

# 植物过敏性诱导反应蛋白研究进展

赵雪<sup>1,2,3</sup> 张越<sup>1,2,3</sup> 陈玲慧<sup>1,2,3</sup> 荆艳萍<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup>北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083; <sup>2</sup>北京林业大学林木育种国家工程实验室, 北京 100083;

<sup>3</sup>北京林业大学林木、花卉遗传育种教育部重点实验室, 北京 100083)

**摘要** 自然界中的植物为保护自身免受病原菌侵害, 进化出了复杂的防御系统, 其中, 植物过敏性反应通过感染部位细胞的快速死亡, 限制病原菌的进一步扩散。植物过敏性诱导反应蛋白与植物过敏性反应密切相关, 在植物免疫过程中发挥重要作用。植物过敏性诱导反应蛋白家族成员含有高度保守的SPFH结构域, 该结构域蛋白的重要功能之一是参与膜筏微区的形成。近年来, 研究表明植物过敏性诱导反应蛋白除参与植物抗病反应、组织膜筏微区形成外, 在花青素生物合成、离子转运以及非生物胁迫过程中也发挥重要功能。该文综述了植物过敏性诱导反应蛋白的研究历史、结构特点与定位以及生物学功能, 并对其后续研究方向进行了展望。

**关键词** 过敏性诱导反应蛋白; 结构; 定位; 功能

## Research Advances of Plant Hypersensitive Induced Reaction Protein

ZHAO Xue<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Yue<sup>1,2,3</sup>, CHEN Linghui<sup>1,2,3</sup>, JING Yanping<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; <sup>2</sup>National Engineering Laboratory for Tree Breeding, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; <sup>3</sup>Key Laboratory of Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants, Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

**Abstract** Plants have evolved a complex immune system which helps them cope with pathogen attacks. The hypersensitive reaction is one of the various defense mechanisms which is characterized by a rapid cell death at the point of pathogen ingress, hence restricting the spread of the invading pathogens from the infection sites. Hypersensitive induced reaction proteins are a group of proteins involved in hypersensitive reaction, playing an important role in plant immunity. Hypersensitive induced reaction proteins contain highly conserved SPFH domain, which is thought to be related to the formation of membrane microdomains. In recent years, studies have shown that hypersensitive induced reaction proteins play an important role in regulation of anthocyanin biosynthesis and participate in ion transportation as well as abiotic stress resistance. The review describes the research history, structural features and cellular locations, and biological functions of hypersensitive induced reaction proteins, and propose the future research directions.

**Keywords** hypersensitive induced reaction protein; structure; location; function

植物在受到病原菌侵染后, 细胞内会形成一系列的分子响应, 表现出一系列的抗病反应, 其中最常见的就是植物过敏性反应(hypersensitive response,

HR), 它是一种典型的细胞快速死亡的保护机制。病原菌侵入细胞后, 引起细胞裂解, 组织坏死, 阻断病原菌的营养运输, 抑制其进一步扩散。过敏

收稿日期: 2021-07-14 接受日期: 2021-09-03

国家自然科学基金(批准号: 31771493)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 13681267540, E-mail: ypjing@bjfu.edu.cn

Received: July 14, 2021 Accepted: September 3, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31771493)

\*Corresponding author. Tel: +86-13681267540, E-mail: ypjing@bjfu.edu.cn

性诱导反应通常与植物对病原菌的抗性相关, 在植物抗病反应中发挥重要的作用<sup>[1-2]</sup>。

植物过敏性诱导反应(hypersensitive induced reaction, HIR)蛋白是一类与植物过敏性反应相关的蛋白, 该家族蛋白主要分布于细胞质膜, 通过其N-端所具有的高度保守的SPFH(stomatin, prohibitin, flotillin and HflK/C)结构域, 富集于膜筏微区, 并有助于膜筏微区的形成<sup>[3]</sup>。已有的研究表明, 植物HIRs参与胁迫反应尤其是生物胁迫反应, 以及花青素生物合成等过程<sup>[4-5]</sup>。本文综述了HIRs的研究历史、结构特点与定位、生物学功能, 以期增进对植物过敏性诱导反应蛋白的认识。

## 1 HIR蛋白的研究历史

2000年, NADIMPALLI等<sup>[6]</sup>在玉米(*Zea mays*)中发现了3个新的基因序列, 其与烟草(*Nicotiana tabacum*)叶片中过表达而引起自发超敏反应的*NG1* cDNA序列高度同源<sup>[7]</sup>, 因此将这些基因命名为过敏性诱导反应蛋白基因。2003年, 从大麦(*Hordeum vulgare*)中分离得到了4个与玉米HIRs基因高度同源的HIR基因。玉米和大麦中HIRs在HR病变过程中表达上调, 被认为与宿主细胞的死亡以及抗病反应相关<sup>[6,8]</sup>。2004年, 在豆科模式植物百脉根(*Lotus japonicus*)中分离出了1个新的小孢子特异表达的基因, 该基因编码的蛋白与过敏性诱导反应蛋白序列相似, 被认为可能与小孢子发育过程中离子通道的调控相关<sup>[9]</sup>。2007年, 通过对表达抗病基因*Xa21*的水稻悬浮细胞进行质膜蛋白质组学分析, 鉴定参与早期防御反应的质膜蛋白, 发现了OsHIR1蛋白, 该蛋白具有两种不同的等电点, 含有5个可能的磷酸化位点, 表明其在防御反应过程中, 可能发生了磷酸化或者其他形式的修饰<sup>[10]</sup>。同年, JUNG和HWANG<sup>[11]</sup>通过酵母双杂交筛选, 鉴定出了辣椒(*Capsicum annuum*)过敏性诱导反应蛋白CaHIR1, 该蛋白与辣椒富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)的蛋白CaLRR1的LRR结构域相互作用, 其异位表达可以诱导烟草和拟南芥细胞死亡, 表明CaHIR1蛋白是类HR细胞死亡的正调控因子。随后的研究表明, CaHIR1能够增强拟南芥对于丁香假单胞菌番茄致病变种*P. syringae* pv. *tomato* (*Pst*) DC3000的抗性, 其过表达使拟南芥对于盐胁迫和干旱的敏感性增强<sup>[12]</sup>。2008到2013年间, 研究者们先后从小麦(*Triticum aestivum*)的叶

片中分离了*TaHIR1*、*TaHIR3*、*TaHIR2*和*TaHIR4*基因, 其分别与大麦的4个HvHIR在cDNA和氨基酸水平上都有很高的同源性<sup>[13-16]</sup>。2010年, 在模式生物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中也分离到了HIR基因家族的成员<sup>[17]</sup>, 该家族成员被发现在细胞质膜的膜筏微区定位, 可以作为新的膜筏标记蛋白<sup>[18]</sup>。2015年, 科学家们分离并鉴定了大豆(*Glycine max*)的过敏性诱导反应蛋白基因, 其多肽序列与其他物种的HIR蛋白具有高度的相似性, 大豆HIR蛋白的发现对大豆根霉菌和茎腐病的预防具有重要意义<sup>[19-20]</sup>。2017年开始, 郝玉金教授课题组在苹果(*Malus domestica*)中鉴定出HIR基因, 并发现其在生物胁迫抗性以及花青素生物合成中均发挥重要作用<sup>[4-5]</sup>。图1所示为不同植物HIR蛋白的进化分析, 表明其在植物中广泛存在。

## 2 HIR蛋白的结构特点与定位

HIR蛋白N-端含有一个高度保守的SPFH结构域, SPFH结构域也被称为PHB(prohibitin homology)结构域或Band 7结构域。含有SPFH结构域的蛋白家族在原核生物、真核生物中均广泛存在。哺乳动物细胞中, SPFH结构域的蛋白包括: prohibitin、flotillin、stomatin、stomatin类蛋白(stomatin-like protein, SLP)、podocin和erlin等<sup>[21-23]</sup>。研究表明: 富含SPFH结构域的蛋白锚定于包括细胞质膜、早期内体膜、高尔基体膜、线粒体膜以及内质网膜等膜系统<sup>[21,24-25]</sup>。该家族蛋白能够形成寡聚体, 可以通过酰基化发生翻译后修饰<sup>[22]</sup>。

植物SPFH蛋白除了prohibitin、flotillin、stomatin和erlin之外, 还包括植物所特有的HIR蛋白<sup>[17]</sup>。结构上, 大豆、水稻、玉米、小麦以及大麦的HIR蛋白的N-端, 均预测到N-肉豆蔻酰化位点以及跨膜结构域的存在<sup>[20,26]</sup>。对拟南芥AtHIR蛋白的结构预测未发现跨膜结构域的存在, 但是预测到了N-肉豆蔻酰化位点或/和棕榈酰化位点<sup>[3,27]</sup>。此外, 除AtHIR3之外, AtHIR1、AtHIR2和AtHIR4也具有卷曲螺旋结构(coiled-coil), 该结构被认为是AtHIR与其他蛋白相互结合的区域<sup>[3]</sup>。

亚细胞定位方面, HIR蛋白主要定位于质膜, 少数定位于细胞内的液泡膜、胞内体等结构。已有的研究发现, 拟南芥AtHIR1、AtHIR2和AtHIR4主要富集在质膜组分中, 而AtHIR3在内膜组分中更为丰富,



At: 拟南芥; Zm: 玉米; Bo: 甘蓝; Ca: 辣椒; Ta: 小麦; Hv: 大麦; Os: 水稻; Md: 苹果; Nc: 天蓝遏蓝菜; Rs: 萝卜; Cs: 黄瓜; Na: 烟草。

At: *Arabidopsis thaliana*; Zm: *Zea mays*; Bo: *Brassica oleracea*; Ca: *Capsicum annuum*; Ta: *Triticum aestivum*; Hv: *Hordeum vulgare*; Os: *Oryza sativa*; Md: *Malus domestica*; Nc: *Thlaspi caerulescens*; Rs: *Raphanus sativus*; Cs: *Cucumis sativus*; Na: *Nicotiana attenuata*.

图1 不同植物HIR蛋白的进化分析

Fig.1 Evolutionary analysis of HIR proteins in different plants

主要定位于液泡膜上<sup>[28]</sup>。小麦TaHIR1和TaHIR3定位于质膜, TaHIR2则定位于细胞内<sup>[1,29]</sup>。苹果中, MdHIR4主要定位在细胞膜上, 少数定位在细胞核<sup>[5]</sup>。辣椒CaHIR1通过SPFH结构域定位在质膜上, 少量定位于胞内体<sup>[30]</sup>。水稻OsHIR1主要定位于质膜, 少量定位于液泡膜<sup>[26]</sup>。HIR蛋白在膜筏微区中大量存在, 已有的研究表明, 拟南芥AtHIR1、AtHIR2、AtHIR3和AtHIR4蛋白富集于膜筏微区<sup>[31]</sup>, 当使用甲基-β-环糊精(methyl-β-cyclodextrin, MβCD)抽提固醇破坏膜筏后, AtHIR依然存在于抗去垢剂膜(detergent-resistant membranes, DRM)组分中<sup>[32]</sup>。此外, 研究表明, 水稻OsHIR1、OsHIR3和OsHIR5蛋白也存在于质膜DRM<sup>[33]</sup>。

### 3 HIR蛋白的功能

HIR蛋白在植物免疫反应、植物细胞膜筏形成、花青素的生物合成、离子转运等生理生化过程中发挥重要的作用。表1为植物中已被鉴定的HIR蛋白基因及其功能。

#### 3.1 HIR蛋白参与植物免疫反应

植物在与病原微生物共同进化的过程中, 形成了

两套免疫防御系统, 即模式触发免疫(pattern-triggered immunity, PTI)反应和效应子触发的免疫(effector-triggered immunity, ETI)反应。ETI反应是更为快速和强烈的抗病过程, 常常表现为过敏反应, 导致感染部位的细胞程序性死亡, 从而限制病原微生物的传播<sup>[38]</sup>。研究表明, 在病原菌入侵或在过敏反应过程中, 植物中的HIR被高度诱导表达<sup>[8,11,13]</sup>。小麦受到条锈菌侵染后, 4个TaHIR基因均表达上调<sup>[11,13-16]</sup>; 在拟南芥中, 4个AtHIR, 除AtHIR4之外, 均受到Pto DC3000和细菌鞭毛蛋白核心小肽(flagelin 22, Flg22)的诱导表达<sup>[31]</sup>。水稻在感染白叶枯病后, OsHIR1基因表达上调<sup>[10]</sup>。因此, 无论细菌或真菌, 都能诱导HIR蛋白的表达<sup>[11,26,39]</sup>。

HIR蛋白参与植物的免疫反应。研究表明: 过表达AtHIR1和AtHIR2, 均可以增强拟南芥对Pto DC3000的抗性, 而在AtHIR2和AtHIR3突变体植株中, 抗性基因RPS2介导的ETI反应减弱<sup>[31]</sup>。条锈菌侵染小麦TaHIR1和TaHIR3基因沉默的植株, 小麦叶片坏死面积减小, 相关防御基因水平改变, 表明TaHIR1和TaHIR3通过诱导过敏反应和调节防御相关基因, 参与小麦抗条锈菌的免疫反应<sup>[29]</sup>。在拟南芥中异源

表1 植物中已经鉴定的HIR基因及其功能  
Table 1 HIR genes identified in plants and their functions

基因 Gene	蛋白定位 Protein localization	功能 Function	参考文献 References
<i>ZmHIR3</i>	—	Involved in defense response	[6]
<i>CaHIR1</i>	Mainly localized in the plasma membrane, enriched in the membrane microdomains, and localized to endosome	Involved in K <sup>+</sup> efflux and resistance to <i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> ( <i>Pst</i> ) DC3000	[11-12,30,34]
<i>TaHIR1</i>	Plasma membrane	Involved in resistance to stripe rust and abiotic stress	[13,29]
<i>OsHIR1</i>	Mainly located in the plasma membrane, a few located in the tonoplast	Involved in resistance to <i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> ( <i>Pto</i> ) DC3000	[26]
<i>AtHIR1</i>	Mainly located in the plasma membrane, enriched in the membrane microdomains, and a few located in the tonoplast	Involved in formation of membrane raft microdomains, participated in the formation of RPS2 complex and resistance to <i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> ( <i>Pto</i> ) DC3000	[18,28,31]
<i>AtHIR2</i>	Located in plasma membrane and tonoplast, enriched in membrane microdomains	Involved in the formation of RPS2 complex and RPS2-mediated ETI response, and resistance to <i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> ( <i>Pto</i> ) DC3000	[28,31,35]
<i>AtHIR3</i>	Mainly located in the tonoplast	Involved in the ETI response mediated by RPS2 and absorption of calcium	[28,31,36]
<i>TaHIR3</i>	Plasma membrane	Involved in resistance to stripe rust and abiotic stress	[29]
<i>TaHIR4</i>	—	Involved in the HR response caused by wheat leaf rust fungus	[16]
<i>AtHIR4</i>	Located in plasma membrane and tonoplast, enriched in membrane microdomains	Involved in the formation of membrane raft microdomains	[28,35]
<i>MdHIR4</i>	Located in the plasma membrane and cell nucleus	Enhanced biotic stress resistance by participating in the JA signaling pathway; involved in resistance to <i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> ( <i>Pst</i> ) DC3000, reduced apple resistance to <i>Botryosphaeria dothidea</i> ; inhibit anthocyanin synthesis	[4-5]
<i>NbHIR3</i>	Mainly located in the plasma membrane, a few located at the nuclear membrane	Involved in resistance to rice stripe virus and <i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> ( <i>Pst</i> ) DC3000	[37]
<i>OsHIR3</i>	—	Involved in plant basal resistance via an <i>EDSI</i> and SA dependent pathways	[37]

表达CaHIR1和OsHIR1时,产生类过敏反应的病变,同时诱导防御相关基因的表达,增强了拟南芥对于细菌的抗性<sup>[11,26]</sup>。

HIR蛋白能够与富含亮氨酸重复序列的蛋白家族成员(leucine-rich repeat superfamily, LRR)结合,参与植物防御反应。研究表明,水稻OsHIR1与OsLRR1相互作用,且过表达OsLRR1使OsHIR1表达上调,促进OsHIR1在质膜的定位,从而更容易在病原菌入侵时,迅速发生过敏反应,限制病原菌的传播而增强植物对*Pst* DC3000的抗性<sup>[26]</sup>。在辣椒中,双分子荧光互补实验以及免疫共沉淀实验均证明CaHIR1与CaLRR1互作,同样,CaLRR1的过表达可以上调CaHIR1的表达。然而,在拟南芥、烟草以及辣椒中过表达CaLRR1,均抑制了CaHIR1诱导的

细胞死亡<sup>[11,30]</sup>,表明HIR与LRR相互作用参与调控植物免疫反应,然而在不同物种中的作用方式存在差异。烟草中,NbLRR1与HIR1结合,番茄曲叶云南病毒TLCYnV编码的C4蛋白能够与HIR1相互作用,增强NbLRR1与HIR1的结合。NbLRR1促进HIR1的降解,在一定程度上抑制了HIR1介导的HR反应,从而为病毒感染创造了适合的环境<sup>[40]</sup>。此外,在拟南芥中,AtHIR1和AtHIR2都可以与NB-LRR蛋白RPS2形成复合物,其中AtHIR1与RPS2形成的复合物主要位于质膜特定的膜微区内。RPS2介导ETI反应<sup>[41]</sup>,AtHIR蛋白可能招募RPS2进入膜微区,增强植物免疫反应。

HIR参与植物激素信号调控的免疫应答。许多HIR蛋白通过促进过敏反应,增强植物对病原菌的抗性,然而,在苹果叶片和愈伤组织中,抑制MdHIR4



的表达增强了苹果对于灰霉菌的抗性<sup>[5]</sup>。在茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号通路中, JA受体感知茉莉素,形成的受体复合物通过与JAZ(jasmonate ZIM-domain)蛋白结合,诱导JAZ阻遏物的降解,从而激活多种转录因子,激活JA相关的防御基因<sup>[42-43]</sup>。研究表明: MdHIR4与MdJAZ2相互作用, MdHIR4通过与JAZ蛋白的结合稳定JAZ蛋白,而JAZ蛋白是茉莉素信号途径的抑制因子,因此, MdHIR4通过与JA信号负调控因子的结合,参与苹果的生物胁迫响应<sup>[5]</sup>。水杨酸(salicylic acid, SA)作为植物免疫反应中重要的信号分子,在植物抵抗病原菌的过程中发挥重要的作用。研究表明, HIR蛋白与水杨酸信号途径相关。TaHIR1和TaHIR3的沉默,降低了响应SA的病程相关蛋白基因的表达<sup>[29]</sup>。NbHIR3s沉默表达植株中的SA水平下降, SA信号途径相关基因表达下调。过表达OsHIR3的水稻中, SA积累, SA信号途径基因上调表达。NbHIR3.2或者OsHIR3的过表达分别增强了烟草和水稻对于Pst DC3000和水稻黄单胞菌的抗性<sup>[37]</sup>。

### 3.2 HIR蛋白作为膜筏标记蛋白,参与组织膜筏的形成

细胞膜在细胞的各项生命活动中扮演着不可或缺的角色,它稳定细胞内部环境,协调细胞内外物质的进出,参与信息传递以及物质转运。细胞膜上存在有富含鞘脂和固醇的脂质有序微结构域,该微域能够自我组装并招募特定蛋白进入该结构域,被称为膜筏<sup>[44]</sup>。细胞中多种生理生化反应在膜筏微区上发生,膜筏微区被认为是病原菌和大分子生物入侵宿主细胞的中介<sup>[45]</sup>。膜筏的形成与SPFH结构域密切相关,动物细胞中的研究表明:含有SPFH结构域的蛋白锚定于细胞膜系统,且在各类膜结构的膜筏内富集<sup>[21,24]</sup>。

HIR蛋白是植物特有的一类具有SPFH结构域的蛋白,当在洋葱(*Allium cepa*)表皮细胞中异源表达辣椒CaHIR1蛋白时,其在质膜呈现点状分布,该分布特征是膜筏微区蛋白的典型定位特征<sup>[30]</sup>。本课题组运用激光扫描共聚焦显微镜和可变角度全内反射荧光显微镜对于质膜定位的拟南芥AtHIR1观察发现,AtHIR1在质膜上呈不连续分布,表现出典型的膜筏标记蛋白的分布特征,可以作为膜筏微区标记蛋白<sup>[18]</sup>。DANĚK等<sup>[28]</sup>研究发现,AtHIR1、AtHIR2和AtHIR4在拟南芥根表皮细胞的质膜上形成数量不一、大小不一的膜微区结构。此外,蛋白组学分析

显示,拟南芥愈伤组织制备的膜微区中存在AtHIR1/AtHIR2和AtHIR4<sup>[46]</sup>。当使用固醇抽提剂处理时,AtHIR依然保留于DRM中<sup>[32]</sup>。综上,HIR蛋白主要定位于膜筏微区,可以作为膜筏微区的标记蛋白。

同其他具有SPFH结构域的蛋白一样,HIR蛋白可以在体外形成同源或者异源寡聚体。研究发现,当在拟南芥和烟草中过表达AtHIR1、AtHIR2和AtHIR4时,这3个蛋白可以形成非常稳定的抗十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)、2-巯基乙醇和热的寡聚物<sup>[31]</sup>。本课题组利用可变角度全内反射荧光显微镜,观察拟南芥叶表皮细胞中AtHIR1-GFP蛋白,其荧光强度分布可以拟合出5个特征峰,对荧光强度追踪绘制荧光漂白曲线,发现质膜上AtHIR1存在单体、二聚体、三聚体、四聚体以及五聚体状态,表明AtHIR1在体内存在同源寡聚体<sup>[18]</sup>。动物细胞中的研究表明:含有SPFH结构域的蛋白通过N-端疏水区与膜相连<sup>[22]</sup>,形成多聚复合体并结合胆固醇,形成一个胆固醇较为丰富的膜微区,招募其他蛋白。因此,SPFH蛋白可以直接参与膜筏的形成,进而为多种生物学过程的进行提供平台<sup>[47]</sup>。植物HIR蛋白能够以寡聚体的形式定位于膜筏微区,寡聚化的过程可以使HIR分子聚集在一起,可能参与构成膜微域的支架,通过HIR蛋白分子的卷曲螺旋区域结合其他蛋白,在膜筏微区的组织形成中发挥重要的功能<sup>[3,41]</sup>。

### 3.3 HIR蛋白参与调节花青素的生物合成

花青素是一类广泛存在于高等植物中的苯丙烷类化合物,它在植物特定的组织或器官中积累,使植物呈现出亮丽的色彩。此外,作为一种次生代谢产物,花青素有助于植物抵御低温、高光照、病原菌侵染等生物和非生物胁迫<sup>[48]</sup>。花青素的生物合成由一系列结构基因编码的酶催化完成,这些结构基因的表达,受到由MYB、bHLH(basic helix-loop-helix)和WD40这3类转录因子组成的MBW(MYB-bHLH-WD40)复合物的调控<sup>[49]</sup>。JAZ蛋白是茉莉酸信号途径的抑制因子,已有的研究表明:拟南芥JAZ蛋白与花青素合成转录复合体MBW中的一些转录因子结合,减弱了其转录活性而抑制花青素的合成<sup>[50]</sup>。

CHEN等<sup>[4]</sup>通过酵母文库筛选发现,苹果HIR家族成员MdHIR2与MdJAZ2互作,酵母双杂交实验发现MdHIR2与MdJAZ1、MdJAZ2以及MdJAZ4互作,而MdHIR4与MdJAZ1-7均互作。进一步的研究

表明, MdHIR蛋白能够与MdJAZ2结合, 增强了JAZ蛋白的稳定性, 而不影响MdJAZ2与MBW复合物中MdbHLH3的结合。当沉默MdHIR4后, 苹果中MdJAZ2的稳定性减弱, 从而解除了JAZ对花青素合成转录复合体MBW的抑制, 进而启动了花青素合成基因的表达、促进了花青素的合成。因此, MdHIR4抑制苹果皮中花青素的积累, 对苹果果实花青素积累和果皮着色有负调控作用。此外, 拟南芥中也发现了AtHIRs与AtJAZs蛋白的互作现象, 说明HIR对于JAZ的调控机制极有可能在其他植物中也存在。

### 3.4 HIR蛋白参与离子转运

植物过敏反应过程中, 发生坏死的细胞通常表现出质膜的去极化和钾离子的外流<sup>[51]</sup>等特征。植物HIR蛋白的C末端附近具有 $\alpha$ 螺旋结构, 可能参与调控钾离子通道<sup>[6]</sup>。钾离子是活细胞细胞质中含量最丰富的阳离子, 参与调节离子强度、渗透势和膜极化反应。辣椒过敏性诱导反应蛋白CaHIR1的异位表达可诱导烟草和拟南芥细胞死亡, 拟南芥中CaHIR1基因的过表达, 会导致K<sup>+</sup>在植物细胞中的快速流出, 细胞内K<sup>+</sup>浓度的迅速降低, 导致细胞的程序性死亡<sup>[11]</sup>。

此外, Ca<sup>2+</sup>是植物生长的必要离子, 在植物的生长发育过程中发挥重要作用。拟南芥HIR3的T-DNA插入纯合突变体和野生型植株在不同Ca<sup>2+</sup>条件下根长和鲜重具有明显差异, 表明HIR3可能参与植物钙离子的吸收过程, 但其如何参与钙离子的吸收, 仍需要进一步的研究<sup>[36]</sup>。

### 3.5 HIR蛋白的其他作用

HIR蛋白除参与植物生物胁迫外, 其表达在非生物胁迫条件下也受到诱导。例如, TaHIR1和TaHIR3在受到环境刺激(如低温、干旱以及高盐胁迫)情况下表达量降低<sup>[29]</sup>, 而水稻OsHIR1在盐胁迫下表达量明显升高<sup>[52]</sup>。此外, 过表达CaHIR1的拟南芥根系生长异常, 对于高盐和干旱引发的渗透胁迫敏感性增加<sup>[12]</sup>。表明HIR蛋白可能也参与了植物非生物胁迫应答, 其参与应答的方式在不同物种中有所不同。

## 4 展望

过敏性诱导反应蛋白作为植物特有的一类具有SPFH结构域的蛋白, 参与了多种植物的胁迫响应过程, 在植物生长发育和抗病反应过程中发挥着重

要的作用。对于植物过敏性诱导反应蛋白的研究, 不仅能帮助我们更好地理解其结构和功能, 也有助于我们利用其功能进行植物抗逆改良。作为植物中发现的一类特殊蛋白, 过敏性诱导反应蛋白的研究还有很多地方值得深入发掘。例如, 植物HIR基因在病毒病原体应答中的作用还不够全面; HIR参与JA和SA信号调控的免疫应答的相关组分仍需要解析; 新的HIR相互作用蛋白的鉴定与分析也将有助于我们对于HIR蛋白功能的深入理解。

此外, 作为膜筏标记蛋白, 膜筏微区是固醇与鞘脂富集的区域, 那么HIR是否与脂质组分互作尚需要进一步探究。膜筏微区是脂质有序的区域, HIR的表达是否影响细胞质膜的有序度, 仍需要借助于新型染料进行确认。除HIR外, 植物细胞中还存在其他膜筏标记蛋白, 不同膜筏标记蛋白形成的膜微区是否有重叠, 其相互关系如何也有待于进一步的研究。另外, HIR蛋白中预测有酰化修饰位点的存在, 这些修饰位点对于HIR蛋白对膜筏微区的组织及其定位与功能的影响尚待完善。相信在不久的将来, 随着对植物HIR蛋白的深入研究, 将更好地阐释其作用机理, 并为利用HIR蛋白改善植物生物与非生物抗性提供新思路。

## 参考文献 (References)

- [1] ZHANG G, LI Y M, SUN Y F, et al. Molecular characterization of a gene induced during wheat hypersensitive reaction to stripe rust [J]. Biol Plantarum, 2011, 55(4): 696-702.
- [2] BALINT-KURTI P. The plant hypersensitive response: concepts, control and consequences [J]. Mol Plant Pathol, 2019, 20(8): 1163-78.
- [3] DANĚK M, VALENTOVÁ O, MARTINEC J. Flotillins, Erlins, and HIRs: from animal base camp to plant new horizons [J]. Crit Rev Plant Sci, 2016, 35(4): 1-24.
- [4] CHEN K Q, ZHAO X, AN X H, et al. MdHIR proteins repress anthocyanin accumulation by interacting with the MdJAZ2 protein to inhibit its degradation in apples [J]. Sci Rep, 2017, 7: 44484.
- [5] ZHAO X Y, QI C H, JIANG H, et al. Functional identification of apple on MdHIR4 in biotic stress [J]. Plant Sci, 2018, 283: 396-406.
- [6] NADIMPALLI R, YALPANI N, JOHAL G S, et al. Prohibitins, stomatins, and plant disease response genes compose a protein superfamily that controls cell proliferation, ion channel regulation, and death [J]. J Biol Chem, 2000, 275(38): 29579-86.
- [7] KARRER E E, BEACHY R N, HOLT C A. Cloning of tobacco genes that elicit the hypersensitive response [J]. Plant Mol Biol, 1998, 36(5): 681-90.
- [8] ROSTOKS N, SCHMIERER D, KUDRNA D, et al. Barley pu-

- tative hypersensitive induced reaction genes: genetic mapping, sequence analyses and differential expression in disease lesion mimic mutants [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107(6): 1094-101.
- [9] HAKOZAKI H, ENDO M, MASUKO H, et al. Cloning and expression pattern of a novel microspore-specific gene encoding hypersensitive-induced response protein (LjHIR1) from the model legume, *Lotus japonicus* [J]. *Genes Genet Syst*, 2004, 79(5): 307-10.
- [10] CHEN F, YUAN Y X, LI Q, et al. Proteomic analysis of rice plasma membrane reveals proteins involved in early defense response to bacterial blight [J]. *Proteomics*, 2007, 7(9): 1529-39.
- [11] JUNG H W, HWANG B K. The leucine-rich repeat (LRR) protein, CaLRR1, interacts with the hypersensitive induced reaction (HIR) protein, CaHIR1, and suppresses cell death induced by the CaHIR1 protein [J]. *Mol Plant Pathol*, 2007, 8(4): 503-14.
- [12] JUNG H W, LIM C W, LEE S C, et al. Distinct roles of the pepper hypersensitive induced reaction protein gene *CaHIR1* in disease and osmotic stress, as determined by comparative transcriptome and proteome analyses [J]. *Planta*, 2008, 227(2): 409-25.
- [13] YU X M, YU X D, QU Z P, et al. Cloning of a putative hypersensitive induced reaction gene from wheat infected by stripe rust fungus [J]. *Gene*, 2008, 407(1/2): 193-8.
- [14] ZHANG G, DONG Y L, YI Z, et al. Cloning and characterization of a novel hypersensitive-induced reaction gene from wheat infected by stripe rust pathogen [J]. *J Phytopathol*, 2009, 157(11/12): 722-8.
- [15] CHEN J P, YU X M, ZHAO W Q, et al. Temporal and tissue-specific expression of wheat *TaHIR2* gene and resistant role of recombinant protein during interactions between wheat and leaf rust pathogen [J]. *Physiol and Mol Plant Pathol*, 2012, 79: 64-70.
- [16] LIU F, YU X M, ZHAO W Q, et al. Effects of the leaf rust pathogen on expression of *TaHIR4* at the gene and protein levels in wheat [J]. *J Plant Interact*, 2013, 8(4): 304-11.
- [17] DI C, XU W Y, SU Z, et al. Comparative genome analysis of PHB gene family reveals deep evolutionary origins and diverse gene function [J]. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11(6): S22.
- [18] LV X Q, JING Y P, XIAO J W, et al. Membrane microdomains and the cytoskeleton constrain AtHIR1 dynamics and facilitate the formation of an AtHIR1-associated immune complex [J]. *Plant J*, 2017, 90(1): 3-16.
- [19] KOELLHOFFER J P, XING A Q, MOON B P, et al. Tissue-specific expression of a soybean hypersensitive induced response (HIR) protein gene promoter [J]. *Plant Mol Biol*, 2015, 87(3): 261-71.
- [20] XIANG Y, SONG M, ZHANG M Q, et al. Molecular characterization of three hypersensitive-induced reaction genes that respond to *Phytophthora sojae* infection in *Glycine max L. Merr* [J]. *Legume Res*, 2015, 38(3): 313-20.
- [21] MORROW I C, PARTON R G. Flotillins and the PHB domain protein family: raft, worms and anaesthetics [J]. *Traffic*, 2005, 6(9): 725-40.
- [22] BROWMAN D T, HOEGG M B, ROBBINS S M. The SPFH domain-containing proteins: more than lipid raft markers [J]. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(8): 394-402.
- [23] WETZEL C, HU J, RIETHMACHER D, et al. A stomatin-domain protein essential for touch sensation in the mouse [J]. *Nature*, 2007, 445(7124): 206-9.
- [24] LANGHORST M F, REUTER A, STUERMER C A O. Scaffolding microdomains and beyond: the function of reggie/flotillin proteins [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62(19/20): 2228-40.
- [25] BROWMAN D T, RESEK M E, ZAJCHOWSKI L D, et al. Erlin-1 and erlin-2 are novel members of the prohibitin family of proteins that define lipid-raft-like domains of the ER [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(15): 3149-60.
- [26] ZHOU L A, CHEUNG M Y, LI M W, et al. Rice hypersensitive induced reaction protein 1 (OsHIR1) associates with plasma membrane and triggers hypersensitive cell death [J]. *BMC Plant Biol*, 2010, 10(1): 290-9.
- [27] MAJERAN W, CAER J P L, PONNALA L, et al. Targeted profiling of *A. thaliana* sub-proteomes illuminates new co- and post-translationally N-terminal myristoylated proteins [J]. *Plant Cell*, 2018, 30(3): 543-62.
- [28] DANĚK M, ANGELINI J, MALÍNSKÁ K, et al. Cell wall contributes to the stability of plasma membrane nanodomain organization of *Arabidopsis thaliana* flotillin2 and hypersensitive induced reaction1 proteins [J]. *Plant J*, 2020, 101(3): 619-36.
- [29] DUAN Y H, GUO J, SHI X X, et al. Wheat hypersensitive-induced reaction genes *TaHIR1* and *TaHIR3* are involved in response to stripe rust fungus infection and abiotic stresses [J]. *Plant Cell Rep*, 2013, 32(2): 273-83.
- [30] CHOI H W, KIM Y J, HWANG B K. The hypersensitive induced reaction and leucine-rich repeat proteins regulate plant cell death associated with disease and plant immunity [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2011, 24(1): 68-78.
- [31] QI Y Q, TSUDA K, NGUYEN L V, et al. Physical association of *Arabidopsis* hypersensitive induced reaction proteins (HIRs) with the immune receptor RPS2 [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(36): 31297-307.
- [32] KIERSZNIOWSKA S, SEIWERT B, SCHULZE W X. Definition of *Arabidopsis* sterol-rich membrane microdomains by differential treatment with methyl-beta-cyclodextrin and quantitative proteomics [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2009, 8(4): 612-23.
- [33] ISHIKAWA T, AKI T, YANAGISAWA S, et al. Overexpression of BAX INHIBITOR-1 links plasma membrane microdomain proteins to stress [J]. *Plant Physiol*, 2015, 169(2): 1333-43.
- [34] CHOI H W, KIM D S, KIM N H, et al. *Xanthomonas* filamentous hemagglutinin-like protein Fha1 interacts with pepper hypersensitive-induced reaction protein CaHIR1 and functions as a virulence factor in host plants [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2013, 26(12): 1441-54.
- [35] YOSHIDA M, OHNISHI M, FUKAO Y, et al. Studies on vacuolar membrane microdomains isolated from *Arabidopsis* suspension-cultured cells: local distribution of vacuolar membrane proteins [J]. *Plant Cell Physiol*, 2013, 54(10): 1571-84.
- [36] 孙鸿举, 薛琼, 张彦桃, 等. 拟南芥BAND7基因序列分析及相关突变体的生理功能研究[J]. *生物技术通报*(SUN H J, XUE Q, ZHANG Y T, et al. Study of *Arabidopsis* BAND7 gene sequence analysis and mutant physiological function [J]. *Biotechnology Bulletin*), 2012, 12: 120-4.
- [37] LI S S, ZHAO J P, ZHAI Y S, et al. The hypersensitive induced reaction 3 (*HIR3*) gene contributes to plant basal resistance via

- an *EDS1* and salicylic acid-dependent pathway [J]. *Plant J*, 2019, 98(5): 783-97.
- [38] 张梦姝, 牛宏伟, 侯春燕, 等. 植物免疫中的EDS1[J]. 中国细胞生物学学报(ZHANG M S, NIU H W, HOU C Y, et al. *EDS1* in plant immunity [J]. *Chin J Cell Biol*), 2016, 38(11): 1398-404.
- [39] ZHOU Q, GAO H, WANG M, et al. Characterization of defense-related genes in the 'Qinguan' apple in response to *Marssonina coronaria* [J]. *S Afr J Bot*, 2012, 80: 36-43.
- [40] MEI Y Z, MA Z H, WANG Y Q, et al. Geminivirus C4 antagonizes the HIR1-mediated hypersensitive response by inhibiting the HIR1 self-interaction and promoting degradation of the protein [J]. *New Phytol*, 2020, 225(3): 1311-26.
- [41] QI Y P, KATAGIRI F. Membrane microdomain may be a platform for immune signaling [J]. *Plant Signal Behav*, 2012, 7(4): 454-6.
- [42] THINES B, KATSIR L, MELOTTO M, et al. JAZ repressor proteins are targets of the SCF(CO1) complex during jasmonate signalling [J]. *Nature*, 2007, 448(7154): 661-5.
- [43] ZHANG F, YAO J, KE J Y, et al. Structural basis of JAZ repression of MYC transcription factors in jasmonate signalling [J]. *Nature*, 2015, 525(7568): 269-73.
- [44] YU M, CUI Y N, ZHANG X, et al. Organization and dynamics of functional plant membrane microdomains [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(2): 275-87.
- [45] 玉猛, 吕雪芹, 林金星, 等. 植物膜筏微区参与病原菌的防御反应[J]. 电子显微学报(YU M, LÜ X Q, LIN J X, et al. Membrane microdomains may be involved in immune signaling of plant cells [J]. *J Chin Electr Microsc Soc*), 2016, 35(2): 163-70.
- [46] BORNER G H H, SHERRIER D J, WEIMAR T, et al. Analysis of detergent-resistant membranes in *Arabidopsis*. Evidence for plasma membrane lipid rafts [J]. *Plant Physiol*, 2005, 137(1): 104-16.
- [47] BAUER M, PELKMANS L. A new paradigm for membrane-organizing and -shaping scaffolds [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(23): 5559-64.
- [48] SAIGO T, WANG T, WATANABE M, et al. Diversity of anthocyanin and proanthocyanin biosynthesis in land plants [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2020, 55: 93-9.
- [49] CHEN L, HU B, QIN Y H, et al. Advance of the negative regulation of anthocyanin biosynthesis by MYB transcription factors [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2019, 136: 178-87.
- [50] QI T C, SONG S S, REN Q G, et al. The Jasmonate-ZIM-Domain proteins interact with the WD-Repeat/bHLH/MYB complexes to regulate jasmonate-mediated anthocyanin accumulation and trichome initiation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell*, 2011, 23(5): 1795-814.
- [51] ATKINSON M M, KEPPLER L D, ORLANDI E W, et al. Involvement of plasma-membrane calcium influx in bacterial induction of the  $K^+/H^+$  and hypersensitive responses in tobacco [J]. *Plant Physiol*, 1990, 92(1): 215-21.
- [52] MALAKSHAH S N, REZAEI M H, HEIDARI M, et al. Proteomics reveals new salt responsive proteins associated with rice plasma membrane [J]. *Biosci Biotech Bioch*, 2007, 71(9): 2144-54.