



拟南芥COPT家族蛋白研究进展

王惠¹, 李谨谨², 徐金玉¹, 刘鹏¹, 张海燕^{1*}

¹天津师范大学生命科学学院, 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387

²中国科学院植物研究所北方资源植物重点实验室, 北京 100093

摘要 铜(Cu)是植物必需的微量元素, 作为多种酶的辅因子参与许多植物生理生化反应。Cu缺乏和过量均影响植物正常生长发育, 因此植物进化出精妙复杂的调控网络来严格控制植物体内的Cu含量。植物Cu转运蛋白COPT家族成员与Cu有很高的亲和力, 能够调节植物对Cu的吸收和转运, 在维持植物体内Cu稳态平衡过程中发挥重要作用。COPT蛋白涉及不同的Cu转运功能, 如从外界环境中摄取Cu、从细胞器中输出Cu、长距离运输Cu以及在不同器官间动用和再分配Cu。此外, COPT蛋白在其它离子的稳态平衡维持、昼夜节律性生物钟调控、植物激素合成和植物对激素信号的感受过程中也发挥重要作用。该文综述了模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) COPT家族各成员的表达和定位、调控机制以及生物学功能等方面的最新进展。

关键词 铜转运蛋白, COPT, Cu稳态, Cu吸收, 再分配

王惠, 李谨谨, 徐金玉, 刘鹏, 张海燕 (2019). 拟南芥COPT家族蛋白研究进展. 植物学报 54, 786–796.

Cu是有机体正常发育不可缺少的微量元素之一, 在生理条件下, Cu以还原态Cu⁺和氧化态Cu²⁺两种形式存在(房茜等, 2007; 赵雪芹等, 2012)。通过在两种状态之间相互转变, 使得Cu在多种植物蛋白中起氧化还原活性辅因子的作用, 影响质体蓝素蛋白、细胞色素c、Cu/Zn超氧化物歧化酶(Cu/Zn-SOD)、漆酶以及乙烯受体ETR1 (ethylene responsive 1)等的生物学活性, 参与植物体内光合作用、呼吸作用、活性氧的消除、细胞壁合成及激素信号转导等多种重要生物学过程(Raven et al., 1999; Gavnholt and Larsen, 2002; Gratão et al., 2005; Yruela, 2009; Komori and Higuchi, 2010; Yuan et al., 2010; 张红晓和张芬琴, 2011; Peñarrubia et al., 2015; 张美琪等, 2018)。

Cu的上述特性使其具有双重作用。一方面, Cu是植物的必需元素。另一方面, 作为一种重金属, Cu过量会对有机体产生毒害, 过量的Cu与生物大分子中的半胱氨酸、蛋氨酸和组氨酸侧链错误结合, 导致金属离子无法结合到正确位点或者造成蛋白质错误折叠, 使蛋白质等生物大分子失去活性; 同时, Cu过量会介导自由基和活性氧的产生, 对脂质、蛋白质和

DNA产生氧化损伤, 影响植物的新陈代谢和生长发育(Yu et al., 2008; Hänsch and Mendel, 2009; 赵艳等, 2010; 姚浩群, 2012; 王夏芳, 2015)。

为了解决Cu的这种双重性质造成的负面影响, 植物体形成了复杂的调控机制来控制Cu的吸收、运输、代谢、利用和输出等过程, 进而维持体内Cu的平衡。其中, Cu转运蛋白COPT (copper transporter)对Cu离子具有高度亲和性和专一性, 在维持植物细胞Cu稳态平衡中具有重要作用。

1 COPT家族蛋白

COPT蛋白属于Cu转运蛋白Ctr (copper transporter)家族, 在哺乳动物和酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中也有其同源蛋白。生物化学、遗传学和拓扑结构研究表明, 该家族蛋白包含3个保守的跨膜结构域(TMs)。其中TM2中存在1个MXXXM基序(M代表甲硫氨酸(Met); X代表任意氨基酸), 在TM3中存在1个GXXXG基序(G代表甘氨酸(Gly); X代表任意氨基酸), 这些结构和Cu离子的结合与转运有关; 其N端具有富

收稿日期: 2019-03-13; 接受日期: 2019-06-18

基金项目: 国家自然科学基金(No.31470292)和天津市自然科学基金重点项目(No.18JCZDJC97900)

* 通讯作者。E-mail: skyzhy@tjnu.edu.cn

含Met的基序,且游离在细胞外间隙,能够与胞外Cu离子结合,介导Cu离子跨膜运输;C端具有富含半胱氨酸(Cys)的基序(CXC基序),存在于细胞质内,能够与胞内Cu离子结合,并将Cu离子传递给胞内的Cu伴侣蛋白,在Cu过量的情况下能阻断Cu的转运(Wu et al., 2009; Peñarrubia et al., 2010; Wang et al., 2012; 袁金红等, 2016)。

通过序列比对及酵母Cu吸收缺陷突变体的功能互补实验,已在多种植物中发现COPT家族成员。例如,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中共有6个成员,COPT1–6 (Sancenón et al., 2003; Jung et al., 2012); 水稻(*Oryza sativa*)中有7个,OsCOPT1–7 (Yuan et al., 2010, 2011); 小麦(*Triticum aestivum*)中有1个,TaCT1 (Li et al., 2014); 绿藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)中发现了4个,分别为CrCTR1、CrCTR2、CrCTR3和CrCOPT1 (Page et al., 2009); 玉米(*Zea mays*)中有3个,ZmCOPT1–3 (Wang et al., 2018)。其中,对模式植物拟南芥中的COPT研究最多,其功能也最清楚。

拟南芥COPT1、COPT2和COPT6的序列相似性(可达75%–79%)最高,均含有3个富含Met和His的基序(Jung et al., 2012)。COPT1和COPT2的C末端具有CXC基序,而COPT6则无。将这些基因分别在酵母突变体 $ctr1\Delta/ctr3\Delta$ (因缺失高亲和Cu转运蛋白基因,CTR1和CTR3无法正常吸收Cu,因而表现出生长缺陷)中表达,它们能够完全互补酵母突变体 $ctr1\Delta/ctr3\Delta$ 的缺陷表型(Sancenón et al., 2003; Garcia-Molina et al., 2013)。与COPT1、COPT2和COPT6不同,COPT3的N端仅含有2个富含Met和His的基序,COPT5的N端仅含有1个,COPT4不仅N端缺乏这样的基序,而且其TM2中也无MXXXM基序。在酵母 $ctr1\Delta/ctr3\Delta$ 中表达后,COPT3和COPT5仅能部分互补突变体的表型;而COPT4不能互补突变体的表型,推测COPT4本身不具备转运Cu的能力,可能通过与其它COPT蛋白相互作用而行使功能(Sancenón et al., 2003)。由此可见,拟南芥COPT家族各成员在Cu稳态平衡中可能具有不同的作用。

2 拟南芥COPT的表达和定位

拟南芥COPT1是植物中第1个被鉴定的COPT家族成员。将COPT1启动子与编码葡萄糖醛酸酶(GUS)的基因

*uidA*融合表达,发现COPT1基因在拟南芥主根和侧根根尖的表达最强,在萌发种子的胚、子叶以及叶片的表皮毛、气孔保卫细胞也能检测到GUS信号;在花粉发育早期不表达,仅在花粉发育后期表达(Kampfenkel et al., 1995; Sancenón et al., 2004)。COPT2组织表达模式与COPT1非常相似,在拟南芥的子叶、表皮毛、花药以及成熟的花粉粒、根毛等部位均能检测到其表达;与COPT1不同,COPT2在根尖的伸长区和分生区中不表达(Sancenón et al., 2003; Perea-García et al., 2013)。COPT6主要在拟南芥茎和叶的维管组织中表达,在子叶、分生组织、表皮毛、侧根和气孔中也能检测到其表达,在初生根或次生根的根尖中不表达;在生殖器官中,COPT6在柱头、子房、花丝、花粉以及胚胎中均有表达(Jung et al., 2012; Garcia-Molina et al., 2013)。通过对COPT3启动子驱动GUS报告基因表达的转基因植株进行观察后发现,在营养器官中,仅在叶片的维管束中可检测到GUS活性(Andrés-Colás et al., 2018);生殖器官中,在花药尤其是花粉发育的早期高水平表达,在花粉发育后期不表达(Bock et al., 2006),在花柱伸长时的雄蕊花丝中也能检测到COPT3的表达(Andrés-Colás et al., 2018)。将COPT5的起始密码子ATG上游357 bp的序列与GUS基因融合后于拟南芥中稳定表达,对转基因植株中的GUS活性检测后发现,COPT5在主根的内皮层和维管束及根毛中强烈表达,在地上部的表达相对较弱,且GUS活性主要集中在胚轴、子叶和叶片的维管束中;在生殖生长阶段,COPT5在胚珠和雌蕊中有较强表达,在雄蕊中,仅在花丝中有表达,在花粉粒中几乎不表达(Garcia-Molina et al., 2011)。有关COPT4启动子的活性研究尚未见报道,而RT-PCR结果显示,COPT4在根中表达很强,且其表达水平远高于其它几个成员(Sancenón et al., 2003)(表1)。

将COPT的开放读码框与绿色荧光蛋白(GFP)基因融合,在拟南芥叶肉细胞原生质体中瞬时表达后,发现COPT1、COPT2和COPT6均主要定位于细胞膜(Andrés-Colás et al., 2010; Garcia-Molina et al., 2013; Perea-García et al., 2013)。COPT5定位于液泡膜和前液泡体膜(Klaumann et al., 2011; Garcia-Molina et al., 2011)。COPT3则定位于内膜系统,进一步运用蔗糖密度梯度技术对表达COPT3-HA的拟南芥叶片的膜组分进行分离后发现,COPT3在组分中的

表1 利用启动子-GUS构建检测的拟南芥COPT家族基因表达模式

Table 1 Expression patterns of COPT family genes detected by use of promoter-GUS in *Arabidopsis thaliana*

基因名称	表达器官													参考文献
	花				叶				茎		根			
	花粉	花丝	雌蕊	胚珠	子叶	表皮毛	保卫细胞	维管组织	维管组织	胚轴	主根	侧根	根毛	
COPT1	++	-	/	/	+	+	+	-	-	+	+	+	/	Kampfenkel et al.,1995; Sancenon et al., 2004
COPT2	++	-	-	/	+	+	/	/	-	/	+	+	+	Sancenón et al., 2003; Perea-García et al., 2013
COPT3	++	+	/	/	/	/	/	+	/	/	/	/	/	Andrés-Colás et al., 2018
COPT5	-	+	++	++	+	+	/	++	+	+	++	+	++	Garcia-Molina et al., 2011
COPT6	+	+	+	+	+	+	+	++	++	/	-	+	/	Jung et al., 2012; Garcia-Molina et al., 2013

+: 表达; ++: 强表达; -: 不表达; /: 未见报道 +: Expression; ++: Strong expression; -: No expression; /: Not reported

分布模式与内质网(ER)的marker蛋白SEC12很相似, 推测COPT3可能定位于ER上(Andrés-Colás et al., 2018)(图1)。关于COPT4的亚细胞定位尚未见报道。

3 COPT基因的调控机制

3.1 转录水平的调控

大多数COPTs基因在转录水平上的表达受到外界Cu水平的影响。研究发现, Cu过量时, COPT1、COPT2和COPT6均下调表达。用1 mmol·L⁻¹ Cu处理拟南芥幼苗, COPT1的表达显著下调, 而COPT2的表达被完全抑制(Sancenón et al., 2003)。用45 μmol·L⁻¹ Cu处理时叶片中COPT6的表达显著下调(Jung et al., 2012)。Cu缺乏时, COPT1、COPT2和COPT6均上调表达, 但其表达模式存在较大差异。分别用1和10 μmol·L⁻¹ Cu处理拟南芥时, COPT2的表达无明显变化, 而COPT6的表达在1 μmol·L⁻¹ Cu条件下比在10 μmol·L⁻¹ Cu条件下增加约2倍; 在100 μmol·L⁻¹ BCS (bathocuproine disulfonate, 一种Cu离子螯合剂)条件下, COPT2的表达量显著增加, 比1和10 μmol·L⁻¹ Cu条件下增加约11倍, 而在此条件下COPT6的表达变化较小, 仅分别增加约2和4倍(Yamasaki et al., 2009; Garcia-Molina et al., 2013; Perea-García et al., 2013)。尽管较早的实验结果表明, Cu缺乏并不诱导COPT3和COPT5的表达(Sancenón et al., 2003), 然而最近有研究显示COPT3的表达受到Cu缺乏的强烈诱导(Andrés-Colás et al., 2018)。

Cu缺乏诱导表达的基因启动子区大多包含GT-AC基序, 该基序被称为Cu响应元件(Cu responsive element, CuRE)。COPT1、COPT2和COPT6启动子区的600 bp范围内分别包含4、4和2个紧密相连的GTAC基序。COPT3的启动子区500 bp范围内共有3个GTAC基序。然而COPT5的启动子区缺少GTAC基序(Yamasaki et al., 2009; Jung et al., 2012; Andrés-Colás et al., 2018)。GTAC基序是转录因子SPL7 (SQUAMOSA promoter-binding protein-like 7)的结合位点。SPL7是拟南芥SBP家族中的一员, 含有SBP结构域, 可以通过该结构域与靶基因启动子中的GTAC基序特异性结合, 进而调控靶基因的表达(Cardon et al., 1999; Yamasaki et al., 2009; Bernal et al., 2012)。在Cu缺乏条件下, SPL7通过上述方式上调COPT1、COPT2和COPT6的表达(Yamasaki et al., 2009; Jung et al., 2012)。在Cu充足条件下, SPL7通过结合Cu离子将Zn离子从锌指结构中置换出来, 使其无法结合GTAC基序(Sommer et al., 2010)。

3.2 蛋白水平的调控

大多数离子转运蛋白的表达不仅受到转录水平的调控, 而且也受到蛋白水平的调控。例如磷转运蛋白, 某些磷转运蛋白从内质网的输出取决于其C末端丝氨酸残基的磷酸化状态, 该蛋白的磷酸化可以阻止其从内质网到细胞膜的运输(Lv et al., 2014; Puga et al., 2014)。然而, 关于Cu水平变化对COPT蛋白丰度和稳定性影响的报道很少。目前比较清楚的是COPT5的蛋白水平不受外界Cu水平变化的影响(Sancenón et al., 2003; Garcia-Molina et al., 2011)。但我们对

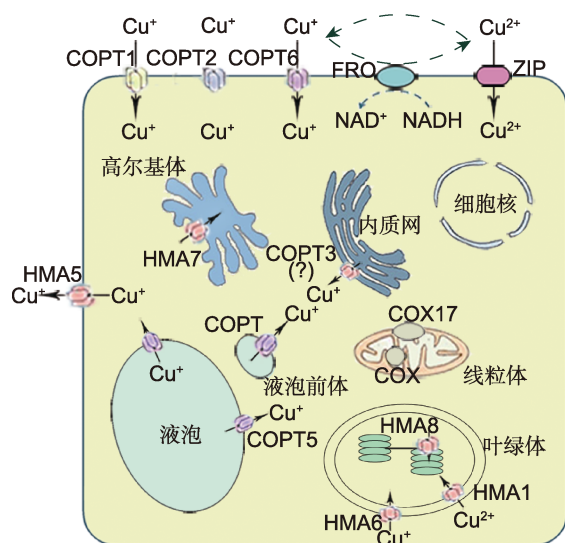


图1 拟南芥COPT的亚细胞定位与Cu的转运(改编自Rodríguez et al., 1999; Balandin and Castresana, 2002; Wintz et al., 2003; Yruela, 2009; Garcia et al., 2014)

Cu²⁺可以被ZIP蛋白吸收或被FRO还原为Cu⁺, Cu⁺通过COPT1、COPT2和COPT6蛋白转运进入细胞质。在细胞内, COPT5定位于液泡膜和液泡前体膜, 将液泡和液泡前体中的Cu⁺转运到细胞质基质中。推测COPT3定位于内质网膜, 并将内质网中的Cu⁺转运到细胞质基质中。HMA6和HMA1分别定位于叶绿体外膜和内膜, 分别负责将Cu⁺和Cu²⁺转运到叶绿体基质。HMA8定位于类囊体膜上, 可将叶绿体基质的Cu⁺转运到类囊体腔中。HMA7能够转运Cu⁺通过高尔基体膜, 参与乙烯反应。HMA5定位于细胞膜, 介导Cu⁺的外排。

Figure 1 Subcellular localization of COPT and copper traffic in *Arabidopsis* (modified from Rodríguez et al., 1999; Balandin and Castresana, 2002; Wintz et al., 2003; Yruela, 2009; Garcia et al., 2014)

Cu²⁺ can be uptaken by ZIP proteins or reduced to Cu⁺ by FRO and enters into the cytosol through the COPT1, COPT2 and COPT6 transporters. In the cell, COPT5 localizes in the tonoplast and vacuolar precursor membranes and transports Cu⁺ to the cytosol. It is speculated that COPT3 localizes to the ER membrane and transports Cu⁺ to the cytosol. HMA6 and HMA1 are localized in the membranes of the chloroplast and responsible for transporting Cu⁺ and Cu²⁺ to the cytosol, respectively. HMA8 is located in the thylakoid membrane and transports the Cu⁺ of the stroma into the thylakoid cavity. HMA7 transports Cu⁺ through the golgi membrane and participating in the ethylene reaction. HMA5 localizes in the cell membrane and mediates the efflux of Cu⁺.

COPT1的蛋白序列进行分析后发现, 其C末端的赖氨酸残基可能被泛素化。然而外界Cu水平变化是否能够真正影响COPT1蛋白水平, 及其是否能够被泛素化, 且其泛素化程度是否与外界Cu水平相关等需要

进一步实验证明。

4 拟南芥COPT蛋白的功能

4.1 在Cu稳态平衡中的作用

4.1.1 Cu吸收

COPT1、COPT2和COPT6能够完全互补酵母*ctr1Δ/ctr3Δ*的缺陷表型, 暗示COPT1、COPT2和COPT6为高亲和性Cu转运蛋白, 参与Cu的摄取过程。通过对COPT1的反义转基因拟南芥植株的表型进行观察, 发现在Cu缺乏条件下, 其生长受到明显抑制。例如, 转基因拟南芥子叶较小, 第1对真叶发育迟缓, 花粉形态异常, 其鲜重为野生型植株的1/3–1/2, 根和莲座叶中Cu含量比野生型植株减少约50%。而过表达COPT1植株的生长对高浓度(10 μmol·L⁻¹) Cu很敏感, 其根的生长受到明显抑制, 同时其体内积累较多的Cu。COPT1的反义转基因植物中COPT2的表达上调(约是野生型的4倍), 表明在COPT1功能受阻时, COPT2能介导植株根部对Cu的吸收(Sancenón et al., 2004; Andrés-Colás et al., 2010)。Cu充足(1 μmol·L⁻¹)和Cu过量(10 μmol·L⁻¹)对COPT2的表达无影响, 只有在Cu严重缺乏(如添加100 μmol·L⁻¹ BCS)时, COPT2的表达才显著上调, 表明COPT2参与Cu严重缺乏时的Cu吸收过程(Andrés-Colás et al., 2010)。在正常和Cu缺乏条件下, 野生型和*copt6*突变体的生长和Cu含量均无明显差异。而无论是正常还是Cu缺乏条件下, COPT6过表达植株的根生长均优于野生型植株(Garcia-Molina et al., 2013); Cu过量时, COPT6过表达植株的敏感性增强, 而*copt6-1*的敏感性减弱(Jung et al., 2012)。运用点突变技术和酵母功能互补实验, 进一步对COPT6中的甲硫氨酸(Met)对COPT6的Cu吸收功能中的作用进行研究。发现COPT6 TM1上游保守的Met27突变不影响其对Cu的转运, 而将TM2内保守的Met106突变后, COPT6不能完全互补酵母突变体*ctr1Δ/ctr2Δ/ctr3Δ*表型。这与对酵母和人(*Homo sapiens*)的Ctr家族蛋白的研究结果不同, 酵母Ctr1中TM1上游保守的Met127和TM2内保守的Met260均为其跨膜转运Cu所必需。此外还发现, 将COPT6 N端的Met22和TM2内的Met102突变后, 不影响COPT6的功能; 而Cu缺乏条件下, COPT6 N端完全缺失能严重影响其对Cu的吸收和转运(Jung et al., 2012)。上述结果表明, 植

物COPT蛋白具有独特的吸收和转运Cu的机制。

4.1.2 Cu动用和重新分配

COPT3和COPT5定位于细胞内膜系统,其中COPT5定位于液泡和液泡前体,其功能研究得较为清楚。运用密度梯度离心技术将野生型和*copt5*突变体植株的液泡分离,发现*copt5*植株液泡中的Cu含量显著低于野生型,而二者原生质体的Cu含量无明显差异(Klaumann et al., 2011)。在Cu充足的培养基上,*copt5*的生长与野生型无明显差异,然而当培养基中严重缺乏Cu(添加 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BCS)时,*copt5*突变体的生长受到明显抑制,表现为根长度缩短(比野生型减少76%)、鲜重减少(比野生型减少33%)和幼苗萎黄(叶绿素含量比野生型减少50%),光合电子传递受损,最大量子产率和光化学能量转换的量子产率均急剧下降,质体醌含量显著减少。添加Cu到培养基中或将COPT5转入*copt5*后,上述不正常的表型均得以部分或完全恢复,因此推测COPT5能够动用液泡和液泡前体中的Cu到细胞质中,为许多依赖Cu的生命活动(如光合作用)提供辅基(Garcia-Molina et al., 2011)。

尽管在正常条件下,*copt5*植株的生长与野生型类似,然而Cu含量测定结果显示,*copt5*不同器官的Cu水平与野生型有明显差异。例如,*copt5*根中的Cu含量比野生型增加40%,莲座叶和茎基部的Cu含量也高于野生型。然而植株的上端,尤其是果荚中的Cu含量显著低于野生型,表明COPT5缺失能够显著抑制Cu的长距离运输(Klaumann et al., 2011)。其原因可能是Cu经*copt5*突变体植株的根部细胞吸收后,一旦被转运到液泡中,就不容易被转运到细胞质中,也就不能被重新利用和分配,致使向地上部转运的Cu显著减少。本实验室的研究结果也显示,如果将Cu结合蛋白CusF在拟南芥的细胞壁和液泡中特异表达,尽管转基因植株根部的Cu含量显著增加,但根部的Cu并不能有效地向地上部转移,致使转基因植株的Cu转移系数(translocation factor)减小;而如果将CusF特异性地表达于细胞质中,则转基因植株根部和地上部的Cu含量均显著增加,且Cu转移系数也增加(Yu et al., 2014)。对Cd/Zn结合蛋白mCusF的研究也得到了类似的结果(Yu et al., 2016)。上述结果表明,金属离子被特异性地截存到根部液泡和细胞壁中能够显著抑制其向地上部转运的能力。

对*copt6*突变体中的Cu含量进行测定后表明,COPT6在植株各器官间的Cu分配过程中也发挥重要作用。当Cu充足($1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)时,*copt6*植株中各器官的Cu含量与野生型无明显差异;而在Cu缺乏时,*copt6*中各器官的Cu含量均比在Cu充足条件下的低。更重要的是,在Cu缺乏时,*copt6*莲座叶中Cu含量比野生型增加约35%,而种子中Cu含量则减少约40%。运用Cu特异荧光探针CS3 (Coppersensor-3)检测种子中的Cu分布后也发现,Cu缺乏时*copt6*种子中的荧光强度显著降低,暗示COPT6参与Cu缺乏时植物地上部叶子和种子间Cu的动用和再分配过程(Garcia-Molina et al., 2013)。

4.2 在昼夜节律性生物钟调控中的作用

生物钟系统是一种生物内在的、复杂而精细的生理调节系统,它使植物得以根据外界环境的周期性(如光照和温度)变化来协调自身新陈代谢及各种生理过程,从而与环境保持同步,是植物在与环境长期生存抗衡中进化出来的一种适应性机制。通过生物钟核心元件基因组成的转录-翻译反馈调节环路,植物对环境中的信号进行整合,进而对多种生理过程进行协调(王靖等, 2008; 门中华和李生秀, 2009)。细胞内Cu稳态的维持主要取决于Cu的向内运输(在低Cu环境下COPT家族成员表达上调,增强Cu的运输)和外向运输(主要通过P-type ATPase Cu离子转运蛋白运输到细胞外,或者区域化到细胞内特殊的细胞器中)(侯金丽, 2015)。如前所述,在Cu过量时,拟南芥COPT家族的几个成员(如COPT1、COPT2和COPT6)下调表达。当Cu缺乏时,SPL7转录因子与它们启动子中的共顺式作用元件GTAC结合,使其上调表达。这种Cu水平调节COPT基因的表达,以及COPT蛋白介导的Cu转运活性构成了自我调节反馈环(negative autoregulatory feedback loop)。推测在这种调控模式下,一方面细胞质内的Cu稳态得以维持;另一方面由于负反馈信号被延迟(COPT的转录、翻译和Cu离子运输过程等需要一定时间方可完成),导致胞内Cu离子水平呈现周期性振荡,即Cu被周期性地从细胞质转运到细胞器贮存而后又被释放到细胞质中(王超旻等, 2013)。Cu离子与昼夜节律生物钟的关系已在多种生物中有过报道。例如,小立碗藓(*Physcomitrella patens*) SPL家族2个成员的表达受到昼夜节律调控(Nagae et al., 2008);在粗糙脉孢菌(*Neurospora*

crassa)中, 一个结合Cu离子的金属硫蛋白的表达同样呈现出昼夜节律性(Bell-Pedersen et al., 1996); 在哺乳动物中, 松果体ATPase (一种Cu转运蛋白)的表达也表现出明显的昼夜节律性(Borjigin et al., 1999)。在拟南芥中, 利用COPT1和COPT3的过表达植株首次证明Cu与生物钟之间存在一定关系。COPT1和COPT3的过表达植株中的Cu含量增加, 其在长日照条件下开花延迟, 短日照条件下开花提前, 光照促进其胚轴伸长, 黑暗则抑制其胚轴伸长(Andrés-Colás et al., 2010)。后续观察显示, COPT1过表达植株子叶运动的昼夜节律振荡消失(Perea-García et al., 2016b)。这些表型暗示, 在COPT1和COPT3的过表达植株体内, 依赖于Cu水平的COPTs的表达消失, 导致其自我调节反馈环被抑制, 进而导致Cu水平的周期性振荡消失。进一步的研究显示, 在中性光周期(neutral photoperiod, 光/暗=12小时:12小时)和Cu缺乏条件下, COPT1和COPT2的表达均呈现昼夜节律性振荡, 其中COPT1的表达高峰在ZT21.5 (Zeitgeber Time)小时(光期开始前几小时), 而COPT2在ZT0点(光期开始)表达最高(被认为与此时光合器官叶绿体对Cu的需求最强相对应) (Burkhead et al., 2010; Perea-García et al., 2016b), COPT3在ZT12的表达(光期结束)高于ZT0点(光期开始) (Andrés-Colás et al., 2018)。

COPT1、COPT2和COPT6的启动子序列中存在多个光响应调控元件和昼夜节律相关的顺式调控元件, 如C-box (GACGTC)和Hybrid C/A-box (GACGTA), 二者均为光形态建成调控因子HY5 (elongated hypocotyl 5)结合元件。其中一些元件参与响应光敏色素(phytochrome)对基因表达的调控过程, 这与*phy*突变体中COPT2表达水平较低相符(Perea-García et al., 2016b)。转录因子SPL7的表达也具有昼夜节律性, 然而在*phyB*突变体中这种表达特性消失(Mockler et al., 2007)。受*phyB*调控, 许多SPL7依赖的Cu缺乏响应基因的表达均具有昼夜节律性, 其振荡相位稍滞后于SPL7 (表达高峰出现在0小时), 大约每22小时达到1次表达高峰(Perea-García et al., 2016b)。尽管COPT3的启动子中包含3个GTAC基序, 由于其表达高峰(12小时)与SPL7 (0小时)差距较大, 因此推测有其它转录因子参与COPT3的昼夜节律性表达调控。最近, Andrés-Colás等(2018)对条件过表达转录因子库(Conditional overexpression TF library)

进行筛选获得TCP (teosinte branched 1, cycloidea and proliferating cell factor 1)蛋白家族成员TCP16。在Cu缺乏时, 编码该蛋白的基因主要在0小时表达。TCP16能够与COPT3启动子上的顺式作用调控元件(*cis*-acting regulatory element, CARE) (TTGAGCC-CAT)结合, 进而下调COPT3的表达(Martín-Trillo and Cubas, 2010; Coego et al., 2014; Andrés-Colás et al., 2018)。如上所述, 生物钟可以调控COPT基因的表达; 同样地, COPT也可以通过其转运底物Cu水平的改变而影响生物钟核心组分的表达, 胞内Cu水平影响生物钟核心基因CCA1 (*circadian clock associated 1*)、LHY (*late elongated hypocotyl*)和GI (*giantea*)的表达。例如, 外施Cu能够抑制CCA1和LHY的振幅和GI的转录活性。在一天中的不同时刻于培养基中添加Cu并对相位反应曲线进行观察, 发现Cu水平能够改变LHY的相位和振幅, 但不影响生物钟周期(Andrés-Colás et al., 2010; Mishra and Panigrahi, 2015; Seo and Mas, 2015; Perea-García et al., 2016a)。此外还发现, LHY和GI的启动子中分别包含3个和2个GTAC基序, 暗示SPL7可能直接参与Cu缺乏时LHY和GI的上调表达调控(Perea-García et al., 2016a)。研究表明, 转录因子SPL7与光形态建成调控因子HY5之间存在相互作用(Zhang et al., 2014)。进一步研究表明, Cu稳态与生物钟之间存在紧密联系, 且HY5-SPL7基因网络在介导生物钟和Cu稳态的同步化及协调应答中发挥重要作用。

4.3 在植物激素合成和植物对激素信号感受中的作用

Cu是植物激素乙烯受体ETR1的辅助因子(Rodríguez et al., 1999)。钼辅因子(molybdenum cofactor, MoCo)能够调控ABA和IAA的合成, 而Cu为MoCo合成所必需(Kuper et al., 2004)。Cu也与多胺(polyamine, PA)的降解有关(Górecka et al., 2007)。此外, Cu稳态在水杨酸(SA)和脱落酸(ABA)的信号转导中具有重要作用(Wu et al., 2012; Yan and Dong, 2014)。然而截至目前, 关于植物激素如何调节Cu的吸收和转运还知之甚少。Peñarrubia (2015)对COPT家族成员的启动子序列进行分析后发现, ABA和赤霉素响应元件最多, 其次是乙烯和生长素响应元件, 茉莉酸响应相关元件最少。在Cu充足($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)或过量($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)时, *copt2*和*copt1/copt2/copt6*三突变

体对ABA处理非常敏感。在这些突变体中, 诸如 *NCED3*、*WRKY40*、*HY5*和*ABI5*的表达受到不同Cu水平调控, 表明在这些突变体中, Cu稳态失衡对ABA合成、转运和信号转导过程均产生影响。此外, ABA也调控*SPL7*的表达, 这可能是ABA抑制*COPT1*、*COPT2*和*COPT6*表达的原因(Carrió-Seguí et al., 2016)。然而, ABA和Cu稳态之间的相互作用机制还需要进一步研究和证实。

4.4 在其它离子稳态中的作用

Cu和Fe均为植物必需微量营养元素, 二者均能够作为辅酶参与许多生物学反应。研究发现, Fe缺乏时野生型拟南芥中Cu含量升高。实时定量PCR结果显示, Fe缺乏诱导*COPT2* mRNA上调表达, 推测在Fe缺乏时, 增加Cu的吸收, 能够增强Cu依赖的酶活性, 如Cu/Zn-SOD的有效性, 从而代替Fe依赖的酶(如Fe-SOD)行使功能(Abdel-Ghany et al., 2005; Waters et al., 2012)。然而有趣的是, *copt2*植株对同时缺乏Fe和Cu表现出明显抗性。例如, 与野生型相比, *copt2*叶片失绿率较低, 叶绿素和质体蓝素含量较高。目前, 对于导致*copt2*对同时缺乏Fe和Cu的抗性机制尚不清楚, 推测可能*COPT2*介导的Cu转运过程参与磷(P)饥饿信号转导, 进而影响铁(Fe)稳态平衡调控(Perrea-García et al., 2013)。

COPT蛋白还参与植物对非必需重金属元素的抗性反应。有研究显示, 在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd处理下, 单突变体*copt1-1*和三突变体*copt1/copt2/copt6*的生长均比野生型更敏感, 而异源表达*COPT6*的转基因植物生长优于野生型。Cd处理能够诱导*COPT1*、*COPT2*和*COPT6*的上调表达, 且Cd处理可增加根部Cu的积累。进一步研究发现, Cd处理能够引发*SPL7*依赖的转录水平上的Cu缺乏反应, 如增加*miR-NA398*前体和Fe-SOD mRNA (*FSD1*)的表达, 而降低Cu/Zn-SOD mRNAs基因(*CSD1*和*CSD2*)的表达(Gayomba et al., 2013)。类似地, *COPT5*的T-DNA插入突变体与野生型相比对Cd处理更敏感。在培养基中添加Cu, 其对Cd处理的敏感性消失。上述研究结果均表明, 在Cd胁迫下, 通过增强*COPTs*的表达而增加细胞对外界Cu的吸收或者增加胞内液泡中Cu的输出, 进而维持Cu稳态为维持植物基础Cd抗性所必需(Carrió-Seguí et al., 2015)。

此外, 有研究表明COPTs蛋白可能参与纳米金颗粒的吸收。例如, Tiwari等(2017)发现, 用 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Au处理拟南芥能够特异性诱导根部*COPT2*的表达, 而对COPT家族的其它成员没有此诱导效应。将*COPT2*转入酵母*ctr1Δ/ctr3Δ*突变体中, 发现转基因菌株对Au处理敏感, 且其体内Au含量增加。与野生型拟南芥植株相比, *copt2*突变体对Au的吸收能力显著降低, 表明*COPT2*参与植物对Au的吸收和积累(Tiwari et al., 2017)。

5 结语

由于Cu对植物细胞既具有必需性又具有潜在毒性, 因此维持Cu离子的相对稳态对植物的生存至关重要。在拟南芥细胞中, Cu向细胞质中的运输主要由对Cu具有高亲和力和高特异性的COPT蛋白介导。近年来对COPT家族各成员的组织特异性表达模式、亚细胞定位、在Cu缺乏和过量时对Cu吸收的调节以及*copt*突变体的表型等进行了研究, 人们对COPT蛋白在植物Cu稳态维持中的功能有了进一步认知。然而, 还存在许多问题值得关注。(1) COPT家族成员的很多序列高度相似, 推测它们之间存在功能冗余并具有一定的协作性, 然而它们通过何种机制共同协作还知之甚少。(2) COPT蛋白家族成员可以与自身或其它成员形成同源或异源三聚体, 如Jung等(2012)发现*COPT6*不仅可以与自身互作, 也可以与*COPT1*互作。而是否COPT家族蛋白均不仅能够与自身互作, 也能够与其它成员互作, 同源和异源多聚体形成的条件是什么? 这些多聚体在Cu的吸收和转运效率方面是否存在差异? 这些问题还需深入研究。(3) COPT家族蛋白序列中有很多保守的能够与Cu结合的基序, 如N端的Met基序, TM2中的MXXXM基序, C端的CXC基序。目前运用定点突变技术仅对*COPT6*的N端和TM2中的4个Met的功能进行了研究, 发现仅TM2内的Met106为其跨膜转运Cu所必需, 而其TM1中和C端推测的Cu结合基序如何参与行使功能仍不清楚。因此, *COPT6*及其它家族成员中这些基序的具体作用值得深入研究。(4) 对*COPT*表达调控机制的研究还不够深入, 目前比较清楚的是当Cu缺乏时, 转录因子*SPL7*能够与*COPT1*、*COPT2*和*COPT6*启动子区的GTAC基序特异性结合, 进而调控靶基因的表达。转录因子TCP16能够与*COPT3*的启动子区的TTGAGCCCAT元件结

合, 进而调控 *COPT3* 的表达。除在转录水平上受到调控外, COPT 是否也受到蛋白水平的调控? 许多离子转运蛋白(如磷转运蛋白和铁转运蛋白)均可通过蛋白水平的调控维持细胞的离子稳态。因此对植物是否能够通过 COPT 的翻译后修饰作用(如泛素化和磷酸化)调控其在质膜上的丰度, 进而维持细胞的 Cu 稳态平衡是一个值得探讨的问题。对这些问题的研究结果将有助于全面解析植物 Cu 稳态的分子调控网络, 最终为分子育种和治理环境污染提供理论和技术参考。

参考文献

- 房茜, 李鹏, 靳思, 印莉萍 (2007). 酵母和植物中铜的转运系统及其调控. 植物学通报 **24**, 807–815.
- 侯金丽 (2015). 铜离子的生物学特性及其吸收转运调控机制研究进展. 现代农业科技 **652**, 158.
- 门中华, 李生秀 (2009). 植物生物节律性研究进展. 生物学杂志 **26**, 55–57.
- 王超旻, 程楠, 韩咏竹, 胡文彬 (2013). 细胞内铜转运系统的研究进展. 安徽卫生职业技术学院学报 **12**, 82–83.
- 王靖, 徐虹, 李珣, 郑锦乾, 王立红 (2008). 铜绿微囊藻生物钟蛋白 KaiC 的自激活活性和自身相互作用研究. 海洋环境科学 **27**, 67–70.
- 王夏芳 (2015). 铜离子对环境危害现状及对策研究. 国土与自然资源研究 **1**, 57–59.
- 姚浩群 (2012). 金属离子与金属颗粒生物学活性实验研究. 博士论文. 广州: 南方医科大学. pp. 63–68.
- 袁金红, 李靖锐, 张海燕 (2016). 植物铜转运蛋白的结构和功能. 植物学报 **51**, 849–858.
- 张红晓, 张芬琴 (2011). 铜在植物细胞中的运输和分布. 洛阳理工学院学报(自然科学版) **21**, 1–5.
- 张美琪, 陈林, 王晶 (2018). 铜转运蛋白与癌症的研究进展. 中国科学: 化学 **48**, 1385–1393.
- 赵雪芹, 张海燕, 刘维仲 (2012). 植物铜转运相关蛋白研究进展. 广西植物 **32**, 280–284.
- 赵艳, 徐迎春, 柴翠翠, 周燕 (2010). 铜胁迫对狭叶香蒲生长及生理特性的影响. 广西植物 **30**, 367–372.
- Abdel-Ghany SE, Müller-Moulé P, Niyogi KK, Pilon M, Shikanai T (2005). Two P-type ATPases are required for copper delivery in *Arabidopsis thaliana* chloroplasts. *Plant Cell* **17**, 1233–1251.
- Andrés-Colás N, Carrió-Seguí A, Abdel-Ghany SE, Pilon M, Peñarrubia L (2018). Expression of the intracellular COPT3-mediated Cu transport is temporally regulated by the TCP16 transcription factor. *Front Plant Sci* **9**, 910.
- Andrés-Colás N, Perea-García A, Puig S, Peñarrubia L (2010). Deregulated copper transport affects *Arabidopsis* development especially in the absence of environmental cycles. *Plant Physiol* **153**, 170–184.
- Balandin T, Castresana C (2002). AtCOX17, an *Arabidopsis* homolog of the yeast copper chaperone COX17. *Plant Physiol* **129**, 1852–1857.
- Bell-Pedersen D, Shinohara ML, Loros JJ, Dunlap JC (1996). Circadian clock-controlled genes isolated from *Neurospora crassa* are late night-to early morning specific. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 13096–13101.
- Bernal M, Casero D, Singh V, Wilson GT, Grande A, Yang HJ, Dodani SC, Pellegrini M, Huijser P, Connolly EL, Merchant SS, Krämer U (2012). Transcriptome sequencing identifies SPL7-regulated copper acquisition genes *FRO4/FRO5* and the copper dependence of iron homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **24**, 738–761.
- Bock KW, Honys D, Ward JM, Padmanaban S, Nawrocki EP, Hirschi KD, Twell D, Sze H (2006). Integrating membrane transport with male gametophyte development and function through transcriptomics. *Plant Physiol* **140**, 1151–1168.
- Borjigin J, Payne AS, Deng J, Li XD, Wang MM, Ovodenko B, Gitlin JD, Snyder SH (1999). A novel pineal night-specific ATPase encoded by the Wilson disease gene. *J Neurosci* **19**, 1018–1026.
- Burkhead JL, Reynolds KAG, Abdel-Ghany SE, Cohu CM, Pilon M (2009). Copper homeostasis. *New Phytol* **182**, 799–816.
- Cardon G, Höhmman S, Klein J, Nettesheim K, Saedler H, Huijser P (1999). Molecular characterisation of the *Arabidopsis* SBP-box genes. *Gene* **237**, 91–104.
- Carrió-Seguí A, García-Molina A, Sanz A, Peñarrubia L (2015). Defective copper transport in the *copt5* mutant affects cadmium tolerance. *Plant Cell Physiol* **56**, 442–454.
- Carrió-Seguí A, Romero P, Sanz A, Peñarrubia L (2016). Interaction between ABA signaling and copper homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* **57**, 1568–1582.
- Coego A, Brizuela E, Castillejo P, Ruiz S, Koncz C, del Pozo JC, Piñeiro M, Jarillo JA, Paz-Ares J, León J, The TRANSPLANTA Consortium (2014). The TRANSPLANTA collection of *Arabidopsis* lines: a resource for functional analysis of transcription factors based on their conditional overexpression. *Plant J* **77**, 944–953.
- García L, Welchen E, Gonzalez DH (2014). Mitochondria and copper homeostasis in plants. *Mitochondrion* **19**, 269–

274.

- García-Molina A, Andrés-Colás N, Perea-García A, Del Valle-Tascón S, Peñarrubia L, Puig S** (2011). The intracellular *Arabidopsis* COPT5 transport protein is required for photosynthetic electron transport under severe copper deficiency. *Plant J* **65**, 848–860.
- García-Molina A, Andrés-Colás N, Perea-García A, Neumann U, Dodani SC, Huijser P, Peñarrubia L, Puig S** (2013). The *Arabidopsis* COPT6 transport protein functions in copper distribution under copper-deficient conditions. *Plant Cell Physiol* **54**, 1378–1390.
- Gavnholt B, Larsen K** (2002). Molecular biology of plant laccases in relation to lignin formation. *Physiol Plant* **116**, 273–280.
- Gayomba SR, Jung HI, Yan JP, Danku J, Rutzke MA, Bernal M, Krämer U, Kochian LV, Salt DE, Vatamaniuk OK** (2013). The CTR/COPT-dependent copper uptake and SPL7-dependent copper deficiency responses are required for basal cadmium tolerance in *A. thaliana*. *Metalomics* **5**, 1262–1275.
- Gorecka K, Cvikrová M, Kowalska U, Eder J, Szafrńska K, Górecki R, Janas KM** (2007). The impact of Cu treatment on phenolic and polyamine levels in plant material regenerated from embryos obtained in anther culture of carrot. *Plant Physiol Biochem* **45**, 54–61.
- Gratão PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA** (2005). Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Funct Plant Biol* **32**, 481–494.
- Hänsch R, Mendel RR** (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Curr Opin Plant Biol* **12**, 259–266.
- Jung HI, Gayomba SR, Rutzke MA, Craft E, Kochian LV, Vatamaniuk OK** (2012). COPT6 is a plasma membrane transporter that functions in copper homeostasis in *Arabidopsis* and is a novel target of *SQUAMOSA* promoter-binding protein-like 7. *J Biol Chem* **287**, 33252–33267.
- Kampfenkel K, Kushnir S, Babiychuk E, Inzé D, Van Montagu M** (1995). Molecular characterization of a putative *Arabidopsis thaliana* copper transporter and its yeast homologue. *J Biol Chem* **270**, 28479–28486.
- Klaumann S, Nickolaus SD, Fürst SH, Starck S, Schneider S, Ekkehard Neuhaus H, Trentmann O** (2011). The tonoplast copper transporter COPT5 acts as an exporter and is required for interorgan allocation of copper in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol* **192**, 393–404.
- Komori H, Higuchi Y** (2010). Structure and molecular evolution of multicopper blue proteins. *Biomol Concepts* **1**, 31–40.
- Kuper J, Llamas A, Hecht HJ, Mendel RR, Schwarz G** (2004). Structure of the molybdopterin-bound Cnx1G domain links molybdenum and copper metabolism. *Nature* **430**, 803–806.
- Li HX, Fan RC, Li LB, Wei B, Li GL, Gu LQ, Wang XP, Zhang XQ** (2014). Identification and characterization of a novel copper transporter gene family *TaCT1* in common wheat. *Plant Cell Environ* **37**, 1561–1573.
- Lv QD, Zhong YJ, Wang YG, Wang ZY, Zhang L, Shi J, Wu ZC, Liu Y, Mao CZ, Yi KK, Wu P** (2014). SPX4 negatively regulates phosphate signaling and homeostasis through its interaction with PHR2 in rice. *Plant Cell* **26**, 1586–1597.
- Martín-Trillo M, Cubas P** (2010). TCP genes: a family snapshot ten years later. *Trends Plant Sci* **15**, 31–39.
- Mishra P, Panigrahi KC** (2015). GIGANTEA—an emerging story. *Front Plant Sci* **6**, 8.
- Mockler TC, Michael TP, Priest HD, Shen R, Sullivan CM, Givan SA, McEntee C, Kay SA, Chory J** (2007). The DIURNAL project: DIURNAL and circadian expression profiling, model-based pattern matching, and promoter analysis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* **72**, 353–363.
- Nagae M, Nakata M, Takahashi Y** (2008). Identification of negative *cis*-acting elements in response to copper in the chloroplastic iron superoxide dismutase gene of the moss *Barbula unguiculata*. *Plant Physiol* **146**, 1687–1696.
- Page MD, Janette K, Hamel PP, Merchant SS** (2009). Two *Chlamydomonas* CTR copper transporters with a novel cys-met motif are localized to the plasma membrane and function in copper assimilation. *Plant Cell* **21**, 928–943.
- Peñarrubia L, Andrés-Colás N, Moreno J, Puig S** (2010). Regulation of copper transport in *Arabidopsis thaliana*: a biochemical oscillator? *J Biol Inorg Chem* **15**, 29–36.
- Peñarrubia L, Romero P, Carrió-Seguí A, Andrés-Bordería A, Moreno J, Sanz A** (2015). Temporal aspects of copper homeostasis and its crosstalk with hormones. *Front Plant Sci* **6**, 255.
- Perea-García A, Andrés-Bordería A, Mayo de Andrés S, Sanz A, Davis AM, Davis SJ, Huijser P, Peñarrubia L** (2016a). Modulation of copper deficiency responses by diurnal and circadian rhythms in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* **67**, 391–403.
- Perea-García A, García-Molina A, Andrés-Colás N, Vera-Sirera F, Pérez-Amador MA, Puig S, Peñarrubia L** (2013). *Arabidopsis* copper transport protein COPT2 participates in the cross talk between iron deficiency responses and low-phosphate signaling. *Plant Physiol* **162**, 180–194.
- Perea-García A, Sanz A, Moreno J, Andrés-Bordería A, De Andrés SM, Davis AM, Huijser P, Davis SJ, Peñarrubia L** (2016b). Daily rhythmicity of high affinity copper

- transport. *Plant Signal Behav* **11**, e1140291.
- Puga MI, Mateos I, Charukesi R, Wang ZY, Franco-orrilla JM, De Lorenzo L, Irigoyen ML, Masiero S, Bustos R, Rodríguez J, Leyva A, Rubio V, Sommer H, Paz-Ares J** (2014). Spx1 is a phosphate-dependent inhibitor of PHOSPHATE STARVATION RESPONSE 1 in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**, 14947–14952.
- Raven JA, Evans MCW, Korb RE** (1999). The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms. *Photosynth Res* **60**, 111–150.
- Rodríguez FI, Esch JJ, Hall AE, Binder BM, Schaller GE, Bleecker AB** (1999). A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. *Science* **283**, 996–998.
- Sancenón V, Puig S, Mateu-Andrés I, Dorcey E, Thiele DJ, Peñarrubia L** (2004). The *Arabidopsis* copper transporter COPT1 functions in root elongation and pollen development. *J Biol Chem* **279**, 15348–15355.
- Sancenón V, Puig S, Mira H, Thiele DJ, Peñarrubia L** (2003). Identification of a copper transporter family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol* **51**, 577–587.
- Seo PJ, Mas P** (2015). STRESSing the role of the plant circadian clock. *Trends Plant Sci* **20**, 230–237.
- Sommer F, Kropat J, Malasarn D, Grossoehme NE, Chen X, Giedroc DP, Merchant SS** (2010). The CRR1 nutritional copper sensor in *Chlamydomonas* contains two distinct metal-responsive domains. *Plant Cell* **22**, 4098–4113.
- Tiwari M, Venkatachalam P, Penarrubia L, Sahi SV** (2017). COPT2, a plasma membrane located copper transporter, is involved in the uptake of Au in *Arabidopsis*. *Sci Rep* **7**, 11430.
- Wang HL, Du HM, Li HY, Huang Y, Ding JZ, Liu C, Wang N, Lan H, Zhang SZ** (2018). Identification and functional characterization of the ZmCOPT copper transporter family in maize. *PLoS One* **13**, e0199081.
- Wang XH, Li HY, Du XB, Harris J, Guo ZJ, Sun HZ** (2012). Activation of carboplatin and nedaplatin by the N-terminus of human copper transporter 1 (hCTR1). *Chem Sci* **3**, 3206–3215.
- Waters BM, McInturf SA, Stein RJ** (2012). Rosette iron deficiency transcript and microRNA profiling reveals links between copper and iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* **63**, 5903–5918.
- Wintz H, Fox T, Wu YY, Feng V, Chen WQ, Chang HS, Zhu T, Vulpe C** (2003). Expression profiles of *Arabidopsis thaliana* in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis. *J Biol Chem* **278**, 47644–47653.
- Wu XB, Sinani D, Kim H, Lee J** (2009). Copper transport activity of yeast Ctr1 is down-regulated via its C terminus in response to excess copper. *J Biol Chem* **284**, 4112–4122.
- Wu Y, Zhang D, Chu JY, Boyle P, Wang Y, Brindle ID, De Luca V, Després C** (2012). The *Arabidopsis* NPR1 protein is a receptor for the plant defense hormone salicylic acid. *Cell Rep* **1**, 639–647.
- Yamasaki H, Hayashi M, Fukazawa M, Kobayashi Y, Shikanai T** (2009). SQUAMOSA promoter binding protein-like7 is a central regulator for copper homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **21**, 347–361.
- Yan SP, Dong XN** (2014). Perception of the plant immune signal salicylic acid. *Curr Opin Plant Biol* **20**, 64–68.
- Yruea I** (2009). Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Funct Plant Biol* **36**, 409–430.
- Yu PL, Yuan JH, Deng X, Ma M, Zhang HY** (2014). Sub-cellular targeting of bacterial CusF enhances Cu accumulation and alters root to shoot Cu translocation in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* **55**, 1568–1581.
- Yu PL, Yuan JH, Zhang H, Deng X, Ma M, Zhang HY** (2016). Engineering metal-binding sites of bacterial CusF to enhance Zn/Cd accumulation and resistance by sub-cellular targeting. *J Hazard Mater* **302**, 275–285.
- Yu ZL, Zhang JG, Wang XC, Chen J** (2008). Excessive copper induces the production of reactive oxygen species, which is mediated by phospholipase D, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase and antioxidant systems. *J Integr Plant Biol* **50**, 157–167.
- Yuan M, Chu ZH, Li XH, Xu CG, Wang SP** (2010). The bacterial pathogen *Xanthomonas oryzae* overcomes rice defenses by regulating host copper redistribution. *Plant Cell* **22**, 3164–3076.
- Yuan M, Li XH, Xiao JH, Wang SP** (2011). Molecular and functional analyses of COPT/Ctr-type copper transporter-like gene family in rice. *BMC Plant Biol* **11**, 69.
- Zhang HY, Zhao X, Li JG, Cai HQ, Deng XW, Li L** (2014). MicroRNA408 is critical for the HY5-SPL7 gene network that mediates the coordinated response to light and copper. *Plant Cell* **26**, 4933–4953.

Advances in Studies on the COPT Proteins in *Arabidopsis thaliana*

Hui Wang¹, Jinjin Li², Jinyu Xu¹, Peng Liu¹, Haiyan Zhang^{1*}

¹Tianjin Key Laboratory of Animal and Plant Resistance, College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China; ²Key Laboratory of Plant Resources, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

Abstract Copper (Cu) is an essential trace element in plants and is involved in many physiological and biochemical reactions as a cofactor of various enzymes. Cu deficiency and excess can affect the normal growth and development, so plants have developed sophisticated regulatory networks to strictly control Cu content. The copper transporter COPT, having high affinity with Cu can regulate the absorption and transport of Cu, and plays an important role in maintaining Cu homeostasis. COPT proteins are involved in different processes of Cu transport, such as uptake of Cu from the external environment, export of Cu from organelles, transport of Cu over long distances, and mobilization and redistribution of Cu between different organs. In addition, COPT proteins play an important role in maintaining homeostasis of other ions, regulating the circadian clock, involving in synthesis of plant hormones and perception of hormone signals. Here we summarize the recent advances in the expression and localization, regulatory mechanisms, and biological functions of COPT proteins in the model plant *Arabidopsis thaliana*.

Key words copper transporter, COPT, Cu homeostasis, Cu absorption, redistribution

Wang H, Li JJ, Xu JY, Liu P, Zhang HY (2019). Advances in studies on the COPT proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Chin Bull Bot* **54**, 786–796.

* Author for correspondence. E-mail: skyzhy@tjnu.edu.cn

(责任编辑: 朱亚娜)