

叶绿体铁转运蛋白的研究进展

张秀月, 印莉萍*

首都师范大学生命科学学院, 北京100048

摘要: 叶绿体起源于三十亿年前的蓝细菌。作为光合作用的场所, 高等植物的叶绿体提供了生命所需的氧气和碳水化合物。由于光合电子传递链的氧化还原作用, 叶绿体装载了大量的过渡金属铁。本文综述了叶绿体与铁的关系, 叶绿体获得铁的机制以及参与叶绿体中的铁转运相关蛋白的最新研究进展。

关键词: 叶绿体; 铁; 铁转运蛋白

铁是植物正常生理代谢所必需的微量营养元素之一(曹慧等2002), 虽然土壤中含有十分丰富的铁, 但是可供植物吸收利用的却非常低(任志雨1999)。由于在植物体内铁的含量与叶绿素的含量成正相关, 所以缺铁导致的失绿症已成为植物营养失调的关键问题之一(吴好等2013)。而叶绿素与叶绿体内蛋白的合成密切相关, 一旦发生缺铁失绿症会严重影响叶绿体的形成和发育, 由此直接导致植物果实品质和产量的下降, 进而影响人类缺铁性疾病的发生(申红芸等2011)。在世界范围内, 缺铁导致的缺铁性贫血已经影响了多达1/4的人口(An等2012)。缺铁性贫血高发于发展中国家和经济不发达地区, 尤其是儿童(特别是婴幼儿)和孕妇, 分别占其总数的50%和40%, 对人群的危害性极大(邹尧和竺晓凡2012)。在我国多次开展的营养调查中, 缺铁性贫血与膳食中铁摄入不足息息相关(黄桥梁等2006), 根本原因可以追溯到农作物的缺铁胁迫。在农作物细胞中, 铁的主要化合价形态为 Fe^{2+} (ferrous iron)和 Fe^{3+} (ferric iron)。铁通过两种价态之间的转换, 在生物体氧化还原反应中通过释放、获得电子参与各种生理活动(Raven等1999)。在叶绿体中, 铁参与光合电子传递链、叶绿素合成、Fe-S簇合成、铁血红素合成, 以及其他的代谢过程。对于光合自养生物, 叶绿体中的铁与蛋白结合是光合作用的先决条件, 然而, 铁一旦与蛋白分离变成自由离子的形式就会对叶绿体产生氧化损伤(冯建灿等2005)。所以, 在植物生长和发育过程中, 叶绿体铁转运蛋白紧密调控金属离子的转运, 并影响细胞内金属动态平衡、光合作用以及新陈代谢等过程。然而到目前为止, 人们只发现了不到十个与铁稳态相关的蛋白, 可见揭示叶绿体铁转运机制是我们面临的巨大挑战。

1 叶绿体与铁的关系

在高等植物中, 叶绿体最重要的功能是提供了所有生命活动所需的氧气和碳水化合物。作为独特而高度特化的细胞器, 叶绿体通过内共生起源于宿主细胞中的蓝细菌(Gould等2008)。叶绿体由两层被膜和内部可溶性基质以及高度特化的类囊体组成(彭浩等2008)。叶绿体代表了植物细胞中铁含量最多的细胞器, 因为植物细胞中80%~90%的铁都储存于叶片细胞(Terry和Low 1982)。而在叶片细胞中, 大约80%的铁都存在于叶绿体(Finazzi等2015)。叶绿体基质中每个铁蛋白(ferritin)可以储存约4 600个铁原子, 这大概占据了叶绿体总铁含量的80%。另外, 叶绿体中剩余20%的铁则被认为储存在类囊体膜上(Bughio等1997)。作为光合作用的元件, 铁作为辅因子几乎出现在类囊体膜上所有电子传递链的复合物中: 光合系统I (PSI)中的铁主要是Fe-S簇; 细胞色素 b_6f 中的铁主要是铁血红素; 光合系统II (PSII)中的铁主要是非血红素铁(Schmidt等2015)。假设PSII和细胞色素 b_6f 以1:1的形式存在, 那么每一个电子传递链中大概含有30个铁原子(Blaby-Haas和Merchant 2013)。

2 环境中的铁胁迫

铁对于植物的生长和作物的产量都是必要的, 人类通过饮食获得铁营养。植物从土壤中吸收铁的机制主要有两种(李俊成等2016; 吴慧兰等2007)。然而, 由于铁在大多数中性土壤中的可溶性都很低, 所以可供植物吸收利用的铁含量很低。

铁缺乏会影响叶绿素的合成导致叶片黄化,

收稿 2016-08-04 修定 2016-11-04
资助 国家自然科学基金(31672217)和北京市高等院校教学名师
奖基金。

* 通讯作者(E-mail: yinlp@cnu.edu.cn)。

并且需要光合系统的重建(Spiller和Terry 1980; Moseley等2002)。遭受铁缺乏的叶绿体会特异性损伤PSI的功能,这是由于每一个PSI单体就包含了12个铁原子。缺铁失绿的植物在重新供铁使叶绿体恢复的过程中,有两个重要的事件:(1)第一个24 h内,类囊体脂类基质和能完全行使功能的电子传递系统的合成;(2) 24~48 h期间,类囊体蛋白和叶绿素的形成。重新供给的铁一般在3 h内就可以从根部运送到叶片。

虽然铁是植物必需的微量元素,然而,一旦过量,就对植物产生毒害。这是因为过量的铁会通过芬顿反应生成羟基自由基和活性氧类(ROS)导致氧化损伤(Briat等2010; Asada 1999; Mubarakshina等2010; Halliwell和Gutteridge 1992)。如在酸性水浸土壤中,无氧条件和低pH使 Fe^{3+} 极易还原为稳定存在的、易被植物吸收的 Fe^{2+} 。 Fe^{2+} 能活化 H_2O_2 ,形成羟自由基($\cdot\text{OH}$),它们具有很强的氧化能力,能改变所有的细胞成分,导致完整性的丧失,并可能使细胞死亡。氧化性胁迫最典型的例子就是水稻叶片“呈现红褐色(leaf bronzing)”的生理病。虽然活性氧中间体(reactive oxygen intermediate, ROI)的解毒是抗氧化性胁迫防御机制的一个重要成分,但控制自由 Fe^{2+} 浓度,阻止氧化性损伤是一条重要的补充途径。具有铁贮存能力的铁蛋白(ferritin)在保护细胞以抗氧化性胁迫中起着重要的作用,其保护能力是基于ferritin能够将高毒性的 Fe^{2+} 转变成低毒性的 Fe^{3+} 并螯合在其空腔中。而且ferritin的合成已被认为是植物对氧化性胁迫的直接反应,可以通过贮存过量的自由 Fe^{2+} 而参与保护质体。植物中的ferritin是由核基因编码,由铁通过IDRS(iron dependent regulatory sequence)在转录水平调控ferritin的表达。IDRS是ferritin基因启动子区的一个顺式元件,在缺铁的条件下抑制ferritin的表达。在过铁时,叶绿体中NO(一氧化氮)迅速积累引发ferritin的去阻遏作用从而使ferritin大量表达(Ravet和Pilon 2013)。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中含有4种编码ferritin的基因(*AtFer1~4*),其中*AtFer2*特异性定位在种子质体(Petit等2001); *AtFer1*、3和4编码叶绿体定位的蛋白,叶片细胞中*AtFer1*的表达能力最强, *AtFer3*次之, *AtFer4*最弱(Reyt等2015)。种子萌发过程中, *AtFer2*编码的蛋白ferritin2

发生降解从而释放铁并促进含铁的相关蛋白的合成(Lobreaux和Briat 1991)。然而, Ravet等(2009)认为种子中的ferritin2并不是主要的铁池因为其内部的铁含量仅占种子中总铁含量的5%, ferritin2的主要功能是保护种子在萌发过程中免受氧化损伤。*AtFer1*、3和4基因敲除型(*fer1-3-4*)拟南芥在水灌溉的条件下和野生型没有明显的差别,然而,在用高浓度的铁溶液进行灌溉时, *fer1-3-4*缺陷型植株表现出明显的生长障碍,并严重影响种子的产量。因此说明叶片中ferritin的主要功能是结合自由形式的铁保护叶片细胞免受铁引发的氧化损伤。

因此,为了保持细胞内Fe的动态平衡以及植物的生长和发育,Fe进出叶绿体以及叶绿体中铁的贮存和自由铁离子的缓冲都需要被严格调控(Abadia等2011; Briat等2015)。可见揭示植物对铁信号的响应和吸收机制是非常重要的。本文旨在综述近年来报道的叶绿体中铁的转运机制。

3 叶绿体中的铁吸收机制

叶绿体铁吸收机制的研究起源于二十年前,通过分离机理II型植物大麦(*Hordeum vulgare* L. cv. Ehimehadaka no. 1)的叶绿体发现,叶绿体对 $^{59}\text{Fe}^{3+}$ 的吸收依赖光(Bughio等1997)。而叶绿体在光下对Fe的吸收又可以被DCMU(二氯苯基二甲脲; PSII的抑制剂)抑制,表明Fe的吸收依赖于类囊体中电子传递或者是ATP的形成。另一方面,在机理I型植物豌豆中发现 Fe^{2+} 转运至叶绿体中需要穿过叶绿体内膜(Shingles等2001, 2002)。同时, Fe^{2+} 的转运需要质子 H^+ 的参与,并且可以被 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 抑制。最近,从甜菜(*Betavul garis*)分离出叶绿体并对其进行Fe离子吸收实验,结果表明三价的柠檬酸铁比二价的铁更容易被叶绿体吸收(Solti等2012)。目前有证据表明叶绿体的铁吸收机制是基于一种还原机制,因为叶绿体中铁螯合物氧化还原酶(ferric chelate oxidoreductase, FRO)已经被鉴定并具有较高酶活性水平(Mikami等2011; Solti等2014)。研究者通过分离大麦的叶绿体证明FRO活性可以在光下被缺铁诱导,然而在黑暗下这种诱导被抑制(Mikami等2011)。甜菜中FRO定位于叶绿体内膜,并且与 Fe^{3+} 的还原和 Fe^{2+} 的产生有关。在拟南芥中, *AtFRO6*定位在绿色组织中,其表达具有光依赖性(Feng等2006)。 *AtFRO7*-GFP蛋白

定位于叶绿体膜,可以有效减少叶绿体中 Fe^{3+} -螯合物的含量,并在缺铁胁迫下维持植物的生存。*AtFRO7*敲除突变体(*fro7*)中每个叶绿素分子减少了约33%的铁,在分离的叶绿体中,其三价铁还原酶活性比野生型低了75%。*fro7*缺陷型植株在对照条件下并没有显示出表型上的差别,然而当生长于缺铁条件下,*fro7*缺陷型植株出现黄化特征并进一步出现死亡现象,这个表型可以通过外源添加Fe而缓解,因此揭示出了叶绿体中可能还存在有低铁亲和铁吸收系统(Jeong等2008)。但是,*AtFRO7*的表达并不受Fe调控(Mukherjee等2006)。此外,*AtFRO7*-Gus报告基因表明成熟叶片中*FRO7*的表达量很低,这说明*FRO7*可能仅在叶片发育阶段的早期行使功能。

总之,这些发现表明铁穿过叶绿体外膜时最可能是以 Fe^{3+} 的形式;然而,穿过叶绿体内膜时主要是基于还原机制将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,再通过铁转运相关蛋白吸收游离的 Fe^{2+} 。但是,目前发现的叶绿体中铁转运相关的蛋白还很少,铁的吸收机制还远远没有研究清楚。同时也不排除叶绿体中存在其他的铁吸收机制,这可能取决于植物的种类,以及叶片不同的发育阶段。因此,对叶绿体铁转运蛋白更详细的研究如蛋白结构、组织表达模式、细胞定位和金属转运能力检测,对揭示叶绿体中铁吸收机制尤为重要。

4 叶绿体中的铁转运蛋白

由于内共生起源,叶绿体被两层被膜所包围,与其祖先革兰氏阴性菌类似(李靖炎1978)。在叶绿体内被膜上的转运蛋白主要源于真核宿主细胞,只有少数蛋白起源于原核(Tyra等2007; Fischer 2011)。相反,叶绿体外被膜大部分起源于或者仍然是革兰氏阴性共生蓝藻的外被膜(Block等2007)。在叶绿体内被膜,铁转运体大都是疏水的 α -螺旋型的膜蛋白,它们参与叶绿体同细胞质的离子和代谢物的交换。而叶绿体外膜上的通道都主要以 β -桶状结构存在,并且对于金属离子的吸收不具有选择性(Duy等2007a; Zeth和Thein 2010; Gutierrez-Carbonell等2014)。蛋白质组学表明拟南芥中约有12%核编码的蛋白可以进入叶绿体,这是因为它们N末端都有一段可以预测的叶绿体转运肽。然而生物信息学分析表明叶绿体转运肽并没有保守的氨基酸特征序列(Abdallah等2000)。到目前为止,国内外仅报道了6种与叶绿体中铁稳态有关的蛋白(图1)。

拟南芥中透性酶PIC1 (permease in chloroplasts 1)是从金属转运蛋白的筛选文库中鉴定出来的,它是第一个被鉴定出参与叶绿体铁转运的蛋白(Duy等2007b)。*PIC1*的转录并不受铁调控,说明*PIC1*是拟南芥中的一个组成型表达的蛋白。这个膜蛋白包含4个跨膜的 α 螺旋,具有叶绿体转运肽,并定位于叶绿体内膜。通过异源互补实验, *AtPIC1*

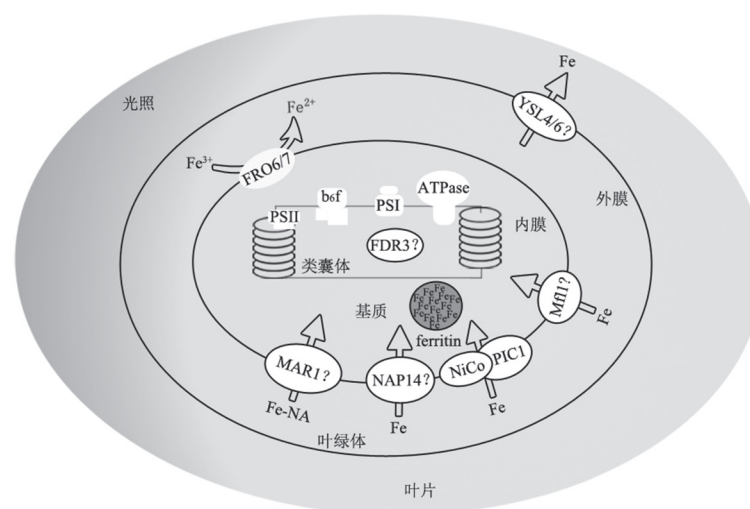


图1 叶绿体中与铁稳态有关的蛋白

Fig.1 Proteins and their possible functions in plastid iron homeostasis

参考Finazzi等(2015)和López-Millán等(2016)文献并修改。

互补了Fe吸收缺陷型酵母菌株*fet3fet4*的生长并且增加了其胞内的铁含量,这说明AtPIC1可以转运铁。此外,相比于野生型,AtPIC1过表达植物的叶绿体中增加了2.5倍的铁(Duy等2011)。AtPIC1敲除(*pic1*)缺陷型植株中*Fer1/4*上调表达,表现出矮小、白化等具代表性的缺铁表型。此外,*pic1*缺陷型植株呈现出混乱的叶肉组织发育和严重的叶绿体结构的损伤(Duy等2007b)。最近,烟草(*Nicotiana tabacum*)中NtPIC1敲除和过表达植株表现出和拟南芥AtPIC1相似的表型,又进一步确认了叶绿体中PIC1参与铁转运(Gong等2015a)。除此之外, NtPIC1还可以限制植物对重金属镉(Cd)的吸收,这与已经报道的植物根细胞的金属转运体不同,因为NtPIC1虽然能够转运Fe使铁含量升高,然而与此同时, NtPIC1过表达使转运Cd的相关基因如NtFRO1、NtIRT1以及NtZIP1下调表达,从而通过降低Cd的吸收来增强植株抗Cd胁迫的能力(Gong等2015b)。研究表明, AtPIC1还与假定的金属转运蛋白NiCo (Ni^{2+} - Co^{2+} 转运家族; Eitinger等2005)在叶绿体内膜上互作,一个可能的分子机制是NICO蛋白包含一个特异的金属结合结构域,这个结构域参与AtNICO结合铁以及后来将铁转移给AtPIC1的过程(Eitinger等2005)。然而,为了研究更详细的分子机制,仍然需要更多直接的金属转运的功能检测。总之,通过酵母功能互补实验, PIC1敲除或过表达转基因植株的研究,证明PIC1参与叶绿体铁的吸收以及植物体中铁的动态平衡。

拟南芥多重抗生素耐药性1/铁调控3 (multiple antibiotic resistance 1/iron regulated 3, AtMAR1/IREG3) 蛋白具有叶绿体转运肽,定位于叶绿体。一方面,在铁缺乏条件下,AtMAR1/IREG3下调表达,AtMAR1/IREG3过表达植物的叶片出现黄化特征,这个表型可以通过外源添加Fe恢复。另一方面, AtMAR1/IREG3可能参与氨基糖苷类抗生素的转运并且也同样调控细胞内铁的动态平衡(Conte等2009; Conte和Lloyd 2010)。氨基糖苷类可以通过多胺向内转运系统进入真核细胞(Bambeke等2000)。作为植物体中天然的Fe螯合剂,烟酰胺(nicotinamide, NA)就是一种多胺(Curie等2009)。这表明AtMAR1/IREG3可能通过参与转运NA或者Fe-NA复合物进入叶绿体来调控胞内铁含量(Conte等2009; Conte和Lloyd

2010)。所以说AtMAR1/IREG3可能参与铁螯合、贮存及封存(Conte等2009)。

通过生物信息学的方法对蓝藻铁转运基因进行分析,揭示出了一个非内在ABC转运蛋白(non-intrinsic ABC protein 14, NAP14)。拟南芥中存在NAP14的同源基因AtNAP14, AtNAP14定位于叶绿体,它编码ABC转运蛋白的一个非质膜定位的核苷酸结合结构域亚基。通过GFP标签定位观察表明这个基因定位于叶绿体基质,但生物信息学分析表明这个蛋白定位于叶绿体内膜(Ferro等2010),这可能是由于NAP14可以依附于叶绿体内膜上的一个蛋白元件(Shimoni-Shor等2010)。NAP14的转录水平不受铁含量调控,然而NAP14敲除(*nap14*)突变体幼苗中的FRO7、PIC1、Fer3/4的转录水平受到显著抑制。*nap14*缺陷型植株中Fe的含量比野生型增加了18倍,然而在根中却低了将近50%。此外,*nap14*缺陷型植株叶绿体结构遭到破坏,呈现出严重的生长缺陷及强烈的黄化现象(Shimoni-Shor等2010)。基于这些发现, NAP14不是可以单独调节铁的动态平衡就是作为叶绿体Fe-ABC转运体复合物的一部分发挥功能。

另一个促进铁转入叶绿体中的贡献者就是类线粒体铁蛋白Mfl1 (mitoferrinlike1)。Mfl1已经在不同植物叶绿体膜基因组中被发现(Ferro等2010),并且含有叶绿体转运肽。拟南芥中AtMfl1主要定位于莲座叶中,在铁过量时上调表达(Tarantino等2011)。在加铁条件下, AtMfl1敲除(*mfl1*)突变体中*Fer1*下调表达,突变体幼苗和叶片中的铁含量均比野生型低。这表明Mfl1可能是一个叶绿体铁转运蛋白。虽然如此, *mfl1*缺陷型植株能够生长和繁殖,表明AtMfl1的功能是冗余的或者它在铁过量时发挥特别的功能。

在玉米(*Zea mays*)中, Yin等(2000)通过差异筛选鉴定出了一个铁缺乏诱导基因ZmFDR3 (Fe deficiency-related3)。由于ZmFDR3不包含预测的膜结构域,所以预测其更可能定位于类囊体腔中。酵母互补实验表明ZmFDR3可以转运Fe (Han等2009)。由于这种基因至今还没有在任何机理I型植物中发现,所以烟草被用来研究ZmFDR3的功能。在转基因烟草中,免疫组化的荧光分析表明过表达ZmFDR3后蛋白主要存在于根、茎、叶的质体,尤其是

保卫细胞的叶绿体中。并且, *ZmFDR3*过表达使转基因烟草种子中的铁含量增加、光合作用增强。因此说明*ZmFDR3*参与叶绿体中铁的动态平衡。

拟南芥枯黄条纹病(Yellow stripe like, YSL)家族中的转运体AtYSL4和AtYSL6可能是两个潜在的质体铁外流转运蛋白(Divol等2013)。*AtYSL4*和*AtYSL6*的mRNA和蛋白在过铁时都上调表达。*AtYSL4/6*敲除(*ysl4ysl6*)突变体中ferritin1在过铁时大量积累。通过免疫杂交, 免疫荧光分析发现AtYSL6定位于叶绿体膜(Divol等2013)。然而, 由于AtYSL4和AtYSL6都不存在叶绿体转运肽, AtYSL6整合至内膜还是外膜仍然没有研究清楚。单个或者双个基因敲除植株叶绿体中铁大量积累, 然而*AtYSL4*和*AtYSL6*的过表达又导致其对缺铁具有敏感性, 同时叶绿体中铁含量的下降(Divol等2013)。因此, AtYSL4和AtYSL6被定义为叶绿体铁外流转运蛋白。

4 结语

在过去十年对模式植物拟南芥的研究中, 发现了若干个与叶绿体铁稳态有关的蛋白(表1)。通过基因敲除和基因过表达的方法, 对叶绿体铁转运蛋白的功能及其对植株生理学的影响获得了较为深入的描述。然而, 一方面, 目前的研究主要集中于拟南芥, 烟草等双子叶植物。基于单子叶和双子叶植物根中铁吸收机制的不同(Brumbarova等

2015), 两种植物的叶绿体对于铁的吸收机制是否也不同? 所以进一步的研究需要在单子叶植物中筛选鉴定叶绿体中的铁转运蛋白, 进而全面的分析两种类型植物叶绿体中铁吸收机制的异同。另一方面, 对于叶绿体铁转运蛋白的亚细胞器定位还没有研究清楚。因此, 可能需要使用如GFP定位观察, 免疫杂交定位等实验技术确定基因亚细胞的定位。也可以通过密度梯度离心技术分离出叶绿体的亚细胞器蛋白, 然后进行Western杂交分析以确定蛋白亚细胞器的精确定位。最近人们将类囊体上的通道蛋白(如Cl⁻、H⁺、K⁺、Cu²⁺)镶嵌在人工脂质体上, 进行电生理学分析, 为铁的内流或外流转运体的研究开辟了新的思路。最后, 我们也不能忽略生物信息学分析和组学的分析。生物信息学分析网站或软件都能比较准确的预测蛋白的叶绿体导肽, 蛋白的跨膜结构及与金属吸收有关的位点。如通过对叶绿体序列分析为杨属树种的起源与系统进化关系提供了分子水平的证据(员涛等2015)。组学的分析包括离子组学、基因组学、转录组学、甲基化组学和蛋白组学等。如通过比较绿藻(*Micromonas pusilla*, CCMP1545)和叶绿体的基因组学发现, CCMP1545中肽聚糖合成基因在进化的过程中被大多数植物和水藻选择性的保留下来(van Baren等2016); 绿藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)转录组学分析揭示出不同细胞器中基

表1 叶绿体中与铁稳态有关的蛋白
Fig.1 Summary of putative protein involved in iron homeostasis in chloroplasts

蛋白	基因号	铁信号调控与蛋白表达	功能	定位(是否有叶绿体转运肽)
AtFRO7	At5g49740	无影响	Fe ³⁺ 的氧化还原过程	叶绿体膜(有)
AtPIC1	At2g15290	无影响	铁吸收	叶绿体内膜(有)
NtPIC1	KF640606	未知	铁吸收	叶绿体膜(有)
AtNiCo	At2g16800	未知	与PIC1互作, 结合/吸收铁	叶绿体膜(有)
AtYSL4	At5g41000	过铁上调	铁外流	叶绿体(无)
AtYSL6	At3g27020	过铁上调	铁外流	叶绿体膜(无)
AtMAR1/IREG3	At5g26820	缺铁下调	烟酸或铁/烟酸复合物的吸收	叶绿体膜(有)
AtNAP14	At5g14100	无影响	金属动态平衡	叶绿体基质(有)
AtMifl	At5g42130	过铁上调	铁吸收	不详(有)
ZmFDR3	NP_001105000	未知	铁吸收	类囊体(无)
AtFER1	At5g01600	过铁上调	铁贮存, 避免氧化损伤	叶绿体基质(有)
AtFER2	At3g11050	过铁上调	铁贮存, 避免氧化损伤	叶绿体基质(有)
AtFER3	At3g56090	过铁上调	铁贮存, 避免氧化损伤	叶绿体基质(有)
AtFER4	At2g40300	过铁上调	金属动态平衡	叶绿体基质(有)

参考López-Millán等(2016)文献并做修改。

因在光照和黑暗条件下具有不同表达模式(Zones等2015); 并发现在过氧化氢(H_2O_2)的压力下, 与ROS清除、蛋白降解以及压力响应相关的蛋白大大积累, 而参与光合作用和中心碳代谢的蛋白则急剧减少(Blaby等2015); 绿藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)甲基化组学分析鉴定出了3个DNA转甲基酶在绿藻不同生活周期的差别性表达(Lopez等2015)。番茄(*Solanum lycopersicum*)蛋白质组学分析表明番茄果实中保留了与光合作用有关的蛋白, 然而此时类囊体则不复存在(Suzuki等2015), 烟草蛋白质组学分析表明叶片衰老过程中与光合作用相关蛋白多下调表达, 而逆境反应及呼吸作用相关蛋白多上调表达(张柳等2014)。这些研究为我们探索叶绿体的铁转运机制提供了大量的参考。所以说通过叶绿体的组学分析不仅可以筛选出大量与铁转运和铁稳态相关的候选蛋白, 而且可以完善叶绿体铁吸收机制和铁稳态的信息通路。

参考文献

- Abadía J, Vázquez S, Rellán-Álvarez R, El-Jendoubi H, Abadía A, Álvarez-Fernández A, López-Millán AF (2011). Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. *Plant Physiol Biochem*, 49 (5): 471–482
- Abdallah F, Salamini F, Leister D (2000). A prediction of the size and evolutionary origin of the proteome of chloroplasts of *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci*, 5 (4): 141–142
- An P, Wu Q, Wang H, Guan Y, Mu M, Liao Y, Zhou D, Song P, Wang C, Meng L, et al (2012). TMRSS6, but not TF, TFR2 or BMP2 variants are associated with increased risk of iron-deficiency anemia. *Hum Mol Genet*, 21 (9): 2124–2131
- Asada K (1999). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 50: 601–639
- Bambeke FV, Balzi E, Tulkens PM (2000). Antibiotic efflux pumps. *Biochem Pharmacol*, 60 (4): 457–470
- Blaby IK, Blaby-Haas CE, Pérez-Pérez ME, Schmollinger S, Fitz-Gibbon S, Lemaire SD, Merchant SS (2015). Genome-wide analysis on *Chlamydomonas reinhardtii* reveals the impact of hydrogen peroxide on protein stress responses and overlap with other stress transcriptomes. *Plant J*, 84 (5): 974–988
- Blaby-Haas EC, Merchant SS (2013). Sparing and salvaging metals in chloroplasts. In: Culotta V, Scott RA (eds). *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*. Chichester: John Wiley & Sons, 51–62
- Block MA, Douce R, Joyard J, Rolland N (2007). Chloroplast envelope membranes: a dynamic interface between plastids and the cytosol. *Photosynth Res*, 92 (2): 225–244
- Briat JF, Dubos C, Gaymard F (2015). Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends Plant Sci*, 20 (1), 33–40
- Briat JF, Ravet K, Arnaud N, Duc C, Boucherez J, Touraine B, Cellier F, Gaymard F (2010). New insights into ferritin synthesis and function highlight a link between iron homeostasis and oxidative stress in plants. *Ann Bot*, 105 (5): 811–822
- Brumbarova T, Bauer P, Ivanov R (2015). Molecular mechanisms governing *Arabidopsis* iron uptake. *Trends Plant Sci*, 20 (2): 124–133
- Bughio N, Takahashi M, Yoshimura E, Nishizawa NK, Mori S (1997). Light-dependent iron transport into isolated barley chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 38 (1): 101–105
- Cao H, Han ZH, Xu XF, Zhang Y (2002). Iron nutrition in higher plants. *Plant Physiol Commun*, 38 (2): 180–186 (in Chinese) [曹慧, 韩振海, 许雪峰, 张勇(2002). 高等植物的铁营养. 植物生理学通讯, 38 (2): 180–186]
- Conte S, Stevenson D, Furner I, Lloyd A (2009). Multiple antibiotic resistance in *Arabidopsis* is conferred by mutations in a chloroplast-localized transport protein. *Plant Physiol*, 151 (2): 559–573
- Conte SS, Lloyd AM (2010). The MAR1 transporter is an opportunistic entry point for antibiotics. *Plant Signal Behav*, 5 (1): 49–52
- Curie C, Cassin G, Couch D, Divol F, Higuchi K, Jean ML, Misson J, Schikora A, Czernic P, Mari S (2009). Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Ann Bot*, 103 (1): 1–11
- Divol F, Couch D, Conéjéro G, Roschztardtz H, Mari S, Curie C (2013). The *Arabidopsis* YELLOW STRIPE LIKE4 and 6 transporters control iron release from the chloroplast. *Plant Cell*, 25 (3): 1040–1055
- Duy D, Soll J, Philippar K (2007a). Solute channels of the outer membrane: from bacteria to chloroplasts. *Biol Chem*, 388 (9): 879–889
- Duy D, Stübe R, Wanner G, Philippar K (2011). The chloroplast permease PIC1 regulates plant growth and development by directing homeostasis and transport of iron. *Plant Physiol*, 155 (4): 1709–1722
- Duy D, Wanner G, Meda AR, Wirén NV, Soll J, Philippar K (2007b). PIC1, an ancient permease in *Arabidopsis* chloroplasts, mediates iron transport. *Plant Cell*, 19 (3): 986–1006
- Eitinger T, Suhr J, Moore L, Smith JA (2005). Secondary transporters for nickel and cobalt ions: theme and variations. *Biomaterials*, 18 (4): 399–405
- Feng H, An F, Zhang S, Ji Z, Ling HQ, Zuo J (2006). Light-regulated, tissue-specific, and cell differentiation-specific expression of the *Arabidopsis* Fe (III)-chelate reductase gene *AtFRO6*. *Plant Physiol*, 140 (4): 1345–1354
- Feng JC, Mao XJ, Hu XL (2005). Formation, functions and prevention of reactive oxygen in chloroplasts under photo-oxidative stress. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 25 (7): 1487–1498 (in Chinese with English abstract) [冯建灿, 毛训甲, 胡秀丽(2005). 光氧化胁迫条件下叶绿体中活性氧的产生、清除及防御. 西北植物学报, 25 (7): 1487–1498]
- Ferro M, Brugiére S, Salvi D, Seigneurin-Berny D, Court M, Moyet L, Ramus C, Miras S, Mellal M, Gall SL, et al (2010). AT_CHLORO, a comprehensive chloroplast proteome database with

- subplastidial localization and curated information on envelope proteins. *Mol Cell Proteomics*, 9 (6): 1063–1084
- Finazzi G, Petroutsos D, Tomizioli M, Flori S, Sautron E, Villanova V, Rolland N, Seigneurin-Berny D (2015). Ions channels/transporters and chloroplast regulation. *Cell Calcium*, 58 (1): 86–97
- Fischer K (2011). The import and export business in plastids: transport processes across the inner envelope membrane. *Plant Physiol*, 155 (4): 1511–1519
- Gong X, Guo C, Terachi T, Cai H, Yu D (2015a). Tobacco PIC1 mediates iron transport and regulates chloroplast development. *Plant Mol Biol Rep*, 33 (3): 401–413
- Gong X, Yin L, Chen J, Guo C (2015b). Overexpression of the iron transporter *NtPIC1* in tobacco mediates tolerance to cadmium. *Plant Cell Rep*, 34 (11): 1963–1973
- Gould SB, Waller RF, Mcfadden GI (2008). Plastid evolution. *Annu Rev Plant Biol*, 59 (1): 491–517
- Gutierrez-Carbonell E, Takahashi D, Lattanzio G, Rodríguez-Celma J, Kehr J, Soll J, Philippa K, Uemura M, Abadía J, López-Millán AF (2014). The distinct functional roles of the inner and outer chloroplast envelope of pea (*Pisum sativum*) as revealed by proteomic approaches. *J Proteome Res*, 13 (6): 2941–2953
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1992). Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation an update. *FEBS Lett*, 307 (1): 108–112
- Han J, Song X, Li P, Yang H, Yin L (2009). Maize ZmFDR3 localized in chloroplasts is involved in iron transport. *Sci China*, 52 (9): 864–871
- Huang QL, Hu XS, Yuan BJ (2006). Research progress in iron-deficiency anemia. *Chin J Publ Heal*, 22 (11): 1406–1407 (in Chinese) [黄桥梁, 胡晓抒, 袁宝君(2006). 缺铁性贫血研究进展. 中国公共卫生, 22 (11): 1406–1407]
- Jeong J, Cohu C, Kerkeb L, Pilon M, Connolly EL, Guerinot ML (2008). Chloroplast Fe (III) chelate reductase activity is essential for seedling viability under iron limiting conditions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105 (30): 10619–10624
- Li JC, Yu H, Yang SX, Feng XZ (2016). Research progress of molecular regulation of iron uptake in plants. *Plant Physiol J*, 52 (6): 835–842 (in Chinese with English abstract) [李俊成, 于慧, 杨素欣, 冯献忠(2016). 植物对铁元素吸收的分子调控机制研究进展. 植物生理学报, 52 (6): 835–842]
- Li JY (1978). Endosymbiosis hypothesis of the chloroplast and mitochondria. *Chin J Nat*, 1 (3): 192–199 (in Chinese with English abstract) [李靖炎(1978). 叶绿体和线粒体的内共生起源学说. 自然杂志, 1 (3): 192–199]
- Lobreaux S, Briat JF (1991). Ferritin accumulation and degradation in different organs of pea (*Pisum sativum*) during development. *Biochem J*, 274 (2): 601–606
- Lopez D, Hamaji T, Kropat J, Hoff PD, Morselli M, Rubbi L, Fitz-Gibbon S, Gallaher SD, Merchant SS, Umen J, et al (2015). Dynamic changes in the transcriptome and methylome of *Chlamydomonas reinhardtii* throughout its life cycle. *Plant Physiol*, 169 (4): 2730–2743
- López-Millán AF, Duy D, Philippa K (2016). Chloroplast iron transport proteins—function and impact on plant physiology. *Front Plant Sci*, 7: 178
- Mikami Y, Saito A, Miwa E, Higuchi K (2011). Allocation of Fe and ferric chelate reductase activities in mesophyll cells of barley and sorghum under Fe-deficient conditions. *Plant Physiol Biochem*, 49 (5): 513–519
- Moseley JL, Allinger T, Herzog S, Hoerth P, Wehinger E, Merchant S, Hippler M (2002). Adaptation to Fe-deficiency requires remodeling of the photosynthetic apparatus. *EMBO J*, 21 (24): 6709–6720
- Mubarakshina MM, Ivanov BN, Naydov IA, Hillier W, Badger MR, Krieger-Liszkay A (2010). Production and diffusion of chloroplastic H₂O₂ and its implication to signaling. *J Exp Bot*, 61 (13): 3577–3587
- Mukherjee I, Campbell NH, Ash JS, Connolly E (2006). Expression profiling of the *Arabidopsis* ferric chelate reductase (FRO) gene family reveals differential regulation by iron and copper. *Planta*, 223 (6): 1178–1190
- Peng H, Lin WF, Zhu XY (2008). Research progress in chloroplast proteome. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 28 (1): 194–203 (in Chinese with English abstract) [彭浩, 林文芳, 朱学艺(2008). 叶绿体蛋白质组研究进展. 西北植物学报, 28 (1): 194–203]
- Petit JM, Briat JF, Lobréaux S (2001). Structure and differential expression of the four members of the *Arabidopsis thaliana* ferritin gene family. *Biochem J*, 359: 575–582
- Raven JA, Evans MCW, Korb RE (1999). The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms. *Photosynth Res*, 60 (2): 111–149
- Ravet K, Pilon M (2013). Copper and iron homeostasis in plants: the challenges of oxidative stress. *Antioxid Redox Sign*, 19 (9): 919–932
- Ravet K, Touraine B, Boucherez J, Briat JF, Gaymard F, Cellier F (2009). Ferritins control interaction between iron homeostasis and oxidative stress in *Arabidopsis*. *Plant J*, 57 (3): 400–412
- Ren ZY (1999). Advances in plant iron nutrition and iron nutrition efficiency. *J Zhangjiakou Agric Coll*, 15 (2): 47–49 (in Chinese) [任志雨(1999). 植物铁营养与铁营养效率的研究进展. 张家口农学报, 15 (2): 47–49]
- Reyt G, Boudouf S, Boucherez J, Gaymard F, Briat JF (2015). Iron- and Ferritin-dependent reactive oxygen species distribution: impact on *Arabidopsis*, root system architecture. *Mol Plant*, 8 (3): 439–453
- Schmidt SB, Persson DP, Powikrowska M, Frydenvang J, Schjoerring JK, Jensen PE, Husted S (2015). Metal binding in photosystem II super- and subcomplexes from barley thylakoids. *Plant Physiol*, 168 (4): 1490–1502
- Shen HY, Xiong HC, Guo XT, Zuo YM (2011). Progress of molecular and physiological mechanism of iron uptake and translocation in plants. *Plant Nutr Fert Sci*, 17 (6): 1522–1530 (in Chinese with English abstract) [申红芸, 熊宏春, 郭笑彤, 左元梅(2011). 植物吸收和转运铁的分子生理机制研究进展. 植物营养与肥料学报, 17 (6): 1522–1530]
- Shimoni-Shor E, Hassidim M, Yuval-Naeh N, Keren N (2010). Disruption of Nap14, a plastid-localized non-intrinsic ABC protein in *Arabidopsis thaliana*, results in the over-accumulation of tran-

- sition metals and in aberrant chloroplast structures. *Plant Cell Environ*, 33 (6): 1029–1038
- Shingles R, North M, Mccarty RE (2001). Direct measurement of ferrous ion transport across membranes using a sensitive fluorometric assay. *Anal Biochem*, 296 (1): 106–113
- Shingles R, North M, Mccarty RE (2002). Ferrous ion transport across chloroplast inner envelope membranes. *Plant Physiol*, 128 (3): 1022–1030
- Solti Á, Kovács K, Basa B, Vértés A, Sárvári E, Fodor F (2012). Uptake and incorporation of iron in sugar beet chloroplasts. *Plant Physiol Biochem*, 52 (12): 91–97
- Solti Á, Müller B, Czech V, Sarvari E, Fodor F (2014). Functional characterization of the chloroplast ferric chelate oxidoreductase enzyme. *New Phytol*, 202 (3): 920–928
- Spiller S, Terry N (1980). Limiting factors in photosynthesis II. Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. *Plant Physiol*, 65 (1): 121–125
- Suzuki M, Takahashi S, Kondo T, Dohra H, Ito Y, Kiriiwa Y, Hayashi M, Kamiya S, Kato M, Fujiwara M, et al (2015). Plastid proteomic analysis in tomato fruit development. *PLoS One*, 10 (9): e0137266
- Tarantino D, Morandini P, Ramirez L, Soave C, Murgia I (2011). Identification of an *Arabidopsis*, mitoferrinlike carrier protein involved in Fe metabolism. *Plant Physiol Biochem*, 49 (5): 520–529
- Terry N, Low G (1982). Leaf chlorophyll content and its relation to the intracellular localization of iron. *J Plant Nutr*, 5 (4-7): 301–310
- Tyra HM, Linka M, Weber APM, Bhattacharya D (2007). Host origin of plastid solute transporters in the first photosynthetic eukaryotes. *Genome Biol*, 8 (10): R212
- van Baren MJ, Bachy C, Reistetter EN, Purvine SO, Grimwood J, Sudek S, Yu H, Poirier C, Deerinck TJ, Kuo A, et al (2016). Evidence-based green algal genomics reveals marine diversity and ancestral characteristics of land plants. *BMC Genomics*, 17: 267
- Wu HL, Wang N, Ling HQ (2007). Uptake, translocation and regulation of iron in plants. *Chin Bull Bot*, 24 (6): 779–788 (in Chinese with English abstract) [吴慧兰, 王宁, 凌宏清(2007). 植物铁吸收、转运和调控的分子机制研究进展. 植物学通报, 24 (6): 779–788]
- Wu Y, Yu WY, Li YS (2013). Effects of iron deficiency stress on photosynthetic characteristics and organelle iron content of strawberry seedlings. *Plant Nutr Fert Sci*, 19 (4): 918–925 (in Chinese with English abstract) [吴好, 禹文雅, 李奕松(2013). 缺铁胁迫对草莓幼苗光合特性及细胞器铁含量的影响. 植物营养与肥料学报, 19 (4): 918–925]
- Yin L, Qi X, Liu X, Huo C, Bai Y, Qiu Z, Zhang F (2000). Construction of cDNA library from iron-deficiency induced maize roots and screening and identification of iron-stress gene *Fdr3*. *Chin Sci Bull*, 45 (12): 1127–1131
- Yuan T, Li JM, Zhou AP, Yan LX, Zong D, Li D, He CZ (2015). Analysis of phylogenetic relationship of *Populus* based on sequence data of chloroplast regions. *Plant Physiol J*, 51 (8): 1339–1346 (in Chinese with English abstract) [员涛, 李佳蔓, 周安佩, 颜璐茜, 纵丹, 李旦, 何承忠(2015). 基于叶绿体片段序列的杨属系统发育关系分析. 植物生理学报, 51 (8): 1339–1346]
- Zeth K, Thein M (2010). Porins in prokaryotes and eukaryotes: Common themes and variations. *Biochem J*, 431 (1): 13–22
- Zhang L, Wang Z, Zhang YJ, Lin C, Chen YP, Li JY, Mao ZC (2014). Proteomic analysis of senescing leaf of tobacco. *Plant Physiol J*, 50 (4): 488–500 (in Chinese with English abstract) [张柳, 王铮, 张亚婕, 林春, 陈严平, 李军营, 毛自朝(2014). 烟草叶片衰老期过程中的蛋白质组学分析. 植物生理学报, 50 (4): 488–500]
- Zones JM, Blaby IK, Merchant SS, Umen JG (2015). High-resolution profiling of a synchronized diurnal transcriptome from *Chlamydomonas reinhardtii* reveals continuous cell and metabolic differentiation. *Plant Cell*, 27 (10): 2743–2769
- Zou Y, Zhu XF (2010). Iron-deficiency anemia. *Chin J Pract Pediatr*, 25 (2): 158–160 (in Chinese) [邹尧, 竺晓凡(2010). 缺铁性贫血. 中国实用儿科杂志, 25 (2): 158–160]

Research progress in chloroplast iron transport proteins

ZHANG Xiu-Yue, YIN Li-Ping*

College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100048, China

Abstract: Chloroplasts originated from cyanobacteria three billion years ago. Chloroplasts, as the site for photosynthesis, supply oxygen and carbohydrate for all life. Chloroplasts are loaded with numerous transition metals iron (Fe) due to Fe is required for redox reactions of photosynthetic electron transport chains. In this review, we present an overview of the relationship between chloroplast and Fe, chloroplast Fe acquisition mechanisms, and several chloroplast Fe transport proteins known so far.

Key words: chloroplast; iron transport protein; chloroplast development

Received 2016-08-14 Accepted 2016-11-04

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31672217) and the Beijing Municipal Outstanding Teacher Award.

*Corresponding author (E-mail: yinlp@cnu.edu.cn).