期对缺铁胁迫的抗性和对过量 Zn、Cd 的敏感性。在大田条件下,过表达 OsIRT1 水稻在苗期并未出现表型差异,但从生殖期开始出现明显的表型差异,表现为植株矮小、分蘖减少、产量降低,但籽粒中 Fe 和 Zn 的含量升高^[34]。由此可见,OsIRT1 能够提高水稻籽粒中 Fe、Zn 的积累,但造成水稻减产。OsIRT2 也能转运 Cd,但是转运能力远小于 OsIRT1^[33]。另外,拟南芥和大麦中的 IRT1 同样表现出转运多种金属离子如 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 的能力,但只在缺 Mn 和缺 Fe 诱导条件下上调表达^[35,36,37]。Connolly 等^[38]研究也发现,在缺 Fe 的营养液中培养 6 天后拟南芥根部 Cd 含量增加,地上部含量减少,而且过表达 *AtIRT1* 后拟南芥对 Cd 更敏感。这些结果说明,*AtIRT1* 不但能维持拟南芥体内 Fe 的代谢平衡,而且可能参与了重金属 Cd 的转运。另外,Ni 胁迫也能引起 *AtIRT1* 表达升高,可能原因是 Ni 与 Fe 具有竞争关系,Ni 胁迫引起缺铁响应,从而造成 *IRT1* 表达升高^[17]。HvIRT1 是大麦中负责根吸收 Mn 的重要转运蛋白之一,Mn 缺乏诱导后,不同 HvIRT1 基因型(Vanessa 和 Antonia)大麦对 Mn 吸收效率差异显著,在 Mn 高效基因型(Vanessa)大麦中表达量上调 40%^[35]。总之,IRT1 和 IRT2 在植物中具有不同的转运底物,尤其是 Fe、Zn、Mn 3 种元素,因此 IRT1 和 IRT2 可能参与对多种金属元素的吸收、转运过程,是金属转运过程中的重要蛋白。

2.2 锌调控转运体

OsZIP1、OsZIP2、OsZIP4、OsZIP5、OsZIP6、

OsZIP7 和 OsZIP8 都与 Zn 的运输有关^[19,23,24,28]。Ramesh 等^[26]从水稻基因组中分离鉴定了 OsZIP1、OsZIP2 和 OsZIP3 的全长 cDNA 序列,并且在缺 Zn 诱导下根部 OsZIP1 表达量升高。通过酵母缺 Zn 突变体互补实验发现,OsZIP1 在酵母内具有转运 Zn 的能力。也有研究发现,在缺 Zn 条件下,OsZIP1 在根和花穗中诱导上调表达^[19];OsZIP2 只在根中上调表达^[26]。Matthew 等^[39]研究拟南芥 ZIP 家族基因发现,AtZIP1 主要在根和叶脉中表达,AtZIP2 在根中柱表达量较高,这两个基因分别定位在液泡膜和质膜上;AtZIP1 可能参与金属离子从液泡释放到根细胞质的再活化过程,而 AtZIP2 可能参与根对 Mn 和 Zn 的吸收;对缺失突变体的研究结果表明,AtZIP1、AtZIP2 在 Mn 和 Zn 从根部向地上部的转运过程中发挥一定的作用。

OsZIP3 与 Zn 的分配有关,但 OsZIP3 不受缺 Zn 和高 Zn 诱导^[28],这与苜蓿(*Medicago truncatula* L.)和大麦中的 ZIP3 显著不同:缺 Zn 诱导时,MtZIP3 在根和叶片中上调表达^[40],HvZIP3 在根中上调表达^[41]。虽然 OsZIP3 的表达没有变化,但是 OsZIP3 突变体与野生型相比 Zn 的含量有显著差异,突变体的地上部(不包括基部)Zn 的含量升高,地上部基部区域 Zn 含量显著下降^[28]。通过短期同位素标记法标记 ^{67}Zn 发现,OsZIP3 主要在水稻节中表达,敲除 OsZIP3 后,Zn 含量在下部叶较高,在地上部伸长区和节点含量较低,这表明 OsZIP3 的作用在于将 Zn 从节处分配到快速生长的组织内^[28]。另外,通过抑制 OsZIP3 的表达并未影响根对 Zn 的吸收和 Zn 由根向地上部的转运,由此证明 OsZIP3 与其他植物中的 ZIP3 转运蛋白在功能上存在差异,OsZIP3 只与 Zn 分配有关,不参与 Zn 的吸收和转运过程^[28]。

OsZIP4 与 Zn 的转运和再分配有关。OsZIP4 主要在叶片的维管束和叶肉细胞、茎和根的韧皮部表达,另外根尖和茎的分生组织中表达较为明显。因此,OsZIP4 的功能可能同时涉及 Zn 在水稻体内的转运与再分配过程^[25]。Northern 分析结果显示:缺 Zn 诱导时,OsZIP4 在根中与叶片中的上调表达的时间不同步,地上部的诱导时间比根部长,而且添加 Zn 恢复正常生长后,OsZIP4 表达量缓慢降低^[25]。由此推测,OsZIP4 可能参与了 Zn 的长距离运输。

另外,缺 Zn 诱导时,水稻的老叶和新叶中的 *OsZIP4* 表达量也同时增加,但新叶的表达量较高,因此缺 Zn 诱导时,*OsZIP4* 更倾向于在分生能力强的器官中表达^[25]。但在苜蓿中 *ZIP4* 的表达与 Fe、Zn、Mn 3 种元素有关,这与水稻 *ZIP4* 的专一性有很大差别,缺 Mn、缺 Fe 诱导时,叶片中 *MtZIP4* 下调表达;而缺 Zn 诱导时,根和叶片中 *MtZIP4* 上调表达^[40]。

OsZIP5 和 *OsZIP6* 能转运多种二价金属离子^[24,31]。在水稻中,*OsZIP5* 受 Zn、Fe 和 Mn 缺乏诱导上调表达。缺 Zn 诱导下,*OsZIP5* 在根部和地上部表达量升高,缺 Fe 和 Mn 诱导时只在根中表达量升高^[31]。*OsZIP5* 突变体可增加对超 Zn 环境的耐受性并降低水稻中 Zn 含量;然而,过表达 *OsZIP5* 水稻对超 Zn 环境敏感^[31]。在 Zn、Fe 和 Mn 缺乏诱导时,*OsZIP6* 地上部表达水平升高 3 倍,但在地下部,只有缺 Fe 诱导时根中 *OsZIP6* 表达量才达到相同水平^[24]。同样,在苜蓿中 *MtZIP5* 也受缺 Zn 或缺 Mn 的诱导,在缺 Zn 或缺 Mn 条件下,叶片中 *MtZIP5* 上调表达,但是 *MtZIP6* 的表达与金属元素含量无关^[40]。

OsZIP8 与 *OsZIP4* 具有相似的表达模式,缺 Zn 诱导时,根部和地上部的 *OsZIP8* 上调表达,在恢复正常生长过程中,*OsZIP8* 和 *OsZIP4* 表达量都降低,但表达差异较大,*OsZIP4* 表达量降低过程持续时间长,*OsZIP8* 的表达是短时迅速降低,最终表达量稳定,但根中表达量远大于地上部的表达量^[29]。*OsZIP8* 负责 Zn 的吸收和分配,*OsZIP8* 过表达后,株高降低,地上部 Zn 含量降低,根中 Zn 含量极显著升高;在超 Zn 胁迫下,造成转基因株系地上部 Zn 含量降低,在大田中出现表型差异,尤其是在花期,出现株高显著降低、分蘖减少、产量降低,而且旗叶中 Zn 含量降低,但其他金属含量无变化,这说明 *OsZIP8* 过表达干扰了水稻对 Zn 的分配使地上部和籽粒中 Zn 的含量降低,根中 Zn 含量增加^[29]。另外,过表达 *OsZIP4* 和 *OsZIP5* 导致 Zn 大量聚集于根部,地上部和籽粒中 Zn 含量降低^[30,31]。

目前研究表明,不同植物中的 ZIP 家族具有吸收、转运和分配 Zn、Fe、Mn 等多种元素的能力,但功能存在显著不同。相同物种,基因的相似性越高,转运蛋白越可能有相似的表达模式,如 *OsIRT1* 和 *OsIRT2*。在研究转运蛋白功能时,一般情况下,

同源基因具有类似的转运模式的可能性比较大,但在 ZIP 家族中,由于其他物种与水稻生存环境的差异或者其他因素,造成同源基因的功能存在差异,如 *OsZIP4* 只与 Zn 的分配和转运有关,但 *MtZIP4* 却与 Zn、Fe、Mn 3 种元素有关;*OsZIP8* 受 Zn 诱导表达,过表达后会导致 Zn 在水稻体内再分配,但在拟南芥中,*ZIP8* 转运蛋白对 Zn、Fe、Mn、Cu 可能都无转运活性^[39],因此 *ZIP8* 转运蛋白在不同植物中的功能存在极大差异。

3 ZIP 基因家族吸收、转运和分配机制

转运蛋白对微量元素的转运主要有 4 种模式:木质部转换模式(xylem-switch mode)、韧皮部专一性模式(phloem-tropic mode)、韧皮部反冲模式(phloem-kickback mode)和低浓度转换模式(minimum-shift mode)^[42]。Xylem-switch 模式主要是将微量元素从木质部的扩大维管束(enlarged vascular bundles, EVBs)转运到木质部的分散维管束(diffuse vascular bundles, DVBs);Phloem-tropic 模式是指金属元素仅通过韧皮部转运;Phloem-kickback 模式与其他模式最大的不同是将微量元素先分配到叶片,然后再通过木质部转运重新分配到发育组织中。Minimum-shift 模式根据环境中浓度变化调控元素分配^[42]。不同矿物元素通过不同模式利用不同的转运蛋白进行转运。Zn 主要是通过 Phloem-tropic 模式转运^[42]。由于发育的组织在细胞分裂和生长过程中需要大量的 Zn,Zn 从土壤中吸收后优先分配到新叶、节等器官中^[43-45]。在水稻主茎上一般有 13~18 个茎节,但只有上边的 4~5 个节间不断伸长生长,在茎基部有 10 个左右的茎节聚集在一起^[42,46]。茎节连接分蘖、茎和叶鞘,是水稻连接各组织器官的要害,并将水稻的维管束系统连接在一起。水稻的维管束有 3 种不同类型:EVBS、DVBs 和 TVBs (transit vascular bundles, TVBs),这 3 种维管束可共同存在,承担不同的职责^[46,47]。在营养生长和生殖生长期,茎节中 Zn 的含量比其他器官高^[48-50],由此可见在该阶段大量 Zn 聚集于茎节处,此时茎节处的转运蛋白将 Zn 转运到叶鞘和分蘖,或者向上转运,从而促进水稻的生长。在茎节里,Zn 储存在 EVBS 和 DVBs 的薄壁细胞^[43-45,49,50]。

OsZIP3 是节中调控 Zn 分配的一个重要转运蛋白, 但 OsZIP3 不能独自完成转运 Zn 的过程, 至少需要重金属 ATP 酶 2 (heavy metal ATPase 2, HMA2) 和另一个未知转运蛋白^[28,51]。OsHMA2 位于韧皮部的 DVBs 和 EVBs 上, 主要转运 Zn 和 Cd, 在 Zn 分配过程中负责将 Zn 转运到韧皮部的 DVBs 和 EVBs 中。OsZIP3 在茎节处分配 Zn 的具体的机制为: 首先, 从根部吸收的 Zn 储存在木质部薄壁细胞里, OsZIP3 将位于木质部的 EVBs 中的 Zn 转运出来; 然后, 一个未知转运蛋白将 Zn 转运到质外体的 DVBs 中; 最后 OsHMA2 将 Zn 转运到韧皮部, 使 Zn 向上运输; 同时, OsHMA2 可将木质部 EVBs 中的 Zn 直接转运到韧皮部的 EVBs, 从而使 Zn 分配到叶片。在该机制中, 敲除 *OsHMA2* 基因, 导致水稻生长减弱, 这是由于 Zn 的分配受到了影响, 但是敲除 *OsZIP3*, 却没有明显的表型, 水稻正常生长, 并且也未影响 *OsHMA2* 的表达, 说明在 OsZIP3 的转运机制中存在其他与 OsZIP3 功能类似的转运蛋白, 当 OsZIP3 转运受阻时, 其他转运蛋白会承担相应的功能^[28]。

4 ZIP 基因家族参与多种金属离子的转运

OsIRT1 和 OsIRT2 不仅转运 Fe, 也能转运 Zn 和 Cd。OsIRT1 和 OsIRT2 转运 Cd 的能力取决于环境中 Fe 的浓度, Fe 充足时转运 Cd 的能力小于 Fe 缺乏时; 若环境 Cd 的浓度足够高将影响 Fe 和 Zn 的吸收, 造成植株内 Fe 和 Zn 含量降低。由此可见, Fe 与 Cd 存在竞争关系^[33]。OsIRT1 对 Cd 的效应远大于 OsIRT2, 而且 OsIRT1 不仅能促进 Cd 的吸收还能转运和分配 Cd^[33]。除此之外, 在拟南芥中 IRT1 能转运 Ni, Ni 与 Fe 也具有竞争关系^[17]。OsZIP1 也具有转运 Cd 的能力^[26], *OsZIP5* 表达受 Zn、Mn 两种元素诱导^[31], *OsZIP6* 表达受 Fe、Zn 和 Mn 3 种元素诱导, 并且通过放射性同位素吸收发现, Co 能影响 OsZIP6 转运蛋白对 Fe 的转运^[24]。除此之外, ZIP 基因在某种离子的诱导下会导致植物体其他金属元素含量的变化, 如缺 Zn 诱导下, 根中铁含量增加两倍, 出现此种现象的原因并不是 OsZIP4 具有转运 Fe 的能力, 而是 *OsZIP4* 的表达影响了其他铁转运蛋白的功能^[25]。在烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 和大麦

中也有类似现象, 缺 Zn 诱导时会导致植物体内的 Fe 含量明显高于对照组^[52,53]。另外, 不同 ZIP 转运蛋白即使在相同诱导条件下基因的表达量也不一致, 同样缺 Zn 诱导条件下, *OsZIP4* 在根部和地上部的表达量同时增加两倍, 但 *OsZIP6* 只在地上部表达, 但表达量提高了 3 倍^[24]。

Zn 和 Cd 都是通过 Phloem-tropic 模式转运, Mn 通过 Minimum-shift 模式转运^[42]。根据目前已知的 ZIP 基因功能, *OsIRT1* 与 Zn、Fe 和 Cd 有关^[21,32,33]; *OsZIP1* 与 Zn 和 Cd 有关^[19,26]; *OsZIP5* 与 Zn 和 Mn 有关^[31]; *OsZIP6* 与 Zn、Fe 和 Mn 有关^[24]。由此可见, ZIP 基因不是单独在某一种模式里转运金属离子, 而是在不同模式中发挥作用。

5 ZIP 基因具有丰富的等位变异

水稻种质资源丰富, 拥有大量的地方品种和野生种质。通过长期的自然进化和人工选择, 不同品种包含了大量的优良自然变异, 这些有利变异是许多重要农艺性状的遗传基础。根据不同自然变异的分子特征, 对一个品种的相关性状进行遗传构成分析, 通过测序了解不同位点的自然变异类型, 有目的的改良劣势位点, 可为分子育种提供理论依据^[54,55]。华中农业大学水稻基因组序列变异综合数据库 RiceVarMap (<http://ricevarmap.ncpgr.cn/>) 整合了来自全世界 73 个国家的 1479 份栽培稻的测序数据, 鉴定了 6 551 358 个 SNP 位点和 1 214 627 个 INDEL 位点, 并获得了这些变异位点在不同品种中的分布信息, 可以容易了解不同品种的遗传构成, 挖掘更多的自然变异^[56]。利用此数据库初步分析 ZIP 家族基因编码区的自然变异, 发现不同水稻品种间 ZIP 基因存在丰富的自然变异 (图 4)。*OsZIP1* 存在 3 种基因型, 其中有 2 种基因型分部较为广泛; *OsZIP2* 存在 5 种主要基因型, 其中有 1 种基因型分部较为广泛; *OsZIP3* 存在 5 种主要基因型, 其中有 2 种基因型分部较为广泛; *OsZIP4* 存在 8 种主要基因型, 其中有 2 种基因型分部较为广泛; *OsZIP5* 存在 5 种主要基因型, 其中有 2 种基因型分部较为广泛; *OsZIP6* 存在 3 种主要基因型, 其中只有 1 种基因型分部较为广泛; *OsZIP7*、*OsZIP8* 和 *OsZIP9* 均有 2 种基因

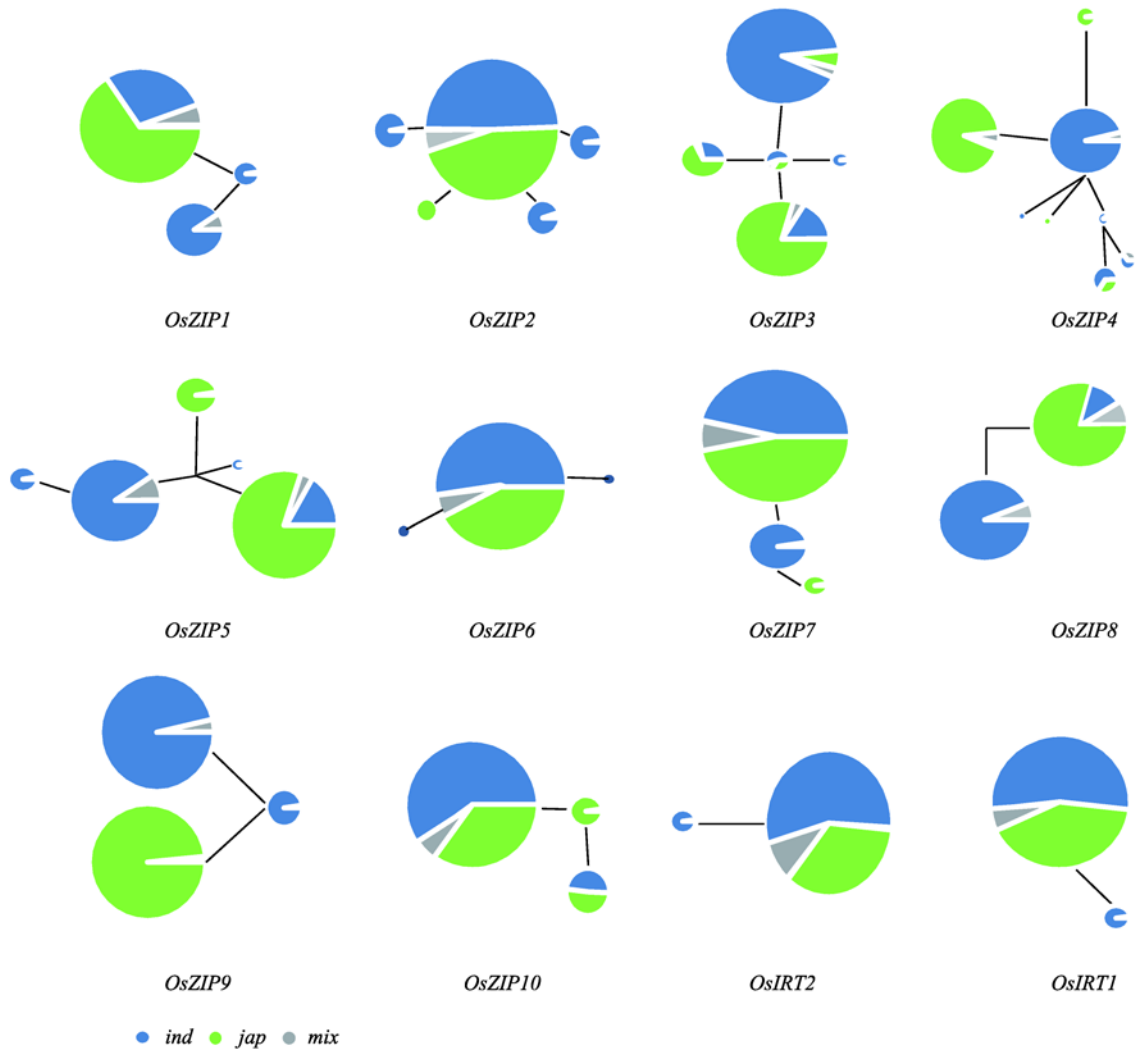


图 4 ZIP 基因自然变异的初步分析

Fig. 4 Preliminary analyses of the natural variation in *OsZIPs*

圆饼代表不同单倍型，圆饼面积代表品种数量，品种数量>10；直线代表亲缘关系，蓝色代表籼稻，绿色代表粳稻，灰色代表中间型。

型分部较为广泛；*OsZIP10*、*OsIRT1* 和 *OsIRT2* 只有 1 种基因型分部较为广泛。值得一提的是，除 *OsZIP2*、*OsZIP6*、*OsIRT1* 和 *OsIRT2* 外，它们的某些单倍型只在籼稻或粳稻中出现，这说明 ZIP 家族基因存在明显的籼粳分化。因此，我们推测这些 ZIP 基因的籼、粳稻间的自然变异很可能造成了不同品种籼、粳稻中 Zn 和 Fe 积累的差异。

6 结语与展望

ZIP 基因家族是维持水稻体内 Zn、Fe 平衡的重要转运蛋白家族之一。到目前为止，ZIP 基因家族

有 10 个成员的基因信息、表达定位和转运能力已较为清楚，它们都位于细胞膜上，序列相似性较大，含有 8 个跨膜结构域，而且在第 III 和第 IV 可变区内存在与金属离子结合的位点。除 *OsZIP3* 之外，其他 ZIP 家族基因均可受缺 Zn、缺 Fe、缺 Mn 诱导表达上调。另外，ZIP 家族成员主要对 Zn、Fe 亲和力较大，但也转运 Cd、Co 等，Cd、Co 不具有专一的转运蛋白。不同金属离子处于动态平衡之中，互相影响，一种元素的变化会影响到一些转运蛋白的表达变化，最终导致金属离子含量变化。当某种金属离子含量超出水稻自身耐受能力时，植物生长会受到严重抑制甚至死亡。

虽然已有大量研究表明 ZIP 家族蛋白参与了 Zn、Fe 和 Cd 等元素的吸收、转运和分配,但它们是否影响到 Zn、Fe 和 Cd 在稻米中的积累及其在自然群体中的变异规律还需要进一步研究。深入研究 ZIP 转运蛋白转运 Zn、Fe 的分子机制及其在籽粒中积累的规律,为人们培育富 Zn 或富 Fe 水稻提供理论基础;同时通过研究 ZIP 转运蛋白对 Cd 等有害金属元素的吸收和积累规律,降低根对 Cd 的吸收和籽粒中积累。虽然已有大量关于 ZIP 基因家族的研究,但除 *OsZIP3* 外,对其他成员的功能研究还不够深入。另外,对 Zn、Fe 在籽粒中的积累机制研究和自然群体中 ZIP 基因的等位变异研究也不够深入。因此,对 ZIP 转运蛋白家族的吸收、转运、分配以及对 Zn、Fe 在籽粒中的积累机制等方面仍存在较大的研究空间。

参考文献(References):

- [1] Broadley M, Brown P, Cakmak I, Rengel Z, Zhao FJ. Function of nutrients: micronutrients. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. In: Marschner P, 3rd ed. San Diego: Academic Press, 2011: 191–248. [DOI]
- [2] Swamy BPM, Rahman MA, Inabangan-Asilo MA, Amparado A, Manito C, Chadha-Mohanty P, Reinke R, Slamet-Loedin IH. Advances in breeding for high grain Zinc in rice. *Rice*, 2016, 9: 49. [DOI]
- [3] Palmgren MG, Clemens S, Williams LE, Krämer U, Borg S, Schjørring JK, Sanders D. Zinc biofortification of cereals: problems and solutions. *Trends Plant Sci*, 2008, 13(9): 464–473. [DOI]
- [4] Pinson SRM, Tarpley L, Yan WG, Yeater K, Lahner B, Yakubova E, Huang XY, Zhang M, Guerinot MY, Salt DE. Worldwide genetic diversity for mineral element concentrations in rice grain. *Crop Sci*, 2015, 55(1): 294–311. [DOI]
- [5] Sadeghzadeh B. A review of zinc nutrition and plant breeding. *J Soil Sci Plant Nutr*, 2013, 13(4): 905–927. [DOI]
- [6] Fu LC, Wang RM, Meng J, Wan JL. Effect of foliar application of zinc and iron fertilizers on distribution of zinc and iron, quality and yield of rice grain. *Sci Agric Sin*, 2010, 43(24): 5009–5018.
付力成, 王人民, 孟杰, 万吉丽. 叶面锌、铁配施对水稻产量、品质及锌铁分布的影响及其品种差异. *中国农业科学*, 2010, 43(24): 5009–5018. [DOI]
- [7] White PJ, Broadley MR. Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends Plant Sci*, 2005, 10(12): 586–593. [DOI]
- [8] Broadley MR, White PJ, Hammond JP, Zelko I, Lux A. Tansley review: zinc in plants. *New Phytol*, 2007, 173(4): 677–702. [DOI]
- [9] Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, 2001, 212(4): 475–486. [DOI]
- [10] Grotz N, Guerinot ML. Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Cell Res*, 2006, 1763(7): 595–608. [DOI]
- [11] Hall JL, Williams LE. Transition metal transporters in plants. *J Exp Bot*, 2003, 54(393): 2601–2613. [DOI]
- [12] Chanroj S, Wang GY, Venema K, Zhang MW, Delwiche CF, Sze H. Conserved and diversified gene families of monovalent cation/H⁺ antiporters from algae to flowering plants. *Front Plant Sci*, 2012, 3: 25. [DOI]
- [13] Gustin JL, Zanis MJ, Salt DE. Structure and evolution of the plant cation diffusion facilitator family of ion transporters. *BMC Evol Biol*, 2011, 11: 76. [DOI]
- [14] Nevo Y, Nelson N. The NRAMP family of metal-ion transporters. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Cell Res*, 2006, 1763(7): 609–620. [DOI]
- [15] Mäser P, Thomine S, Schroeder JI, Ward JM, Hirschi K, Sze H, Talke IN, Amtmann A, Maathuis FJM, Sanders D, Harper JF, Tchiew J, Gribskov M, Persans MW, Salt DE, Kim SA, Guerinot ML. Phylogenetic relationships within cation transporter families of Arabidopsis. *Plant Physiol*, 2001, 126(4): 1646–1667. [DOI]
- [16] Pålsson A M B. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. *Water Air Soil Poll*, 1989, 47(3–4): 287–319. [DOI]
- [17] Nishida S, Aisu A, Mizuno T. Induction of *IRT1* by the nickel-induced iron-deficient response in Arabidopsis. *Plant Signal Behav*, 2012, 7(3): 329–331. [DOI]
- [18] Guerinot ML. The ZIP family of metal transporters. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Cell Res*, 2000, 1465(1–2): 190–198. [DOI]
- [19] Chen WR, Feng Y, Chao YE. Genomic analysis and expression pattern of *OsZIP1*, *OsZIP3*, and *OsZIP4* in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different zinc efficiency. *Russ J Plant Physiol*, 2008, 55(3): 400–409. [DOI]
- [20] Tiong JW, McDonald GK, Genc Y, Peadar P, Hayes JE, Toubia J, Langridge P, Huang CY. HvZIP7 mediates zinc accumulation in barley (*Hordeum vulgare*) at moderately high zinc supply. *New Phytol*, 2014, 201(1): 131–143. [DOI]
- [21] Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, Suzuki K, Nakazono M, Kobayashi T, Wada Y, Watanabe S, Matsushashi S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. Rice plants take up iron as an Fe³⁺-phytosiderophore and as

- Fe²⁺. *Plant J*, 2006, 45(3): 335–346. [DOI]
- [22] Chen WR. Studies on the mechanism of high Zn efficiency in rice (*Oryza sativa* L.)[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
- 陈文荣. 水稻(*Oryza sativa* L.)锌高效营养生理机制研究[学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2008. [DOI]
- [23] Pu Q, Li SZ, Li P. Research progress of ZIP transporters gene family. *Biotechnol Bull*, 2012, (10): 15–19.
- 蒲琦, 李素珍, 李盼. 植物锌铁转运蛋白 ZIP 基因家族的研究进展. 生物技术通报, 2012, (10): 15–19. [DOI]
- [24] Kavitha PG, Kuruvilla S, Mathew MK. Functional characterization of a transition metal ion transporter, OsZIP6 from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiol Bioch*, 2015, 97: 165–174. [DOI]
- [25] Ishimaru Y, Suzuki M, Kobayashi T, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. OsZIP4, a novel zinc-regulated zinc transporter in rice. *J Exp Bot*, 2006, 56(422): 3207–3214. [DOI]
- [26] Ramesh SA, Shin R, Eide DJ, Schachtman DP. Differential metal selectivity and gene expression of two zinc transporters from rice. *Plant Physiol*, 2003, 133(1): 126–134. [DOI]
- [27] Yang X, Huang J, Jiang Y, Zhang HS. Cloning and functional identification of two members of the ZIP (Zrt, Irt-like protein) gene family in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Biol Rep*, 2009, 36(2): 281–287. [DOI]
- [28] Sasaki A, Yamaji N, Mitani-Ueno N, Kashino M, Ma JF. A node-localized transporter OsZIP3 is responsible for the preferential distribution of Zn to developing tissues in rice. *Plant J*, 2015, 84(2): 374–384. [DOI]
- [29] Lee S, Kim SA, Lee J, Guerinot ML, An G. Zinc Deficiency-inducible OsZIP8 encodes a plasma membrane-localized zinc transporter in rice. *Mol Cells*, 2010, 29(6): 551–558. [DOI]
- [30] Ishimaru Y, Masuda H, Suzuki M, Bashir K, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. Overexpression of the OsZIP4 zinc transporter confers disarrangement of zinc distribution in rice plants. *J Exp Bot*, 2007, 58(11): 2909–2915. [DOI]
- [31] Lee S, Jeong HJ, Kim SA, Kim SA, Lee J, Guerinot ML, An G. OsZIP5 is a plasma membrane zinc transporter in rice. *Plant Mol Biol*, 2010, 73(4–5): 507–517. [DOI]
- [32] Ishimaru Y, Kim S, Tsukamoto T, Oki H, Kobayashi T, Watanabe S, Matsuhashi S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. Mutational reconstructed ferric chelate reductase confers enhanced tolerance in rice to iron deficiency in calcareous soil. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(18): 7373–7378. [DOI]
- [33] Nakanishi H, Ogawa I, Ishimaru Y, Mori S, Nishizawa NK. Iron deficiency enhances cadmium uptake and translocation mediated by the Fe²⁺ transporters OsIRT1 and OsIRT2 in rice. *Soil Sci Plant Nutr*, 2006, 52(4): 464–469. [DOI]
- [34] Lee S, An G. Over-expression of OsIRT1 leads to increased iron and zinc accumulations in rice. *Plant Cell Environ*, 2009, 32(4): 408–416. [DOI]
- [35] Pedas P, Ytting CK, Fuglsang AT, Jahn TP, Schjoerring JK, Husted S. Manganese efficiency in barley: identification and characterization of the metal ion transporter HvIRT1. *Plant Physiol*, 2008, 148(1): 455–466. [DOI]
- [36] Korshunova YO, Eide D, Clark WG, Guerinot ML, Pakrasi HB. The IRT1 protein from Arabidopsis thaliana is a metal transporter with a broad substrate range. *Plant Mol Biol*, 1999, 40(1): 37–44. [DOI]
- [37] Vert G, Grotz N, Dédaldéchamp F, Gaymard F, Guerinot ML, Briat JF, Curie C. IRT1, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell*, 2002, 14(6): 1223–1233. [DOI]
- [38] Connolly EL, Fett JP, Guerinot ML. Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation. *Plant Cell*, 2002, 14(6): 1347–1357. [DOI]
- [39] Milner MJ, Seamon J, Craft E, Kochian LV. Transport properties of members of the ZIP family in plants and their role in Zn and Mn homeostasis. *J Exp Bot*, 2013, 64(1): 369–381. [DOI]
- [40] López-Millán AF, Ellis DR, Grusak MA. Identification and characterization of several new members of the ZIP family of metal ion transporters in *medicago truncatula*. *Plant Mol Biol*, 2004, 54(4): 583–596. [DOI]
- [41] Pedas P, Schjoerring JK, Husted S. Identification and characterization of zinc-starvation-induced ZIP transporters from barley roots. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47(5): 377–383. [DOI]
- [42] Yamaji N, Ma JF. The node, a hub for mineral nutrient distribution in graminaceous plants. *Trends Plant Sci*, 2014, 19(9): 556–563. [DOI]
- [43] Obata H, Kitagishi K. Behavior of zinc in rice. I. Longitudinal distribution pattern of zinc and manganese in the leaf with special reference to aging. *J Sci Soil Manure*, 1980: 285–291. [DOI]
- [44] Obata H, Oosawa J, Kitagishi K. Behavior of zinc in rice plants. II. Time course of Zn or Mn accumulation within individual leaves. *J Sci Soil Manure*, 1980: 292–296. [DOI]

- [45] Obata H, Kitagishi K. Behavior of zinc in rice plants. III. Investigation on pathway of Zn in vegetative node of rice plants by autoradiography. *J Sci Soil Manure*, 1980: 297–301. [DOI]
- [46] Hoshikawa BK. The Growing Rice Plant: An Anatomical Monograph. Tokyo, Japan: Nobunkyo, 1989. [DOI]
- [47] Kawahara H, Chonan N, Matsuda T. Studies on morphogenesis in rice plants: 8. The morphology of vascular bundles in the dwarf part of stem. *Proc Crop Sci Soc Jpn*, 1975, 44(1): 61–67. [DOI]
- [48] Kitagishi K, Obata H. Effects of zinc deficiency on the nitrogen metabolism of meristematic tissues of rice plants with reference to protein synthesis. *Soil Sci Plant Nutr*, 1986, 32(3): 397–405. [DOI]
- [49] Yamaguchi N, Ishikawa S, Abe T, Baba K, Arao T, Terada Y. Role of the node in controlling traffic of cadmium, zinc, and manganese in rice. *J Exp Bot*, 2012, 63(7): 2729–2737. [DOI]
- [50] Moore KL, Chen Y, van de Meene A, Hughes L, Liu WJ, Geraki T, Mosselmans F, McGrath SP, Grovenor C, Zhao FJ. Combined NanoSIMS and synchrotron X-ray fluorescence reveal distinct cellular and subcellular distribution patterns of trace elements in rice tissues. *New Phytol*, 2014, 201(1): 104–115. [DOI]
- [51] Yamaji N, Xia JX, Mitani-Ueno N, Yokosho K, Ma JF. Preferential delivery of zinc to developing tissues in rice is mediated by p-type heavy metal ATPase OsHMA2. *Plant Physiol*, 2013, 162(2): 927–939. [DOI]
- [52] Zhang FS, Römheld V, Marschner H. Effect of zinc deficiency in wheat on the release of zinc and iron mobilizing root exudates. *J Plant Nutr Soil Sci*, 1989, 152(2): 205–210. [DOI]
- [53] Kobayashi T, Yoshihara T, Jiang TB, Goto F, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK. Combined deficiency of iron and other divalent cations mitigates the symptoms of iron deficiency in tobacco plants. *Physiol Plantarum*, 2003, 119(3): 400–408. [DOI]
- [54] Liu CG, Zhou XQ, Chen DG, Li LJ, Li JC, Chen YD. Natural variation of leaf thickness and its association to yield traits in *indica* rice. *J Integr Agric*, 2014, 13(2): 316–325. [DOI]
- [55] Zhang L, He ZH. Understanding natural variations: the source of elite agronomic traits for rice breeding. *Chin Sci Bull*, 2015, 60(12): 1066–1078.
张林, 何祖华. 水稻重要农艺性状自然变异研究进展及其应用策略. *科学通报*, 2015, 60(12): 1066–1078. [DOI]
- [56] Zhao H, Yao W, Ouyang YD, Yang WN, Wang GW, Lian XM, Xing YH, Chen LL, Xie WB. RiceVarMap: a comprehensive database of rice genomic variations. *Nucleic Acids Res*, 2014, 43(D1): D1080–D1022. [DOI]

(责任编辑: 储成才)