

· 专题论坛 ·

植物HIPP家族蛋白结构和功能研究进展

张雅琦^{1,2}, 戎福喜², 沈雨欣², 洪哲源^{1,2}, 张蓝天^{1,2}, 武亮^{1,2*}

¹浙江大学海南研究院, 三亚 572025; ²浙江大学农业与生物技术学院, 杭州 310000

摘要 重金属相关异戊二烯化植物蛋白HIPP是一类含有金属结合结构域(HMA)和C端异戊二烯化基序的金属伴侣蛋白。该文总结了模式植物中HIPP蛋白的结构特征, 阐述了植物HIPP蛋白家族参与的重金属稳态和解毒机制, 揭示了其在植物生长发育和应对环境变化(生物和非生物胁迫)中的潜在意义, 以为HIPP蛋白家族的后续研究提供启示。

关键词 HIPPs, HMA, 重金属

张雅琦, 戎福喜, 沈雨欣, 洪哲源, 张蓝天, 武亮 (2024). 植物HIPP家族蛋白结构和功能研究进展. 植物学报 59, 659–670.

锰(Mn)、铜(Cu)、铁(Fe)和锌(Zn)等作为必需的微量元素, 在植物正常生长发育中起重要作用。据估计, 这些必需金属元素离子参与植物体内约50%以上的蛋白质合成过程, 通常作为蛋白合成过程的催化因子或者蛋白的结构组分发挥作用(Huffman and O'Halloran, 2001)。除必需金属外, 还有一类天然存在的非必需金属元素, 如铅(Pb)、镉(Cd)和汞(Hg)(Rono et al., 2022)。植物中这两类金属离子含量的升高均会破坏正常的生理代谢过程, 如养分吸收、基础代谢以及生理反应(Clemens, 2006)。其中有毒重金属离子还会诱导产生活性氧(reactive oxygen species, ROS), 引发脂质、核酸和蛋白质等生物大分子的氧化损伤(安婷婷等, 2021)。因此, 植物体内金属离子的稳态对维持正常的生理代谢活动至关重要。

生物体中, 金属离子常需要到达特定的细胞位点才能行使功能, 这一过程通常由被称为金属伴侣的蛋白完成(Robinson and Winge, 2010)。金属伴侣蛋白在动植物中非常保守, 是一种多功能蛋白, 参与植物的生长发育及生物和非生物胁迫响应。其生物学功能的发现最初源于对酵母抗氧化蛋白ATX1 (Antioxidant protein 1)的研究, 酵母中ATX1可以将细胞质中的Cu²⁺传递至位于高尔基体囊泡膜上的铜运输ATP酶CCC2。此后, 在多个物种中鉴定到ATX1的同源功能蛋白(Muller and Klomp, 2009)。

植物中, 重金属相关异戊二烯化植物蛋白(heavy metal-associated isoprenylated plant protein, HIPP)是金属伴侣蛋白中的一个大家族(Tehseen et al., 2010; De Abreu-Neto et al., 2013)。早期对HIPP蛋白家族成员的鉴定工作主要集中在模式植物。例如, Tehseen等(2010)以及Khan等(2019)在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中鉴定到45个HIPPs, 随后研究发现水稻(*Oryza sativa*) HIPP蛋白家族包含59个成员。De Abreu-Neto等(2013)通过搜索现有的基因组数据库, 发现除小立碗藓(*Physcomitrella patens*)以外的所有维管植物中均有符合HIPP蛋白家族特征的序列, 在最古老的活体维管植物类群江南卷柏(*Selaginella moellendorffii*)中, 也发现了5个满足HIPP家族结构特征的蛋白。此后, 在小麦(*Triticum aestivum*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)、鹰嘴豆(*Cicer arietinum*)、玉米(*Zea mays*)和大麦(*Hordeum vulgare*)中也陆续发现了一些HIPP蛋白(Zhang et al., 2015; Zschiesche et al., 2015)。

鉴于HIPP在植物适应重金属胁迫和许多其它生物学过程中的重要作用, HIPP蛋白家族的研究近年来备受关注。本文重点阐述植物HIPP蛋白家族成员调控的重金属稳态和解毒机制, 总结其在植物应对非生物和生物胁迫中的生物学功能, 以为HIPP蛋白家族的后续研究奠定基础。

收稿日期: 2023-08-17; 接受日期: 2023-11-02

基金项目: 三亚市科技创新专项(No.2022KJCX48)和海南专项博士研究生科学研究基金(No.0201-6602-C22201, No.0201-6602-C22202)

* 通讯作者。E-mail: liangwu@zju.edu.cn

1 HIPP蛋白的结构特征和基因表达

1.1 拟南芥和水稻HIPP蛋白的结构域

HIPP蛋白普遍含有113–584个氨基酸残基, 尽管蛋白大小差异较大, 但是大多数HIPP具有保守的结构, 包括1–2个重金属结合结构域(heavy metal associated domains, HMA), 1个异戊二烯化基序, 以及位于这两个结构域之间的富含甘氨酸重复序列和富含脯氨酸基序。虽然存在HMA结构域和异戊二烯化基序的蛋白在动植物中并不少见, 但是这2种结构域同时存在1个蛋白中的现象仅在植物中发现(De Abreu-Neto et al., 2013)。

重金属相关结构域是指在 $\beta\alpha\beta\beta\alpha\beta$ 蛋白折叠结构中包含的一段保守氨基酸基序, 即“C-XX-C”序列(“C”为半胱氨酸, “X”代表任意氨基酸)。以酵母ATX1蛋白为例, HMA结构域中的半胱氨酸残基与 Cu^{2+} 的配位, 对 Cu^{2+} 在ATX1和铜转运蛋白之间的转移至关重要(Robinson and Winge, 2010)。

异戊二烯化(亦称法尼基化)是一种蛋白质翻译后脂化修饰, HIPP蛋白中的异戊二烯元件则是蛋白异戊二烯化的产物。在异戊二烯化过程中, 法尼基焦磷酸合酶识别HIPP羧基端保守的CaaX-Box(“a”是脂肪族氨基酸), 然后介导CaaX基序的半胱氨酸残基与15-羧基法尼基二磷酸(farnesyl pyrophosphate, FPP)间形成共价硫醚键(Rodríguez-Concepción et al., 1999)。异戊二烯化修饰相当于给蛋白质的羧基端添加了1个疏水锚, 对蛋白质在细胞膜上定位以及蛋白质-蛋白质之间相互作用均十分重要(Yalovsky et al., 1999)。已有研究表明, 异戊二烯化的蛋白质在细胞周期控制、信号转导、细胞骨架组织和细胞内囊泡运输中均发挥重要调节作用(Crowell, 2000)。

1.2 拟南芥和水稻HIPP基因的进化分析

参考先前报道的HIPP蛋白序列(De Abreu-Neto et al., 2013; Khan et al., 2019), 我们使用BLAST方法在NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)和PHYTOZOME (<http://www.phytozome.net/>)数据库中重新搜索并获得一系列氨基酸序列。借助PFAM (pfam.xfam.org)以及PrePS (<https://mendel.imp.ac.at/PrePS/>)网站的描述, 最终重新鉴定了拟南芥和水稻中含有N端HMA结构域和C端异戊烯基化基序的HIPP蛋白序列

(Khan et al., 2019)。通过MEGAX软件对45个At-HIPPs以及59个OsHIPPs的氨基酸序列进行比对, 采用邻接法(neighbor-joining), 选择JTT模型(Jones-Taylor-Thornton model) (bootstrap设置为1 000, 其它参数设置为默认值)分别构建了拟南芥和水稻HIPP的系统进化树(Nguyen et al., 2015) (图1)。

对HIPP进化树进行深入分析后, 发现在拟南芥和水稻中HIPP家族蛋白均可划分为5个蛋白簇。簇I中的蛋白质(如AtHIPP01和OsHIPP28)存在2个HMA结构域, 簇III中的蛋白质(如AtHIPP33和OsHIPP52)分子量较大, 且具有甘氨酸重复序列, 其它蛋白簇的共有特征仍有待进一步研究(De Abreu-Neto et al., 2013; Khan et al., 2019)。

2 HIPP参与植物体内重金属稳态和解毒过程

有研究表明, 植物HIPP基因表达响应一系列重金属胁迫。例如, 拟南芥中AtHIPP06 (*Cd-Induced*, *AtCd119*)的表达受 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Fe^{2+} 以及 Cu^{2+} 诱导(Suzuki et al., 2002); AtHIPP26 (*farnesylated protein*, *AtFP6*)的表达受 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 诱导(Gao et al., 2009); 水稻中, OsHIPP29受到高浓度 Cd^{2+} 以及 Zn^{2+} 诱导上调表达(Zhang et al., 2020); OsHIPP33的表达受 Zn^{2+} 和 Fe^{2+} 诱导(Cao et al., 2022a); OsHIPP16、OsHIPP28、OsHIPP34以及OsHIPP60在 Cd^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Cu^{2+} 胁迫下均高表达(Cao et al., 2022b); 23个甜菜(*Beta vulgaris*) BvHIPPs中, 17个经 Cd^{2+} 胁迫后转录表达上调(赵晓鑫等, 2023)。同时, HIPP的转录水平还与重金属离子的浓度及处理时间有关。例如, 水稻根中 Cd^{2+} 浓度范围为0–40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 根中OsHIPP16和OsHIPP56基因的表达量随着 Cd^{2+} 浓度的增加而升高; 在处理0–12小时期间, 其表达量随着 Cd^{2+} 处理时间的增加而提高(Khan et al., 2019; Cao et al., 2022b)。然而, 在植物培养液中缺失微量元素 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Fe^{2+} 的状态下, OsHIPP16、OsHIPP29及OsHIPP56的表达量均无显著变化, 说明植物中一些HIPP蛋白在金属离子缺乏条件下可能不参与离子转运(Zhang et al., 2020; Cao et al., 2022b; Zhao et al., 2022)。需要说明的是, 当用过量 Mn^{2+} 处理时, OsHIPP28在水稻茎中表达上调, 而在

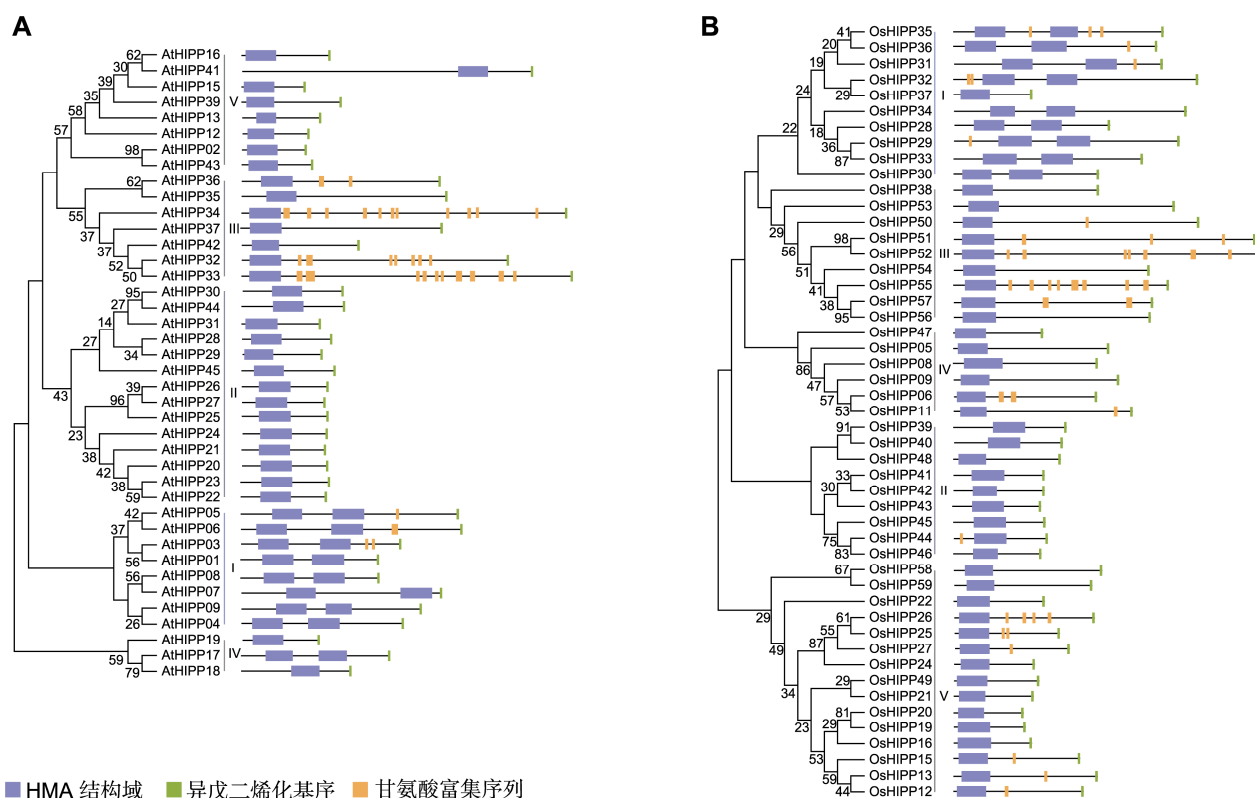


图1 拟南芥(A)和水稻(B)中HIPP家族蛋白的结构分析

Figure 1 Structural analysis of HIPP family in *Arabidopsis* (A) and rice (B)

根部表达下调, 这种差异表达现象, 在水稻大多数含有HMA结构域的转运蛋白(如OsHMA家族成员)中也有报道(Hung et al., 1998; Feng et al., 2016; Khan et al., 2019)。

金属伴侣蛋白与许多其它金属结合蛋白(或金属螯合肽)一样, 通过特定的富含半胱氨酸残基的结构域结合有毒重金属。有研究表明, 离体的植物HIPP蛋白可直接结合金属离子。例如, Dykema等(1999)通过金属螯合层析实验, 发现经过体外异戊二烯化的重组AtHIPP07能以可逆的方式与 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Zn^{2+} 结合。此外, 通过圆二色光谱法(circular dichroism, CD)检测, 发现AtHIPP06蛋白具有结合 Cu^{2+} 和 Hg^{2+} 的能力, 同时AtHIPP26也可以结合 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Cu^{2+} (Suzuki et al., 2002; Gao et al., 2009)。Chen和Xiong (2021)使用蛋白与重金属盐共孵育的方法证实, OsHIPP24在体外可螯合 Cd^{2+} 和 Cu^{2+} 。

植物细胞中重金属的积累与一些金属转运蛋白的表达量增高有关, 如重金属转运ATP酶HMA家族和锌铁转运蛋白ZIP (zinc-regulated transporters/

iron-regulated transporter-like protein)家族(Liu et al., 2017, 2019)。HIPP缺乏跨膜结构域, 因此并非为金属离子转运蛋白, 但可作为金属离子在植物细胞中迁移的载体。通过遗传鉴定, 植物中的一些金属伴侣蛋白已被证明参与重金属离子的积累和解毒过程。例如, 过表达AtHIPP06和AtHIPP26的转基因拟南芥植株对Cd具有耐受性, 而突变体athipp20/21/22对Cd敏感(Suzuki et al., 2002; Gao et al., 2009; Tehseen et al., 2010); 异源表达AtHIPP20、AtHIPP22、AtHIPP27、OsHIPP24和OsHIPP9可以提高Cd敏感型突变酵母菌株ycf1的存活率, 异源表达小麦TaHIPP1的酿酒酵母对 Cu^{2+} 胁迫的耐受性增强(Zhang et al., 2015, 2020; Zhao et al., 2022); 而异源表达OsHIPP17的酵母菌株对 Cd^{2+} 胁迫更加敏感(Zhao et al., 2013; Chen and Xiong, 2021; Shi et al., 2023; Xiong et al., 2023)。过表达OsHIPP16、OsHIPP29和OsHIPP56的水稻植株茎、叶和根的伸长率增加且干物质质量更大, 表现出对过量Cd耐受能力增强的同时, 还显著降低幼苗根、茎、叶和水稻籽粒中的Cd含

量; 敲除突变株 *oshipp16*、*oshipp29* 以及 *oshipp56* 的生长状态则受到明显抑制, 并且在各组织中积累更多的 Cd (Zhang et al., 2020; Cao et al., 2022b; Zhao et al., 2022)。与之相反, *OsHIPP42* 过表达转基因株系幼苗根系中的 Cd 积累更多, 突变株系 *oshipp-42* 根、茎、叶和籽粒中的 Cd 含量则普遍较低(Khan et al., 2020)。由此可见, 水稻中的 HIPP 蛋白可能与金属转运体协同作用, 共同调控有毒重金属 Cd 的吸收与外排(图2)。HIPP 参与植物重金属稳态和解毒过程的生物学功能详见表1。

对于植物而言, Cd 属于非功能性和非营养性微量重金属元素, 对水稻生理生化和形态等产生一定的毒害作用。目前, 植物细胞内 Cd 稳态机制的假说认为: HIPP 蛋白通过捕获细胞质中的游离 Cd^{2+} , 阻止其与其它功能性蛋白质结合(Suzuki et al., 2002; Tehtseen et al., 2010)。事实上, Cd 对细胞产生毒性的直

接原因恰好在于 Cd^{2+} 与其它二价离子(如 Zn^{2+} 和 Ca^{2+}) 化学性质的相似性(Clemens, 2006)。这种相似性使得 Cd^{2+} 取代必需微量元素的离子, 从而干扰依赖 Zn^{2+} (或 Ca^{2+}) 的正常生理过程(Clemens, 2006; Villiers et al., 2011)。该假说有待进一步验证。

金属伴侣蛋白酵母 ATX1 (最早被定义) 在传递金属离子时, 主要依赖其赖氨酸中带正电荷的区域与铜转运蛋白 CCC2 带负电荷的氨基酸形成的静电互作(Pufahl et al., 1997)。Gao 等(2009)通过酵母双杂交系统发现, 拟南芥 AtHIPP26 与酰基辅酶 A 结合蛋白 ACBP2 (acyl-CoA-binding protein 2) 间存在相互作用。此外, AtHIPP27 可能是特异性泛素蛋白酶 UBP16 (ubiquitin-specific protease 16) 的靶蛋白, 二者互作赋予植物对 Cd 的耐受性(Zhao et al., 2013)。基于此, 研究人员提出植物体内 Cd 稳态机制的又一途径, 即 HIPP 可能通过与一些功能蛋白(如金属转运蛋白)

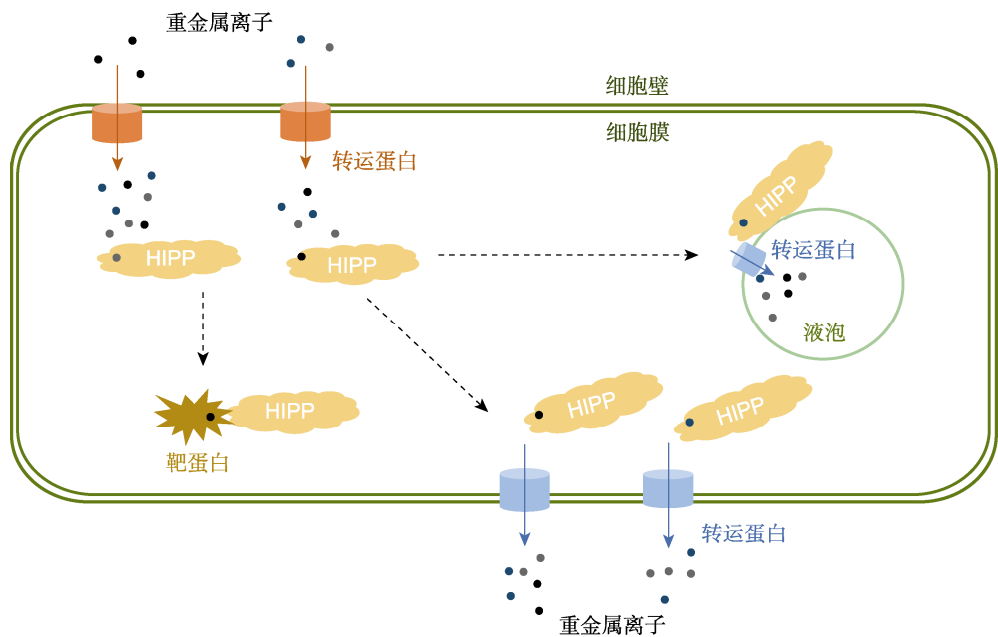


图2 HIPP 蛋白参与调控植物细胞内金属稳态

重金属离子通过金属转运蛋白(如 ZIPs 和 HMAs)进入细胞, 随后被细胞质中的 HIPP 蛋白主动螯合, HIPP 蛋白将金属离子运输至相应的靶蛋白处。对于过量或有毒重金属离子, HIPP 蛋白一方面将其转运至质膜外排转运蛋白, 进行主动外排; 另一方面通过液泡膜转运蛋白(如 HMAs)将其运送至液泡中隔离。

Figure 2 HIPP proteins are involved in the metal homeostasis regulation in plant cells

Heavy metal ions enter the cells by metal transporters (such as ZIPs, and HMAs), which are actively chelated by HIPP proteins in the cytoplasm and then subsequently transported into target proteins. For excess or toxic metal ions, on the one hand, they can be actively transferred by HIPP proteins to the plasma membrane efflux transporters; on the other hand, they can be also isolated into the vacuole via vacuole membrane transporters (such as HMAs).

表1 植物体内HIPP基因具有维持重金属稳态和解毒的生物学功能

Table 1 Functions of HIPPs in maintaining heavy metal homeostasis and detoxification in plants

物种	基因	功能	参考文献
拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtHIPP07</i>	结合Cu ²⁺ 、Ni ²⁺ 和Zn ²⁺ ; 耐受镉胁迫	Dykema et al., 1999
	<i>AtHIPP06</i>	结合Cu ²⁺ 和Hg ²⁺ ; 耐受镉胁迫	Suzuki et al., 2002
	<i>AtHIPP26</i>	结合Pb ²⁺ 、Cd ²⁺ 和Cu ²⁺ ; 耐受镉胁迫	Gao et al., 2009
	<i>AtHIPP20/21/22</i>	突变体植株对镉敏感	Tehseen et al., 2010
	<i>AtHIPP27</i>	增强酵母镉胁迫的耐受性	Zhao et al., 2013
水稻 (<i>Oryza sativa</i>)	<i>OsHIPP42</i>	耐受镉胁迫	Khan et al., 2019
	<i>OsHIPP28</i>	响应Zn ²⁺ 和Fe ²⁺ 诱导表达	Khan et al., 2019
	<i>OsHIPP34</i>		
	<i>OsHIPP60</i>		
	<i>OsHIPP29</i>	耐受镉和锌胁迫	Zhang et al., 2020
	<i>OsHIPP24</i>	结合Cd ²⁺ 和Cu ²⁺ ; 酵母异源表达体系耐受镉胁迫	Chen and Xiong, 2021
	<i>OsHIPP56</i>	耐受镉和锌胁迫	Zhao et al., 2022
	<i>OsHIPP16</i>	耐受镉胁迫	Cao et al., 2022b
	<i>OsHIPP33</i>	维持水稻植株锌和铁稳态	Cao et al., 2022a
	<i>OsHIPP9</i>	结合Cd ²⁺ 和Cu ²⁺ ; 增强酵母镉胁迫的耐受性	Xiong et al., 2023
小麦 (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>OsHIPP17</i>	降低酵母镉胁迫的耐受性	Shi et al., 2023
	<i>TaHIPP1</i>	增强酵母盐胁迫和铜胁迫的耐受性	Zhang et al., 2015

互作, 将金属离子传递给其靶蛋白以保证正确的金属转运和分配, 维持植物体内金属稳态(图2)。

3 HIPP参与植物体非生物胁迫响应

HIPP除在细胞质中螯合金属离子, 还可能以一种更复杂的机制参与植物对非生物胁迫的响应(表2; 图3)。Barth等(2009)研究发现, 干旱和冷害胁迫均可以显著诱导拟南芥维管组织中*AtHIPP26*的表达, 并证实*AtHIPP26*通过HMA的2个半胱氨酸残基与干旱胁迫相关转录因子*AtHB29* (Homeobox Protein 29)的锌指结构域直接互作。此外, 与*AtHIPP26*在系统进化树上属同一簇的蛋白质(*AtHIPP20*、*21*、*22*、*23*、*24*、*27*和*30*)也能与*AtHB29*互作, 说明干旱胁迫下HIPP家族多个成员可能存在协同作用, 通过激活干旱响应基因的表达在植物耐旱性方面发挥作用(Barth et al., 2009)。

De Abreu-Neto等(2013)在水稻HIPP家族中鉴定到*OsHIPP41*, 其与*AtHIPP26*编码序列的同源性为61.6%。实时荧光定量PCR表明, *OsHIPP41*在正常条件下表达水平较低, 但在干旱和寒冷胁迫下表达量显著上调。他们还发现, 水稻*OsHIPP09*、*OsHIPP23*

和*OsHIPP40*在干旱胁迫时下调表达, *OsHIPP11*和*OsHIPP45*在冷胁迫时被抑制(De Abreu-Neto et al., 2013)。上述结果表明, HIPP在植物响应非生物胁迫中可能也存在一定的功能分化(图3)。

除模式植物外, HIPP参与植物对非生物胁迫响应过程的现象在多个物种中也有报道。大麦HIPP基因家族成员*HvFP1*是1个在低温、干旱和强光胁迫下瞬时发生改变的逆境响应基因, 并且在脱落酸(ABA)处理以及叶片衰老过程中高水平表达, 暗示*HvFP1*可能参与多种环境变化的调控过程(Barth et al., 2004); 小麦*TaHIPP1*受盐胁迫、ABA和机械损伤诱导, 异源表达*TaHIPP1*的酿酒酵母对盐胁迫的耐受性增强(Zhang et al., 2015); 在拟南芥中过表达葡萄(*Vitis vinifera*) *VvHIPP21*基因可降低植株对低温以及干旱胁迫的耐受性(Zheng et al., 2023); 在藜麦(*Chenopodium quinoa*)中过表达*CqHIPP34*可以提高其耐旱性(Sun et al., 2022)。

4 HIPP参与植物-病原体互作

有研究表明, HIPP还可参与植物与病原体间的互作, 主要通过促进真菌侵染或抑制植物免疫的方式, 在植

表2 已鉴定的HIPP在植物响应生物和非生物胁迫中的作用

Table 2 Roles of identified HIPPs in plant responses to biotic and abiotic stress

物种	基因	功能	参考文献
拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtHIPP26</i>	对干旱、盐和冷害胁迫转录响应; 与干旱胁迫相关转录因子AtHB29互作	Barth et al., 2009
	<i>AtHIPP03</i>	调控水杨酸依赖的病原菌应答途径	Zschiesche et al., 2015
	<i>AtHIPP01</i>	触发细胞分裂素氧化/脱氢酶CKX1的降解	Guo et al., 2021
水稻 (<i>Oryza sativa</i>)	<i>OsHIPP09</i>	对干旱胁迫转录响应	De Abreu-Neto et al., 2013
	<i>OsHIPP23</i>	对干旱胁迫转录响应	De Abreu-Neto et al., 2013
	<i>OsHIPP40</i>	对干旱胁迫转录响应	De Abreu-Neto et al., 2013
	<i>OsHIPP11</i>	对冷害胁迫转录响应	De Abreu-Neto et al., 2013
	<i>OsHIPP45</i>		
	<i>OsHIPP41</i>	对干旱和冷害胁迫转录响应	De Abreu-Neto et al., 2013
	<i>OsHIPP05</i>	促进水稻体内稻瘟病菌生长	Fukuoka et al., 2001
	<i>OsHIPP04</i>	与寄生线虫效应蛋白MgMO289互作, 抑制植物免疫	Song et al., 2001
	<i>OsHIPP19</i>	与稻瘟病菌效应蛋白AVR-Pik的所有变体互作, 激活植物免疫	Maidment et al., 2021
大麦 (<i>Hordeum vulgare</i>)	<i>HvFP1</i>	对干旱、盐和冷害胁迫转录响应	Barth et al., 2004
小麦 (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>TaHIPP1</i>	对干旱、低温、强光、脱落酸胁迫和叶片衰老转录响应	Zhang et al., 2015
葡萄 (<i>Vitis vinifera</i>)	<i>VvHIPP21</i>	降低植株对低温和干旱胁迫的耐受性	Zheng et al., 2023
藜麦 (<i>Chenopodium quinoa</i>)	<i>CqHIPP34</i>	提高藜麦的耐旱性	Sun et al., 2022

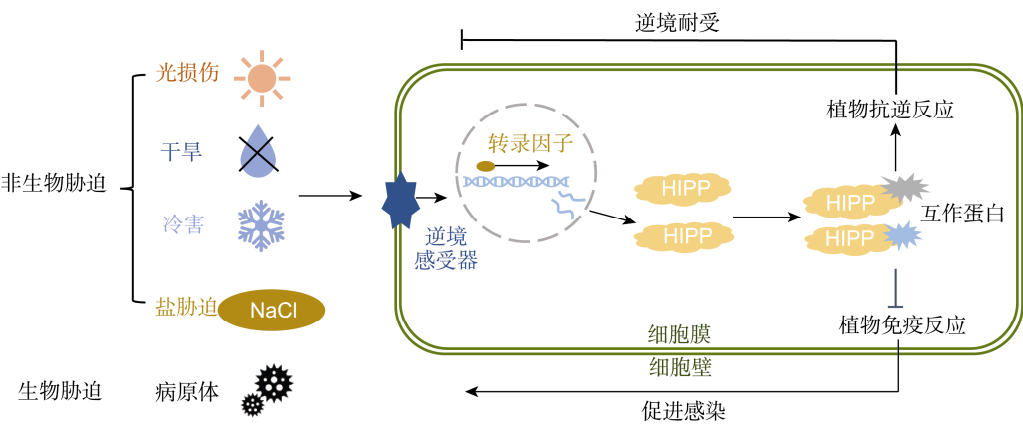


图3 HIPP蛋白参与调控植物生物和非生物胁迫响应的工作模型

植物响应环境胁迫信号(如光照、干旱、寒冷、盐胁迫和病原体攻击)后, 会触发HIPP基因的转录和翻译。对非生物胁迫而言, HIPP蛋白与下游靶蛋白互作, 从而激活干旱/冷害响应机制及水杨酸信号合成等植物抗逆反应通路, 最终调节植物对非生物胁迫的抗性 or 耐受性; 对生物胁迫而言, 目前鉴定到的多数HIPP蛋白与靶蛋白的结合则常发挥负调控作用, 抑制植物免疫, 加重感染。

Figure 3 A working model of HIPP proteins in biotic and abiotic stress tolerance in plants

The expressions of some *HIPPs* could be affected by environmental stress stimuli (such as light, drought, cold, salt and pathogen attack). Under abiotic stresses, *HIPPs* interact with target proteins to activate downstream signaling, such as drought/cold responses and salicylic acid synthesis pathway thereby to enhance plant resistance or tolerance. By contrast, in some biotic stresses, a couple of *HIPPs* with target proteins have been shown to play negative roles in plant immunity via protein-protein interactions.

物应对生物胁迫过程中发挥负调控作用(表2)。Fukuoka和Okuno (2001)从日本抗病水稻栽培品种Owarihatamochi中克隆了1个隐性抗稻瘟病基因*pi21*。其显性等位基因*Pi21*是感病基因, 定位于4号染色体, 编码1个含有HIPP家族保守的HMA结构域、异戊二烯化基序以及富含脯氨酸序列的OsHIPP05蛋白(Fukuoka and Okuno, 2001; Fukuoka et al., 2009)。OsHIPP05蛋白的野生型形式可增强稻瘟病菌菌丝在宿主水稻叶肉细胞中生长进而导致水稻感病; 隐性等位基因*pi21*编码蛋白由于缺失一段富含脯氨酸序列, 激活水稻免疫反应, 阻止稻瘟病菌丝在水稻细胞中生长(Fukuoka et al., 2009)。这一现象表明, OsHIPP05蛋白中富含脯氨酸基序的完整性与稻瘟病敏感性有极为密切的联系(Nakao et al., 2011)。

Zschiesche等(2015)用致病型丁香假单胞菌番茄致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)接种拟南芥叶片, 发现*AtHIPP03*受到快速且强烈的诱导表达, 这与已知病原响应基因的表达模式相似。对过表达*AtHIPP03*的拟南芥植株进行转录组测序及分析, 发现*AtHIPP03*过表达可影响400多个基因的表达, 其中53%的差异表达基因与生物胁迫过程相关, 并且大多参与水杨酸(salicylic acid, SA)介导的病原菌应答反应(Zschiesche et al., 2015)。基因共表达分析表明, *AtHIPP03*过表达抑制水杨酸合成通路上游基因的表达, 如肽酰基精氨酸脱亚氨酶编码基因*PAD4* (peptidylarginine deiminase 4)和水杨酸诱导缺陷基因*SID2* (salicylic acid-induction deficient 2), 导致水杨酸盐合成通路受阻, 进而抑制植物免疫信号的传递(Abreu and Munné-Bosch, 2009; Zschiesche et al., 2015)。这些结果表明, 在拟南芥中*AtHIPP03*很可能作为水杨酸途径的负调控因子发挥作用(Zschiesche et al., 2015)。

当寄生线虫侵染植物时, 会向细胞内分泌效应因子, 促进植物感染。MgMO289是仅在拟禾本科根结线虫(*Meloidogyne graminicola*)中表达的效应因子, 在植物细胞中与OsHIPP04互作。与野生型相比, 过表达*OsHIPP04*或MgMO289的水稻植株对禾谷镰刀菌的敏感性增强, OsHIPP04的靶蛋白铜/锌-超氧化物歧化酶cCu/Zn-SOD2 (copper/zinc-superoxide dismutase2)活性增强, 超氧阴离子自由基含量降低, 从而抑制植物的免疫反应(Song et al., 2021)。

稻瘟病菌侵染水稻叶片后, 同样会向叶细胞内释放效应蛋白AVR-Pik (Dangl and Jones, 2001)。迄今为止, 已鉴定到6个AVR-Pik变异形态(A-F) (Yoshida et al., 2009; Kanzaki et al., 2012; Wu et al., 2014; Longya et al., 2019)。植物特异性免疫系统的NLR (nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat)受体蛋白可通过直接或间接方式, 识别病原菌分泌的效应因子, 激活植物的第2层免疫系统, 抵御病原菌侵染(Dangl and Jones, 2001; Jones and Dangl, 2006; van der Hoorn and Kamoun, 2008; Jones et al., 2016)。在水稻中识别AVR-Pik的NLR蛋白是Pik-1/Pik-2, 其中Pik-1含有1个集成的HMA结构域, 可识别并结合AVR-Pik变体A、B、D和E, 激活免疫反应, 但是不能识别变体C和F (Ashikawa et al., 2008; Maqbool et al., 2015)。Maidment等(2021)研究发现, 水稻OsHIPP19的HMA能与AVR-Pik所有变体互作, 推测可能是由于OsHIPP19-HMA第46位天冬酰胺残基(Asn)和第34位谷氨酸残基(Glu)空间构象发生了改变, 使其可与效应蛋白形成2个额外的氢键。该研究结果表明, 尽管上述大部分HIPP蛋白负调节植物的免疫反应, 但OsHIPP19是个例外, 暗示了一种可通过改造Pik-1蛋白产生稻瘟病菌抗性水平的新思路。

5 HIPP蛋白参与植物其它生理反应

HIPP蛋白除在植物抗逆胁迫中发挥作用外, 还参与植物生长发育等多种生理生化过程。错误折叠或未折叠的蛋白可在内质网中被识别, 并逆向运输至细胞质, 经泛素化后由蛋白酶体降解, 该过程称为内质网相关蛋白降解(ER associated degradation, ERAD) (Berner et al., 2018; Strasser, 2018; Wu and Rapoport, 2018)。细胞分裂素氧化/脱氢酶(cytokinin oxidase/dehydrogenase, CKX)是降解内源性细胞分裂素的关键酶。拟南芥中, 通过酵母双杂交筛选及验证, 发现CKX蛋白与HIPP家族成员存在特异性互作。过表达*AtHIPP01*可激活CKX1的ERAD, 触发CKX1降解; 而过表达*AtHIPP06*和*AtHIPP07*, CKX1稳定在与HIPP蛋白形成的复合物中, 阻碍其ERAD途径的某些步骤, CKX蛋白水平较高(Schmülling et al., 2003; Guo et al., 2021)。CKX蛋白失调引起细胞分裂素信号活性的相应变化, 而细胞分裂素积累反过来抑制HIPP基因的转录, 这预示HIPP还参与植物

体内细胞分裂素稳态的反馈调节机制(图3)。

此外, HIPP还可能参与调控植物的生长发育过程。突变体株系*oshipp29*的株高、干重和叶绿素含量降低, 过表达株系则表现出相反的表型(Zhang et al., 2020); *OsHIPP24*为水稻正常生长所必需, 过表达或敲除*OsHIPP24*均会导致水稻的生长受阻(Chen and Xiong, 2021); *AtHIPP06*和*AtHIPP07*过表达株系出现生长状态变弱、莲座叶变小、开花延迟、细胞体积变小和气孔指数降低的表型(Guo et al., 2021)。过表达*AtHIPP03*、*AtHIPP06*和*AtHIPP07*的拟南芥株系均表现出明显的开花延迟, 暗示HIPP家族蛋白可能参与植物的开花调控(Zschiesche et al., 2015; Guo et al., 2021)。Stone等(2001)和Moyroud等(2010)对*AtHIPP03*过表达株系叶片进行转录组分析, 发现许多开花调控基因的表达水平在花发育中变化显著, 如转录因子编码基因*LEAFY*和*LEAFY COTYLEDON 2*, 但它们在花发育中的确切作用机制有待探究。

6 总结与展望

HIPP是一组特殊的金属伴侣蛋白, N端含有1–2个HMA结构域, C端含异戊二烯化结构域, 生物学功能多样, 可以介导植物的生长发育和环境胁迫应答(De Abreu-Neto et al., 2013; Khan et al., 2019)。生物信息学分析发现, 除模式植物拟南芥和水稻外, 在小麦、玉米和大麦等一系列维管植物中也鉴定到大量的HIPP家族蛋白, 但目前我们对其生物学功能还知之甚少(De Abreu-Neto et al., 2013)。

由于HIPP蛋白含有HMA结构域, 其响应重金属的反应备受关注。有研究显示, 拟南芥和水稻中许多HIPP的转录在重金属(如Fe、Mn、Cu、Zn和Cd)胁迫下发生了改变, 表明HIPP可能介导植物体内重金属元素的稳态(Suzuki et al., 2002; Gao et al., 2009; Khan et al., 2019; Zhang et al., 2020; Cao et al., 2022b; Zhao et al., 2022)。

HMA的功能是跨膜转运重金属, 以维持内环境稳态。例如, 水稻中定位于质膜的*OsHMA9*对植物细胞中的 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 等重金属离子具有外排作用(Lee et al., 2007); *OsHMA1*和*OsHMA2*参与 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 的泵出(Takahashi et al., 2012)。酵母双杂交实验表明, *AtHMA5*通过HMA结构域与拟南芥ATX1铜伴侣蛋白(酵母ATX1的同源蛋白)互作, 在植

物细胞内 Cu^{2+} 的区室化和解毒中发挥作用(Andrés-Colás et al., 2006); 同时, 拟南芥ATX1也能将 Cu^{2+} 转运至*AtHMA7*, 用于乙烯合成和信号转导(Li et al., 2017)。这些研究结果表明, 具有相似HMA结构域的金属伴侣蛋白和HMA家族成员也可能共同作用来调节金属稳态。

土壤重金属污染抑制植物的正常生长, 对农作物产量、粮食安全和人类健康均有不利影响(Komárek et al., 2013)。许多研究表明, 植物对重金属的积累很大程度上由基因控制。因此, 选择和培育重金属富集水平较低的作物仍是目前保障粮食安全的主要措施。水稻是植物界遗传资源最丰富的物种之一, 具有多种金属抗性(或耐受性)基因, 因而可进行有效的基因工程改造以获得低Cd积累品种(Hu et al., 2016; Khan et al., 2020; Rono et al., 2021)。HIPPs作为金属伴侣蛋白, 通过在细胞内介导过量金属离子区室隔离和外排, 进而实现植物体重金属解毒。同时, 突变体*oshipp42*及过表达*OsHIPP16*、*OsHIPP29*和*OsHIPP56*的转基因水稻株系均增强了对Cd的耐受性, 降低了根和地上部组织及籽粒中的Cd积累, 表明这些HIPP基因在水稻低Cd培育过程中具有一定的应用潜力(Feng et al., 2020; Zhang et al., 2020; Cao et al., 2022b; Zhao et al., 2022)。

多数HIPP蛋白在HMA结构域和异戊二烯化元件之间还存在脯氨酸和甘氨酸重复富集区。已有研究表明, HIPP蛋白HMA结构域中的半胱氨酸残基(Cys)除直接结合重金属离子, 还能与干旱胁迫相关转录因子*AtHB29*和稻瘟病菌的效应蛋白*AVR-Pik*互作; 位于HIPP蛋白的脯氨酸基序也与稻瘟病真菌侵染有密切关系(Fukuoka et al., 2009; Robinson and Winge, 2010; Maidment et al., 2021)。由此可见, HIPP丰富的功能结构域是该蛋白家族功能多样的一个重要原因, 且同一HIPP蛋白可能参与植物体内多个生理调控通路。因而, 寻找HIPP的上下游互作蛋白, 对整体解析其在植物中的功能具有重要意义。

HIPP蛋白功能的多元化可能与其家族成员表达模式的多样性有关。De Abreu-Neto等(2013)对拟南芥和水稻的HIPP蛋白微阵列表达数据进行分析, 发现HIPP家族并不存在所有成员共有的保守表达模式。一部分HIPP组成型表达, 如水稻*OsHIPP59*, 其表达量在水稻各组织以及各生育期均显著高于其余

OsHIPPs, 这暗示着 OsHIPP59 在水稻中可能作为“管家基因”存在, 参与维持细胞基本生命活动。但需要说明的是, 目前对该基因尚无深入研究。另一部分 HIPP 的表达则更局限于特定的组织或植物生长发育阶段。例如, OsHIPP21 和 OsHIPP28 在叶中特异性高表达; OsHIPP13 和 OsHIPP48 主要在根中表达; 而 OsHIPP10 只在花序和生殖组织中表达。这些 HIPP 蛋白在植物细胞中的不同定位, 在契合各自生物学功能的同时, 也暗示其对环境变化的适应。

后续研究也发现, HIPP 蛋白的表达模式常与其特定的功能相适应。以参与水稻重金属胁迫响应的 HIPP 为例, OsHIPP24 在根成熟区中柱和茎节及节间的维管束中高表达, 表明其可能具有将金属载入维管束的作用; OsHIPP09 的转录本主要存在于营养生长期水稻的根和节点, OsHIPP09 突变及过表达株系中节点处 Cd 含量显著变化的现象也表明, OsHIPP09 参与水稻茎部节点处对 Cd 的滞留反应; OsHIPP16 在根和叶包括木质部、韧皮部和中柱内皮层在内的维管组织中大量表达, 表明 OsHIPP16 可能调节重金属离子在根和叶中的分配 (Chen and Xiong, 2021; Cao et al., 2022b; Xiong et al., 2023)。基于植物 HIPP 蛋白的组织特异性表达特征, 研究人员对其各成员的功能进行了猜想和假设, 为深入研究植物 HIPP 家族蛋白功能奠定了基础。

作者贡献声明

张雅琦: 构思文章思路, 查阅相关文献, 撰写文章; 戎福喜: 查阅相关文献, 辅助完成生物信息数据分析; 沈雨欣: 完成生物信息数据分析, 绘制 HIPP 基因家族进化树; 洪哲源, 张蓝天: 查阅相关文献, 提供项目基金支持; 武亮: 确定文章主题, 审阅修改文章初稿, 提供项目基金支持。

参考文献

- Abreu ME, Munné-Bosch S (2009). Salicylic acid deficiency in NahG transgenic lines and *sid2* mutants increases seed yield in the annual plant *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* **60**, 1261–1271.
- An TT, Huang D, Wang H, Zhang Y, Chen YL (2021). Research advances in plant physiological and biochemical mechanisms in response to cadmium stress. *Chin Bull Bot* **56**, 347–362. (in Chinese)

- 安婷婷, 黄帝, 王浩, 张一, 陈应龙 (2021). 植物响应镉胁迫的生理生化机制研究进展. *植物学报* **56**, 347–362.
- Andrés-Colás N, Sancenón V, Rodríguez-Navarro S, Mayo S, Thiele DJ, Ecker JR, Puig S, Peñarrubia L (2006). The *Arabidopsis* heavy metal P-type ATPase HMA5 interacts with metallochaperones and functions in copper detoxification of roots. *Plant J* **45**, 225–236.
- Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, Kanamori H, Wu JZ, Matsumoto T, Ono K, Yano M (2008). Two adjacent nucleotide-binding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer *Pikm*-specific rice blast resistance. *Genetics* **180**, 2267–2276.
- Barth O, Vogt S, Uhlemann R, Zschiesche W, Humbeck K (2009). Stress induced and nuclear localized HIPP26 from *Arabidopsis thaliana* interacts via its heavy metal associated domain with the drought stress related zinc finger transcription factor ATHB29. *Plant Mol Biol* **69**, 213–226.
- Barth O, Zschiesche W, Siersleben S, Humbeck K (2004). Isolation of a novel barley cDNA encoding a nuclear protein involved in stress response and leaf senescence. *Physiol Plant* **121**, 282–293.
- Berner N, Reutter KR, Wolf DH (2018). Protein quality control of the endoplasmic reticulum and ubiquitin-proteasome-triggered degradation of aberrant proteins: yeast pioneers the path. *Annu Rev Biochem* **87**, 751–782.
- Cao HW, Li C, Zhang BQ, Rono JK, Yang ZM (2022a). A metallochaperone HIPP33 is required for rice zinc and iron homeostasis and productivity. *Agronomy* **12**, 488.
- Cao HW, Zhao YN, Liu XS, Rono JK, Yang ZM (2022b). A metal chaperone OsHIPP16 detoxifies cadmium by repressing its accumulation in rice crops. *Environ Pollut* **311**, 120058.
- Chen GQ, Xiong S (2021). OsHIPP24 is a copper metallochaperone which affects rice growth. *J Plant Biol* **64**, 145–153.
- Clemens S (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* **88**, 1707–1719.
- Crowell DN (2000). Functional implications of protein isoprenylation in plants. *Prog Lipid Res* **39**, 393–408.
- Dangl JL, Jones JDG (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* **411**, 826–833.
- De Abreu-Neto JB, Turchetto-Zolet AC, de Oliveira LFV, Bodanese Zanettini MH, Margis-Pinheiro M (2013). Heavy metal-associated isoprenylated plant protein (HIPP): characterization of a family of proteins exclusive to plants. *FEBS J* **280**, 1604–1616.

- Dykema PE, Sipes PR, Marie A, Biermann BJ, Crowell DN, Randall SK** (1999). A new class of proteins capable of binding transition metals. *Plant Mol Biol* **41**, 139–150.
- Feng SJ, Liu XS, Ma LY, Khan IU, Rono JK, Yang ZM** (2020). Identification of epigenetic mechanisms in paddy crop associated with lowering environmentally related cadmium risks to food safety. *Environ Pollut* **256**, 113464.
- Feng SJ, Liu XS, Tao H, Tan SK, Chu SS, Oono Y, Zhang XD, Chen J, Yang ZM** (2016). Variation of DNA methylation patterns associated with gene expression in rice (*Oryza sativa*) exposed to cadmium. *Plant Cell Environ* **39**, 2629–2649.
- Fukuoka S, Okuno K** (2001). QTL analysis and mapping of *pi21*, a recessive gene for field resistance to rice blast in Japanese upland rice. *Theor Appl Genet* **103**, 185–190.
- Fukuoka S, Saka N, Koga H, Ono K, Shimizu T, Ebana K, Hayashi N, Takahashi A, Hirochika H, Okuno K, Yano M** (2009). Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. *Science* **325**, 998–1001.
- Gao W, Xiao S, Li HY, Tsao SW, Chye ML** (2009). *Arabidopsis thaliana* acyl-CoA-binding protein ACBP2 interacts with heavy-metal-binding farnesylated protein AtFP6. *New Phytol* **181**, 89–102.
- Guo TQ, Weber H, Niemann MCE, Theisl L, Leonte G, Novák O, Werner T** (2021). *Arabidopsis* HIPP proteins regulate endoplasmic reticulum-associated degradation of CKX proteins and cytokinin responses. *Mol Plant* **14**, 1918–1934.
- Hu YA, Cheng HF, Tao S** (2016). The challenges and solutions for cadmium-contaminated rice in China: a critical review. *Environ Int* **92–93**, 515–532.
- Huffman DL, O'Halloran TV** (2001). Function, structure, and mechanism of intracellular copper trafficking proteins. *Annu Rev Biochem* **70**, 677–701.
- Hung IH, Casareno RLB, Labesse G, Mathews FS, Gitlin JD** (1998). HAH1 is a copper-binding protein with distinct amino acid residues mediating copper homeostasis and antioxidant defense. *J Biol Chem* **273**, 1749–1754.
- Jones JDG, Dangl JL** (2006). The plant immune system. *Nature* **444**, 323–329.
- Jones JDG, Vance RE, Dangl JL** (2016). Intracellular innate immune surveillance devices in plants and animals. *Science* **354**, aaf6395.
- Kanzaki H, Yoshida K, Saitoh H, Fujisaki K, Hirabuchi A, Alaux L, Fournier E, Tharreau D, Terauchi R** (2012). Arms race co-evolution of *Magnaporthe oryzae* AVR-Pik and rice *Pik* genes driven by their physical interactions. *Plant J* **72**, 894–907.
- Khan IU, Rono JK, Liu XS, Feng SJ, Li H, Chen X, Yang ZM** (2020). Functional characterization of a new metallo-chaperone for reducing cadmium concentration in rice crop. *J Clean Prod* **272**, 123152.
- Khan IU, Rono JK, Zhang BQ, Liu XS, Wang MQ, Wang LL, Wu XC, Chen X, Cao HW, Yang ZM** (2019). Identification of novel rice (*Oryza sativa*) HPP and HIPP genes tolerant to heavy metal toxicity. *Ecotox Environ Safe* **175**, 8–18.
- Komárek M, Vaněk A, Ettler V** (2013). Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides—a review. *Environ Pollut* **172**, 9–22.
- Lee S, Kim YY, Lee Y, An G** (2007). Rice P_{1B} -type heavy-metal ATPase, OsHMA9, is a metal efflux protein. *Plant Physiol* **145**, 831–842.
- Li H, Luo N, Li YW, Cai QY, Li HY, Mo CH, Wong MH** (2017). Cadmium in rice: transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures. *Environ Pollut* **224**, 622–630.
- Liu H, Zhao HX, Wu LH, Liu AN, Zhao FJ, Xu WZ** (2017). Heavy metal ATPase 3 (HMA3) confers cadmium hyper-tolerance on the cadmium/zinc hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*. *New Phytol* **215**, 687–698.
- Liu XS, Feng SJ, Zhang BQ, Wang MQ, Cao HW, Rono JK, Chen X, Yang ZM** (2019). OsZIP1 functions as a metal efflux transporter limiting excess zinc, copper and cadmium accumulation in rice. *BMC Plant Biol* **19**, 283.
- Longya A, Chaipanya C, Franceschetti M, Maidment JHR, Banfield MJ, Jantasuriyarat C** (2019). Gene duplication and mutation in the emergence of a novel aggressive allele of the AVR-Pik effector in the rice blast fungus. *Mol Plant-Microbe Interact* **32**, 740–749.
- Maidment JHR, Franceschetti M, Maqbool A, Saitoh H, Jantasuriyarat C, Kamoun S, Terauchi R, Banfield MJ** (2021). Multiple variants of the fungal effector AVR-Pik bind the HMA domain of the rice protein OsHIPP19, providing a foundation to engineer plant defense. *J Biol Chem* **296**, 100371.
- Maqbool A, Saitoh H, Franceschetti M, Stevenson CEM, Uemura A, Kanzaki H, Kamoun S, Terauchi R, Banfield MJ** (2015). Structural basis of pathogen recognition by an integrated HMA domain in a plant NLR immune receptor. *eLife* **4**, e08709.
- Moyroud E, Kusters E, Monniaux M, Koes R, Parcy F** (2010). LEAFY blossoms. *Trends Plant Sci* **15**, 346–352.

- Muller PAJ, Klomp LWJ (2009). ATOX1: a novel copper-responsive transcription factor in mammals? *Int J Biochem Cell Biol* **41**, 1233–1236.
- Nakao M, Nakamura R, Kita K, Inukai R, Ishikawa A (2011). Non-host resistance to penetration and hyphal growth of *Magnaporthe oryzae* in *Arabidopsis*. *Sci Rep* **1**, 171.
- Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol* **32**, 268–274.
- Pufahl RA, Singer CP, Peariso KL, Lin SJ, Schmidt PJ, Fahrni CJ, Culotta VC, Penner-Hahn JE, O'Halloran TV (1997). Metal ion chaperone function of the soluble Cu(I) receptor Atx1. *Science* **278**, 853–856.
- Robinson NJ, Winge DR (2010). Copper metallochaperones. *Annu Rev Biochem* **79**, 537–562.
- Rodríguez-Concepción M, Yalovsky S, Gruissem W (1999). Protein prenylation in plants: old friends and new targets. *Plant Mol Biol* **39**, 865–870.
- Rono JK, Sun D, Yang ZM (2022). Metallochaperones: a critical regulator of metal homeostasis and beyond. *Gene* **822**, 146352.
- Rono JK, Wang LL, Wu XC, Cao HW, Zhao YN, Khan IU, Yang ZM (2021). Identification of a new function of metallothionein-like gene *OsMT1e* for cadmium detoxification and potential phytoremediation. *Chemosphere* **265**, 129136.
- Schmülling T, Werner T, Riefler M, Krupková E, Bartrina Y, Manns I (2003). Structure and function of cytokinin oxidase/dehydrogenase genes of maize, rice, *Arabidopsis* and other species. *J Plant Res* **116**, 241–252.
- Shi Y, Jiang WJ, Li MY, Jiang N, Huang YY, Wang MT, Du ZY, Chen J, Li JH, Wu LY, Zhong M, Yang J, Huang J (2023). Metallochaperone protein OsHIPP17 regulates the absorption and translocation of cadmium in rice (*Oryza sativa* L.). *Int J Biol Macromol* **245**, 125607.
- Song HD, Lin BR, Huang QL, Sun LH, Chen JS, Hu LL, Zhuo K, Liao JL (2021). The *Meloidogyne graminicola* effector MgMO289 targets a novel copper metallochaperone to suppress immunity in rice. *J Exp Bot* **72**, 5638–5655.
- Stone SL, Kwong LW, Yee KM, Pelletier J, Lepiniec L, Fischer RL, Goldberg RB, Harada JJ (2001). *LEAFY COTYLEDON2* encodes a B3 domain transcription factor that induces embryo development. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 11806–11811.
- Strasser R (2018). Protein quality control in the endoplasmic reticulum of plants. *Annu Rev Plant Biol* **69**, 147–172.
- Sun WJ, Wei JL, Wu GM, Xu HS, Chen Y, Yao M, Zhan JY, Yan J, Wu N, Chen H, Bu TL, Tang ZZ, Li QF (2022). CqZF-HD14 enhances drought tolerance in quinoa seedlings through interaction with CqHIPP34 and CqNAC79. *Plant Sci* **323**, 111406.
- Suzuki N, Yamaguchi Y, Koizumi N, Sano H (2002). Functional characterization of a heavy metal binding protein Cdl19 from *Arabidopsis*. *Plant J* **32**, 165–173.
- Takahashi R, Ishimaru Y, Shimo H, Ogo Y, Senoura T, Nishizawa NK, Nakanishi H (2012). The OsHMA2 transporter is involved in root-to-shoot translocation of Zn and Cd in rice. *Plant Cell Environ* **35**, 1948–1957.
- Tehseen M, Cairns N, Sherson S, Cobbett CS (2010). Metallochaperone-like genes in *Arabidopsis thaliana*. *Metallomics* **2**, 556–564.
- van der Hoorn RAL, Kamoun S (2008). From guard to decoy: a new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell* **20**, 2009–2017.
- Villiers F, Ducruix C, Hugouvieux V, Jarno N, Ezan E, Garin J, Junot C, Bourguignon J (2011). Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches. *Proteomics* **11**, 1650–1663.
- Wu WH, Wang L, Zhang S, Li ZK, Zhang Y, Lin F, Pan QH (2014). Stepwise arms race between *AvrPik* and *Pik* alleles in the rice blast pathosystem. *Mol Plant Microbe Interact* **27**, 759–769.
- Wu XD, Rapoport TA (2018). Mechanistic insights into ER-associated protein degradation. *Curr Opin Cell Biol* **53**, 22–28.
- Xiong S, Kong XH, Chen GQ, Tian LH, Qian DD, Zhu Z, Qu LQ (2023). Metallochaperone OsHIPP9 is involved in the retention of cadmium and copper in rice. *Plant Cell Environ* **46**, 1946–1961.
- Yalovsky S, Rodríguez-Concepción M, Gruissem W (1999). Lipid modifications of proteins-slipping in and out of membranes. *Trends Plant Sci* **4**, 439–445.
- Yoshida K, Saitoh H, Fujisawa S, Kanzaki H, Matsumura H, Yoshida K, Tosa Y, Chuma I, Takano Y, Win J, Kamoun S, Terauchi R (2009). Association genetics reveals three novel avirulence genes from the rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*. *Plant Cell* **21**, 1573–1591.
- Zhang BQ, Liu XS, Feng SJ, Zhao YN, Wang LL, Rono JK, Li H, Yang ZM (2020). Developing a cadmium resistant rice genotype with *OsHIPP29* locus for limiting cadmium accumulation in the paddy crop. *Chemosphere* **247**,

125958.

Zhang X, Feng H, Feng C, Xu H, Huang X, Wang Q, Duan X, Wang X, Wei G, Huang L, Kang Z (2015). Isolation and characterisation of cDNA encoding a wheat heavy metal-associated isoprenylated protein involved in stress responses. *Plant Biol* **17**, 1176–1186.

Zhao JF, Zhou HP, Li XY (2013). Ubiquitin-specific protease16 interacts with a heavy metal associated isoprenylated plant protein27 and modulates cadmium tolerance. *Plant Signal Behav* **8**, e25680.

Zhao XX, Huang SQ, Tan WB, Xing W, Liu DL (2023). Identification and relative expression profile of HIPPs gene family cadmium stress in sugar beet. *Acta Agronomica Sinica* **49**, 3302–3314. (in Chinese)

赵晓鑫, 黄烁淇, 谭文勃, 兴旺, 刘大丽 (2023). 甜菜

HIPPs基因家族鉴定与镉胁迫下的表达分析. 作物学报 **49**, 3302–3314.

Zhao YN, Wang MQ, Li C, Cao HW, Rono JK, Yang ZM (2022). The metallochaperone OsHIPP56 gene is required for cadmium detoxification in rice crops. *Environ Exp Bot* **193**, 104680.

Zheng QL, Yu QH, Wu N, Yao WK, Li JD, Lv K, Xu WR (2023). A grape VvHOS1-interacting HIPP protein (VvHIPP21) negatively regulates cold and drought stress. *Environ Exp Bot* **207**, 105203.

Zschiesche W, Barth O, Daniel K, Böhme S, Rausche J, Humbeck K (2015). The zinc-binding nuclear protein HIPP3 acts as an upstream regulator of the salicylate-dependent plant immunity pathway and of flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol* **207**, 1084–1096.

Research Advances of Structure and Function of HIPP Family in Plants

Yaqi Zhang^{1,2}, Fuxi Rong², Yuxin Shen², Zheyuan Hong^{1,2}, Lantian Zhang^{1,2}, Liang Wu^{1,2*}

¹Hainan Institute of Zhejiang University, Sanya 572025, China; ²College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310000, China

Abstract Heavy metal-associated isoprenylated plant proteins (HIPPs) are a class of proteins characterized by the presence of heavy metal-associated domains (HMA) and C-terminal isoprenylation motifs in plants. Here, we introduce the structural characteristics of the HIPPs, review their potential roles in plant development and response to environmental changes (including biotic and abiotic stresses) as well as discuss their working mechanisms underlying their participation in heavy-metal homeostasis and detoxification. This comprehensive overview aims to provide valuable insights for future research on the HIPP family across diverse plant species.

Key words HIPPs, HMA, heavy metals

Zhang YQ, Rong FX, Shen YX, Hong ZY, Zhang LT, Wu L (2024). Research advances of structure and function of HIPP family in plants. *Chin Bull Bot* **59**, 659–670.

* Author for correspondence. E-mail: liangwu@zju.edu.cn

(责任编辑: 孙冬花)

通讯作者简介

武亮, 浙江大学长聘教授, 博士生导师, 主要从事作物非编码RNA、开花期调控、功能基因组学方面研究。曾主持国家自然科学基金重大研究计划和面上项目、浙江省杰出青年基金、浙江省自然科学基金等重点科研项目。近年来在 *Nature Communications*、*The Plant Cell*、*Molecular Plant* 和 *Science China-Life Sciences* 等著名期刊上发表论文多篇, 培养了包括浙江省杰出青年基金获得者和博新计划入选者在内的多名优秀青年科技人才。