

BÀI TỔNG QUAN

DEHYDRIN - PROTEIN CHỐNG MÁT NƯỚC Ở THỰC VẬT

Trần Thị Phương Liên, Nông Văn Hải

Viện Công nghệ sinh học

TÓM TẮT

Dehydrin là một trong các nhóm LEA (late embryogenesis abundant) protein, được gọi là LEA nhóm II. Chúng được tìm thấy trong tế bào hạt ở giai đoạn cuối quá trình hình thành phôi cũng như trong mô sinh dưỡng của cây khi bị mất nước (stress hạn, lạnh hoặc muối cao). Đặc điểm cấu trúc của dehydrin là có 3 đoạn bảo thủ K, S và Y. Đoạn K bảo thủ nhất giàu lysine với trình tự EKKGIMDKIKEKLPG ở gần đầu C. Chúng đặc trưng cho tất cả các dehydrin. Chuỗi S (Serine) trong cấu trúc của dehydrin - đoạn S, đoạn Y với trình tự T/VDEYGNP gần đầu N ít bảo thủ hơn. Ngoài ra, còn đoạn Φ - giàu các amino acid phân cực. Phụ thuộc vào sự có mặt của K, S, Y trong trình tự dehydrin, chúng được chia thành 5 nhóm phụ: Y_nSK_n , Y_nK_n , SK_n , K_n và K_nS . Dehydrin có trong thực vật bậc cao, tảo, nấm men và cyanobacteria. Chúng được phân bố trong các bào quan như tế bào chất, nhân, ty thể và không bào dự trữ. Nhiều gen mã hóa dehydrin đã được nghiên cứu về cấu trúc, định vị trên các nhiễm sắc thể. Trên promoter của các gen này có nhiều vị trí đặc hiệu, điểm nhận biết của các yếu tố phiên mã cảm ứng với ABA (abscisic acid) hoặc cảm ứng với điều kiện lạnh. Chức năng của dehydrin còn chưa được xác định thật chính xác, nhưng những nghiên cứu *in vitro* cho thấy dehydrin dạng YSK_n có khả năng gắn với hạt lipid; dạng K_nS có khả năng gắn với ion kim loại và loại bỏ ảnh hưởng của các gốc tự do. Dạng SK_n và K_n có thể liên quan đến quá trình thích ứng với điều kiện lạnh.

Từ khóa: Biểu hiện gen, dehydrin, LEA protein, protein chống mất nước, thực vật

MỞ ĐẦU

Trong quá trình tiến hóa, hàng loạt các cơ chế bảo vệ cơ thể được hình thành theo hướng thích nghi với điều kiện môi trường sống của thực vật, dù là cây một năm hay lâu năm, đều được duy trì suốt quá trình phát triển cá thể. Cơ sở để phát triển quá trình thích ứng chính là sự hình thành và thay đổi biểu hiện của một loạt các gen cảm ứng với các điều kiện môi trường bất lợi. Như ta đã biết, sinh trưởng và phát triển của thực vật phụ thuộc vào mức độ cung ứng nước cho cây. Hiện tượng mất nước trong cây nói chung, hay khô hạn nói riêng gây ra ảnh hưởng đáng kể. Tuy nhiên, trong quá trình phát triển của cây, mô tế bào hạt có một giai đoạn bị mất nước dần, sự mất nước trong hạt là giai đoạn tất yếu khi hình thành và phát triển hạt, nó gắn liền với sự biểu hiện của các gen, mà vai trò chủ chốt trong việc điều hòa biểu hiện các gen này thuộc về hormone sinh trưởng - abscisic acid (ABA). Trong số đó, đặc biệt có nhóm các gen mã hóa cho LEA (late embryogenesis abundant) protein. Bởi vì LEA còn được tìm thấy trong mô tế bào thực vật khi xử lý ABA cũng như dưới tác động của các stress hạn,

mặn, nhiệt độ cực đoạn, nên chúng được xem như protein liên quan đến stress. Một trong những nhóm protein đặc biệt quan trọng của LEA protein là dehydrin. Nhiều công trình nghiên cứu về các dehydrin để giải thích cho sự phản ứng đối với hiện tượng mất nước ở cây trồng.

Trong bài này, chúng tôi tổng quan những nghiên cứu về dehydrin, cấu trúc, chức năng và vai trò của chúng trong thực vật.

LEA PROTEIN

Khái niệm chung

Một trong những công trình đầu tiên về sự tồn tại của nhóm protein sinh ra vào giai đoạn muộn của quá trình hình thành phôi - LEA protein - là nghiên cứu của Dure và đồng tác giả (1989). Loại protein này trên thực tế không có trong phôi hạt chưa chín và mầm non. Nhưng sự xuất hiện của chúng thường gắn liền với sự gia tăng hàm lượng ABA nội bào trong quá trình hình thành hạt, đặc biệt là giai đoạn hạt chín, cho phép xếp chúng vào loại protein cảm

ứng với ABA. Trong phôi hạt bông có đến 18 loại LEA mRNA được tổng hợp, 13 loại trong số đó xuất hiện trong phôi hạt chưa chín khi xử lý ABA. Những nghiên cứu sau này cho thấy LEA có trong nhiều họ thực vật khác nhau (Rorat, 2006).

Bằng chứng về tổng hợp và tích trữ LEA protein trong mầm hạt ở giai đoạn cuối khi mất nước cho phép dự đoán về khả năng tham gia của chúng vào phản ứng bảo vệ theo hướng giữ nguyên vẹn cấu trúc của mầm khi mất nước. Thêm vào đó, sự tồn tại của những mật mã di truyền định hướng cho các gen *LEA* trong quá trình chín của hạt khi bị mất nước trong mô tế bào này, có thể rất có ích cho các cơ quan sinh dưỡng của cây khi trao đổi nước bị phá vỡ, ví dụ như ở điều kiện hạn, nhiệt độ thấp. Trong các trường hợp này, người ta đều nhận thấy hiện tượng cảm ứng tổng hợp mRNA của chúng, tương tự như trong điều kiện được xử lý ABA (Allagulova *et al.*, 2003). Goyal và đồng tác giả (2005) đã phát hiện được LEA protein ngăn chặn protein khỏi kết tụ và biến tính khi mất nước. Như vậy, chúng có tham gia bảo vệ tế bào thực vật khỏi bị tổn thương khi mất nước, mặc dù chức năng của các protein này cho đến nay đã được bàn luận nhiều nhưng vẫn còn chưa được làm sáng tỏ hoàn toàn.

Phân loại

Ba nhóm LEA protein đầu tiên được mô tả dựa trên sự tương đồng về trình tự amino acid (aa) và cấu trúc của chúng (Bray, 1993). Nhóm LEA I - D19 protein, đại diện đầu tiên được tìm thấy là Em protein của lúa mỳ (Litts *et al.*, 1987). Chúng chứa motif bảo thủ gồm 20 gốc aa nhưng không có cấu trúc không gian đặc hiệu trong dung dịch. Nhóm LEA II là dehydrin. Còn nhóm LEA III - D7 đặc trưng bằng trình tự lặp lại 11 gốc aa $\Phi\Phi E(Q)X\Phi KE(Q)K\Phi XE(D/Q)$ trong đó Φ là gốc aa kỵ nước. Đại diện của nhóm này không những có ở trong thực vật mà còn tìm thấy trong các tế bào tiền nhân, các loài tuyến trùng. Ở dạng hòa tan, chúng không có dạng cấu trúc đặc thù mà chỉ hình thành cấu trúc ở dạng tinh thể. Ngoài các nhóm trên, còn 3 nhóm nhỏ khác là LEA D113; LEA D29 và LEA D95, trong đó, LEA D29 có tính chất gần giống như LEA D7.

Sau này, nhiều LEA được phân lập, chúng được chia thành 5 nhóm chính (Ingram, Bartels, 1996; Bray *et al.*, 1999). Sự giống nhau giữa các thành viên trong từng nhóm LEA - đó là sự tồn tại của những vùng bảo thủ cao và các tính chất khác bảo đảm cho chúng thực hiện được chức năng chống

chịu của hạt. Những đặc điểm nổi bật trong cấu trúc phân tử của LEA là giàu aa ưa nước, không chứa cysteine và tryptophan, có vùng xoắn α và có khả năng chịu nhiệt (Wise, 2003). Chúng thay thế vị trí nước trong mạng tế bào và điều chỉnh áp suất thẩm thấu. Các nhóm chính có thể mô tả tóm tắt như sau:

i) **Nhóm LEA1-D19:** Protein thuộc nhóm này chứa nhiều glycine và các aa có tích điện cao. Trong cấu trúc phân tử protein có đoạn bảo thủ 20 gốc aa: GGQTRKQQGLGSEGYHEMGRK. Chúng giữ nước tốt nhờ cấu trúc có đến 70% cuộn liên tục và luôn giữ ở trạng thái sinh lý bình thường. Chức năng chính được dự đoán dựa trên khả năng giữ nước tốt cho tế bào. Ngoài EM protein của lúa mỳ, protein thuộc nhóm 1 còn tìm thấy ở đại mạch, đậu xanh, đậu tương, lúa gạo...(Rajesh, Manickam, 2006)

ii) **Nhóm LEA2-D11:** còn gọi là dehydrin. Đây là một nhóm lớn. Đặc điểm chính của chúng là có 3 đoạn bảo thủ ký hiệu là Y, S và K. K là đoạn giàu lysine gồm 15 aa: EKKGIMDKIKEKLPQ tồn tại gần đầu C của chuỗi polypeptide. Chúng có vai trò bảo vệ cấu trúc tế bào tương tự như chaperone. Về tính chất chúng có thể bền vững hơn sucrose và có khả năng bảo vệ tốt hơn.

iii) **Nhóm LEA3-D7:** Đại diện là D7 protein từ cây bông, HVA1 protein từ đại mạch (*Hordeum vulgare*)... Protein thuộc nhóm 3 có chức năng cô lập ion. Trong quá trình mất nước, lượng ion tập trung và tăng lên trong tế bào. Đoạn có tính bảo thủ cao trong chuỗi polypeptide của nhóm chứa 11 gốc aa: TAQAAKEKAGE, lặp lại đến 13 lần. Chúng tạo thành xoắn α và xếp thành bó, mặt kỵ nước bên ngoài là nơi hấp phụ các ion. Ngoài thực vật, đại diện nhóm này còn tìm thấy ở tuyến trùng và prokaryote: AavLEA1 từ tuyến trùng *Aphelenchus avenae* (Goyal *et al.*, 2005). Một số gen thuộc nhóm này được phân lập, biến nạp vào cây trồng nhằm tăng khả năng chịu hạn. Ví dụ: gen *HVA1* đã được chuyển thành công vào cây lúa để tăng cường tính chống chịu khô hạn và chống chịu mặn nhưng chỉ trong điều kiện ở nhà lưới (Xu *et al.*, 1996). Còn gen *OsLEA3-1* đã thể hiện tính chống chịu khô hạn trong điều kiện đồng ruộng, nhờ promoter *HVA1-like* và promoter *CaMV35S* (Xiao *et al.*, 2007).

iv) **Nhóm LEA4-D95:** Ở đậu tương, cDNA của D95 với chiều dài 0,8 kb được tách chiết từ lá khi bị mất nước. Chuỗi aa có đến 78,8 - 68,2% tương đồng với các sản phẩm khác trong cùng nhóm: *Lea14* ở cây bông (Galau *et al.*, 1993) và *pcC27-45* trong cây *Craterostigma plantagineum* - cây chịu hạn có khả

năng hồi phục cao (Piatkowski *et al.*, 1990). Protein với lượng đáng kể được biểu hiện ở rễ nhiều hơn lá (Maitra, Cushman, 1994).

v) **Nhóm LEA5-D113**: Protein trong nhóm có thể thay thế vị trí nước trong màng tế bào để giữ ổn định cấu trúc này. Chuỗi aa đầu N có dạng xoắn α rất bão thủ. Phần tận cùng đầu C ít bão thủ hơn riêng cấu trúc cuộn trong đoạn này vẫn giữ mức bão thủ cao. Cũng như D11, D113 tạo cấu trúc phù hợp với cấu trúc cần bảo vệ thành lớp dính trên bề mặt. Protein thuộc nhóm này có thể nói đến là LE25 từ cà chua *Lycopersicon esculentum* và D113 từ cây bông... (Imai *et al.*, 1996).

Trên cơ sở ngân hàng genome của lúa và microarray, người ta đã xác định được 34 LEA protein trên 10 nhiễm sắc thể (Wang *et al.*, 2007); còn trên cơ sở ngân hàng genome của *Arabidopsis* đã phát hiện được 51 gen LEA (Hundertmark, Hincha, 2008). Chúng đều được chia thành 7 nhóm theo Pfam databases [dehydrin, LEA_1, LEA_2, LEA_3, LEA_4, LEA_5 và SMP (seed maturation protein)] dựa vào cấu trúc các vùng đặc hiệu trên trình tự protein.

Sau đây, chúng tôi phân tích sâu hơn về nhóm LEA2 – D11 còn gọi là dehydrin.

DEHYDRIN

Cấu trúc và tính chất chung

Trong các nhóm trên, dehydrin hay còn gọi là LEA-D11 protein được nghiên cứu kỹ hơn cả. Nghiên cứu đầu tiên về phân lập gen này là *LEA-D11* ở cây bông (Baker *et al.*, 1988) và *RAB21*(RAB- responsive to abscisic acid) ở lúa gạo *Oryza sativa* (Mundy, Chua, 1988). Dure và *et al.* (1989) đã phân nhóm dehydrin này là LEA nhóm 2. Thuật ngữ “Dehydrin” (DHN) protein lần đầu tiên được Close và đồng tác giả (1989) sử dụng. Như vậy, protein loại này có bốn tên gọi là RAB, LEA-D11, LEA nhóm 2 và Dehydrin (DHN) protein, trong đó dehydrin được sử dụng rộng rãi nhất.

Mặc dù những dehydrin đầu tiên được phát hiện ở điều kiện mất nước, đến nay, loại protein này phần lớn được xác định qua tính tương đồng của trình tự aa hơn là khả năng biểu hiện của chúng. Một loạt các nghiên cứu thành công trong việc phân lập và tinh chế dehydrin từ hạt ngô, mầm đại mạch, lúa mì, đậu tương... Chúng có khối lượng phân tử trong khoảng rất rộng từ 9 kDa (Wsi724 của lúa gạo) đến 200 kDa

(Wcs200 của lúa mì *Triticum aestivum*). Dehydrin có khả năng bền nhiệt và có thể giữ nguyên vẹn cấu trúc không bị thay đổi trong dung dịch nước ở nhiệt độ đến 100°C. Nói chung, trong cấu trúc phân tử của chúng giàu gốc glycine và lysine, không có gốc cysteine và tryptophan (Close, 1996). Wise (2003) còn cho thấy các gốc phenylalanine, isoleucine, leucine cũng rất ít trong nhóm protein này. Phân tích thành phần aa của dehydrin 35 kDa từ mầm đậu tằm (*Vigna unguiculata*) cho thấy chúng không chứa cysteine và tryptophan, nhưng có lượng lớn glycine, threonine, asparagine, glutamine, serine, glutamic acid và aspartic acid. Những aa này đảm bảo cho tính ưa nước của phân tử protein. Còn trong thành phần aa của dehydrin 21 kDa từ cây mơ, riêng bốn loại aa: glycine, histidine, lysine và threonine chiếm đến 56% tổng số aa, nhưng không có cysteine, tryptophan, arginine và valine (Allagulova *et al.*, 2003). Một trong những đặc điểm cấu trúc quan trọng nhất của dehydrin là có 3 đoạn bão thủ, ký hiệu là K, S và Y (Hình 1).

Đoạn K: Sự tồn tại của K là đặc trưng cho cấu trúc của tất cả các dehydrin (Close, 1996). K gồm 15 aa có trình tự là EKKGIMDKIKEKLPQ tồn tại gần đầu C của chuỗi polypeptide. Có tên là K vì đoạn này giàu lysine (Lys, K). Lysine có thể tạo thành dây lặp lại từ 1 - 4 gốc (poly-lysine). Trong một số trường hợp, chuỗi K có thể thay đổi ở một vài vị trí aa:

E(Q)KK(P/A)GIM(L)DKIKE(A/Q)K(M)L(I)PG

Dựa trên cấu trúc bằng các phần mềm chuyên dụng cho thấy đoạn này có cấu trúc không gian dạng vòng xoắn α lưỡng cực. Đây chính là tính chất kết hợp đặc hiệu của các gốc ưa nước và kỵ nước trong đoạn này. Số lượng đoạn K trong các dehydrin khác nhau có thể từ 1 - 12 copy. Nói chung, đoạn K có tính ổn định cực kỳ cao, tuy một vài aa có thể thay đổi nhưng vẫn duy trì điện tích hoặc tính kỵ nước. Giải thích về tính bảo toàn được dựa trên cấu hình vòng xoắn α lưỡng cực của đoạn K cùng với sự phân bố điện tích trái dấu ở hai phía khác nhau. Đây có thể là điểm mấu chốt liên quan đến vai trò sinh hóa cơ bản của dehydrin. Người ta xác định được phần kỵ nước trong đoạn này gắn với protein bị biến tính theo cơ chế của môi giới phân tử chaperone và được dự đoán có chức năng của chaperone - giữ gìn cấu trúc protein. Cấu trúc phân tử cho phép chúng có hình dạng phù hợp với các cấu trúc khác: tạo thành lớp dính liên cấu trúc cần bảo vệ (Close, 1996; Allagulova *et al.*, 2003; Rorat, 2006).

Đoạn S: Nhiều dehydrin mang một dây toàn

serine (Ser, S) gọi là đoạn S. Số lượng gốc serine có thể từ 4 đến 9 ở các giống khác nhau (Wise, 2003). Trong protein RAB17 của ngô và TAS14 (ở cà chua), người ta đã chứng minh được rằng đoạn S có thể bị phosphoryl hóa, hiện tượng này có thể liên quan đến việc liên kết với các peptide tín hiệu định vị trong nhân để vận chuyển protein qua màng nhân (Goday *et al.*, 1994).

Đoạn Y: Một vùng aa đặc trưng khác - đoạn Y - nằm gần đầu N của phần lớn các dehydrin. Chúng có trình tự (T/V)DEYGN và tương đồng với trình tự của điểm liên kết với nucleic acid đặc trưng cho chaperone ở thực vật và vi khuẩn. Tuy nhiên, cho đến nay, việc dehydrin liên kết với nucleic acid ở vùng Y chưa được kiểm định bằng thực nghiệm (Close, 1996).

Đoạn Φ: Cuối cùng, dehydrin có một vùng chức năng ký hiệu là Φ. Đó là đoạn giàu aa phân cực như glycine và các aa phân cực khác, đặc biệt là threonine hoặc tổ hợp của proline và alanine (Close, 1996). Φ có thể nằm giữa hai đoạn K như trong RAB17 của ngô. Đoạn này không mang tính chất bảo thủ, chúng có thể khác nhau giữa các loài về số lượng đoạn Φ và trình tự từng đoạn. Tính ưa nước của dehydrin có được nhờ cấu trúc đầu hiệu này: đoạn Φ chứa nhiều aa có cực, nên dễ dàng tương tác với các gốc ưa nước của các đại phân tử, các chất có phân tử lượng nhỏ trong tế bào chất. Nhờ có đoạn K và đoạn Φ, dehydrin có thể có khả năng ngăn chặn các đại phân tử biến tính bằng cách tạo ra lớp bao bảo vệ bên ngoài (Allagulova *et al.*, 2003). Đoạn Φ ở các loài khác nhau có trình tự và phân bố trên gen khác nhau. Ở DHN1 của đậu tương, Φ có trình tự là RHH hoặc RQH, trong đó DHN1 của đại mạch có trình tự là AGQQ; DHN4- YGQQ... (Choi *et al.*, 1999).

Phân loại dehydrin

Dựa trên các trình tự aa đặc trưng K, S và Y, Close (1996) đã đề xuất chia dehydrin thành 5 loại:

1. Kiểu Y_nSK_2 là loại thường gặp nhất với n có thể bằng 1,2,3. Trong đó đoạn K bảo thủ nằm ngay đầu C của phần tử protein. Protein dạng này thường mang tính kiềm. Chúng được tổng hợp nhiều khi cây bị mất nước hoặc cảm ứng bởi ABA. Các dehydrin của đại mạch như DHN1, DHN2, DHN3, DHN4 và DHN9 đều có cấu trúc dạng Y_nSK_2 , DHN6 dạng Y_2SK_3 , chúng tích tụ trong mầm khi bị mất nước hoặc xử lý ABA, tuy nhiên không biểu hiện khi gặp lạnh (Choi *et al.*, 1999). Trong khi đó, DHN12 (dạng

YSK_2) chỉ xuất hiện trong giai đoạn phát triển phôi, không biểu hiện khi gặp stress.

2. Kiểu K_n với n có thể là 2 cho đến cả chục đoạn K, không có chứa đoạn S. Chúng có tính acid hoặc trung tính. Protein này chủ yếu được tổng hợp dưới điều kiện nhiệt độ thấp, mất nước và tác động của ABA. DHN5B của đại mạch có cấu trúc K_9 , được cảm ứng khi gặp lạnh, còn ở điều kiện mất nước và tác động của ABA có biểu hiện ít hơn (Choi *et al.*, 1999).

3. Kiểu K_nS với n bằng 1,2,3. Đoạn K thường có trình tự phân đầu là (H/Q)KEG hơn là EKKG và đoạn S nằm gần đầu C của protein. Chúng được tổng hợp trong cả điều kiện lạnh và khô hạn. Đại diện của nhóm này có thể kể đến dehydrin của lúa gạo Wsi724 (Close, 1996), DHN13 (dạng KS) của đại mạch (Rodriguez *et al.*, 2005). Protein dạng này ở họ Cam Rutaceae có thể gắn với kim loại, loại bỏ gốc tự do và bảo vệ màng tế bào khỏi bị ôxy hóa như CuCOR15 (dạng KS) và CuCOR19 (dạng K_3S) (Hara *et al.*, 2005).

4. Kiểu SK_n , trong đó n có thể là 2 hoặc 3. Đây là loại protein có tính acid và cảm ứng rõ rệt với điều kiện lạnh, còn trong điều kiện mất nước hoặc khi xử lý ABA thì biểu hiện ở mức độ thấp hơn. DHN8 của đại mạch (Choi *et al.*, 1999), WCOR410 (Wheat Cold Regulated protein) của lúa mì, CcDH3 của cà phê (Hinniger *et al.*, 2006) có đều dạng SK_3 thuộc nhóm này.

5. Kiểu Y_2K_n , trong đó n thường bằng 1 hoặc 2. Đây cũng là nhóm protein có tính acid. Đại diện nhóm này có thể kể đến DHN1 (Ismail *et al.*, 1999), CPRD22 (Cowpea clone responsive to dehydration) đều là dạng Y_2K ở đậu tằm (Iuchi *et al.*, 1996).

Ngoài ra, người ta còn phát hiện thấy có những trình tự dehydrin dường như là các dạng lai của các loại trên (Allagulova *et al.*, 2003). Với công cụ tin sinh học, Wise (2003) đã phân tích dehydrin trên cơ sở thành phần các loại aa mạch vòng, phân cực và xoắn α ... và đã chia thành 3 nhóm nhỏ.

Gen mã hóa cho dehydrin

Gen mã hóa cho dehydrin được phân lập từ nhiều loài thực vật khác nhau: cây hạt kín và cây hạt trần, gen ở thực vật bậc thấp như rêu *Tortula ruralis* có mã số AF275946; còn bằng phương pháp miễn dịch, đã phát hiện thấy dehydrin ở Cyanobacteria (Close, Lammers, 1993). Trên Ngân hàng trình tự gen Quốc tế EMBL đến tháng 10 năm 2007 có 761

trình tự gen dehydrin, còn Ngân hàng protein có 685 trình tự từ nhiều loài thực vật khác nhau.

Dehydrin là một họ protein trong mỗi loài thực vật. Trong đại mạch (*Hordeum vulgare*) có đến 13 loại DHN, các gen mã hóa cho chúng đã được phân lập và định vị trên nhiễm sắc thể (Choi *et al.*, 1999; Rodriguez *et al.*, 2005). Còn ở *Arabidopsis* có 10 loại DHN gen, trong đó RAB18, LTI29, LTI30 và COR47 đã được biến nạp vào cây trồng (Puhakainen *et al.*, 2004; Hundertmark, Hinch, 2008). Trong các loài thực vật khác, có ít nhất 2 gen mã hóa cho dehydrin: cây lúa 8 gen dehydrin *RAB21*, *RAB16*, *RAB25*... (Mundy, Chua, 1988; Wang *et al.*, 2007), cây ngô (*Zea mays*): *RAB17/DHN1*, *RAB28* và *DHN2* (Close *et al.*, 1989; Pla *et al.*, 1993; Campbell *et al.*, 1998, Trần Thị Phương Liên *et al.*, 2005); cây đậu tương (*Glycine max* L.): *MAT1*(L00921), *MAT9* (M94012) và *GmDHN1* (Cao Xuân Hiếu *et al.*, 2003); cây hoa hướng dương *Helianthus annuus* L.: *HaDhn1* (Y_nSK_2 , $n = 2,3$) và *HaDhn2* (SK_2) (Cellier *et al.*, 1998)...

Một trong những nghiên cứu sâu nhất là họ gen dehydrin ở đại mạch: 13 gen dehydrin này được định vị trên 4 nhiễm sắc thể: 3H, 4H, 5H, 6H. Các gen *Dhn1*, *Dhn2* và *Dhn9* nằm trên nhiễm sắc thể 5H. *Dhn3*, *Dhn4*, *Dhn5*, *Dhn7*, *Dhn8* và *Dhn12* được định vị trên nhiễm sắc thể 6H. Riêng *Dhn6* và *Dhn13* - trên nhiễm sắc thể 4H, còn *Dhn10*, *Dhn11* trên nhiễm sắc thể 3H (Choi *et al.*, 1999; Choi, Close, 2000; Rodriguez *et al.*, 2005). Locus *Dhn4* được Close (1996) xác định trên cả hai nhiễm sắc thể 5H và 6H. Nhưng Choi và đồng tác giả (1999) tìm thấy chúng liên kết chặt với *Dhn3* trên nhiễm sắc thể 6H ở khoảng cách 8 kb. Trên cơ sở những nghiên cứu đầu tiên về lai miễn dịch, đã dự đoán được đại mạch có thể có từ 11 - 13 gen *Dhn*. Như vậy, nếu genome của lúa mì lục bội (hexaploid) - có đến 3 bộ genome tương đồng - Có thể có đến 33 - 39 gen *Dhn* (Choi *et al.*, 1999). Ở ngô, *Dhn1* được định vị trên nhiễm sắc thể 6L, còn *Dhn2* trên nhiễm sắc thể 9S (Campbell *et al.*, 1998).

Điều hòa biểu hiện gen

Các gen dehydrin được biểu hiện dưới tác động của các yếu tố gây stress trong môi trường và đặc biệt khi tích tụ một lượng đáng kể ABA. Vì vậy, phần lớn dehydrin được xếp vào nhóm RAB. Tuy nhiên, có một số gen có thể biểu hiện trong điều kiện thiếu ABA. Khi gặp điều kiện stress, các gen dehydrin thường biểu hiện với tốc độ nhanh. Do đó, vấn đề khởi động phiên mã cũng như cấu trúc của

promoter và các protein tham gia vào điều khiển sự biểu hiện gen thông qua việc nhận biết và hoạt hóa quá trình khởi động được đặc biệt quan tâm. Các gen dehydrin không những cảm ứng với hiện tượng khô hạn, mà còn bị tác động bởi điều kiện lạnh và độ mặn cao nhờ các yếu tố phiên mã (transcription factor, TF) - là các protein tham gia vào điều khiển mức độ biểu hiện gen thông qua việc nhận biết và gắn vào các trình tự DNA đặc hiệu trên promoter - các yếu tố điều hòa hoặc còn gọi là các yếu tố *cis*-element) trong tế bào (Yamaguchi-Shinozaki, Shinozaki, 1994). Một số TF cho các vùng *cis* đặc hiệu cho các gen dehydrin được nêu lên sau đây.

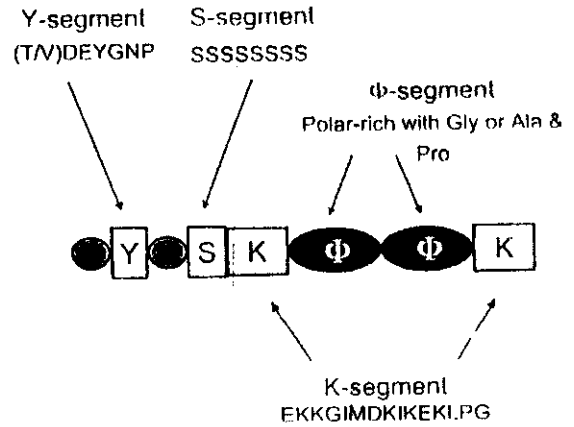
Các gen *Em* của lúa mì và *rab* của lúa gạo đều cảm ứng với ABA. Trên promoter các gen này có chứa yếu tố ABRE (ABA-responsive element - yếu tố phản ứng với ABA) có trình tự PyACGTGGC. Trình tự ACGT là điểm gắn đặc hiệu của bZIP (leucine zipper motif) protein là protein gắn với promoter của *Em* và còn được gọi là EmBP (Em binding protein - protein gắn với *Em*). Trình tự ACGT cũng là vùng trung tâm của G-box. Trên promoter gen *Dhn1* của đại mạch có vùng TACGTCCgccccagacgaGGCCGCG chứa 2 đoạn G-box và GC- motif. Đột biến hoặc loại bỏ chúng đều làm mất khả năng phản ứng với hiện tượng khô hạn của *Dhn1*. Các loại protein MYC và MYB đều nhận biết trình tự trên promoter (cảm ứng với ABA) tương ứng là TAACTG và CANNTG (trong đó N là nucleotide bất kỳ).

Dehydrin có thể biểu hiện khi thiếu ABA. Promoter của những gen này có vùng DRE (Dehydration responsive element- yếu tố phản ứng với sự mất nước): TACCGACAT. Trong đó vùng quan trọng nhất là C-repeat (CRT) - CCGAC. Các protein nhận biết và gắn với trình tự DER (DERBs- DER binding factor) trên promoter được nghiên cứu và phân lập như EREBP (ethylene responsive gene expression - ERE binding protein). Các protein này còn được gọi là CBF (CRT binding factor) - yếu tố gắn với CRT. Yếu tố này còn phản ứng với điều kiện lạnh - LTRE (low temperature response) (Hundertmark, Hinch, 2008).

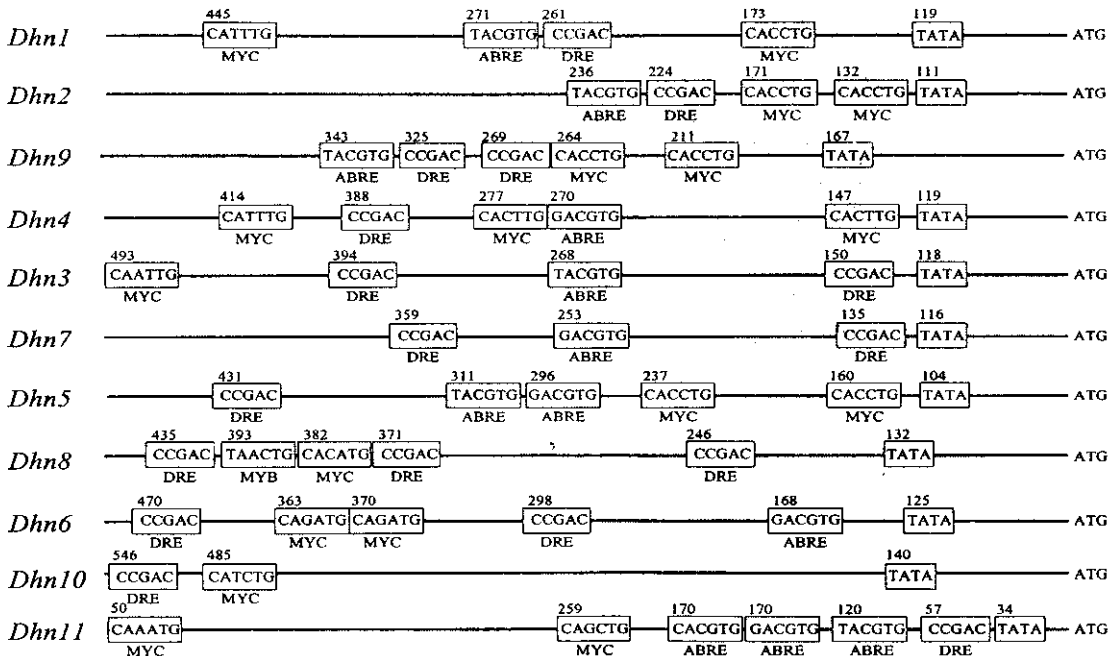
Promoter của các gen dehydrin ở đại mạch đều có các vị trí nhận biết cho MYC, MYB, DRE, ABRE phản ứng với ABA điều kiện mất nước và áp suất thẩm thấu cao (Hình 2) (Choi *et al.*, 1999; Rodriguez *et al.*, 2005). Promoter của *Rab17* của ngô, lúa gạo và lúa miễn đều có các vị trí đặc hiệu này (Buchanan *et al.*, 2004). Tuy nhiên, promoter gen *Dhn12* của đại mạch không chứa các yếu tố

ABRE và DRE, mà chứa yếu tố ACGT của G-box biểu hiện đặc hiệu trong hạt và mầm hạt (Choi, Close, 2000). Còn promoter của gen *Dhn13* của đại mạch có chứa hầu hết các yếu tố MYC, MYB, DRE, ABRE, đặc biệt còn chứa yếu tố biểu hiện ở hạt phân *Pollen1-lelat52* với trình tự là AGAAA (Rodriguez *et al.*, 2005).

Một số gen mã hóa cho TF được phân lập và biến nạp vào thực vật nhằm mục đích kích hoạt một lúc nhiều gen có phản ứng với điều kiện cực đoạn, làm tăng cường khả năng chịu hạn của cây trồng như *OsDREB* từ lúa gạo, *CBR3* (không phụ thuộc ABA) và *ABF3* (phụ thuộc vào ABA) từ *Arabidopsis* được chuyển vào *Arabidopsis* và lúa gạo tạo ra cây chuyển gen chống chịu tốt (Oh *et al.*, 2005, Ito *et al.*, 2006).



Hình 1. Những vùng đặc trưng của dehydrin.



Hình 2. Promoter của các gen *Dhn* ở đại mạch (Choi *et al.*, 1999).

Định vị của dehydrin trong các loại mô tế bào

Dehydrin phân bố trong nhiều mô tế bào ở các giai đoạn phát triển khác nhau: mô sinh dưỡng và mô sinh thực. Một số dehydrin như RAB18 của *Arabidopsis* (Lang, Pavla, 1992) và RAB của ngô (Goday *et al.*, 1994) tìm thấy trong hạt: ở hầu hết các

mô của mầm và lá mầm của hạt. WCOR410 (dạng SK₃) tìm thấy trong rễ, lá và tràng hoa của lúa mì (Danyluk *et al.*, 1998). ERD14 (dạng SK₂) và LT128 (SK₃) có trong đầu rễ và mô bó mạch của rễ, cành lá và hoa, trong khi đó, LT130 (dạng K₆) không phát hiện thấy ở điều kiện bình thường ở *Arabidopsis* (Nylander *et al.*, 2001). Các gen *Dhn8*, *Dhn11*,

Dhn12, *Dhn13* của đại mạch đều biểu hiện ở điều kiện bình thường: *Dhn12* biểu hiện trong mầm hạt chưa chín nhưng không phản ứng với sự mất nước (Choi, Close, 2000), còn *Dhn13* - trong cây non và trong mầm hạt (Rodriguez *et al.*, 2005).

Trong tế bào, dehydrin phát hiện thấy trong tế bào chất, nhân, màng tế bào và ty thể. RAB17 của ngô có trong cả nhân và tế bào chất. Sự có mặt của RAB17 trong nhân phụ thuộc vào mức độ phosphoryl hóa đoạn S. WCS120 (dạng K_6) của lúa mì, tuy không có đoạn S, nhưng vẫn tìm thấy trong nhân và tế bào chất, có thể những vùng giàu lysine đóng vai trò quan trọng trong việc vận chuyển protein này vào nhân (Houde *et al.*, 1995). Một số dehydrin chỉ có trong tế bào chất như RAB21 của lúa gạo. WCOR410 của lúa mì có trong màng tế bào vùng bó mạch của một số cơ quan của cây (Danyluk *et al.*, 1998).

Phần lớn các dehydrin được tìm thấy trong cây khi bị tác động của ABA, hạn, lạnh hoặc độ mặn cao. Các gen *Dhn1*, *Dhn2*, *Dhn3*, *Dhn4*, *Dhn6*, *Dhn7*, *Dhn9* mã hóa cho dehydrin dạng YSK_2 đều phản ứng với điều kiện mất nước và ABA, còn *Dhn5* (dạng K_9), *Dhn8* (dạng SK_3), *Dhn13* (dạng KS) phản ứng với nhiệt độ thấp ở đại mạch (Choi *et al.*, 1999; Choi, Close, 2000; Rodriguez *et al.*, 2005). mRNA của dehydrin hoa hướng dương phát hiện thấy trong lá khi bị mất nước (Cellier *et al.*, 1998). Các gen *LTI19*, *LTI30* ở *Arabidopsis* đều biểu hiện mạnh khi gặp lạnh (Nylander *et al.*, 2001).

Biến đổi sau dịch mã

Phần lớn các dehydrin đều chịu sự biến đổi sau dịch mã, trong đó, sự phosphoryl hóa là sự biến đổi lớn nhất. Hiện tượng này lần đầu tiên được tìm thấy ở DHN1/RAB17 (dạng YSK_2) ở ngô. Vùng chịu sự phosphoryl hóa này chính là đoạn S vị trí aa từ 66-69, tiếp theo là 3 gốc aa có tính acid (EEE) và các gốc aa có tính base (RRKK) - còn gọi là vùng tín hiệu định vị nhân ở các loại tế bào động vật, nấm men và vi khuẩn khác nhau. Ba gốc EEE là vị trí gắn của protein kinase CK2 xúc tác cho quá trình phosphoryl hóa này. Đột biến vùng này sẽ làm giảm lượng RAB17 trong nhân.

Sự biến đổi sau dịch mã này còn tìm thấy ở TAS12 (dạng YSK_2) ở cà chua, EDR12 (dạng SK_2) ở *Arabidopsis*. Đây là quá trình rất phức tạp, ở mỗi loài khác nhau đều không giống nhau. TAS12 (dạng YSK_2) ở cà chua và RAB21 ở lúa gạo đều là dạng YSK_2 , có vị trí gắn cho CK2 và vùng RRKK, nhưng

không phát hiện thấy những dehydrin này trong nhân tế bào. RAB18 ở *Arabidopsis* (dạng Y_nSK_n) có đoạn S, RRKK và vị trí gắn cho CK2, tồn tại cả trong nhân và tế bào chất nhưng không phát hiện thấy sự phosphoryl hóa trên phân tử protein này (Rorat, 2006).

Chức năng của dehydrin

Dehydrin được tìm thấy trong nhiều mô tế bào ở điều kiện stress và được dự đoán có chức năng bảo vệ tế bào khi mất nước. Tuy vậy, sự có mặt của chúng trong các mô tế bào khác nhau suốt quá trình phát triển bình thường của cơ thể cho phép đưa ra các giả thiết nhất định về chức năng của chúng trong quá trình này. Câu hỏi chính ở đây là mỗi loại dehydrin có chức năng gì trong quá trình đó? Ngày nay, một số đặc tính của dehydrin đã được phát hiện *in vitro* trong tế bào chịu lạnh, gắn với lipid và kim loại và loại bỏ các dạng oxy hoạt hóa.

Khả năng gắn với protein và lipid

Ở dạng tinh sạch, dehydrin được xem như không có cấu trúc đặc hiệu, nhưng chúng có thể hình thành cấu trúc khi tương tác với phân tử đích cần được bảo vệ. Theo những phân tích gần đây, cấu trúc bậc 2 của đoạn K là vòng xoắn α lưỡng cực có thể gắn với lipid. Cấu trúc này tương tự như các phân tử apolipoprotein và α -synuclein màng có chức năng vận chuyển lipid. Điều này giả định khả năng của dehydrin có thể liên kết với các phân tử phospholipid giống như apolipoprotein, hoặc liên kết với mặt kỵ nước của các phân tử protein bị biến tính một phần với chức năng tương tự như chaperone HSP60, HSP70. Do vậy, dehydrin có thể có chức năng ổn định màng tế bào trong điều kiện mất nước hoặc tham gia tạo cấu trúc đúng cho các protein đã bị biến tính khi gặp stress.

Khả năng gắn với ion kim loại, ngăn ngừa các gốc oxy hoạt hóa (Reactive oxygen species-ROS)

Các dehydrin của cây thuộc *Citrus unshiu* họ Cam Rutaceae - CuCOR19 (dạng K_3S) và CuCOR15 (dạng KS) - đều có khả năng gắn với ion kim loại như Fe^{3+} , Co^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , trong đó, Cu^{2+} là được gắn tốt nhất. Những ion Mg^{2+} , Ca^{2+} và Mn^{2+} không gắn với protein này. Trong cấu trúc của CuCOR15 có vùng 1 với trình tự HKGEHSGDHH là vị trí gắn của các ion kim loại, chủ yếu là nhờ các gốc histidine. Các ion kim loại thường có khả năng

tạo ra các ROS, việc liên kết với các ion kim loại của các dehydrin này có thể ngăn ngừa được tác dụng của chúng và gián tiếp loại bỏ được ảnh hưởng bất lợi của ROS nếu sinh ra trong tế bào (Hara, 2005).

Các dehydrin của *Arabidopsis* RAB18, LTI29, LTI30 COR47 có khả năng gắn với ion Cu^{2+} và Ni^{2+} , ngoài ra LTI30 còn gắn được với ion Co^{2+} và Zn^{2+} . Khả năng này có thể lý giải do cấu trúc những dehydrin này có chứa nhiều gốc histidine. WCO410 của lúa mỳ cũng có khả năng gắn với ion (Allagulova *et al.*, 2003).

Chịu lạnh

Một số gen dehydrin được phân lập khi gặp lạnh. *Dhn1* của đậu tằm liên quan đến khả năng chịu lạnh của hạt đang nảy mầm (Ismail *et al.*, 1999). *Dhn5* (dạng K_3), *Dhn8* (dạng SK_3), *Dhn11* (dạng Y_2SK_2) của đại mạch đều có sản phẩm phiên mã rõ rệt khi gặp lạnh. *BpuDhn2* mã hóa cho dehydrin dạng SK_n của cây *Betula pubescens* Ehrh. Biểu hiện mạnh trong điều kiện lạnh. *Bplti36*, mã hóa cho dehydrin 36 kDa acidic dạng SK_2 từ cây *Betula pendula* cv Roth. Dehydrin 33 kDa giống với RAB16 nằm chủ yếu trong tế bào chất cây này có khả năng gắn với α -amylase khi gặp lạnh. Giả thuyết cho rằng α -amylase tham gia vào quá trình chuyển hóa tinh bột tăng cường khả năng chịu lạnh của cây. Các dehydrin có khả năng gắn với α -amylase và bảo vệ enzyme này sẽ tăng cường khả năng chịu lạnh cho cây (Rinne *et al.*, 1999).

Trong điều kiện nhiệt độ thấp các gen mã hóa cho RAB18, COR47, LTI29 và LTI30 ở *Arabidopsis* đều có biểu hiện, ngoài ra còn thấy sự dịch chuyển của LTI29 (dạng K_3S) đến vùng gần màng tế bào (Puhakainen *et al.*, 2004).

CuCOR19 (dạng K_3S) từ cây thuốc *Citrus unshiu* họ Cam bảo vệ phức enzyme catalase và lactate dehydrogenase khỏi đông lạnh. Chúng có hiệu quả hơn các hợp chất như sucrose, glycine betaine và proline. Nghiên cứu cấu trúc bậc hai cho thấy chúng có dạng cuộn ngẫu nhiên trong dung dịch, tạo khả năng làm thành lớp phủ trên bề mặt của các phức, ngăn chặn chúng phân ly thành các tiểu đơn vị bị biến tính khi gặp lạnh (Hara, 2005)

Chịu hạn, chịu mất nước

Phần lớn các dehydrin đều được tổng hợp cảm ứng với điều kiện mất nước. RAB18 ngăn ngừa sự mất nước trong tế bào khí khổng ở lá, còn LTI29 và ERD14 tăng cường giữ nước trong rễ. Khi gặp hạn

hoặc bị mất nước chúng đều được tổng hợp với lượng đáng kể ở *Arabidopsis* (Nylander *et al.*, 2001).

Nghiên cứu biểu hiện trên RNA trong các điều kiện stress bằng RT-PCR cho thấy các gen *HaDhn1* của cây hoa hướng dương đều xuất hiện khi mất nước (Natali *et al.*, 2003). Biểu hiện gen *HaDhn2* này khi bị mất nước trong cây hoa hướng dương chịu hạn mạnh hơn cây không chịu hạn (Allagulova *et al.*, 2003). Trong nghiên cứu tương tự, DHN13 (dạng KS) của đại mạch có trong hầu hết các mô tế bào ở điều kiện bình thường cũng như hạn, lạnh và xử lý ABA, còn DHN4 của cây này chỉ có trong hạt và khi xử lý ABA và mất nước (Rodriguez *et al.*, 2005). Gen *Dhn10* (dạng YSK_3) ít cảm ứng với ABA, còn các gen dehydrin khác của đại mạch như *Dhn1* (dạng YSK_2), *Dhn2* (dạng YSK_2), *Dhn3* (dạng YSK_2), *Dhn4* (dạng YSK_2), *Dhn6* (dạng Y_2SK_3) và *Dhn9* (dạng YSK_2) đều có sản phẩm phiên mã rõ rệt khi mất nước và xử lý ABA.

Tóm lại, dehydrin là nhóm protein đặc trưng trong giai đoạn muộn của quá trình hạt chín, đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn mất nước dần của hạt. Sự xuất hiện của chúng trong các mô tế bào khác nhau của cây khi gặp hạn, lạnh muối mặn đã thu hút sự chú ý của nhiều nhà khoa học tìm tòi khả năng liên quan của loại protein này với tính chống chịu. Biểu hiện gen dehydrin và tích trữ chúng trong mô tế bào liên quan đến hormone sinh trưởng thực vật – ABA, chất điều hòa phản ứng của thực vật đối với nhiều dạng stress của môi trường. Nhiều gen dehydrin đã phân lập được biến nạp vào các hệ biểu hiện khác nhau và vào cây trồng để nghiên cứu cấu trúc protein và vai trò chức năng của chúng. Nhiều chức năng của dehydrin được chỉ ra trong các nghiên cứu *in vitro* như chịu hạn, gắn với metal, chịu lạnh... Các đoạn promoter của các gen dehydrin này cũng như promoter từ các nguồn gốc khác nhau cũng đã được sử dụng với mục đích tăng cường sự biểu hiện của các gen dehydrin trong khi gặp điều kiện bất lợi, nhất là hạn. Tuy vậy, các kết quả vẫn còn hạn chế. Tính chịu hạn là tính trạng đa gen, đòi hỏi những nghiên cứu tổng thể về mặt sinh lý, sinh hóa kết hợp với sinh học phân tử, lập bản đồ gen dựa vào các chỉ thị phân tử đồng thời với việc phân lập các gen liên quan đến tính chịu hạn trên từng đối tượng cây trồng (map-based cloning), trong đó việc nghiên cứu sâu hơn về dehydrin vẫn luôn cần thiết.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện theo hướng nghiên cứu về các gen chịu hạn ở thực vật tại Phòng Công nghệ ADN ứng dụng, Viện Công nghệ sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Allagulova ChR, Gilamov FR, Shakirova FM, Vakhitov VA (2003) The plant dehydrins: structure and function. *Biochemistry* (Moscow) 68: 945-951.
- Baker JC, Steele C, Dure III L (1998) Sequence and characterization of 6 Lea proteins and their genes from cotton. *Plant Mol Biol* 11: 277-291.
- Bray EA (1993) Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol* 103: 1035-1040.
- Bray EA, Bailey-Serres J, Weretilnyk E (1999) Responses to abiotic stress. In *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (Ed. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL), ASPP, Maryland: 1158-1175.
- Buchanan CD, Klein PE, Mullet JE (2004) Phylogenetic analysis of 5'-noncoding regions from the ABA-responsive rab16/17 gene family of sorghum, maize and rice provides insight into the composition, organization and function of cis-regulatory modules. *Genetics* 168: 1639-1654.
- Campbell SA, Crone DE, Ceccardi TL, Close TJ (1998) A ca.40 kDa maize (*Zea mays* L.) embryo dehydrin is encoded by the *dhn2* locus on chromosome 9. *Plant Mol Biol* 38: 417-423.
- Cao Xuân Hiếu, Nguyễn Đăng Tôn, Trần Thị Phương Liên, Nông Văn Hải, Lê Thị Muội, Trần Đình Long (2003) Gen mã hóa dehydrin từ một số giống đậu tương Việt Nam, *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 1(2): 237-244.
- Cellier F, Conejero G, Breittler J, Casse F (1998) Molecular and physiological responses to water deficit in drought – tolerant and drought – sensitive lines of sunflower. *Plant Physiol* 116: 319-328.
- Choi DW, Close TJ (2000) A newly identified barley gene, *Dhn12*, encoding a YSK2 DHN, is located on chromosome 6H and has embryo-specific expression. *Theor Appl Genet* 100: 1274-1278.
- Choi DW, Zhu B, Close TJ (1999) The barley (*Hordeum vulgare* L.) dehydrin multigene family: sequences, allele types, chromosome assignments, and expression characteristics of 11 *Dhn* genes of cv Dicktoo. *Theor Appl Genet* 98: 1234-1247.
- Close TJ (1996) Dehydrin: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiol Plant* 97: 795-803.
- Close TJ, Kortt AA, Chandler PM (1989) A cDNA based comparison of dehydration-induced proteins (dehydrins) in barley and corn. *Plant Mol Biol* 13: 95-108.
- Close TJ, Lammers PJ (1993) An osmotic stress protein of cyanobacteria is immunologically related to plant dehydrins. *Plant Physiol* 101(3): 773-779.
- Danyluk J, Perron A, Houde M, Limin A, Fowler B, Benhamou N and Sarhan F (1998) Accumulation of an acidic dehydrin in the vicinity of the plasma membrane during cold acclimation of wheat. *Plant Cell* 10: 623-638.
- Dure L, Crouch M, Harada J, Ho THD, Mundy J, Quantrano R, Thomas T, Sung ZR (1989) Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants. *Plant Mol Biol* 12: 475-486.
- Galau GA, Wang HY-C, Hughes DW (1993) Cotton Lea5 and Lea14 encode atypical late embryogenesis abundant proteins. *Plant Physiol* 101: 695-696.
- Goday A, Jensen AB, Cullane-Macia FA, Alba MM, Figueras M, Serratos J, Torrent M, Pages M (1994) The maize abscisic acid- responsive protein rab17 is located in the nucleus and interacts with nuclear localization signals. *Plant Cell* 6: 351-360.
- Goyal K, Walton LJ, Tunnacliffe (2005) LEA protein prevent protein aggregation due to water stress. *Biochem J* (UK) 388: 151-157.
- Hara M, Fujinaga M, Kuboi T (2005) Metal binding by citrus dehydrin with histidine-rich domains. *J Exp Bot* 56(420): 2695-2703.
- Hinniger C, Caillet V, Michoux F, Ben Amor M, Tanksley S, Lin C, McCarthy J (2006) Isolation and characterization of cDNA encoding three dehydrin expressed during *Coffea canephora* (Robusta) grain development. *Ann Bot* (Lond) 97(5): 755-765.
- Houde M, Daniel C, Lachapelle M, Allard F, Laliberte S, Sarhan F (1995) Immunolocalization of freezing-tolerance-associated proteins in the cytoplasm and nucleoplasm of wheat crown tissues. *Plant J* 8: 583-593.
- Hundertmark M, Hinch DK (2008) LEA (late embryogenesis abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics* :118. (<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/9/118>)
- Imai R, Chang L, Ohta A, Bray EA, Takagi M (1996) A lea- class gene of tomato confer salt and freezing tolerance when expressed in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 170(2): 243-248.
- Ingram J, Bartels D (1996) The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 47: 377-403.
- Ismail AM, Hall AE, Close TJ (1999) Allelic variation of a dehydrin gene cosegregates with chilling tolerance during seedling emergence. *Proc Natl Acad Sci USA* 96(23): 13566-13570

- Ito Y, Katsura K, Maruyama K, Taji T, Kobayashi M, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2006) Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice. *Plant Cell Physiol* 47(1): 141-53.
- Iuchi S, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao T, Terao T, Shinozaki K (1996) Novel drought-inducible genes in the highly drought-tolerant cowpea: cloning of cDNA and analysis of the expression of the corresponding genes. *Plant Cell Physiol* 131: 309-316.
- Koag M, Fenton RD, Wilkens S, Close TJ (2003) The binding of maize DHN1 to lipid vesicles. Gain of structure and lipid specificity. *Plant Physiol* 131: 309-316.
- Lang V, Palva ET (1992) the expression of a RAB-related gene, RAB18 is induced by abscisic-acid during the cold – acclimation process of *Arabidopsis thaliana* (L) Heynh. *Plant Mol Biol* 20: 951-962.
- Litts JC, Colwell GW, Chakerian RL, Quantrano RS (1987) The nucleotide sequence of a cDNA clone encoding the wheat Em protein. *Nucl Acids Res* 15: 3607-3618.
- Maitra N, Cushman JC (1994) Isolation and characterization of a drought-induced soybean cDNA encoding a D95 family Late-Embryogenesis-Abundant protein. *Plant Physiol* 106: 805-806
- Mundy J, Chua NH (1988) Absciscic acid and water-stress induce the expression of a novel rice gene. *EMBO J* 7: 2279-2286
- Natali L, Giordani T, Cavallini A (2003) Sequence variability of a dehydrin gene within *Helianthus annuus*. *Theor Appl Genet* 106: 811-818.
- Nylander M, Svensson J, Palva ET, Welin BV (2001) Stress-induced accumulation and tissue-specific localization of dehydrins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol* 45: 263-279.
- Oh SJ, Song SI, Kim YS, Jang HJ, Kim SY, Kim M, Kim YK, Nahm BH, Kim JK (2005) Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth. *Plant Physiol* 138(1):341-51.
- Piatkowski D, Schneider K, salamini F, Bartels D (1990) Characterization of five abscisic acid responsive cDNA clones isolated from the desiccation-tolerant plant *Cratogeomys plantagineum* and their relationship to other water-stress genes. *Plant Physiol* 94: 1682-1688.
- Pla M, Vilardell J, Guiltinan MJ, Marcotte WR, Niogret MF, Quatrano RS, Pages M (1993) The cis-regulatory element CCACGTGG is involved in ABA and water-stress responses of the maize gene rab28. *Plant Mol Biol* 21(2): 259-266.
- Puhakainen T, Hess MW, Makela P, Svensson J, Heino P, Palva ET (2004) Overexpression of multiple dehydrin genes enhances tolerance to freezing stress in Arabidopsis. *Plant Mol Biol* 54(5): 743-753.
- Rajesh S, Manickam A (2006) Prediction of functions for two LEA proteins from mung bean. *Bioinformation* 1(4): 133-138.
- Rinne PL, Kaikuranta PL, van der Plas LH, van der Schoot C (1999) Dehydrins in cold-acclimated apices of birch (*Betula pubescens* ehrh.): production, localization and potential role in rescuing enzyme function during dehydration. *Planta* 209(4): 377-388.
- Rodriguez EM, Svensson JT, Malatrasi M, Choi DW, Close TJ (2005) Barley Dhn13 encodes a KS-type dehydrin with constitutive and stress responsive expression. *Theor Appl Genet* 110: 852-858.
- Rorat T (2006) Plant dehydrins – tissue location, structure and function. *Cell Mol Biol Lett* 11: 536-556.
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (1999), *Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants*, RG Landes company, Texas, USA.
- Trần Thị Phương Liên, Nguyễn Đăng Tôn, Lương Thị Thu Hương, Bùi Mạnh Cường, Ngô Hữu Tình (2005) Phân lập gen dehydrin của ngô. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 3(3): 347-352.
- Wang X, Zhu H, Jin G, Liu H, Wu W, Zhu J (2007) Genome-scale identification and analysis of LEA genes in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci* 172: 414-420.
- Welling A, Rinne P, Vihera-Aarnio A, Kontunen-Soppela S, Heino P, Palva ET (2004) Photoperiod and temperature differentially regulate the expression of two dehydrin genes during overwintering of birch (*Betula pubescens* Ehrh.). *J Exp Bot* 55(396): 507-516.
- Wise MJ (2003) LEAping to conclusion: A computational reanalysis of late embryogenesis abundant proteins and their possible roles. *BMC Bioinform* 4:52 (<http://www.biomedcentral.com/1471-2105/4/52>)
- Xia B, Huang Y, Tang N, Xiong L (2007) Overexpression of a LEA gene in rice improves drought resistance under the field conditions. *Theor Appl Genet* 115: 35-46 .
- Xu D, X Duan, B Wang, B Hong, T Ho, R Wu. (1996) Expression of a late embryogenesis abundant protein gene, *HVA1*, from barley confers tolerance to water

deficit and salt stress in transgenic rice. *Plant Physiol* 110: 249-257.

Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1994) A novel

cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low temperature or high salt stress. *Plant Cell* 6: 251-264.

DEHYDRINS - DESSICATION PROTECTION PROTEINS OF PLANTS

Tran Thi Phuong Lien*, Nong Van Hai

Institute of Biotechnology

SUMMARY

Dehydrins (DHN) are a family of proteins which belong to a larger group of late embryogenesis abundant (LEA) proteins known as D 11 or LEA group II . They are expressed in seed cell tissues in late stage of seed maturation and in vegetative tissues during normal conditions and in response to stresses which lead to cellular dehydration. The specific structural features of DHN are the conserved K, S and Y segments. The K-segment, which is the distinctive feature of all DHN, is the most conserved lysine-rich amino acid sequence (EKKGIMDKIKEKLPG) present near the C-terminus. The S segment with a track of serine residues and the Y segment with a sequence T/VDEYGNP are less conserved. Another segment - the α segment is rich in polar amino acids. Based on the presence of the K, S and Y segments, DHN are classified into 5 sub-classes, namely, Y_nSK_n , Y_nK_n , SK_n , K_n and K_nS . DHN are present in higher plants, algae, yeasts, and cyanobacteria. Moreover, they are localized in various cell compartments, such as, cytosol, nucleus, mitochondria and vacuoles. Several DHN genes in different chromosomes have been cloned, characterized and mapped. In addition, many specific short sequences (*cis*-elements) in the promoter have been recognized by specific transcription factors induced by abscisic acid or low temperature. The true functions of DHN are yet to be conclusively established. However, *in vitro*, studies show some (YSK_n -type) bind to lipid vesicle, and others (K_nS -type) which seem to bind to some metallic elements have the ability to scavenge reactive oxygen species. Moreover, there are indications that the SK_n - and K_n -type play a crucial role in cold acclimation process.

Keywords: Dehydrins, gene expression, LEA proteins, dehydration protecting proteins

* Author for correspondence: Tel: 84-4-37562934; E-mail: tplien@ibt.ac.vn