

张倩渊, 毛雅淇, 卢雅丹, 等. 植物 Whirly 蛋白研究进展[J]. 江苏农业学报, 2026, 42(1): 199-206.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2026.01.021

植物 Whirly 蛋白研究进展

张倩渊¹, 毛雅淇², 卢雅丹², 高安礼², 何华纲¹

(1. 江苏大学生命科学学院, 江苏 镇江 212013; 2. 河南大学生命科学学院, 河南 开封 475004)

摘要: 逆境胁迫是制约植物生长的主要因素之一。解析植物胁迫响应的分子机制, 尤其是揭示关键调控蛋白的作用机制, 是培育抗逆作物品种的理论基础。Whirly 蛋白是植物特有的一类单链 DNA/RNA 结合蛋白, 在细胞核内作为转录调节因子调控激素信号通路、生长发育以及多种胁迫响应基因网络, 同时在叶绿体和线粒体中调控 DNA 与 RNA 代谢功能, 并维持叶绿体和线粒体基因组的稳定。近年来, 结构生物学和反向遗传学研究的突破极大地推动了人们对 Whirly 蛋白功能的认知, Whirly 基因有望成为精准分子育种的靶点, 在作物育种策略中具有重要应用价值, 对其分子调控网络的精准操控可增强作物的抗逆性。本文结合最新研究成果, 系统总结当前关于 Whirly 蛋白的研究进展, 涵盖其发现历程、命名规则、分类、结构特征、亚细胞定位机制及其与 DNA 或 RNA 结合的特性, 重点剖析其在细胞核基因调控和细胞器基因组稳定性中的多重作用, 阐释其参与的关键生理过程。最后, 本文对 Whirly 蛋白未来研究中需要解决的问题进行了展望。

关键词: Whirly 蛋白; 单链 DNA/RNA; 转录调节因子

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2026)01-0199-08

Research progress on plant Whirly proteins

ZHANG Qianyuan¹, MAO Yaqi², LU Yadan², GAO Anli², HE Huagang¹

(1. School of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. School of Life Sciences, Henan University, Kaifeng 475004, China)

Abstract: Environmental stresses represent a major constraint to crop production. Understanding the molecular mechanisms underlying plant stress responses, particularly the roles of key regulatory proteins, is crucial for developing stress-resilient crops. Whirly proteins constitute a unique family of plant-specific single-stranded DNA/RNA-binding proteins that function dually as transcriptional regulators in the nucleus and as genome stability guardians in organelles. In the nucleus, they modulate phytohormone pathways and stress-responsive gene networks, while in chloroplasts and mitochondria, they participate in nucleic acid metabolism and organellar genome maintenance. Recent breakthroughs in structural biology and reverse genetics have significantly advanced our knowledge of Whirly protein functions. Whirly genes hold promise as strategic targets for precision molecular breeding aimed at enhancing crop stress adaptation and sustainable agricultural productivity. This review provides a comprehensive synthesis of current understanding regarding Whirly proteins, including their discovery, nomenclature, classification, structural features, subcellular targeting mechanisms, and

nucleic acid-binding properties, with a focus on their functional mechanisms in the nucleus, chloroplasts, and mitochondria, as well as their involvement in key physiological processes. Finally, we identify key knowledge gaps and propose future research priorities.

Key words: Whirly proteins; single-stranded DNA/RNA; transcription factor

收稿日期: 2025-04-24

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32171990); 江苏省自然科学基金面上项目(BK20231321)

作者简介: 张倩渊(2000-), 女, 广东梅州人, 硕士研究生, 主要从事小麦遗传研究。(E-mail) 19802596368@163.com

通讯作者: 何华纲, (E-mail) hghe@ujs.edu.cn; 高安礼, (E-mail) algao@henu.edu.cn

随着全球极端气候频繁发生以及世界人口的增长,作物生产正面临前所未有的挑战。提高作物抗逆性和产量是应对这种挑战最有效的方法。植物在长期进化过程中,已形成了高度复杂、精细的系统以抵御非生物胁迫(如盐渍化、干旱)和生物胁迫(包括病原菌侵染和植食性危害)的不利影响。近年来,科学家对调控植物胁迫响应的信号系统、遗传通路及相关蛋白质的认知不断加深。通过对调控植物胁迫响应基因的精准选择,有可能通过分子育种手段培育出抗逆作物新品种。

Whirly 家族蛋白广泛存在于植物界,是定位于细胞核和叶绿体(或线粒体)中的双定位蛋白,参与调控植物生长发育与逆境防御反应。近年来,关于 Whirly 蛋白功能的研究取得重要进展,证实该类蛋白质在植物发育及胁迫耐受性方面发挥多样化的重要作用。具体而言,Whirly 在细胞核中作为转录因子调控基因表达,这些基因主要编码与植物发育及胁迫响应有关的功能蛋白。然而,现有关于 Whirly 蛋白功能的研究文献存在分歧,不同研究的试验条件(生长环境、物种选择及处理方法)差异极大,导致对该蛋白质在不同物种中的亚细胞定位及功能尚未形成共识。本文系统分析现有研究结果,阐释 Whirly 蛋白在调控植物发育以及应对胁迫中的作用机制,探讨其如何在植物中实现多样化的关键功能,并结合其多维度功能的最新认知,展望其未来的研究方向。

1 Whirly 蛋白的发现和命名

最早在马铃薯中发现病程(PR)相关基因 *PR-10a* 的启动子区,存在一个类似回文结构的顺式作

用元件,将其命名为激发子反应元件 ERE(Elicitor response element)^[1-2]。马铃薯核蛋白因子 PBF-2(PR-10a binding factor 2)可特异性识别 ERE 并与之结合,进而激活 *PR-10a* 基因的转录^[2-3]。随后,研究人员从马铃薯的 PBF-2 复合物中纯化得到 1 个蛋白质,将其命名为 P24;该蛋白质可与单链 ERE 结合,且其 N 端含有典型的转录激活结构域,因此推测 P24 蛋白是具有转录因子活性的单链 DNA 结合蛋白。研究人员进一步搜索数据库后发现,水稻、拟南芥、玉米等植物中均含有 2 个或 2 个以上与 P24 同源的蛋白质,且这些同源蛋白质的氨基酸序列相似性较高,表明该类蛋白质是植物特有的蛋白质家族成员^[4]。此后不久,研究人员成功获得 P24 蛋白的晶体并对其进行三维结构解析,发现该蛋白质的三维结构呈陀螺状(Whirligig-like),因此将这类 P24 同源蛋白质统一命名为 Whirly 蛋白^[5]。截至目前,研究人员在已检测的各类植物中均发现了 Whirly 蛋白,并对该家族蛋白质的结构、表达模式及功能进行了深入分析^[6-8]。

2 Whirly 蛋白的结构特征

2.1 Whirly 蛋白结构的保守性

Whirly 蛋白结构比较保守,包含 3 个核心结构域:N 端结构域,单链 DNA 结合域(Single-stranded DNA-binding domain,又称 Whirly 结构域)以及 C 端多变区(图 1)。其中,N 端结构域不仅具有典型的转录激活结构域特征,还含有潜在的叶绿体或线粒体靶向定位信号肽。单链 DNA 结合域是最保守的区域。C 端多变区一般认为具有自我调节功能,用来调节与单链 DNA 的结合活性^[4-5]。

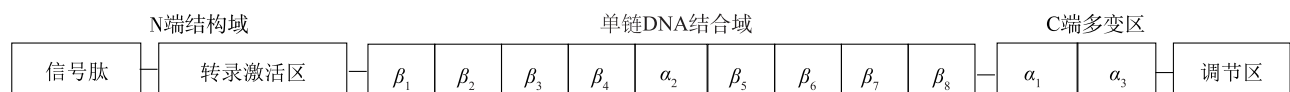


图 1 Whirly 蛋白保守结构域示意图

Fig.1 Schematic diagram of conserved domains in Whirly proteins

2.2 Whirly 蛋白单体的结构

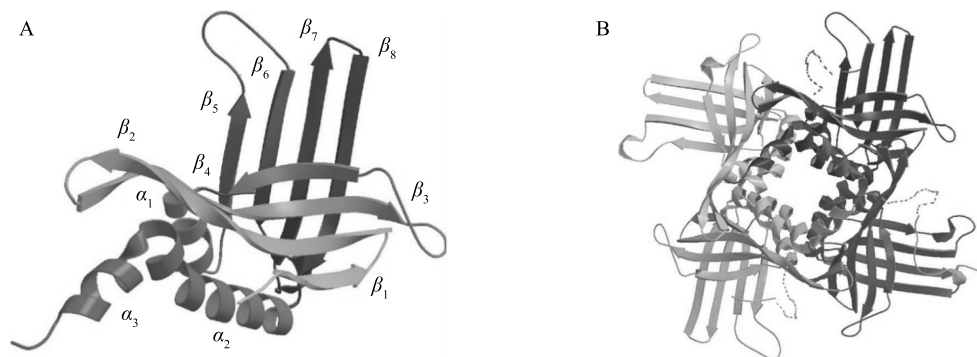
马铃薯 P24 蛋白是第 1 个被解析结构的 Whirly 蛋白(图 2A)^[5]。此后,研究人员相继解析了马铃薯 Whirly2 蛋白,拟南芥 Whirly1 蛋白、Whirly2 蛋白、Whirly3 蛋白的结构以及 Whirly-DNA 复合物的晶体结构,发现不同物种的 Whirly

蛋白晶体结构非常相似。每个 Whirly 蛋白单体包含 2 个 β 折叠和 3 个 α 螺旋,每个 β 折叠由 4 条反向平行的 β 链组成,2 个 β 折叠互相垂直,通过 1 个 α 螺旋相连,形成 1 个类似于刀刃的突起。另外 2 个 α 螺旋通过 1 个环相连,位于该 Whirly 蛋白单体结构的 C 端^[9-12]。

2.3 Whirly 蛋白多聚体的结构

马铃薯中发现的第 1 个 Whirly 蛋白 P24 的相对分子量为 24 000, 然而研究者通过凝胶过滤洗脱的方法, 发现溶液中的 P24 蛋白以相对分子量约 100 000 大小被洗脱下来, 据此推测溶液中的 P24 蛋白可能以同源四聚体形式存在, 随后的晶体结构数

据证实了这一推测。晶体结构显示, 4 个 P24 蛋白通过各自的螺旋-环-螺旋连接在一起, 4 个单体对称分布。每个单体的螺旋-环-螺旋在四聚体的中央收敛, 形成了一个疏水的中心空腔, β 折叠辐射向外 (图 2B)。四聚体结构类似一个旋转的陀螺 (Whirligig-like), 这也是 Whirly 蛋白命名的由来^[5]。



A: P24 蛋白单体结构示意图; B: P24 蛋白四聚体结构示意图。

图 2 马铃薯 P24 蛋白的三维结构示意图

Fig.2 Schematic diagram of the three-dimensional structure of potato P24 protein

继发现 Whirly 蛋白在溶液中以四聚体形式存在后, Cappadocia 等^[11]进一步深化了对其结构的研究。他们发现, 马铃薯 Whirly2 蛋白的四聚体之间可通过特定赖氨酸残基与其他氨基酸形成的氢键进一步组装成包含 6 个四聚体的多聚体 (即由 24 个单体组成的二十四聚体)。该二十四聚体能够结合较长的单链 DNA, 且关键在于上述赖氨酸残基在 Whirly 蛋白家族中高度保守, 若该位点发生突变, 蛋白质无法形成二十四聚体, 但不影响四聚体的正常形成, 也不干扰四聚体与短单链 DNA 的结合能力。值得注意的是, 只有当 Whirly2 蛋白浓度较高, 或其结合的单链 DNA 较长时, 才会形成二十四聚体。这一现象表明, 二十四聚体结构对于 Whirly2 蛋白结合长单链 DNA 具有重要意义。

2.4 Whirly 蛋白与 DNA 的结合

体外结合及点突变试验发现, 一个 Whirly 蛋白四聚体结合一个单链 DNA 分子, 且 Whirly 蛋白的 DNA 结合活性依赖于 β 折叠区域的 KGKAAL 序列。在其他物种的 Whirly 蛋白中, 这段序列十分保守, 并且大部分单链 DNA 结合蛋白都具有该保守序列^[5]。据此, 研究者推测单链 DNA 可能结合在 β 折叠的表面, 从而包裹住四聚体。不过, 随着 Whirly-DNA 复合物结构被解析, Whirly 蛋白与单链 DNA

结合的分子机制才逐渐明晰。马铃薯 Whirly2-DNA 复合物的晶体结构显示, 单链 DNA 结合在相邻单体的 β 折叠边缘, 而且与 DNA 结合的氨基酸并不在 KGKAAL 序列内^[11]。在后续的一篇研究报告中, 研究者进一步指出, KGKAAL 序列并不与 DNA 直接发生相互作用, 但它对于维持 β -折叠的稳定性起重要作用^[10]。

3 Whirly 蛋白在细胞中的定位

自从首次将马铃薯 P24 蛋白命名为 Whirly1 蛋白后, 所有与 P24 同源的蛋白都有了统一的命名^[5]。由于 P24 蛋白是从细胞核中纯化得到, 并且与 *PR-10a* 基因启动子区域的 ERE 元件结合, 所以最初认为 Whirly 蛋白定位于细胞核中。根据这一惯例, 研究者统一将定位于细胞核中的 Whirly 蛋白命名为 Whirly1 蛋白^[4]。然而, 基于生物信息学分析, 研究者发现 Whirly 蛋白具有潜在的叶绿体或线粒体定位信号肽, 说明 Whirly 蛋白也可能定位于叶绿体或线粒体中^[13-15]。通过在拟南芥叶肉细胞原生质体中瞬时表达融合绿色荧光蛋白 (GFP) 的 Whirly 蛋白, 研究者发现, 拟南芥 Whirly1 蛋白和 Whirly3 蛋白定位于叶绿体, 而 Whirly2 蛋白定位于线粒体, 这是首次观察到 Whirly 蛋白定位于细胞核

之外的细胞器中^[11]。此外,还有其他一些研究结果间接证实了 Whirly 蛋白定位于叶绿体或线粒体中,如有研究者报道从马铃薯线粒体中分离出了 Whirly 蛋白以及从拟南芥叶绿体转录激活的 DNA-蛋白复合物中纯化得到了 Whirly1 蛋白^[16-17]。另有人采用免疫组化技术研究发现,玉米和大麦中的 Whirly1 蛋白可定位于叶绿体的基质与内囊体膜上^[18-19]。

Grabowski 等^[20]通过制备大麦 Whirly1 蛋白的特异性抗体,首次通过试验证实 Whirly1 蛋白定位于同一细胞的细胞核和叶绿体中,而且,他们还发现细胞核中的 Whirly1 蛋白以多聚体形式存在,叶绿体中的则不能形成多聚体。这一研究结果不仅明确了 Whirly1 蛋白的双定位特征,也使“Whirly 蛋白是一类可定位于细胞核与细胞器(叶绿体或线粒体)的双定位蛋白”这一结论得到学界公认,其中定位于细胞核与叶绿体的 Whirly 蛋白被正式命名为 Whirly1 蛋白。最早发现定位于线粒体中的 Whirly 蛋白被命名为 Whirly2 蛋白,后续又有不同研究确认了 Whirly2 蛋白也可定位于细胞核中,再次证实了其双定位属性。相比之下,Whirly3 蛋白的亚细胞定位更为复杂,且目前仅在拟南芥中被发现。关于其定位的研究结论呈现多维度特征,首先,Whirly3 蛋白最早被定位于叶绿体;此外,有研究者指出,拟南芥质体中的 Whirly3 蛋白可与 Whirly1 蛋白协同作用,共同维持质体基因组的稳定性及正常代谢功能^[21];另有一项利用完整线粒体与叶绿体开展的体外细胞器蛋白质转运试验结果显示,Whirly3 蛋白可能同时定位于叶绿体与线粒体^[22]。不过,截至目前,Whirly3 蛋白是否定位于细胞核,尚无明确结论。综上,由于 Whirly 蛋白亚细胞定位方法存在差异,其“体内亚细胞试验结果”与“体外细胞器转运研究结果”之间仍存在矛盾。

研究发现,Whirly 蛋白在不同细胞器中的定位并不是固定不变的。将融合了血凝素(HA)标签的 Whirly1 基因插入烟草叶绿体基因组中,在叶绿体中合成 Whirly1 蛋白,然后通过免疫杂交,结果在细胞核里检测到了来自于叶绿体的 Whirly1 蛋白,而且还激活了核基因 *PR1* 和 *PR2* 的转录,表明叶绿体中的 Whirly1 蛋白被转运到细胞核中^[23]。

关于 Whirly 蛋白在细胞不同区室间分配的分子机制,目前尚不明确。研究者推测,在某些胁迫刺激下,叶绿体或线粒体中的 Whirly 蛋白会转移到细

胞核中,作为转录因子调控生长发育和防御相关基因的表达^[24-25]。

4 Whirly 蛋白的生理功能及参与的生物学过程

Whirly 蛋白的双定位特征表明它们在细胞核和叶绿体(或线粒体)中具有重要作用。借助突变体分析技术等反向遗传学手段,研究人员对 Whirly 蛋白参与的生命活动过程有了相对清晰的了解。作为最初被认定的一种单链核酸结合蛋白,Whirly 蛋白分别在细胞核和叶绿体(或线粒体)中参与了多种生物学过程。

4.1 Whirly 蛋白在细胞核内的生物学功能

如前所述,马铃薯受到病原物侵染后,细胞核中的 Whirly1 蛋白与病程相关基因 *PR-10a* 启动子区域的 ERE 结合,激活 *PR-10a* 基因的转录,最终介导抗病反应过程,这是 Whirly 蛋白通过调节病原相关基因转录水平参与抗病反应的最早报道。在拟南芥中,Whirly1 基因突变后,植株部分丧失了水杨酸(SA)诱导的基础抗性和系统获得抗性,而且水杨酸诱导的防卫反应标记基因 *PR-1* 的表达量降低,表明 Whirly1 蛋白可能通过调控 *PR* 基因的转录参与水杨酸诱导的防卫反应过程^[26]。在大麦中,Whirly1 蛋白与胁迫及衰老相关基因 *HvS40* 的启动子区域结合,调控 *HvS40* 基因的转录^[27-28],其转录水平受病原物和 SA 诱导,暗示大麦 Whirly1 蛋白也参与了抗病反应过程。在拟南芥中表达大麦的 Whirly1 基因,发现 Whirly1 蛋白可以与 *WRK53*、*WRK33*、*SPO11*、*PR1* 基因启动子结合,正向调节衰老相关过程^[29-30]。Chitnis 等^[31]研究发现,小麦 Whirly1 蛋白参与了种子休眠过程中与激素信号转导相关基因的转录。在番茄中,Whirly1 蛋白可直接调控热激蛋白基因 *HSP21.5A* 的表达,从而增强番茄植株的耐热性;同时研究还发现,低温胁迫下 Whirly1 蛋白可正向调控 *RbcS1* 基因的表达,进而保持叶片的光合能力,最终提高番茄的抗冻性^[32-33]。

细胞核中 Whirly2 蛋白似乎也可以作为转录调节因子调节基因的转录水平。在拟南芥中,Whirly2 蛋白不仅可以结合蔗糖转运蛋白基因 *SWEET11*、*SWEET15* 的启动子,而且也正向调节茉莉酸信号途径中相关防卫基因的表达^[34]。也有研究者报道,Whirly2 蛋白正向调控拟南芥生长发育相关基因的表达,是根尖分生组

织发育调控网络的关键调节因子^[35]。

虽然上述研究结果表明,Whirly 蛋白作为转录因子激活了目标基因的转录,但也有研究者发现,Whirly 蛋白与特定序列结合后抑制了基因的转录。在拟南芥衰老过程中,Whirly1 蛋白与 *WRKY53* 基因的启动子结合,抑制了该基因的转录。在 *WRKY53* 基因启动子区域含有 ERE 元件和 AT 富集类端粒重复序列,体内和体外试验证实 Whirly1 蛋白可以与这些元件结合^[36]。此外,拟南芥 Whirly1 蛋白和 Whirly3 蛋白可以与 *KPI* 基因的启动子区域结合,抑制 *KPI* 基因的转录^[37]。还有研究者发现,拟南芥 Whirly1 蛋白抑制了微小 RNA (miRNA) 的合成^[38]。在水稻中发现,Whirly1 蛋白和 Whirly2 蛋白与 *PAL2;3* 基因启动子结合,显著负调控 *PAL2;3* 基因的转录^[39]。

4.2 Whirly 蛋白在叶绿体或线粒体中的生理功能

最早在玉米中发现,Whirly1 蛋白与叶绿体 DNA 的结合均匀分布于整个叶绿体基因组中,表明叶绿体中的 Whirly1 蛋白不可能作为一个特异基因的转录调节因子,其功能缺失引起了叶绿体基因组 DNA 的异常重组^[18]。在拟南芥中,Whirly1 和 Whirly3 双突变体的叶绿体基因组积累了大量序列重排的 DNA 分子,最终导致叶绿体功能缺陷,同时,叶片生长缺陷,积累大量的活性氧(ROS),研究者据此认为,叶绿体中的 Whirly 蛋白可能通过负调节 DNA 异常重组过程,进而维持叶绿体基因组的稳定性^[11,40-42]。其他研究也发现拟南芥的 Whirly1 蛋白、Whirly3 蛋白与叶绿体核糖核酸酶 H1 (*RNHIC*)

互作促进了同源重组修复,进而维持叶绿体基因组的完整性^[43]。

在拟南芥中,Whirly2 基因功能缺失引起线粒体功能障碍,表现为呼吸链复合物酶活性降低,线粒体 DNA 含量下降,而且植株表现出衰老症状,暗示 Whirly2 蛋白对于维持线粒体的正常结构和功能具有重要作用^[23,44]。Cappadocia 等^[10]报道了拟南芥线粒体中 Whirly2 蛋白通过与叶绿体中 Whirly1 蛋白同样的途径维持了线粒体基因组的稳定性。Janicka 等^[45]从拟南芥线粒体中纯化得到细胞器 DNA 结合蛋白 ODB1 和 Whirly2 蛋白的复合物,而 ODB1 蛋白通过与单链 DNA 结合参与了依赖于同源重组的 DNA 修复过程。

目前基本可以确认,叶绿体或线粒体中的 Whirly 蛋白通过与单链 DNA 结合的方式维持了叶绿体和线粒体基因组 DNA 的稳定,并参与了部分 RNA 的代谢。

近年来,有研究发现,叶绿体或线粒体中的 Whirly 蛋白还可以作为转录因子调控叶绿体或线粒体基因的转录。如木薯中 Whirly 蛋白能够与叶绿体 *NCED1* 基因的 PB 元件结合,激活基因表达,进而提升脱落酸(ABA)水平并增强植株耐旱性^[46]。

总之,细胞核中的 Whirly 蛋白主要作为转录因子调控基因的转录,参与植物的激素信号转导、抗病反应以及调控衰老和光合作用等生理过程。叶绿体和线粒体中的 Whirly 蛋白主要通过 DNA 结合,维持叶绿体和线粒体基因组的稳定性。表 1 列出了目前已经报道的不同物种中 Whirly 蛋白的生物学功能。

表 1 不同物种中 Whirly 蛋白的功能

Table 1 The functions of Whirly proteins in plants

物种	Whirly 蛋白	生物学功能	参考文献
小麦	Whirly1	参与种子休眠和激素信号转导	[31]
水稻	Whirly1	参与抗病反应	[39]
	Whirly2		
玉米	Whirly1	参与叶绿体 DNA 的合成和复制	[18,40]
大麦	Whirly1	参与逆境胁迫反应和叶片衰老过程	[27-30]
拟南芥	Whirly1	参与抗病反应;维持叶绿体基因组的稳定;调控叶片衰老和发育;调控根尖分生组织的发育网络;参与光合作用;参与脱落酸(ABA)信号响应;维持端粒长度平衡	[11,26,34-38,40-42]
	Whirly2	参与种子萌发;维持线粒体基因组的稳定;调控叶片衰老	[10,23,35,44]
	Whirly3	维持叶绿体基因组的稳定	[11,43]
番茄	Whirly1	调控热胁迫反应;参与冷胁迫反应	[32-33]
马铃薯	Whirly1	参与抗病反应	[2-3]
木薯	Whirly	参与干旱胁迫反应	[46]

5 Whirly 蛋白结合单链 DNA 序列的特征

马铃薯 Whirly1 蛋白因为可以与 *PR-10a* 基因启动子区域的 ERE 序列特异结合而被认为是单链 DNA 结合蛋白^[4]。通过点突变和瞬时转录激活试验发现,马铃薯 Whirly1 蛋白结合的 ERE 最小序列为 GTCAAAAT,将其命名为 PB(PBF-2 binding);与马铃薯 Whirly1 蛋白高度相似的拟南芥 Whirly1 蛋白也可以与 PB 结合,据此推测所有 Whirly 蛋白都可以与 PB 结合,后续相关研究结果也证实了这种推测^[4-5,9-10,13]。Yoo 等^[47]研究发现,拟南芥 Whirly1 蛋白结合端粒的单链重复序列为 TTTAGGG。Xiong 等^[37]研究发现,拟南芥 Whirly1 蛋白和 Whirly3 蛋白可以结合到 *KPI* 基因启动子区域,后者包含一段类似 PB 的序列。细胞核中的 Whirly 蛋白是否只结合上述 3 种特异序列,目前还不清楚。

与细胞核中 Whirly 蛋白不同的是,叶绿体和线粒体中的 Whirly 蛋白与单链 DNA 的结合没有明显的特异性。拟南芥 Whirly2 蛋白可以结合线粒体单链 DNA 的多个序列,而且对编码序列和非编码序列也没有明显的倾向性^[44]。玉米 Whirly1 蛋白与叶绿体 DNA 的结合均匀分布在整個叶绿体基因组中,表明 Whirly1 蛋白结合的单链 DNA 序列没有特异性^[19]。关于细胞核中 Whirly 蛋白和叶绿体(或线粒体)中 Whirly 蛋白结合单链 DNA 序列的差异,目前还没有明确的结论可以解释。有研究者认为,细胞核中的 Whirly 蛋白含量较少,只能结合有限的几种具有典型特征的单链 DNA,而在叶绿体或线粒体中 Whirly 蛋白含量较多,可以结合所有的单链 DNA,但这一结论并没有严格的试验证据支持^[10]。

传统观点认为,Whirly 蛋白是一种单链 DNA 结合蛋白,但也有一些研究者提出了新的看法,认为 Whirly 蛋白也可以与 RNA 结合。如前所述,大麦叶绿体中的 Whirly1 蛋白参与了叶绿体 RNA *atpF* 转录本的剪切,同时,体外试验结果进一步证实,该蛋白不仅能与单链 DNA 结合,还可与单链 RNA 结合^[20]。最近有研究者提出,拟南芥 Whirly 家族是一个 RNA 结合蛋白^[48]。

6 Whirly 蛋白的活性调节

现有研究结果证实,Whirly 蛋白参与了抗病、激

素信号转导、调控衰老、质体 DNA 修复等多种生理过程,然而 Whirly 基因在转录水平上受何种因素调节,目前尚未见报道。Whirly 蛋白活性的研究主要集中在其与单链 DNA 的结合活性方面。在拟南芥中,水杨酸处理和病原菌诱导都可以增加 Whirly1 蛋白的单链 DNA 结合活性^[27]。在新鲜的马铃薯块茎组织中,P24 蛋白以失活形式存在,激发子增加了 P24 蛋白的单链 DNA 结合活性,而且这种活性的增强并不是因为蛋白质含量的增加^[4]。在上述 2 个研究中,虽然都发现外界刺激增强了 Whirly 蛋白的单链 DNA 结合活性,但作者并没有解释活性增加的分子机制。早在 1997 年,Subramaniam 等^[3]就已经发现马铃薯中一种蛋白激酶 C 参与了 PBF-2 与激发子反应元件的结合过程,但该研究没有给出蛋白激酶磷酸化 PBF-2 的直接证据。蛋白激酶是否通过磷酸化 Whirly 蛋白来增加后者的单链 DNA 结合活性,目前尚不清楚,还需要进一步的研究。

7 展望

目前的研究结果证实细胞核中的 Whirly 蛋白通过与单链 DNA 的特定序列结合来调控基因的转录。虽然有研究者认为拟南芥中受 Whirly1 蛋白和 Whirly3 蛋白调控的 *KPI* 基因,其启动子序列与 PB 序列没有明显的相似性,但也从另一个方面证实了 Whirly 蛋白调控基因的多样性^[37]。今后,可以利用反向遗传学手段继续筛选受 Whirly 蛋白直接调控的基因,以丰富人们对 Whirly 蛋白参与生命活动过程的认识。Whirly 蛋白在细胞核和叶绿体(或线粒体)中的双重定位可能具有特殊的生物学意义。目前,Whirly 蛋白在细胞不同区室间分配的分子机制还不清楚。有学者根据植物中已经发现的细胞核和细胞器双定位蛋白的研究结果提出了一个假说,认为 Whirly 蛋白首先定位于叶绿体或线粒体,在某种外界刺激下,再被转运到细胞核中^[15,25-26]。还有研究者推测,Whirly 蛋白扮演了叶绿体或线粒体信号向细胞核传递的中间分子角色。然而,叶绿体或线粒体中的 Whirly 蛋白如何感知外界信号,如何通过迁移的方式将信号传递到细胞核并调控核基因的表达,仍然知之甚少。探索 Whirly 蛋白作为中间分子传递细胞核或细胞器信号的分子机制将是未来 Whirly 蛋白的研究重点。

参考文献:

- [1] MATTON D P, PRESCOTT G, BERTRAND C, et al. Identification of *cis*-acting elements involved in the regulation of the pathogenesis-related gene *STH-2* in potato[J]. *Plant Molecular Biology*, 1993, 22(2):279-291.
- [2] DESPRES C, SUBRAMANIAM R, MATTON D P, et al. The activation of the potato *PR-10a* gene requires the phosphorylation of the nuclear factor PBF-1[J]. *The Plant Cell*, 1995, 7(5):589-598.
- [3] SUBRAMANIAM R, DESPRÉS C, BRISSON N. A functional homolog of mammalian protein kinase C participates in the elicitor-induced defense response in potato[J]. *The Plant Cell*, 1997, 9(4):653-664.
- [4] DESVEAUX D, DESPRES C, JOYEUX A, et al. PBF-2 is a novel single-stranded DNA binding factor implicated in *PR-10a* gene activation in potato[J]. *The Plant Cell*, 2000, 12(8):1477.
- [5] DESVEAUX D, ALLARD J, BRISSON N, et al. A new family of plant transcription factors displays a novel ssDNA-binding surface[J]. *Nature Structural Biology*, 2002, 9(7):512-517.
- [6] 梁书卿,周晓慧,杨艳,等. 茄子 *Whirly* 基因家族鉴定和表达分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2024, 25(1):120-128.
- [7] 孙月,杨慧玉,朱文根,等. 小麦 *Whirly* 基因家族的鉴定及表达分析[J]. *农业生物技术学报*, 2023, 31(2):223-231.
- [8] 李清,王洪,郭祿芹,等. 大豆 *Whirly* 基因家族的鉴定和表达分析[J]. *大豆科学*, 2019, 38(2):204-211.
- [9] CAPPADOCIA L, SYGUSCH J, BRISSON N. Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of the Whirly domain of StWhy2 in complex with single-stranded DNA[J]. *Acta Crystallographica. Section F, Structural Biology and Crystallization Communications*, 2008, 64(11):1056-1059.
- [10] CAPPADOCIA L, MARÉCHAL A, PARENT J S, et al. Crystal structures of DNA-whirly complexes and their role in *Arabidopsis* organelle genome repair[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(6):1849-1867.
- [11] CAPPADOCIA L, PARENT J S, ZAMPINI E, et al. A conserved lysine residue of plant Whirly proteins is necessary for higher order protein assembly and protection against DNA damage[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(1):258-269.
- [12] CAPPADOCIA L, PARENT J S, SYGUSCH J, et al. A family portrait: structural comparison of the Whirly proteins from *Arabidopsis thaliana* and *Solanum tuberosum*[J]. *Acta Crystallographica. Section F, Structural Biology and Crystallization Communications*, 2013, 69(11):1207-1211.
- [13] DESVEAUX D, MARÉCHAL A, BRISSON N. Whirly transcription factors: defense gene regulation and beyond[J]. *Trends in Plant Science*, 2005, 10(2):95-102.
- [14] KRAUSE K, KILBIENSKI I, MULISCH M, et al. DNA-binding proteins of the Whirly family in *Arabidopsis thaliana* are targeted to the organelles[J]. *FEBS Letters*, 2005, 579(17):3707-3712.
- [15] SCHWACKE R, FISCHER K, KETELSEN B, et al. Comparative survey of plastid and mitochondrial targeting properties of transcription factors in *Arabidopsis* and rice[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2007, 277(6):631-646.
- [16] VERMEL M, GUERMANN B, DELAGE L, et al. A family of RRM-type RNA-binding proteins specific to plant mitochondria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(9):5866-5871.
- [17] PFALZ J, LIERE K, KANDBINDER A, et al. pTAC2, -6, and -12 are components of the transcriptionally active plastid chromosome that are required for plastid gene expression[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(1):176-197.
- [18] PRIKRYL J, WATKINS K P, FRISO G, et al. A member of the Whirly family is a multifunctional RNA- and DNA-binding protein that is essential for chloroplast biogenesis[J]. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36(16):5152-5165.
- [19] MELONEK J, MULISCH M, SCHMITZ-LINNEWEBER C, et al. Whirly1 in chloroplasts associates with intron containing RNAs and rarely co-localizes with nucleoids[J]. *Planta*, 2010, 232(2):471-481.
- [20] GRABOWSKI E, MIAO Y, MULISCH M, et al. Single-stranded DNA-binding protein Whirly1 in barley leaves is located in plastids and the nucleus of the same cell[J]. *Plant Physiology*, 2008, 147(4):1800-1804.
- [21] GUAN Z, WANG W Z, YU X L, et al. Comparative proteomic analysis of coregulation of CIPK14 and WHIRLY1/3 mediated pale yellowing of leaves in *Arabidopsis*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(8):2231.
- [22] GOLIN S, NEGRONI Y L, BENNEWITZ B, et al. Whirly2 plays a key role in mitochondria morphology, dynamics, and functionality in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Direct*, 2020, 4(5):00229.
- [23] ISEMER R, MULISCH M, SCHÄFER A, et al. Recombinant Whirly1 translocates from transplastomic chloroplasts to the nucleus[J]. *FEBS Letters*, 2012, 586(1):85-88.
- [24] HANSON M R, HINES K M. Stromules: probing formation and function[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(1):128-137.
- [25] LIN W F, ZHANG H, HUANG D M, et al. Dual-localized Whirly1 affects salicylic acid biosynthesis *via* coordination of isochorismate synthase1, phenylalanine ammonia lyase1, and S-adenosyl-methionine-dependent methyltransferase1[J]. *Plant Physiology*, 2020, 184(4):1884-1899.
- [26] DESVEAUX D, SUBRAMANIAM R, DESPRÉS C, et al. A 'Whirly' transcription factor is required for salicylic acid-dependent disease resistance in *Arabidopsis*[J]. *Developmental Cell*, 2004, 6(2):229-240.
- [27] KRUPINSKA K, DÄHNHARDT D, FISCHER-KILBIENSKI I, et al. Identification of Whirly1 as a factor binding to the promoter of the stress- and senescence-associated gene *HvS40*[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2014, 33(1):91-105.
- [28] JANACK B, SOSOI P, KRUPINSKA K, et al. Knockdown of

- Whirly1 affects drought stress-induced leaf senescence and histone modifications of the senescence-associated gene *HsS40*[J]. *Plants*, 2016,5(3):37.
- [29] HUANG D M, LAN W, LI D J, et al. Whirly1 occupancy affects histone lysine modification and *WRKY53* transcription in *Arabidopsis* developmental manner[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018,9:1503.
- [30] REN Y J, LI Y Y, JIANG Y Q, et al. Phosphorylation of Whirly1 by *CIPK14* shifts its localization and dual functions in *Arabidopsis* [J]. *Molecular Plant*, 2017,10(5):749-763.
- [31] CHITNIS V R, GAO F, YAO Z, et al. After-ripening induced transcriptional changes of hormonal genes in wheat seeds; the cases of brassinosteroids, ethylene, cytokinin and salicylic acid[J]. *PLoS One*, 2014,9(1):87543.
- [32] ZHUANG K Y, GAO Y Y, LIU Z B, et al. Whirly1 regulates *HSP21.5A* expression to promote thermotolerance in tomato [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2020,61(1):169-177.
- [33] ZHUANG K Y, WANG J Y, JIAO B Z, et al. Whirly1 maintains leaf photosynthetic capacity in tomato by regulating the expression of *RbcSI* under chilling stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020,71(12):3653-3663.
- [34] HUANG C X, YU J F, CAI Q, et al. Triple-localized Whirly2 influences leaf senescence and silique development via carbon allocation[J]. *Plant Physiology*, 2020,184(3):1348-1362.
- [35] MCCOY R M, JULIAN R, KUMAR S R V, et al. A systems biology approach to identify essential epigenetic regulators for specific biological processes in plants[J]. *Plants*, 2021,10(2):364.
- [36] MIAO Y, JIANG J J, REN Y J, et al. The single-stranded DNA-binding protein Whirly1 represses *WRKY53* expression and delays leaf senescence in a developmental stage-dependent manner in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2013,163(2):746-756.
- [37] XIONG J Y, LAI C X, QU Z, et al. Recruitment of AtWHY1 and AtWHY3 by a distal element upstream of the kinesin gene *AtKPI* to mediate transcriptional repression[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009,71(4/5):437-449.
- [38] SWIDA-BARTECZKA A, KRIEGER-LISZKAY A, BILGER W, et al. The plastid-nucleus located DNA/RNA binding protein Whirly1 regulates microRNA-levels during stress in barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. *RNA Biology*, 2018,15(7):886-891.
- [39] FANG C X, YANG L K, CHEN W S, et al. *MYB57* transcriptionally regulates *MAPK11* to interact with *PAL2;3* and modulate rice allelopathy [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020,71(6):2127-2141.
- [40] MARÉCHAL A, PARENT J S, VÉRONNEAU-LAFORTUNE F, et al. Whirly proteins maintain plastid genome stability in *Arabidopsis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009,106(34):14693-14698.
- [41] ZAMPINI É, LEPAGE É, TREMBLAY-BELZILE S, et al. Organelle DNA rearrangement mapping reveals U-turn-like inversions as a major source of genomic instability in *Arabidopsis* and humans [J]. *Genome Research*, 2015,25(5):645-654.
- [42] DUAN S J, HU L L, DONG B B, et al. Signaling from plastid genome stability modulates endoreplication and cell cycle during plant development[J]. *Cell Reports*, 2020,32(6):108019.
- [43] WANG W J, LI K, YANG Z, et al. RNase H1C collaborates with ssDNA binding proteins WHY1/3 and recombinase *RecA1* to fulfill the DNA damage repair in *Arabidopsis* chloroplasts [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021,49(12):6771-6787.
- [44] MARÉCHAL A, PARENT J S, SABAR M, et al. Overexpression of mtDNA-associated AtWhy2 compromises mitochondrial function [J]. *BMC Plant Biology*, 2008,8:42.
- [45] JANICKA S, KÜHN K, LE RET M, et al. A RAD52-like single-stranded DNA binding protein affects mitochondrial DNA repair by recombination[J]. *The Plant Journal; for Cell and Molecular Biology*, 2012,72(3):423-435.
- [46] YAN Y, LIU W, WEI Y X, et al. *MeCIPK23* interacts with Whirly transcription factors to activate abscisic acid biosynthesis and regulate drought resistance in cassava [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020,18(7):1504-1506.
- [47] YOO H H, KWON C, LEE M M, et al. Single-stranded DNA binding factor AtWHY1 modulates telomere length homeostasis in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal; for Cell and Molecular Biology*, 2007,49(3):442-451.
- [48] REICHEL M, LIAO Y L, RETTEL M, et al. In planta determination of the mRNA-binding proteome of *Arabidopsis* etiolated seedlings[J]. *The Plant Cell*, 2016,28(10):2435-2452.

(责任编辑:黄克玲)