



植物硝酸根/多肽转运蛋白NPF家族功能研究进展

袁青云, 贺巍, 苏会, 班秋艳, 徐文静, 张芬*

河南农业大学园艺学院, 郑州450002

*通信作者(zhangfen2008.cool@163.com)

摘要: 硝酸根转运蛋白1/多肽转运蛋白(NRT1/PTR, NPF)在植物中主要负责 NO_3^- 和多肽的转运。目前, NPF在拟南芥等物种中被鉴定为低亲和性硝酸根转运蛋白家族, 近几年的研究表明NPF家族成员庞大、功能复杂多样; 在具有离子转运功能的同时, 还可转运植物激素、调控植物的生长发育以及参与植物响应生物和非生物胁迫等。本文结合最近的研究报道, 总结了NPF的来源、分类及功能特性, 为进一步研究植物NPF家族在植物生长中的作用提供理论参考。

关键词: NPF家族蛋白; 硝酸根转运; 植物激素; 逆境胁迫

Research progress in nitrate/peptide transporter NPF family in plants

YUAN Qingyun, HE Wei, SU Hui, BAN Qiuyan, XU Wenjing, ZHANG Fen*

College of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

*Corresponding author (zhangfen2008.cool@163.com)

Abstract: Nitrate transporter protein 1/peptide transporter (NRT1/PTR, NPF) is mainly responsible for nitrate and peptide transport in plants. In *Arabidopsis*, the NPF has been identified as a low-affinity nitrate transporter family. Recent studies indicated that, the NPF family has complex and diverse functions for transporting ions and hormones, regulating plant growth and development and responding to biotic and abiotic stresses. In this paper, the origin, classification, and functional characteristics of NPF in plants were summarized according to the latest research reports. This would provide theoretical reference for further research on the role of NPF family in plant growth regulation.

Key words: NPF family protein; nitrate transport; plant hormones; stresses

氮被称为“生命元素”, 是植物生长所必需的大量元素之一, 也是限制农业生产力的关键因素。硝酸根(NO_3^-)作为土壤中无机氮源的主要组成成分, 在影响植物营养生长和代谢的同时, 也可以作为信号物质调控植物的生长发育, 如打破种子休眠、诱导叶片生长、调控侧根发育(Lorenz和Heitman 1998)和诱导相关基因的表达等(Alboresi等2005; Walch-Liuz等2000)。植物在 NO_3^- 吸收的过程需要消耗能量, 为了获取氮素营养更好的适应环境, 进化出了不同种类的 NO_3^- 转运系统。根据对 NO_3^- 亲和力的高低分为高亲和力 NO_3^- 转运系统(high-affinity tran-

sport system, HATS)和低亲和力 NO_3^- 转运系统(low-affinity transport system, LATS) (Forde 2000)。

NO_3^- 转运蛋白(nitrate transporter protein, NRT)在植物对 NO_3^- 的吸收和转运过程中发挥重要作用。目前, 已鉴定 NO_3^- 转运蛋白家族主要分4种: NO_3^- 转运蛋白1/多肽转运蛋白(nitrate transporter protein 1/peptide transporter, NPF)家族、 NO_3^- 转运蛋白2家族

收稿 2022-02-28 修定 2022-05-09

资助 河南农业大学科技创新基金(KJCX2020A16)和河南省科技攻关项目(212102110408)。

(nitrate transporter protein 2 family, NRT2)、氯离子通道蛋白(chloride channel, CLC)和阴离子通道相关同源物(slow anion channel-associated homologues, SLAC/SLAH) (Krapp等2014)。其中NRT2、CLC以及SLAC/SLAH家族成员功能较为明确, 分别为HATS转运蛋白及 $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-/\text{H}^+$ 等相关离子交换转运蛋白(Krapp等2014; Orsel等2002; Wang等2019)。而NPF家族成员大部分为低亲和性的 NO_3^- 转运体, 个别是双亲和性 NO_3^- 转运体(Fang等2021), 且其成员众多, 可能存在功能冗余和重复叠加等现象。研究发现NPF家族可以转运多种底物, 功能复杂, 参与了植物氮素营养吸收和转运过程(Krapp等2015), 还可通过转运植物激素调控植物的生长发育(Krook 2010a; Tal等2016; Shimizu等2021), 部分成员具有调控植物的应激反应和抵抗外界胁迫等作用(Taochy等2015; Tang等2017)。因此, NPF的应用可有效提高植物的氮素利用率, 改善植物的生长状态, 提高作物的产量和经济效益, 具有较高的研究价值。本文总结了NPF的来源、分类及功能特性的研究进展, 并对NPF的应用前景进行了展望, 为进一步了解NPF在植物的生长发育过程中所发挥的作用提供理论参考。

1 NPF转运蛋白的来源和分类

NPF首先是在动物中以多肽转运蛋白SLC15/PepT/PTR/POT的形式被发现(Léran等2014), 之后在植物组织中发现了与此家族相似的蛋白质序列。植物NPF家族蛋白序列与其他物种如细菌、真菌和动物等存在同源性(Fei等1994; Daniel 2004), 但是植物NPF家族的转运底物种类比其他物种更丰富(Léran等2014)。为便于区分NPF家族成员和功能分类研究, 产生了该家族统一的命名方法, Léran等(2014)利用系统发育树将其命名为NPF, 即NRT1/PTR Family (nitrate transporter protein 1/peptide transporter 家族), NRT1是植物硝酸根转运蛋白家族的一个亚族, 同时也属于小肽转运体(peptide transporters, PTR)家族(贾宏昉等2014)。此外, 依据系统亲缘关系远近对NPF家族成员进行科学合理的分类, 将其定义成亚族1~8。通过在名称NPF后加2位数字作补充说明, 来详细划分家族成员, 例如NPF_{X.Y}, X

代表亚族, Y代表种内个体成员(Léran等2014)。之后又在其基础上添加2到3个植物拉丁名字母, 例如AtNPF_{X.Y}, 代表植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) NPF家族成员。这种统一的命名方式既便于识别NPF繁杂的家族体系, 为后续的科学的研究提供了极大的便利。

高等植物中的NPF转运蛋白一般含有12个跨膜结构域(transmembrane domain, TM), 在TM结构域6和7之间具有大的亲水环结构(Tsay等2007)。NPF基因广泛存在不同的物种中, 蛋白家族组成复杂, 且功能多样。目前已经在拟南芥、水稻、小麦和玉米等多种植物中鉴定出NPF家族基因, 主要按照其结构相似性进行功能分类和命名, 本文选取其中具有代表性的家族成员进行系统发育树构建(图1), 通过序列比对可以明确划分其亚家族的聚类特点, 且可根据其保守结构域进一步进行功能预测。

2 不同物种NPF家族成员的组成及组织定位特性

目前关于NPF的研究主要集中在拟南芥、水稻等草本植物中。拟南芥中目前共发现NPF家族基因53个, 可分为8个亚家族, 多定位在细胞质膜上, 为典型的膜转运蛋白, 且具有多样化的转运特性, 转运底物包括 NO_3^- 、多肽以及植物激素等(Chiba等2015) (表1)。AtNPF蛋白的组织定位多集中在根系和叶片, 也有成员在多个组织部位均可发挥作用如NPF3.1和NPF4.6等(图2)。水稻(*Oryza sativa*) NPF家族有93个成员, 已被证明的水稻OsNPF基因多定位于质膜和液泡膜, 主要参与调节 NO_3^- 的吸收、转运和分配, 影响水稻的分蘖和籽粒大小, 对水稻产量的提高有重要作用(Huang等2019)。在小麦(*Triticum aestivum*)中, 已经鉴定出331个NPF基因, 分为113个同源组, 系统发育表明小麦NPF基因与拟南芥、短柄草和水稻同源物密切相关, 细分为8个亚家族(Wang等2020a), 具有 NO_3^- 转运功能。此外, 小麦TaNPF基因的表达也会受到激素的调节, 推测其可能参与脱落酸(abscisic acid, ABA)的转运(Wang等2020a)。光叶百脉根(*Lotus japonicus*)的NPF家族有86个成员, 目前已鉴证的LjNPF3.1和LjNPF8.6均在根系固氮的结节中受到强烈诱导, LjNPF3.1主要

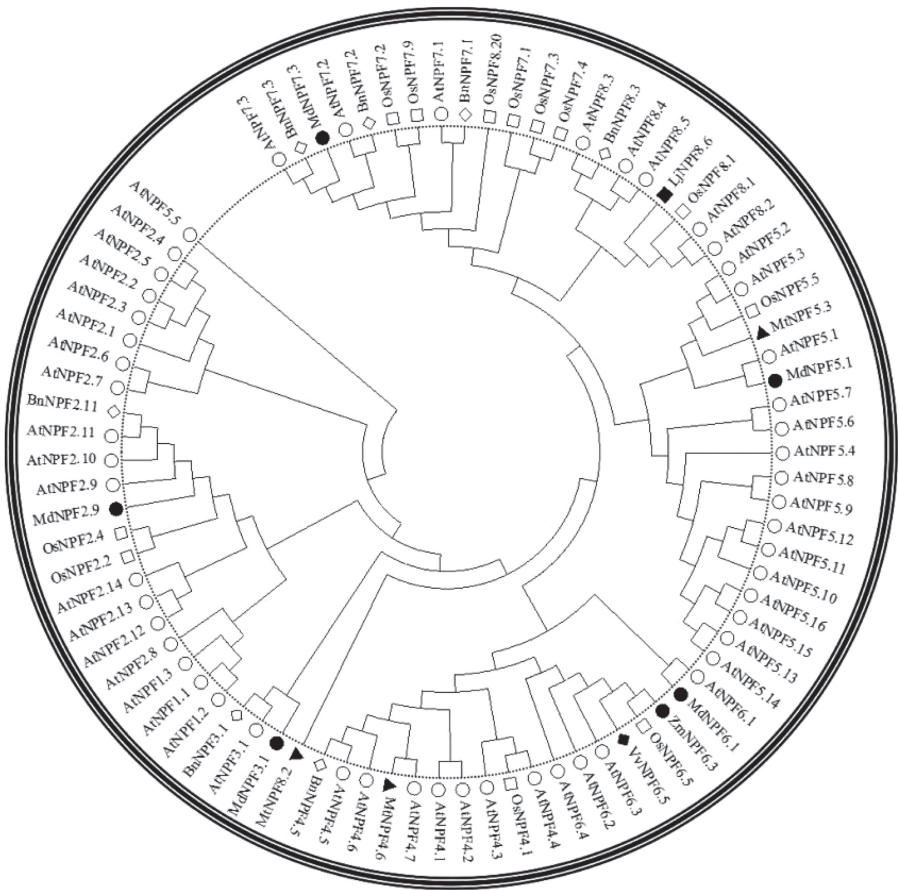


图1 植物中部分NPF家族基因系统进化树分析

Fig. 1 Phylogenetic tree analysis of partial NPF family genes in plants

AtNPF为拟南芥NPF, OsNPF为水稻NPF, ZmNPF为玉米NPF, MtNPF为苜蓿NPF, MdNPF为苹果NPF, LjNPF为百脉根NPF。

集中在根和根瘤皮层区表达, 可促使根瘤共生的效益最大化(Vittozzi等2021); *LjNPF8.6*在调控固氮酶活性和结节中活性氧含量的过程中发挥积极作用(Valkov等2017)。此外, 油料作物甘蓝型油菜共鉴定出193个*BnNPF*基因(Zhang等2020), 菠菜中也鉴定出57个*NPF*基因, 其在响应外界 NO_3^- 的供应过程中表现出多样化的功能特性(Wang等2021)。

相对于草本植物, 木本植物中关于NPF的研究相对较少, 但是随着基因组学及基因克隆技术的发展, 在一些物种中也相继得到了挖掘和验证。如葡萄(*Vitis vinifera*) *VvNPF3.2*被证明是定位于质膜的低亲和亚硝酸根和硝酸根转运蛋白, 且对叶片中白粉病(powdery mildew, PM)在宿主中的定殖过程有一定影响, 负责PM和宿主间的氮素转运(Pike等

2014)。在毛竹(*Phyllostachys edulis*)基因组中, 目前已鉴定出27个NPF成员, 分属于7个亚家族, 多数基因表达在叶片和花序中, 其中*PeNPF1.1*、*PeNPF5.1*和*PeNPF8.8*分别只在盛花期花序、根和笋中表达(袁婷婷等2021)。在苹果基因组也已经鉴定出73个*MdNPF*基因(Wang等2018b); 海岸松(*Pinus pinaster*)中鉴定至少40个*PpNPF*基因(Castro-Rodríguez等2017), 但关于其NPF家族成员的具体功能还有待进一步研究。

3 NPF蛋白家族功能研究进展

3.1 NPF调控植物营养物质吸收和利用

3.1.1 NPF参与植物 NO_3^- 的吸收利用

植物需要通过NPF从外界获取氮素营养, NO_3^-

表1 拟南芥NPF转运底物特性
Table 1 Characteristics of the NPF transport substrate in *Arabidopsis*

曾用名	现用名	组织表达	转运底物	参考文献
NRT1.12	AtNPF1.1	展开叶	NO ₃ ⁻ 、ABA、GA _{1/3/4} 和JA-Ile	Corratgé-Faillie和Lacombe 2017; Hsu和Tsay 2013
NRT1.11	AtNPF1.2	展开叶	NO ₃ ⁻ 、GA _{1/3/4} 、GA ₃ 和JA-Ile	Hsu和Tsay 2013; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
GTR1	AtNPF1.3	根内胚层细胞	NO ₃ ⁻	Chen和Ho 2022
	AtNPF2.10	叶肉	NO ₃ ⁻ 、4MTB、8MTO、GA ₃ 、GA _{1/3/4} 和JA-Ile	Nour-Eldin等2012; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NRT1.10/ GTR2	AtNPF2.11	叶脉	NO ₃ ⁻ 、4MTB、8MTO和GA ₃	Nour-Eldin等2012; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NRT1.6	AtNPF2.12	花、长角果	NO ₃ ⁻ 和GA _{1/3}	Almagro等2008; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NRT1.7	AtNPF2.13	老叶韧皮部	NO ₃ ⁻ 、4MTB、GA _{1/3/4} 和JA-Ile	Fan等2009; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NAXT2	AtNPF2.3	成熟根中柱、根周细胞	NO ₃ ⁻ 和GA _{1/3/4}	Taochy等2015; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
	AtNPF2.4	根中柱	氯化物、GA _{1/3/4} 和JA-Ile	Li等2016; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
	AtNPF2.5	根皮质	ABA和GA _{1/3/4}	Li等2016; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NAXT1	AtNPF2.6	—	GA ₁ /GA ₄ 和JA-Ile	Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
	AtNPF2.7	根皮层	NO ₃ ⁻ 、GA _{1/3/4} 、JA-Ile	Segonzac等2007; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017;
FST1	AtNPF2.8	花药	黄酮醇槐苣	Grunewald等2020; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NRT1.9	AtNPF2.9	根细胞	NO ₃ ⁻ 和4MTB	Wang和Tsay 2011; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
Nitr	AtNPF3.1	根、芽、种子	NO ₃ ⁻ 、NO ₂ 、ABA、GA _{1/3/4/8/20} 、GA _{1/3} 、GA _{1/3/4/8/19} 和JA-Ile	Tal等2016; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017; David等2016
AIT3	AtNPF4.1	—	JA-Ile、ABA、GA ₃ 、GA _{1/3/4} 和GA _{3/4/8/20}	Kanno等2012; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
AIT4	AtNPF4.2	—	GA _{1/3} 和ABA	Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NRT1.13	AtNPF4.4	木质部薄壁细胞	—	Chen等2021
AIT2	AtNPF4.5	—	NO ₃ ⁻ 和ABA	Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
AIT1/NRT1.2	AtNPF4.6	种子、叶、根、花茎	NO ₃ ⁻ 和ABA	Guan 2017; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
PTR3	AtNPF5.1	叶	JA-Ile、ABA和GA _{1/3/4}	Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
	AtNPF5.2	根、叶、种子	ABA和GA _{1/3/4} 、二肽	Karim等2005; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
	AtNPF5.5	根、芽、胚	NO ₃ ⁻	Léran等2015; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NRT1.4	AtNPF5.7	—	ABA、GA _{1/3/4} 和JA-Ile	Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
	AtNPF6.2	叶柄和叶脉	NO ₃ ⁻	Chiu等2004; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017

表1 (续)

曾用名	现用名	组织表达	转运底物	参考文献
NRT1.1/CHL1	AtNPF6.3	根、芽	NO ₃ ⁻ 、IAA、2,4-D	Léran等2013; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NRT1.3	AtNPF6.4	花、茎、叶	—	Tong等2016
NRT1.8	AtNPF7.2	维管组织木质部薄壁细胞	NO ₃ ⁻	Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NRT1.5	AtNPF7.3	根周细胞、根中柱	NO ₃ ⁻	Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
PTR1	AtNPF8.1	种子维管组织	菜豆毒素、二肽、JA-Ile	Dietrich等2004; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
PTR5	AtNPF8.2	花粉、胚珠、种子	ABA、GA _{1/4} 、JA-Ile和二肽	Komarova等2008; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017
NTR1/PTR2	AtNPF8.3	绿色长角果、根、幼苗	二肽、三肽和组氨酸	Choi等2020; Corratgé-Faillie和Lacombe 2017

“—”为未知; IAA: 吲哚乙酸(indole-3-acetic acid); ABA: 脱落酸; GA: 赤霉素(gibberellin); JA-Ile: 茉莉酸异亮氨酸(jasmonic acid-isoleucine); 4MTB: 4-甲基硫丁基葡萄糖苷(4-methylthiobutyl glucosinolate); 8MTO: 8-甲基硫代硫辛基葡萄糖苷(8-methylthiooctyl glucosinolates)。

在根的表皮和皮层细胞的质膜上被吸收, 之后一部分储存在液泡, 直接在根中代谢; 另一部分则转移到植物地上部利用(Krapp 2015)。例如在拟南芥中, AtNPF6.3负责在根系从外部土壤溶液中获取NO₃⁻ (Remans等2006); AtNPF7.3参与NO₃⁻从根到茎的转移(Lin等2008)。AtNPF6.3、AtNPF4.6以及水稻中的OsNPF6.3均负责在根部吸收NO₃⁻, AtNPF6.3是第一个被发现的拟南芥NPF家族成员(Liu等1999), 水稻OsNPF6.3 (OsNRT1.1B)与其同源, 二者均是双亲和性NO₃⁻转运蛋白(Wang等2018c; Hu等2015)。AtNPF4.6基因在根皮中表达, 为组成型低亲和NO₃⁻转运蛋白基因, 只在高浓度NO₃⁻条件下发挥作用(Huang等2019)。水稻OsNPF4.5是具有丛枝菌根特异性的NO₃⁻转运蛋白, 仅在含有丛枝菌的细胞中表达, 在水稻菌根吸收NO₃⁻过程中发挥作用(Wang等2020b)。

除了参与NO₃⁻获取, NPF家族成员还可运输NO₃⁻至叶、芽、花和种子中。加强氮从源到汇器官的再分配, 增加植物氮素利用率(Fan等2017), 促进植物的生长发育。AtNPF2.9在高NO₃⁻条件下可促进过量的NO₃⁻从木质部流入韧皮部, 调节根和芽之间的NO₃⁻分配(Wang和Tsay 2011)。AtNPF1.1和AtNPF1.2促进NO₃⁻从成熟叶向嫩叶的再分配, 调控

嫩叶的生长发育; 而AtNPF2.13促进NO₃⁻从老叶向嫩叶的再分配, 以调节植株体内的营养平衡。AtNPF6.2和AtNPF2.12负责将NO₃⁻转运到叶柄和种子储存, 影响叶片发育和种子的早期胚胎发育(Chiu等2004; Almagro等2008)。水稻OsNPF7.9的超表达促进NO₃⁻从根系向地上部的转运, 提高了水稻的氮素积累和转运能力(冯慧敏等2017), OsNPF2.2参与NO₃⁻从木质部的卸载(Li等2015)。OsNPF7.2和OsNPF7.3 (OsPTR6)调节水稻生长过程中NO₃⁻从根到叶片的转移和分配(Fang等2017; Wang等2018a)。OsNPF6.3 (OsNRT1.1A)定位于液泡膜, 负责调节开花以及提升水稻氮素的利用率, 促进水稻增产和提早成熟(Wang等2018c), OsNPF4.1 (SPI)决定水稻穗的大小(Li等2009)。OsNPF7.1 (OsPTR4)和OsNPF7.4在水稻体内呈现相反的表达模式, 通过调控NO₃⁻的代谢来影响水稻的生长状态, 其表达水平决定腋芽的生长, 过表达OsNPF7.1或敲除OsNPF7.4可以通过促进腋芽生长和增加分蘖数来提高籽粒产量(Huang等2019)。小麦TaNPF5.20、TaNPF5.26和TaNPF5.30可能参与不同组织中的NO₃⁻再分配, 调控细胞质和液泡之间NO₃⁻平衡以响应氮素供应的改变(Wang等2020a)。由此可见, NPF不仅参与调控植物体内NO₃⁻平衡, 而且可以通过增强NO₃⁻吸收以及分配的能力提高氮

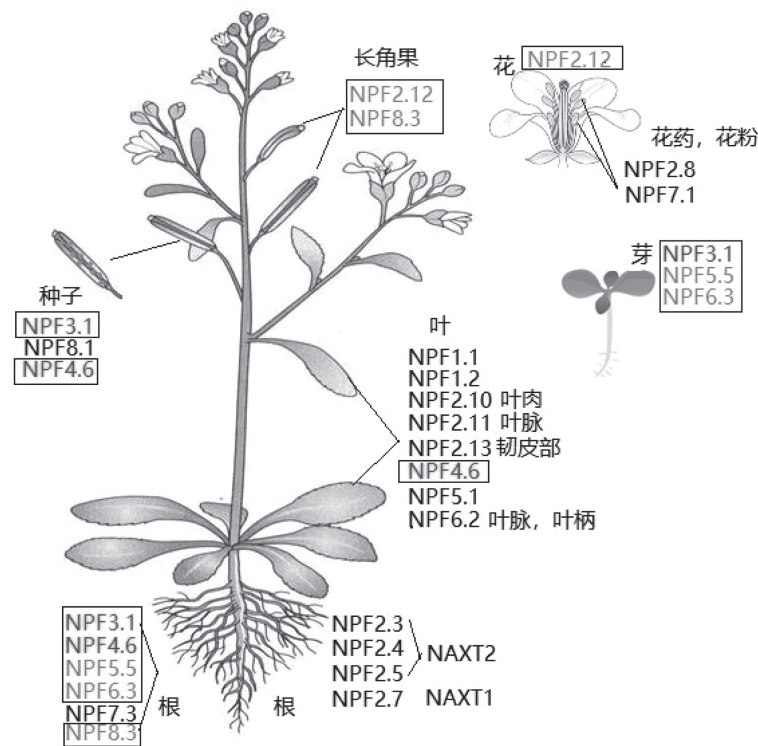


图2 拟南芥NPF家族成员组织定位分析

Fig. 2 Tissue location analysis of Arabidopsis NPF family members

方框区域表明该基因在多个组织中均有表达。本图改自Taiz和Zeiger (2002)一文。

素利用率和作物产量。

3.1.2 NPF转运蛋白具有多肽转运活性

植物除了可以吸收 NO_3^- 等无机氮素外,也可以利用氨基酸、小肽和蛋白质等有机氮源以保证生长。植物中NPF家族部分成员也会参与有机氮的吸收和利用过程中,如水稻*OsNPF6.5*的过表达促进了硒代蛋氨酸(SeMet)从根到芽的转移,有助于富硒水稻品种的选育(Zhang等2019)。AtNPF8是多肽转运蛋白家族(PTR),AtNPF8.1~AtNPF8.3均具有多肽的转运能力,分别负责根系(Dietrich等2004)、花器官以及种子和果实中的多肽转运(Komarova等2008; Bai等2013)。AtNPF8.1是在维管组织和发芽过程中表达的质膜肽转运蛋白基因,负责在根部发挥吸收肽的作用(Dietrich等2004)。AtNPF8.2在花粉中的表达程度很高,有助于肽转运到萌发的花粉中,并可能转运到成熟的花粉、胚珠和种子中(Komarova等2008)。AtNPF8.3在绿色角果、根和幼苗中组织特异性表达(Bai等2103),不仅转运多种多样的二

肽(Chiang等2004),也参与拟南芥种子萌发过程中的水分吸收(Choi等2020)。OsNPF7.3 (OsPTR6)通过增加分蘖数和饱满籽粒数维持水稻产量,也影响水稻生长过程中氮素从根部到叶片的分配,是目前在水稻中鉴定出的第一个肽转运蛋白(Fang等2017),可转运二肽/三肽(Ouyang等2010)。OsNPF8.20 (OsPTR9)可促进侧根形成,影响水稻氮转运和产量(Fang等2013),与功能性二/三肽转运蛋白十分相似(Weichert等2012),但其对二/三肽、 NO_3^- 及其他底物的转运活性还需要进一步验证(Fang等2013)。

3.1.3 NPF调控 K^+ 和 Cl^- 从根到芽的转运

除了氮素,钾(K^+)也是植物所必需的营养元素,在植物生长过程中可以提高光合效率、调节气孔开闭、提高农业产量。OsNPF2.4不仅参与 NO_3^- 在根部的吸收、根到地上部运输和分配等,也间接调控 K^+ 地上地下的再分配(Xia等2015)。Li等(2017)研究表明AtNPF7.3不仅参与 NO_3^- 转运,在 K^+ 从根向茎转移中也发挥关键作用;此外也参与调控缺 K^+ 条

件下植株的侧根发育(Zheng等2016)。氯(Cl^-)是植物所需的微量营养元素,可维持细胞膨压、调节膜电位和胞质pH、参与植物光合作用、增强植物抗旱能力。在玉米(*Zea mays*)中, ZmNPF6家族与拟南芥家族AtNPF6.3同源, 2个同系物ZmNPF6.4和ZmNPF6.6被证明可以转运 Cl^- , 当提供氯化物时, ZmNPF6.4会转为高亲和 Cl^- 选择性转运体, 而ZmNPF6.6只具有低亲和力的 Cl^- 转运活性(Wen等2017)。在拟南芥中AtNPF2.4基因缺失会导致芽中 Cl^- 积累减少, 而过表达时 Cl^- 积累增多, 功能验证表明AtNPF2.4参与了植物中 Cl^- 的长距离运输, 这有助于提高植物的耐盐性(Li等2016)。

3.2 NPF可转运激素调节植物生长发育

植物激素穿过细胞质膜参与各种生理过程, 这一步骤并不是通过简单扩散发生, 而通常是需要转运蛋白(Saito等2015)。NPF转运蛋白可参与生长素(IAA)、赤霉素(GA)以及脱落酸(ABA)等植物激素的转运以调控植株的生长。IAA可促进细胞生长和分裂, 影响根系形态, 拟南芥AtNPF6.3可通过转运IAA控制侧根生长(Krouk等2010b)。AtNPF5.12和AtNPF7.3是吲哚-3-丁酸(indole-3-butyric acid, IBA)转运蛋白, 由于IBA是IAA的合成前体, 研究表明, AtNPF7.3可通过影响IAA的合成调节根向地性生长(Watanabe等2020)。GA会刺激细胞伸长以及叶和芽的生长, David等(2016)证明AtNPF3.1为GA转运体, 促进拟南芥下胚轴伸长和种子萌发, 参与控制根分生组织大小的内胚层细胞中的GA-ABA信号的传导(Tal等2016)。AtNPF2.10为雄蕊发育提供所需的GA, 进而调控花器官的发育(Saito等2015), 说明NPF不仅在营养器官中发挥作用, 也会影响植物的生殖生长。

ABA是植物生长抑制剂, 促进植物衰老、种子和芽的休眠。拟南芥NPF4亚族具有AIT (ABA importer transporter)家族分类特性, 包括7个家族成员AtNPF4.1~AtNPF4.7; AtNPF4.1、AtNPF4.5和AtNPF4.6是ABA输入转运蛋白, AtNPF4.3和AtNPF4.4是ABA外排蛋白(Léran等2020)。其中, AtNPF4.1为NPF家族中首个具有ABA转运功能的转运体, 且通过酵母实验也证明其具有转运GA的能力(Kanno等2012), 说明NPF可能具有同时转运多种激素的功能。

ABA可以通过促进气孔关闭, 来增强植物抗逆性, 研究证明AtNPF4.6可以通过维管组织转运ABA来控制气孔开度, 进而响应干旱胁迫(Guan 2017), 而转运ABA的AtNPF5.1与AtNPF4.6作用相反起到负调节气孔关闭的作用(Shimizu等2021), 二者的相互作用还有待进一步分析。豆科作物苜蓿(*Medicago truncatula*) MtNPF6.8也已证明具有ABA的转运功能, 当MtNPF6.8表达水平低时会导致ABA水平较低而抑制根伸长(Pellizzaro等2014)。在其他物种中, 关于NPF的激素转运功能和特性还需要进一步探索。

3.3 NPF参与植物响应生物和非生物胁迫

植物活体细胞会产生许多化合物以抵抗病虫害, 而NPF家族转运体可以跨膜运输这些化合物(Jørgensen等2017), 在植物抗逆过程中发挥重要作用。拟南芥中AtNPF5亚家族成员在植物的应激反应和抵抗外界胁迫等过程中发挥了重要作用。如AtNPF5.1是一种受外界机械损伤的可诱导基因, 参与植物的应激反应(Karim等2005)。AtNPF5.2受应激诱导在根、叶和种子中表达, 受非生物和生物胁迫的复杂激素调节和诱导, 可防御拟南芥中的细菌病原体(Karim等2007), 也参与种子萌发过程中的胁迫耐受(Karim等2005)。AtNPF2.8通过转运黄酮醇槐苷(flavonol sophorosides), 可恢复花粉表面黄酮醇糖苷水平, 保护暴露在高紫外线辐射下的花粉萌发(Grunewald等2020)。OsNPF8.1 (OsPTR7)是定位于质膜的肽转运体(李营2018), 参与丙二醛向水稻籽粒的长距离转运, 有助于丙二醛在水稻籽粒中的积累, 增强水稻的抗逆能力(Tang等2017)。盐胁迫时AtNPF2.3将根部 NO_3^- 转运至芽提高了植物对盐的耐受性(Taochy等2015), AtNPF2.4则通过调节芽中 Cl^- 的积累响应盐胁迫, AtNPF2.7在酸胁迫下可以调控根中 NO_3^- 的外排(Segonzac等2007), 由此可见植物营养吸收与响应逆境胁迫也有所关联, 并非完全相互独立。

NPF转运体还可以转运一种名为硫代葡萄糖苷(glucosinolates)的苦味防御化合物, 以抵御外界环境的侵害。AtNPF2.9主要在根细胞负责转运 NO_3^- 和4MTB, AtNPF2.10和AtNPF2.11分别存在于叶肉细胞和叶脉中, 且均被证明是高特异性高亲和质子依赖的硫代葡萄糖苷转运蛋白(glucosinolates transpo-

ter, GTR), 在硫代葡萄糖苷从叶片到种子的长距离运输中有重要作用(Nour-Eldin等2012)。此外, AtNPF2.10是除转运GA外, 还转运 NO_3^- 、4MTB、8MTO和JA-Ile的多功能转运蛋白, AtNPF2.11也可转运包括 NO_3^- 、 GA_3 、4MTB和8MTO在内的4种底物(Corratgé-Faillie和Lacombe 2017)。说明植物不仅通过NPF获取多种基本营养物质以维持自身生长需求, 还将转运一些化合物在抵御复杂环境的变化中发挥重要作用, 维持植物健康生长。

4 总结与展望

目前, NPF在越来越多的物种中被鉴定, 关于其功能结构的研究也日益明确。NPF多样化的功能特性在植物的生长发育及应对外界环境变化的过程中均发挥着重要作用。但关于NPF家族成员的具体的功能和调控机制目前还存在一些问题。(1) 因NPF家族成员众多, 可能会出现基因冗余, 功能重复甚至叠加的现象, 例如, Tal等(2016)发现AtNPF3突变体中缺乏突变表型, 可能存在功能冗余的相关转运蛋白替代AtNPF3发挥作用。(2) NPF的功能多样, 大多NPF家族成员被验证不仅转运 NO_3^- , 还具有转运IAA、ABA和GA等激素的功能, NO_3^- 与与激素之间大多是独立的, 但也存在相互作用, 如AtNPF6.3转运IAA与 NO_3^- 吸收存在竞争关系(Krouk等2010), 而 NO_3^- 不与ABA竞争作为AtNPF4.6的底物(Kanno等2013), 但基因的单一转运及多样化的底物结合转运的机制目前还不清楚, 还需要进一步的验证。(3) 目前NPF家族基因命名, 多根据基因序列的相似性进行聚类分析, 但是由于物种的特异性, 不同物种同源基因之间存在着功能的分化, 目前关于NPF的研究多集中在拟南芥、水稻等草本植物上, 在其他物种中的功能特性还待进一步探索。鉴于NPF的多样性的功能特点, 以及在植物营养吸收及生长调控方面的重要作用, 更多有效的基因的作用还有待进一步挖掘。总之, 深入研究NPF蛋白的功能特性, 有利于了解植物的生长发育机制, 指导生产实践。

参考文献(References)

Alboresi A, Gustin C, Leydecker MT, et al (2005). Nitrate, a

signal relieving seed dormancy in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 28: 500–512

Almagro A, Lin SH, Tsay YF (2008). Characterization of the *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.6 reveals a role of nitrate in early embryo development. *Plant Cell*, 20: 3289–3299

Bai H, Euring D, Volmer K, et al (2013). The nitrate transporter (*NRT*) gene family in poplar. *PLOS One*, 8: e72126

Castro-Rodríguez V, Cañas RA, de la Torre FN, et al (2017). Molecular fundamentals of nitrogen uptake and transport in trees. *J Exp Bot*, 68: 2489–2500

Chen HY, Lin SH, Cheng LH, et al (2021). Potential transceptor AtNRT1.13 modulates shoot architecture and flowering time in a nitrate-dependent manner. *Plant Cell*, 33: 1492–1505

Chen YN, Ho CH (2022). Concept of fluorescent transport activity biosensor for the characterization of the *Arabidopsis* NPF1.3 activity of nitrate. *Sensors*, 22: 1198

Chiang CS, Stacey G, Tsay YF (2004). Mechanisms and functional properties of two peptide transporters, AtPTR2 and fPTR2. *J Biol Chem*, 279: 30150–30157

Chiba Y, Shimizu T, Miyakawa S, et al (2015). Identification of *Arabidopsis thaliana* NRT1/PTR FAMILY (NPF) proteins capable of transporting plant hormones. *J Plant Res*, 128: 679–686

Chiu CC, Lin CS, Hsia AP, et al (2004). Mutation of a nitrate transporter, AtNRT1.4, results in a reduced petiole nitrate content and altered leaf development. *Plant Cell Physiol*, 45: 1139–1148

Choi MG, Kim EJ, Song JY, et al (2020). Peptide transporter 2 (PTR2) enhances water uptake during early seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 102: 615–624

Corratgé-Faillie C, Lacombe B (2017). Substrate (un)specificity of *Arabidopsis* NRT1/PTR FAMILY (NPF) proteins. *J Exp Bot*, 68: 3107–3113

Daniel H (2004). Molecular and integrative physiology of intestinal peptide transport. *Annu Rev Physiol*, 66: 361–384

David LC, Berquin P, Kanno Y, et al (2016). N availability modulates the role of NPF3.1, a gibberellin transporter, in GA-mediated phenotypes in *Arabidopsis*. *Planta*, 244: 1315–1328

Dietrich D, Hammes U, Thor K, et al (2004). AtPTR1, a plasma membrane peptide transporter expressed during seed germination and in vascular tissue of *Arabidopsis*. *Plant J*, 40: 488–499

Fan SC, Lin CS, Hsu PK, et al (2009). The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.7, expressed in phloem, is responsible for source-to-sink remobilization of nitrate. *Plant Cell*, 21: 2750–2761

- Fan XR, Naz M, Fan XR, et al (2017). Plant nitrate transporters: from gene function to application. *J Exp Bot*, 68: 2463–2475
- Fang XZ, Fang SQ, Ye ZQ, et al (2021). NRT1.1 dual-affinity nitrate transport/signalling and its roles in plant abiotic stress resistance. *Front Plant Sci*, 12: 715694
- Fang ZM, Bai GX, Huang WT, et al (2017). The rice peptide transporter OsNPF7.3 is induced by organic nitrogen, and contributes to nitrogen allocation and grain yield. *Front Plant Sci*, 8: 1338
- Fang ZM, Xia KF, Yang X, et al (2013). Altered expression of the PTR/NRT1 homologue *OsPTR9* affects nitrogen utilization efficiency, growth and grain yield in rice. *Plant Biotechnol J*, 11: 446–458
- Fei Y J, Kanai Y, Nussberger S, et al (1994). Expression cloning of a mammalian protoncoupled oligopeptide transporter. *Nature*, 368: 563–566
- Feng HM, Lu H, Wang HQ, et al (2017). Function analyses of rice nitrate transporter gene *OsNPF7.9* in nitrogen accumulation and transport. *Chin J Rice Sci*, 31 (5): 457–464 (in Chinese with English abstract) [冯慧敏, 陆宏, 王汉卿等(2017). 水稻硝酸盐转运蛋白基因*OsNPF7.9*在氮素积累和转运中的功能研究. *中国水稻科学*, 31 (5): 457–464]
- Forde BG (2000). Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. *Biochim Biophys Acta*, 1465: 219–235
- Grunewald S, Marillonnet S, Hause G, et al (2020). The tapetal major facilitator NPF2.8 is required for accumulation of flavonol glycosides on the pollen surface in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 32: 1727–1748
- Guan PZ (2017). Dancing with hormones: a current perspective of nitrate signaling and regulation in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci*, 8: 1697
- Hsu PK, Tsay YF (2013). Two phloem nitrate transporters, NRT1.11 and NRT1.12, are important for redistributing xylem-borne nitrate to enhance plant growth. *Plant Physiol*, 163: 844–856
- Hu B, Wang W, Ou SJ, et al (2015). Variation in NRT1.1B contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies. *Nat Genet*, 47: 834–838
- Hu R, Qiu DY, Chen L, et al (2016). Knock-down of a tonoplast localized low-affinity nitrate transporter OsNPF7.2 affects rice growth under high nitrate supply. *Front Plant Sci*, 7: 1529
- Huang WT, Nie HP, Feng F, et al (2019). Altered expression of *OsNPF7.1* and *OsNPF7.4* differentially regulates tillering and grain yield in rice. *Plant Sci*, 283: 23–31
- Jia HF, Zhang HY, Liu WZ, et al (2014). Function and regulation mechanisms of nitrate transporters in higher plants. *Biotechnol Bull*, (6): 14–21 (in Chinese with English abstract) [贾宏昉, 张洪映, 刘维智(2014). 高等植物硝酸盐转运蛋白的功能及其调控机制. *生物技术通报*, (6): 14–21]
- Jørgensen ME, Xu DY, Crocoll C, et al (2017). Origin and evolution of transporter substrate specificity within the NPF family. *Elife*, 6: e1946
- Kanno Y, Hanada A, Chiba Y, et al (2012). Identification of an abscisic acid transporter by functional screening using the receptor complex as a sensor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 9653–9658
- Kanno Y, Kamiya Y, Seo M (2013). Nitrate does not compete with abscisic acid as a substrate of AtNPF4.6/NRT1.2/AIT1 in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behave*, 8: e26624
- Karim S, Holmström KO, Mandal A, et al (2007). AtPTR3, a wound-induced peptide transporter needed for defence against virulent bacterial pathogens in *Arabidopsis*. *Planta*, 225: 1431–1445
- Karim S, Lundh D, Holmström KO, et al (2005). Structural and functional characterization of AtPTR3, a stress-induced peptide transporter of *Arabidopsis*. *J Mol Model*, 11: 226–236
- Komarova NY, Thor K, Gubler A, et al (2008). AtPTR1 and AtPTR5 transport dipeptides in planta. *Plant Physiol*, 148: 856–869
- Krapp A (2015). Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces. *Curr Opin Plant Biol*, 25: 115–122
- Krapp A, David LC, Chardin C, et al (2014). Nitrate transport and signalling in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 65: 789–798
- Krouk G, Crawford NM, Coruzzi GM, et al (2010a). Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments. *Curr Opin Plant Biol*, 13: 266–273
- Krouk G, Lacombe B, Bielachet A et al (2010b). Nitrate-regulated auxin transport by NRT1.1 defines a mechanism for nutrient sensing in plants. *Dev Cell*, 18: 927–937
- Léran S, Garg B, Boursiac Y, et al (2015). AtNPF5.5, a nitrate transporter affecting nitrogen accumulation in *Arabidopsis* embryo. *Sci Rep*, 5: 7962
- Léran S, Muñoz S, Brachet C, et al (2013). *Arabidopsis* NRT1.1 is a bidirectional transporter involved in root-to-shoot nitrate translocation. *Mol Plant*, 6: 1984–1987
- Léran S, Varala K, Boyer JC, et al (2014). A unified nomenclature of NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family members in plants. *Trends Plant Sci*, 19: 5–9
- Léran S, Noguero M, Corratgé-Faillie C, et al (2020). Functional characterization of the *Arabidopsis* abscisic acid transporters NPF4.5 and NPF4.6 in *xenopus oocytes*. *Front Plant Sci*, 11: 144

- Li B, Byrt C, Qiu J, et al (2016). Identification of a stelar-localized transport protein that facilitates root-to-shoot transfer of chloride in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 170: 1014–1029
- Li H, Yu M, Du XQ, et al (2017). NRT1.5/NPF7.3 functions as a proton-coupled H^+/K^+ antiporter for K^+ loading into the xylem in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 29: 2016–2026
- Li SB, Qian Q, Fu ZM, et al (2009). *Short panicle 1* encodes a putative PTR family transporter and determines rice panicle size. *Plant J*, 58: 592–605
- Li Y (2018). Functional analysis of the rice oligopeptide transporter protein *OsNPF8.1* gene (dissertation). Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering (in Chinese with English abstract) [李营(2018). 水稻寡肽转运蛋白*OsNPF8.1*基因功能分析(学位论文). 广州: 仲恺农业工程学院]
- Li YG, Ouyang J, Wang YY, et al (2015). Disruption of the rice nitrate transporter *OsNPF2.2* hinders root-to-shoot nitrate transport and vascular development. *Sci Rep*, 5: 458–467
- Lin SH, Kuo HF, Canivenc G, et al (2008). Mutation of the *Arabidopsis* NRT1.5 nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport. *Plant Cell*, 20: 2514–2528
- Lorenz MC, Heitman J (1998). The MEP2 ammonium permease regulates pseudohyphal differentiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J*, 17: 1236–1247
- Nour-Eldin HH, Andersen TG, Burow M, et al (2012). NRT/PTR transporters are essential for translocation of glucosinolate defence compounds to seeds. *Nature*, 488: 531–534
- Orsel M, Krapp A, Daniel-Vedele F (2002). Analysis of the NRT2 nitrate transporter family in *Arabidopsis*. Structure and gene expression. *Plant Physiol*, 129: 886–896
- Ouyang J, Cai Z, Xia K, et al (2010). Identification and analysis of eight peptide transporter homologs in rice. *Plant Sci*, 179: 374–382
- Pellizzaro A, Clochard T, Cukier C, et al (2014). The nitrate transporter MtNPF6.8 (MtNRT1.3) transports abscisic acid and mediates nitrate regulation of primary root growth in *Medicago truncatula*. *Plant Physiol*, 166: 2152–2165
- Pike S, Gao F, Kim MJ, et al (2014). Members of the NPF3 transporter subfamily encode pathogen-inducible nitrate/nitrite transporters in grapevine and *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 55: 162–170
- Remans T, Nacry P, Pervent M, et al (2006). The *Arabidopsis* NRT1.1 transporter participates in the signaling pathway triggering root colonization of nitrate-rich patches. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 19206–19211
- Saito H, Oikawa T, Hamamoto S, et al (2015). The jasmonate-responsive GTR1 transporter is required for gibberellin-mediated stamen development in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 6: 2675–2688
- Segonzac C, Boyer JC, Ipotesi E, et al (2007). Nitrate efflux at the root plasma membrane: identification of an *Arabidopsis* excretion transporter. *Plant Cell*, 19: 3760–3777
- Shimizu T, Kanno Y, Suzuki H, et al (2021). *Arabidopsis* NPF4.6 and NPF5.1 control leaf stomatal aperture by regulating abscisic acid transport. *Genes*, 12: 885
- Taiz L, Zeiger E (2002). Growth and Development. *Plant Physiology*. 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associates, 341
- Tal I, Zhang Y, Jørgensen ME, et al (2016). The *Arabidopsis* NPF3 protein is a GA transporter. *Nat Commun*, 7: 92–96
- Tang Z, Chen Y, Chen F, et al (2017). OsPTR7 (OsNPF8.1), a putative peptide transporter in rice, is involved in dimethylarsenate accumulation in rice grain. *Plant Cell Physiol*, 58: 904–913
- Taochy C, Gaillard I, Ipotesi E, et al (2015). The *Arabidopsis* root stele transporter NPF2.3 contributes to nitrate translocation to shoots under salt stress. *Plant J*, 83: 466–479
- Tong W, Imai A, Tabata Ryo, et al (2016). Polyamine resistance is increased by mutations in a nitrate transporter gene *NRT1.3 (AtNPF6.4)* in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci*, 7: 834
- Tsay YF, Chiu CC, Tsai CB, et al (2007). Nitrate transporters and peptide transporters. *FEBS Lett*, 581: 2290–2300
- Valkov VT, Rogato A, Alves LM, et al (2017). The nitrate transporter family protein LjNPF8.6 controls the N-fixing nodule activity. *Plant Physiol*, 175: 1269–1282
- Vittozzi Y, Nadzieja M, Rogato A, et al (2021). The *Lotus japonicus* NPF3.1 is a nodule-induced gene that plays a positive role in nodule functioning. *Front Plant Sci*, 12: 688187
- Walch-Liuz P, Neumann G, Bangerth F, et al (2000). Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. *J Exp Bot*, 51: 227–237
- Wang HD, Wan YF, Buchner P, et al (2020a). Phylogeny and gene expression of the complete NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER FAMILY in *Triticum aestivum*. *J Exp Bot*, 71: 4531–4546
- Wang J, Huner N, Tian L (2019). Identification and molecular characterization of the *Brachypodium distachyon* NRT2 family, with a major role of *BdNRT2.1*. *Physiol Plant*, 165: 498–510
- Wang J, Lu K, Nie HP, et al (2018a). Rice nitrate transporter OsNPF7.2 positively regulates tiller number and grain yield. *Rice*, 11: 1–13
- Wang Q, Liu CH, Dong QL, et al (2018b). Genome-wide identification and analysis of apple NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family (*NPF*)

- genes reveals *MdNPF6.5* confers high capacity for nitrogen uptake under low-nitrogen conditions. *Int J Mol Sci*, 19: 2761
- Wang SS, Chen A, Xie K, et al (2020b). Functional analysis of the OsNPF4.5 nitrate transporter reveals a conserved mycorrhizal pathway of nitrogen acquisition in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 117: 16649–16659
- Wang W, Hu B, Yuan DY, et al (2018c). Expression of the nitrate transporter gene *OsNRT1.1A/OsNPF6.3* confers high yield and early maturation in rice. *Plant Cell*, 30: 638–651
- Wang XL, Cai XF, Xu CX, et al (2021). Identification and characterization of the *NPF*, *NRT2* and *NRT3* in spinach. *Plant Physiol Bioch*, 158: 297–307
- Wang YY, Tsay YF (2011). *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.9 is important in phloem nitrate transport. *Plant Cell*, 23: 1945–1957
- Watanabe S, Takahashi N, Kanno Y, et al (2020). The *Arabidopsis* NRT1/PTR FAMILY protein NPF7.3/NRT1.5 is an indole-3-butyric acid transporter involved in root gravitropism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 117: 31500–31509
- Weichert A, Brinkmann C, Komarova NY, et al (2012). *AtPTR4* and *AtPTR6* are differentially expressed, tonoplast-localized members of the peptide transporter/nitrate transporter 1 (PTR/NRT 1) family. *Planta*, 235: 311–323
- Wen ZY, Tyermanc SD, Dechorgnata J, et al (2017). Maize NPF6 proteins are homologs of *Arabidopsis* CHL1 that are selective for both nitrate and chloride. *Plant Cell*, 29: 2581–2596
- Xia X, Fan X, Wei J, et al (2015). Rice nitrate transporter OsNPF2.4 functions in low-affinity acquisition and long-distance transport. *J Exp Bot*, 66: 317–331
- Yuan TT, Zhu CL, Yang CB, et al (2021). Identification of nitrate transporter gene family *PeNPFs* and their expression analysis in *Phyllostachys edulis*. *For Res*, 34 (3): 1–12 (in Chinese with English abstract) [袁婷婷, 朱成磊, 杨克彬等(2021). 毛竹硝态氮转运蛋白家族*PeNPFs*基因鉴定及其表达特性分析. 林业科学研究, 34 (3): 1–12]
- Zhang H, Li S, Shi MY, et al (2020). Genome-wide systematic characterization of the NPF Family genes and their transcriptional responses to multiple nutrient stresses in allotetraploid rapeseed. *Int J Mol Sci*, 21: 5947
- Zhang LH, Hu B, Deng K, et al (2019). *NRT1.1B* improves selenium concentrations in rice grains by facilitating selenomethionine translocation. *Plant Biotechnol J*, 17: 1058–1068
- Zheng Y, Drechsler N, Rausch C, et al (2016). The *Arabidopsis* nitrate transporter NPF7.3/NRT1.5 is involved in lateral root development under potassium deprivation. *Plant Signal Behav*, 11: e1176819