

## 植物水孔蛋白的功能

梅杨, 李海蓝, 杨尚元, 罗红艺\*

华中师范大学生命科学学院, 武汉 430079

### Plant Aquaporins Function Research

MEI Yang, LI Hai-Lan, YANG Shang-Yuan, LUO Hong-Yi\*

College of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430079, China

**摘要:** 水孔蛋白是由多基因编码的介导水分快速跨膜转运的膜内在蛋白。植物水孔蛋白分为4类,具有多功能性,包括介导水分的快速跨膜转运,参与气孔运动,参与叶肉内CO<sub>2</sub>的运输,调节植物对中性分子(甘油、NH<sub>3</sub>、尿素)和营养元素(硼、硅)的吸收,参与植物体内的氧化应激及信号的跨膜转导等。

**关键词:** 水孔蛋白; CO<sub>2</sub>; 中性分子; 硼; 硅; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 信号转导

水是植物细胞的重要组成成分,对水分吸收和运输的严格调控是植物生长和发育的基础(Tyerman等2002;李登第等2006)。传统观点认为,水分进出细胞的主要方式是通过扩散和渗透作用,然而扩散和渗透作用运输水的速度是非常有限的,这使一些重要的生理现象无法得到合理解释。如植物种子萌发时快速吸水膨胀;花粉管伸长时伴随体积增加而发生水分的迅速吸收;人肾脏细胞平均每昼夜过滤180 L水(侯彩霞等1997)。于是,人们推测动植物细胞膜上可能存在运输水分的通道。

#### 1 水孔蛋白的发现

1988年,Agre研究小组从人的红细胞膜上分离得到CHIP28蛋白,随后他们用爪蟾卵母细胞表达系统证实CHIP28具有水通道功能,第1次从分子水平上证实蛋白质介导水分的跨膜转运(Denker等1988;Preston等1992)。1997年基因组命名委员会正式将CHIP28命名为AQP1。现在已经知道,水孔蛋白(aquaporin, AQP)是一类介导水分快速跨膜转运的膜内在蛋白,属于MIP(major intrinsic protein)家族,分子量在26~34 kDa(Fraysse等2005)。水孔蛋白几乎存在于所有的生物体内,包括人、动植物、酵母和细菌等,是一类古老的膜蛋白(Borstlap 2002; Gustavsson等2005)。

#### 2 水孔蛋白的结构

晶体学和拓扑学的研究表明,水孔蛋白具有MIP家族典型的结构特征,由5个短环连接的6个亲水的跨膜螺旋及N端和C端组成。其N端和C

端及B、D环面向细胞质一侧。水孔蛋白在跨膜区及B、E环的氨基酸序列相对保守,而N端和C端的变化相对较大。B、E环各自含有一段高度保守的氨基酸序列Asn-Pro-Ala,称为NPA盒,它们直接参与了水通道的形成;同时B环和E环各自形成半个跨膜螺旋(HB、HE),参与水孔蛋白活性的调控(Chaumont等2005)。E环NPA盒前的半胱氨酸是水孔蛋白的汞抑制部位;汞离子和有机汞可以通过与半胱氨酸结合而封闭水通道。虽然研究表明水孔蛋白单体即有水通道的活性,但在活体生物膜上通常以四聚体的形式存在,组成水漏状结构(侯彩霞等1997;于秋菊等2002)。也有少数以二聚体或单体形式存在(朱美君等2000)。水孔蛋白的活性受pH值、Ca<sup>2+</sup>、重金属离子(HgCl<sub>2</sub>、AgNO<sub>3</sub>和HAuCl<sub>4</sub>)、磷酸化、多聚化和异源蛋白间相互作用等影响(Niemietz和Tyerman 2002;Fetter等2004;Kaldenhoff和Fischer 2006;Hedfalk等2006)。生长激素(脱落酸、赤霉素、油菜内酯)、蓝光、盐分、干旱及病原微生物的侵染也均能诱导水孔蛋白基因的表达(Morillon等2001;Siefritz等2001;于秋菊等2002)。

#### 3 植物水孔蛋白的分类

生物体内的水孔蛋白是由多基因编码的。目前已发现人体内有13个水孔蛋白(Hibuse等2006),

收稿 2007-03-26 修定 2007-05-08

资助 华中师范大学精品课程建设项目。

\* 通讯作者(E-mail: lhyh2sd@yahoo.com.cn; Tel: 027-67861978)。

拟南芥中有 35 个基因编码水孔蛋白(Boursiac 等 2005), 玉米和水稻中均含有 33 个水孔蛋白基因(Chaumont 等 2001; Sakurai 等 2005)。在非维管束植物小立碗藓(*Physcomitrella patens*)中也发现了 11 个水孔蛋白基因(Borstlap 2002)。植物基因组内存在的大量水孔蛋白基因在很大程度上弥补了其固定生长、无法主动获取水源以及容易遭受水旱胁迫的缺陷(Kaldenhoff 和 Fischer 2006)。根据蛋白质氨基酸序列的同源性及结构特征可将植物水孔蛋白分为 4 类: 质膜内在蛋白(plasma membrane intrinsic protein, PIP)、液泡膜内在蛋白(tonoplast intrinsic protein, TIP)、类 Nod26 膜内蛋白(nodulin 26-like intrinsic protein, NIP)和小碱性膜内蛋白(small and basic intrinsic protein, SIP) (Chaumont 等 2001, 2005; Johanson 等 2001)。有研究表明, 大部分 PIP 和 TIP 都属于水选择性通道蛋白, 分别位于细胞质膜和液泡膜上; NIP 则能同时介导水和甘油的跨膜运输; Nod26 存在于根瘤菌和豆科植物的共生膜上, AtNIP5;1 存在于细胞质膜上, AtNIP2;1 则定位于内质网上(Johanson 等 2001; Mizutani 等 2006; Takano 等 2006)。除了 Nod26, 大部分 NIP 对水的通透性较差(Kaldenhoff 和 Fischer 2006)。SIP 定位于细胞内的内质网上, 其 N 端极短, C 端可能存在内质网膜定位信号(Ishikawa 等 2005; Ishibashi 2006; Kaldenhoff 和 Fischer 2006)。在酵母中表达时, SIP1 表现出水通道的活性, 但 SIP2 并不是功能性的水孔蛋白, 推测 SIP 可能有其他功能(Ishibashi 2006)。最近, Gustavsson 等(2005)发现了一种存在于苔藓植物中的甘油特异性水孔蛋白 PpGIP1;1, 而先前这类蛋白仅见于大肠杆菌(*Escherichia coli*)中的 EcGlpF。这一发现可能为 MIP 超家族增加了新的亚类, 使植物水孔蛋白的分类发生新的变化。

#### 4 植物水孔蛋白的功能

伴随着大量水孔蛋白的分离和鉴定, 人们发现 AQP 不仅是水选择性通道蛋白, 同时还具有许多生理生化功能, 是一类多功能蛋白(Tyerman 等 2002)。

**4.1 介导水分的快速跨膜转运** 植物许多生理过程的发生需要大量的水分子快速进出细胞, 如种子

萌发、根及下胚轴的伸长以及韧皮部的物质转运(Eisenbarth 和 Weig 2005; Fraysse 等 2005)。水孔蛋白基因的表达通常与上述生理过程具有同步性, 并具有组织特异性。在种子成熟的晚期, 拟南芥  $\alpha$ -TIP 在蛋白贮藏囊泡上特异性表达; 在种子萌发及幼苗初期, 伴随蛋白贮藏囊泡内物质的分解和吸收,  $\alpha$ -TIP 逐渐消失, 而  $\gamma$ -TIP 积累增多(于秋菊等 2002)。PsNIP-1 在豌豆(*Pisum sativum*)种子的种皮中特异性表达; PsPIP1;1 在干种子中高效表达, 可能与 PsPIP2;1 共同参与种子吸水萌发过程(Schuermans 等 2003)。蓖麻(*Ricinus communis*) RcPIP2;1 参与幼苗下胚轴的伸长生长(Eisenbarth 和 Weig 2005)。拟南芥 AtPIP2;2 在根中优势表达, 其突变体根部皮层的导水力(hydraulic conductivity)下降 25%~30% (Javot 等 2003)。抑制烟草质膜 NtAQP1 的表达, 导致根细胞的导水力下降 55% (Siefritz 等 2002)。珊瑚轮藻(*Chara corallina*)节间水通道的关闭可导致细胞导水力降低 75% (Henzler 和 Steudle 2000; 吴安慧等 2006)。在番茄(*Lycopersicon esculentum*)果实发育和种子形成的过程中, 7 个 LePIP1 和 LePIP2;2 在早期表达量上升, 后期则逐步下降(Shiota 等 2006)。棉花(*Gossypium hirsutum*) GhAQP1 在胚珠中特异性表达, 开花后 9 d 表达量达到最高, 随后逐渐下降; 胚珠发育到 20~30 d 时, GhAQP1 表达活性丧失(李登第等 2006)。棉花开花后 8~15 d 是胚珠发育最为迅速的阶段, 这表明 GhAQP1 的表达模式与胚珠的发育相协调, 对促进胚珠细胞的迅速分裂和膨大有意义。

尽管有关水孔蛋白在植物体内对水分运输的贡献率问题仍存在争议, 但有人认为水孔蛋白在细胞-细胞水分运输途径中起决定性作用(Aharon 等 2003; 吴安慧等 2006)。

**4.2 参与气孔运动** 拟南芥 AthH2 基因在气孔保卫细胞中高效表达; 向日葵(*Helianthus annuus*) SunTIP7 和 SunTIP20 在保卫细胞中表达, 前者在气孔关闭时表达上调, 后者表达量保持不变(Sarda 等 1997)。蚕豆(*Vicia faba*) BBAQ1 在蚕豆保卫细胞中专一表达, 而在其他表皮细胞中几乎没有表达(Sun 等 2001)。菠菜(*Spinacia oleracea*) SoPIP1;1 定位于保卫细胞上(Fraysse 等 2005)。上

述研究表明水孔蛋白参与气孔的运动。保卫细胞膜上的水孔蛋白可能作为渗透压感受器,而与某些离子通道(如  $K^+$ 、 $Cl^-$ )相耦联(MacRobbie 2006)。在低渗条件下,内向水流通过液泡膜上的水通道,促使水孔蛋白构象发生改变并激活与之耦联的离子通道,导致保卫细胞液泡内大量离子外流,细胞收缩引发气孔关闭。

**4.3 参与叶肉内  $CO_2$  的运输** 1998年,诸多研究表明哺乳动物 AQP1 能够介导  $CO_2$  的运输,于是人们推测植物水孔蛋白可能也有运输  $CO_2$  的能力(Tyerman 等 2002)。Terashima 和 Ono (2002)报道,在  $HgCl_2$  存在下叶肉细胞对  $CO_2$  的导度(internal  $CO_2$  conductance,  $g_i$ )急剧下降,降幅达 30%~40%。但他们实验中使用的  $HgCl_2$  是大部分水孔蛋白的活性抑制剂,无专一性,且  $HgCl_2$  具有毒性,存在许多副作用,因而用上述结果作为证据并不充分。随后, Uehlein 等(2003)用爪蟾卵母细胞证实 NtAQP1 能够提高细胞膜对  $CO_2$  的通透性,初步揭示植物水孔蛋白有介导  $CO_2$  运输的功能。在水稻(*Oryza sativa*)中过量表达大麦 HvPIP2;1 后,叶肉细胞对  $CO_2$  的导度提高,叶片内  $CO_2$  的扩散速率增强,进而植株对  $CO_2$  的同化效率提高(Hanba 等 2004)。最近, Flexas 等(2006)在烟草中证实内源性水孔蛋白 NtAQP1 介导  $CO_2$  在叶肉内运输。NtAQP1 在烟草中过量表达后,叶肉对  $CO_2$  的导度提高 20%,在饱和光照下,转基因植株的光合作用速率提高 20%;而在同样的条件下反义植株的叶肉对  $CO_2$  的导度和光合作用速率分别下降 13% 和 30%。这些实验在一定程度上说明,植物水孔蛋白可通过介导  $CO_2$  在叶肉细胞间的转运,有效调控  $CO_2$  的导度,从而影响光合作用效率。

在烟草中过量表达 *AtPIP1b* (*AthH2*)后,其生长速率和蒸腾速率均显著加快,值得注意的是,转基因植株上、下表皮的气孔密度和光合作用效率也分别增加约 22%、17% 和 35% (Aharon 等 2003)。Aharon 等(2003)将其归因于高水平的 *AtPIP1b* 含量导致水分消耗加剧和代谢加强。但 Hanba 等(2004)在 HvPIP2;1 运输  $CO_2$  的实验中也曾观察到蒸腾速率的增加,甚至植物蒸腾速率的加快还导致植株的叶片结构产生适应性变化,表皮增厚,叶肉细胞密度增加,成熟的后角组织增

多。由于 Aharon 等(2003)没有测定叶肉细胞对  $CO_2$  的导度,因而还不能排除 *AtPIP1b* 也有运输  $CO_2$  的能力。

**4.4 调节植物对中性分子(甘油、 $NH_3$ 、尿素)和营养元素(硼、硅)的吸收** 甘油对于植物细胞的渗透调节有作用,其代谢中间产物也有一定生理意义,如磷脂酰甘油即与植物的抗冷性有关。Rivers 等(1997)报道 Nod26 能够运输水分和甘油,同时还发现它也能运输甲酰胺。Biela 等(1999)发现烟草 NtAQP1 (属于 PIP1 类)能同时运输水分和甘油。Gerbeau 等(1999)报道,烟草 NtTIPa 除了可运输水分外,还能介导甘油和尿素的跨膜转运。拟南芥 *AtNLM1* (*AtNIP1;1*)和 *AtNLM2* (*AtNIP1;2*)在酵母中表达时具有运输甘油的能力,细胞外甘油浓度达  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,运输即达到饱和程度(Weig 和 Jakob 2000)。豌豆 PsNIP-1 是水-甘油通道,而 PsPIP1;1 可能运输甘油和甘氨酸(Schuermans 等 2003)。由这些可见,除 SIP 和 PIP2 外,植物中的 TIP、NIP 和 PIP1 均具有运输甘油的能力

植物中存在专一性的  $NH_4^+$  转运载体,即 AMT/MEP/Rh 蛋白家族(Loqué 等 2005)。但氨在植物细胞内的运输则可能依赖于水孔蛋白。大豆根瘤中类菌体外周膜对  $NH_3$  的通透性能为  $HgCl_2$  部分抑制,于是推测 Nod26 能够运输  $NH_3$  (Niemietz 和 Tyerman 2000)。在爪蟾卵母细胞中表达小麦(*Triticum aestivum*) *TaTIP2;1* 可显著提高膜对  $NH_3$  的通透性(Holm 等 2005)。拟南芥 *AtTIP2;1* 和 *AtTIP2;3* 运输  $NH_3$  的能力随 PH 的升高而增强(Loqué 等 2005)。将拟南芥从仅含硝酸盐的培养基上转移到同时含硝酸盐和氨的培养基上后, *AtTIP2;1* 与 *AtTIP2;3* 的表达迅速上调,且 *AtTIP2;1* 的表达量与液泡内氨的浓度变化相一致,说明 *AtTIP2;1* 与 *AtTIP2;3* 能够对外界氨的积累迅速作出响应,并介导氨从细胞质向液泡的转运。但 *AtTIP2;1* 在拟南芥中的过量表达并未使植株耐受甲基胺毒害的能力增强,根中氨与甲基胺的浓度与野生型的也无差异,表明植物对土壤中  $NH_4^+$  的吸收并不直接依赖于水孔蛋白,而是首先由 AMT/MEP/Rh 蛋白将其转运进入根细胞后,再由水孔蛋白以  $NH_3$  的形式从细胞质内向液泡中运输贮存。目前对于水孔蛋白运输  $NH_3$  的分子机制主

要有2种观点,一种认为 $\text{NH}_3$ 分子进入水通道后被质子化,然后以 $\text{NH}_4^+$ 的形式释放到膜内并贮存起来(Holm等2005;Kaldenhoff和Fischer2006);另一种认为膜外的氨只能以 $\text{NH}_3$ 的形式穿过水通道,进入膜内后再被质子化并贮存(Loqué等2005)。由于pH对水孔蛋白活性的调控是通过使D环内组氨酸质子化而引起蛋白质构象变化来实现(Hedfalk等2006),因此推测前一种观点可能较正确。在水孔蛋白介导的 $\text{NH}_3$ 运输过程中,其质子化状态可能处于动态变化中。首先水孔蛋白被质子化,使得 $\text{NH}_3$ 分子易于进入水通道,随后质子被传递给 $\text{NH}_3$ 形成 $\text{NH}_4^+$ ,水孔蛋白去质子化引起构象改变,使 $\text{NH}_4^+$ 释放到膜内。

Klebl等(2003)和Liu等(2003)采用酵母*dur3*突变株相继证实AtTIP2;1、AtTIP1;1、AtTIP1;2、AtTIP4;1和西葫芦(*Cucurbita pepo*)CpNIP1能有效地运输尿素分子。有人认为植物对尿素分子的吸收需要质子-尿素共转运载体DUR3和水孔蛋白协同转运,其中水孔蛋白介导的尿素分子的运输主要发生在液泡膜上,即尿素分子通过水通道进入液泡内贮存(Kojima等2006)。由于水孔蛋白对 $\text{NH}_3$ 和尿素的运输主要集中在TIP类,因此Kaldenhoff和Fischer(2006)推测TIP可能与植物体内的尿素循环和氨基酸合成代谢有关。

硼能够稳定植物细胞壁和细胞膜,在细胞壁中,硼与鼠李糖半乳糖醛酸聚糖II(rhamnogalacturonan II, RGII)形成复合体,并连接果胶多肽形成网络。缺硼能抑制细胞壁的合成,以致细胞分裂和伸长受阻;抑制花的发育,导致结实率下降,果实发育畸形;引起雄性不育,种子发育异常(Dordas等2000)。由于硼的再利用程度很低,因此植物必须通过根不断从土壤中以硼酸的形式吸收硼元素。Dordas等(2000)报道,南瓜根细胞质膜微囊对硼酸的通透性较微粒体膜高6倍,且受 $\text{HgCl}_2$ 部分抑制;*ZmPIP1*在爪蟾卵母细胞中表达后,细胞膜对硼酸的透性增加30%。Takano等(2006)的研究表明,AtNIP5;1在爪蟾卵母细胞中表达后,膜对硼酸的通透性增加5~9倍;当培养基中硼酸浓度从 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低到 $0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,AtNIP5;1的转录上调近13倍。T-DNA插入突变的研究还表明,AtNIP5;1突变株

在硼缺乏情况下不能正常生长,只有当外界硼酸浓度不低于 $30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,突变株表型才相对正常。说明AtNIP5;1对拟南芥硼代谢有意义,也表明植物对硼的吸收同时依赖于被动扩散和水孔蛋白介导的主动运输。

最近, Ma等(2006)报道水稻水孔蛋白Lsi1能专一性介导根皮层细胞对硅的吸收,这对水稻的抗病、抗倒伏的研究可能有意义。

**4.5  $\text{H}_2\text{O}_2$ 的运输与信号转导** Henzler和Steudle(2000)证实,珊瑚轮藻节间细胞对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的通透性约为水的46%,且 $\text{HgCl}_2$ 能抑制其在细胞内的积累。Bienert等(2007)报道,AtTIP1;1和AtTIP1;2在酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)细胞内表达后其对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 更敏感;采用细胞内活性氧荧光检测试剂,他们进一步证明 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的跨膜运输能够受 $\text{Ag}^+$ 抑制,这从分子水平上证实水孔蛋白能介导 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的运输。 $\text{H}_2\text{O}_2$ 在动植物体内不仅是活性氧的来源,也是重要的信号分子(Bienert等2006,2007)。因此认为,水孔蛋白可能与植物体内的氧化应激有关,并参与信号的跨膜转导。

在冷胁迫条件下,玉米根细胞中积累大量 $\text{H}_2\text{O}_2$ ,大部分PIP表达下调,mRNA含量降低,但水孔蛋白含量反而升高,磷酸化程度增加,活性提高,说明水孔蛋白能够对冷胁迫产生响应(Aroca等2005)。这种响应很可能既包括对胞内 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的部分清除,也包括 $\text{H}_2\text{O}_2$ 作为信号分子转运,从而使植株对逆境产生进一步的响应。

另据报道,水孔蛋白还能运输甲基胺、苹果酸、酒精、蔗糖等(Tyerman等2002;Kaldenhoff和Fischer2006)。

## 5 结语

水孔蛋白的多功能性不仅表现在整个MIP超家族内,还体现在单个水孔蛋白即具有运输多种物质的能力。如NtAQP1能同时介导水、甘油、 $\text{CO}_2$ 和尿素的跨膜运输,与根的吸水、叶的偏上性生长、气孔的运动及光合作用有关;豆科植物根瘤中Nod26能运输水、甘油、 $\text{NH}_3$ 、甲酰胺及苹果酸(Kaldenhoff和Fischer2006)。

在影响光合作用效率的诸多因素中,叶肉对 $\text{CO}_2$ 的导度是关键因素之一(Flexas等2006)。HvPIP2;1与NtAQP1过量表达的实验表明,通过

提高特定水孔蛋白的表达水平, 可促进植株的光合作用效率, 这对作物的光合遗传改良可能有一定的意义。

水孔蛋白在不同细胞、组织及器官内的表达水平存在差异, 功能也不尽相同。如 *AtPIP1b* (*AthH2*) 在根的伸长区、雄蕊区、幼嫩的果实中表达, 表明其参与细胞的分裂和伸长生长; 同时该基因在气孔的保卫细胞中也有高水平的表达并受蓝光诱导, 说明它还参与气孔的运动。因此将水孔蛋白的表达定位和功能相联系起来研究, 将能更好地阐明植物生长发育的生理生化过程。

### 参考文献

- 侯彩霞, 黄昊, 汤章城(1997). 植物细胞的水孔蛋白. 植物生理学通讯, 33 (2): 151~156
- 李登弟, 黄耿青, 谭新, 王杰, 王秀兰, 许文亮, 吴雅洁, 汪虹, 李学宝(2006). 棉花 *GhAQP1* 基因克隆及其在胚珠发育中的特异表达. 植物生理与分子生物学学报, 32 (5): 543~550
- 吴安慧, 张岁岐, 邓西平, 山仑, 刘小芳(2006). 水分亏缺下玉米根系 *ZmPIP1* 亚族基因的表达. 植物生理与分子生物学学报, 32 (5): 557~562
- 于秋菊, 吴琦, 林忠平, 李景富(2002). 植物水孔蛋白研究进展. 北京大学学报(自然科学版), 38 (6): 855~866
- 朱美君, 陈珈, 王学臣(2000). 玉米根细胞质膜水孔蛋白的鉴别、分布及其功能. 科学通报, 45 (4): 407~411
- Aharon R, Shahak Y, Wininger S, Bendov R, Kapulnik Y, Galili G (2003). Overexpression of a plasma membrane aquaporin in transgenic tobacco improves plant vigor under favorable growth conditions but not under drought or salt stress. *Plant Cell*, 15: 439~447
- Aroca R, Amodeo G, Fernández-Illescas S, Herman EM, Chaumont F, Chrispeels MJ (2005). The role of aquaporins and membrane damage in chilling and hydrogen peroxide induced changes in the hydraulic conductance of maize roots. *Plant Physiol*, 137 (1): 341~353
- Biela A, Grote K, Otto B, Hoth S, Hedrich R, Kaldenhoff R (1999). The *Nicotiana tabacum* plasma membrane aquaporin NtAQP1 is mercury-insensitive and permeable for glycerol. *Plant J*, 18 (5): 565~570
- Bienert GP, Møller ALB, Kristiansen KA, Schulz A, Møller IM, Schjoerring JK, Jahn TP (2007). Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. *J Biol Chem*, 282 (2): 1183~1192
- Bienert GP, Schjoerring JK, Jahn TP (2006). Membrane transport of hydrogen peroxide. *Biochim Biophys Acta*, 1758 (8): 994~1003
- Borstlap AC (2002). Early diversification of plant aquaporins. *Trends Plant Sci*, 7: 529~530
- Boursiac Y, Chen S, Luu DT, Sorieul M, van den Dries N, Maurel C (2005). Early effects of salinity on water transport in *Arabidopsis* roots. Molecular and cellular features of aquaporin expression. *Plant Physiol*, 139: 790~805
- Chaumont F, Barrieu F, Wojcik E, Chrispeels MJ, Jung R (2001). Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize. *Plant Physiol*, 125: 1206~1215
- Chaumont F, Moshelion M, Daniels MJ (2005). Regulation of plant aquaporin activity. *Biol Cell*, 97 (10): 749~764
- Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP, Agre P (1988). Identification, purification, and partial characterization of a novel  $M_r$  28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *J Biol Chem*, 263 (30): 15634~15642
- Dordas C, Chrispeels MJ, Brown PH (2000). Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiol*, 124 (3): 1349~1362
- Eisenbarth DA, Weig AR (2005). Dynamics of aquaporins and water relations during hypocotyl elongation in *Ricinus communis* L. seedlings. *J Exp Bot*, 56 (417): 1831~1842
- Fetter K, Van Wilder V, Moshelion M, Chaumont F (2004). Interactions between plasma membrane aquaporins modulate their water channel activity. *Plant Cell*, 16: 215~228
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Hanson DT, Bota J, Otto B, Cifre J, McDowell N, Medrano H, Kaldenhoff R (2006). Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to  $CO_2$  *in vivo*. *Plant J*, 48 (3): 427~439
- Frayssé LC, Wells B, McCann MC, Kjellbom P (2005). Specific plasma membrane aquaporins of the PIP1 subfamily are expressed in sieve elements and guard cells. *Biol Cell*, 97 (7): 519~534
- Gerbeau P, Güçlü J, Ripoche P, Maurel C (1999). Aquaporin Nt-TIPa can account for the high permeability of tobacco cell vacuolar membrane to small neutral solutes. *Plant J*, 18 (6): 577~587
- Gustavsson S, Lebrun AS, Nordén K, Chaumont F, Johanson U (2005). A novel plant major intrinsic protein in *Physcomitrella patens* most similar to bacterial glycerol channels. *Plant Physiol*, 139: 287~295
- Hanba YT, Shibasaki M, Hayashi Y, Hayakawa T, Kasamo K, Terashima I, Katsuhara M (2004). Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases internal  $CO_2$  conductance and  $CO_2$  assimilation in the leaves of transgenic rice plants. *Plant Cell Physiol*, 45 (5): 521~529
- Hedfalk K, Tornroth-Horsefield S, Nyblom M, Johanson U, Kjellbom P, Neutze R (2006). Aquaporin gating. *Curr Opin Struct Biol*, 16 (4): 447~456
- Henzler T, Stuedle E (2000). Transport and metabolic degradation of hydrogen peroxide in *Chara corallina*: model calculations and measurements with the pressure probe suggest transport of  $H_2O_2$  across water channels. *J Exp Bot*, 51 (353): 2053~2066
- Hibuse T, Maeda N, Nagasawa A, Funahashi T (2006). Aquaporins and glycerol metabolism. *Biochim Biophys Acta*, 1758 (8): 1004~1011
- Holm LM, Jahn TP, Møller AL, Schjoerring JK, Ferri D, Klaerke

- DA, Zeuthen T (2005).  $\text{NH}_3$  and  $\text{NH}_4^+$  permeability in aquaporin-expressing *Xenopus* oocytes. *Pflügers Arch*, 450 (6): 415~428
- Ishibashi K (2006). Aquaporin subfamily with unusual NPA boxes. *Biochim Biophys Acta*, 1758 (8): 989~993
- Ishikawa F, Suga S, Uemura T, Sato H, Maeshima M (2005). Novel type aquaporin SIP are mainly localized to the ER membrane and show cell-specific expression in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 579: 5814~5820
- Javot H, Lauvergeat V, Santoni V, Martin-Laurent F, Güçlü J, Vinh J, Heyes J, Fränck KI, Schäffner AR, Bouchez D et al (2003). Role of a single aquaporin isoform in root water uptake. *Plant Cell*, 15: 509~522
- Johanson U, Karlsson M, Johansson I, Gustavsson S, Sjövall S, Fraysse L, Weig AR, Kjellbom P (2001). The complete set of genes encoding major intrinsic proteins in *Arabidopsis* provides a framework for a new nomenclature for major intrinsic proteins in plants. *Plant Physiol*, 126: 1358~1369
- Kaldenhoff R, Fischer M (2006). Functional aquaporin diversity in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1758 (8): 1134~1141
- Klebl F, Wolf M, Sauer N (2003). A defect in the yeast plasma membrane urea transporter Dur3p is complemented by *CpNIP1*, a Nod26-like protein from zucchini (*Cucurbita pepo* L.), and by *Arabidopsis thaliana*  $\delta$ -TIP or  $\gamma$ -TIP. *FEBS Lett*, 547 (1~3): 69~74
- Kojima S, Bohner A, von Wirén N (2006). Molecular mechanisms of urea transport in plants. *J Membr Biol*, 212 (2): 83~91
- Liu LH, Ludewig U, Gassert B, Frommer WB, von Wirén N (2003). Urea transport by nitrogen-regulated tonoplast intrinsic proteins in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 133 (3): 1220~1228
- Loque D, Ludewig U, Yuan L, von Wirén N (2005). Tonoplast intrinsic proteins AtTIP2;1 and AtTIP2;3 facilitate  $\text{NH}_3$  transport into the vacuole. *Plant Physiol*, 137 (2): 671~680
- Ma JF, Tamai K, Yamaji N, Mitani N, Konishi S, Katsuhara M, Ishiguro M, Murata Y, Yano M (2006). A silicon transporter in rice. *Nature*, 440 (7084): 688~691
- MacRobbie EA (2006). Osmotic effects on vacuolar ion release in guard cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103 (4): 1135~1140
- Mizutani M, Watanabe S, Nakagawa T, Maeshima M (2006). Aquaporin NIP2;1 is mainly localized to the ER membrane and shows root-specific accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 47 (10): 1420~1426
- Morillon R, Catterou M, Sangwan RS, Sangwan BS, Lassalles JP (2001). Brassinolide may control aquaporin activities in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 212 (2): 199~204
- Niemietz CM, Tyerman SD (2000). Channel-mediated permeation of ammonia gas through the peribacteroid membrane of soybean nodules. *FEBS Lett*, 465 (2~3): 110~114
- Niemietz CM, Tyerman SD (2002). New potent inhibitors of aquaporins: silver and gold compounds inhibit aquaporins of plant and human origin. *FEBS Lett*, 531 (3): 443~447
- Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P (1992). Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science*, 256 (5055): 385~387
- Rivers RL, Dean RM, Chandy G, Hall JE, Roberts DM, Zeidel ML (1997). Functional analysis of nodulin 26, an aquaporin in soybean root nodule symbiosomes. *J Biol Chem*, 272 (26): 16256~16261
- Sakurai J, Ishikawa F, Yamaguchi T, Uemura M, Maeshima M (2005). Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function. *Plant Cell Physiol*, 46: 1568~1577
- Sarda X, Tousch D, Ferrare K, Legrand E, Dupuis JM, Casse-Delbart F, Lamaze T (1997). Two TIP-like genes encoding aquaporins are expressed in sunflower guard cells. *Plant J*, 12 (5): 1103~1111
- Schuermans JA, van Dongen JT, Rutjens BPW, Boonman A, Pieterse CMJ, Borstlap AC (2003). Members of the aquaporin family in the developing pea seed coat include representatives of the PIP, TIP, and NIP subfamilies. *Plant Mol Biol*, 53 (5): 655~667
- Shiota H, Sudoh T, Tanaka I (2006). Expression analysis of genes encoding plasma membrane aquaporins during seed and fruit development in tomato. *Plant Sci*, 171: 277~285
- Siefritz F, Biela A, Eckert M, Otto B, Uehlein N, Kaldenhoff R (2001). The tobacco plasma membrane aquaporin NtAQP1. *J Exp Bot*, 52 (363): 1953~1957
- Siefritz F, Tyree MT, Lovisolo C, Schubert A, Kaldenhoff R (2002). PIP1 plasma membrane aquaporins in tobacco: from cellular effects to function in plants. *Plant Cell*, 14: 869~876
- Sun MH, Xu W, Zhu YF, Su W, Tang ZC (2001). A simple method for *in situ* hybridization to RNA in guard cells of *Vicia faba* L.: the expression of aquaporins in guard cells. *Plant Mol Biol Rep*, 19: 129~135
- Takano J, Wada M, Ludewig U, Schaaf G, von Wirén N, Fujiwara T (2006). The *Arabidopsis* major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. *Plant Cell*, 18 (6): 1498~1509
- Terashima I, Ono K (2002). Effects of  $\text{HgCl}_2$  on  $\text{CO}_2$  dependence of leaf photosynthesis: evidence indicating involvement of aquaporins in  $\text{CO}_2$  diffusion across the plasma membrane. *Plant Cell Physiol*, 43 (1): 70~78
- Tyerman SD, Niemietz CM, Bramley H (2002). Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant Cell Environ*, 25 (2): 173~194
- Uehlein N, Lovisolo C, Siefritz F, Kaldenhoff R (2003). The tobacco aquaporin NtAQP1 is a membrane  $\text{CO}_2$  pore with physiological functions. *Nature*, 425 (6959): 734~737
- Weig AR, Jakob C (2000). Functional identification of the glycerol permease activity of *Arabidopsis thaliana* NLM1 and NLM2 proteins by heterologous expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett*, 481 (3): 293~298