



引用格式: 侯瑾蓉, 董洁, 贾蒲连, 等. 叶绿体类囊体腔蛋白功能研究进展[J]. 西北植物学报, 2024, 44(1): 0164-0172. [HOU J R, DONG J, JIA P L, et al. Research progress on the function of the thylakoid lumen proteins in chloroplasts[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2024, 44(1): 0164-0172.] DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.20230359

叶绿体类囊体腔蛋白功能研究进展

侯瑾蓉¹, 董洁¹, 贾蒲连¹, 姚强¹, 付爱根^{1,2}, 王菲^{1,2*}

(1 西北大学 生命科学学院, 西安 710069; 2 陕西省碳中和技术重点实验室, 西安 710069)

摘要 【目的】类囊体是叶绿体光合作用中光反应进行的重要场所。类囊体腔是由类囊体膜包围形成的一个狭小空间。在类囊体腔中存在多种不同的蛋白家族, 包括高叶绿素荧光(high chlorophyll fluorescence, HCF)蛋白、亲免蛋白、放氧复合物(oxygen-evolving complex, OEC)蛋白、PsbP类蛋白等, 它们对植物的光合作用、核酸代谢以及氧化还原反应等都起着重要作用。【评论】文章分类综述了参与光合作用调控的类囊体腔蛋白在光系统组装、植物生长发育调节和高光逆境响应等生理活动中发挥的重要作用。【展望】文章可为未来研究类囊体腔蛋白的生理功能提供理论参考。

关键词 叶绿体; 类囊体腔蛋白; 光合作用

中图分类号 Q946 **文献标志码** A

Research progress on the function of the thylakoid lumen proteins in chloroplasts

HOU Jinrong¹, DONG Jie¹, JIA Pulian¹, YAO Qiang¹, FU Aigen^{1,2}, WANG Fei^{1,2*}

(1 College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2 Shaanxi Key Laboratory for Carbon Neutral Technology, Xi'an 710069, China)

Abstract [Objective] Thylakoids are the important sites where photosynthesis takes place. The thylakoid membrane envelops form a central aqueous region known as the thylakoid lumen. There are various types of proteins residing in thylakoid lumen, including high chlorophyll fluorescence (HCF) proteins, immunophilins, oxygen-evolving complex (OEC) proteins, and PsbP-like proteins, etc. These proteins are considered to play important roles during various physiological processes, such as photosynthesis, nucleotide metabolism, and redox regulation. [Reviews] This review summarized the function of the thylakoid lumen proteins involved in photosynthesis regulation, such as photosystem assembly, growth regulation, and excess light stress response. [Prospect] The review provided the theoretical reference for future study on the physiological function of the thylakoid lumen proteins.

Key words chloroplast; thylakoid lumen protein; photosynthesis

光合作用是指藻类和高等植物通过吸收和利用光能, 最终将二氧化碳和水转变为有机物并释放能

量的过程。叶绿体是一种半自主性细胞器, 主要负责光合作用, 除此之外还有一些其他功能, 如氨基酸、脂

收稿日期: 2023-06-05; 修改稿收到日期: 2023-11-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32070269); 陕西化生基础科学研究项目(22JHZ007)

作者简介: 侯瑾蓉(1997-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事微藻光合作用机理研究。E-mail: houjinrong@stumail.nwu.edu.cn

* 通信作者: 王菲, 副教授, 主要从事植物和微藻光合作用机理研究。E-mail: wangfei@nwu.edu.cn

肪酸、色素和激素的合成。叶绿体含有高度复杂的亚细胞器室,包括 3 个膜系统(外膜、内膜和类囊体膜)和 3 个腔室(膜间空间、基质和类囊体腔)^[1]。类囊体膜是叶绿体的主要结构成分,参与光合电子传递和 ATP 合成。它由 4 个光合蛋白复合体组成:光系统 II (photosystem II, PS II), 细胞色素 *b₆f* (cytochrome *b₆f*, *Cytb₆f*), 光系统 I (photosystem I, PS I), 和 ATP 合酶(ATPase)。这四大光合复合体通过一系列协同反应最终产生 NADPH 和 ATP, 为碳水化合物合成进一步提供能量。

由类囊体膜包围的、狭窄的连续整体空间叫做类囊体腔。类囊体腔不仅可以为光系统 II 的氧化保存水分,而且为质体蓝素介导的电子转移和光保护提供了空间环境。近些年,在类囊体腔中发现了许多直接或间接参与光合作用的蛋白质成分,这些蛋白大多调节类囊体生物发生,并且与光合蛋白复合体的活性和周转有关。拟南芥中约有 80 个蛋白定位于类囊体腔,在其他高等植物如菠菜中鉴定出 26

种类囊体腔蛋白,在豌豆中鉴定出 15 种,且这些蛋白可能具有功能保守性。目前已知功能的拟南芥类囊体腔蛋白有高叶绿素荧光(high chlorophyll fluorescence, HCF)蛋白 YCF48 (hypothetical chloroplast open reading frame 48)和 LPA19(low pii accumulation 19)^[2];C 末端剪切酶(carboxyl-terminal processing enzyme, CTP) CtpA^[3]; Deg (degradation of periplasmic)蛋白酶 Deg1、Deg5 和 Deg8^[4]; 蛋白磷酸酶 TLP18.3 (thylakoid lumen protein of 18.3 kDa); 亲免蛋白(immunophilins)中的亲环素(cyclophilins, CYPs) CYP38、CYP20-2 和 CYP28 以及 FK506 结合蛋白(FK506 binding proteins, FKBP)FKBP20-2 和 FKBP13^[5];放氧复合物(oxygen-evolving complex, OEC)蛋白 PsbQ、PsbP、PsbO 和 PsbR^[6]; PsbP 类蛋白(PsbP-like proteins, PPLs)PPL1 和 PPL2^[7]; PsbP 结构域蛋白(PsbP-domain protein, PPDs)PPD1、PPD3、PPD5 和 PPD6 (图 1)^[8]。

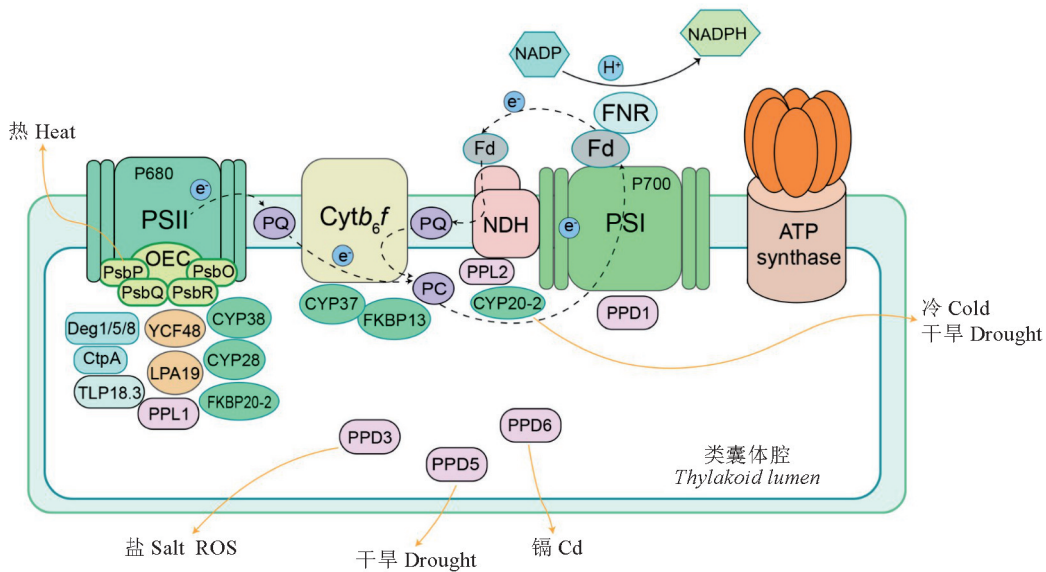


图 1 拟南芥类囊体腔中光合相关蛋白的功能示意图

Fig.1 Summary of the thylakoid lumen localized proteins with photosynthesis-related functions in *Arabidopsis thaliana*

1 高叶绿素荧光蛋白

叶绿素是光合生物含有的一类绿色色素,它在光能捕获、能量传递以及能量转化等方面起着重要作用。叶绿素吸收的光能主要有 3 个去向:以热量的形式耗散;通过光化学作用转化为化学能;以荧光的形式释放。在光合作用研究中对光合突变体的筛选方法之一是通过荧光表型筛选。正常情况下,植

物的荧光释放量很低,当叶绿素吸收的光能无法有效进行光合作用或光合电子传递链受损时会导致植物产生荧光上升的现象,即高叶绿素荧光表型。目前,在拟南芥中筛选出了多个高叶绿素荧光突变体,如 *hcf164*、*hcf101*、*hcf153*、*hcf136* 和 *lpa19* 等。研究发现,定位在类囊体膜的 HCF164 和 HCF153 参与了 *Cytb₆f* 的生物发生,HCF101 参与了 PS I 的组装^[9-10]。其中,HCF136(YCF48)和 LPA19 定

位于类囊体腔,它们在 PS II 生物发生中发挥重要作用。

1.1 YCF48

YCF48(hypothetical chloroplast open reading frame 48)是由核基因编码,定位在类囊体腔的蛋白,是真核光合生物中较早鉴定出来的 PS II 组装因子。拟南芥 *ycf48* 突变体在幼苗时期就死亡。拟南芥 YCF48 同源蛋白存在于包括蓝藻在内的所有产氧光合生物中。集胞藻 YCF48 蛋白是一种脂蛋白,通过与未组装前体 D1(pD1)亚基结合并促进其与 D2 蛋白结合形成 PS II 反应中心(RC II)组装中间体,在维持 PS II 的组装过程中发挥着重要作用^[11]。最新的研究表明,YCF48 可以与 D1 的精氨酸残基结合,从而防止 Mn_4CaO_5 簇中的 Mn^{2+} 和 Ca^{2+} 与 D1 过早结合,确保 PS II 复合体的有效组装^[12]。嗜热蓝藻和红藻中的 YCF48 蛋白都属于七叶 β -螺旋桨家族,表面都有 1 个高度保守的精氨酸富集区域,从而在叶绿素结合蛋白整合到 PS I 和 PS II 复合体的过程中发挥重要作用^[13]。

1.2 LPA19

拟南芥 LPA19(low pii accumulation 19)蛋白定位于类囊体腔,是 Psb27 的同源蛋白之一,被命名为 Psb27-H2。Psb27 蛋白最早在蓝藻中发现,与拟南芥 Psb27 蛋白不同,蓝藻 Psb27 蛋白紧密结合在类囊体膜上。拟南芥 *Psb27-H2* 突变体的 PS II 最大光合速率降低,并且叶绿体编码的 PS II 核心亚基 D1、D2、CP47 和 CP43 的表达水平也大大降低,这表明 Psb27-H2 蛋白参与了 PS II 的生物合成。Psb27-H2 蛋白还可以与成熟 D1 和前体 D1 的可溶性 C 端相互作用,从而促进拟南芥 D1 前体蛋白的加工^[14]。然而对拟南芥中另 1 个 Psb27 同源蛋白 Psb27-H1 的研究表明,它不是 PS II 生物发生所必需的,而是植物应对变光条件的一个重要因子,并且这一过程不依赖状态转化^[15]。拟南芥 *psb27-H1* 突变体在受到光抑制后 PS II 活性的恢复速率减慢,这表明其在 PS II 光损伤后的有效修复中起着重要作用^[16]。

2 蛋白磷酸酶

TLP18.3(thylakoid lumen protein of 18.3 kD)被认为是一种位于类囊体腔中的蛋白磷酸酶,它的功能可能与类囊体腔蛋白的去磷酸化有关^[17]。拟南芥 *tlp18.3* 突变体在正常光照条件下没有明显的生长表型,但在波动光照条件下生长受到明显抑

制。另有研究表明 TLP18.3 有可能参与 PS II 高光后的损伤修复。在 PS II 修复过程中,受损的 D1 蛋白首先被磷酸化,之后迁移到基质片层,在蛋白磷酸酶的作用下发生去磷酸化,最后被蛋白酶降解并被新合成 D1 蛋白替换。在 TLP18.3 蛋白缺失的情况下,受损的 D1 蛋白降解减慢并且 PS II 单体无法组装成二聚体^[18]。然而,TLP18.3 定位于类囊体腔中,D1 的磷酸化位点在类囊体基质侧,理论上两者不会发生物理互作。因此推测 TLP18.3 可能通过作用于类囊体腔中一些未知蛋白的去磷酸化,从而间接参与到 PS II 的损伤修复中^[17]。在最近的研究中发现,TLP18.3 的缺失导致波动光下突变体免疫相关基因的表达调控受到影响,从而间接影响了突变体在波动光下的生长^[19]。

3 蛋白酶

叶绿体中的大多数蛋白质由核基因编码,首先在细胞质中合成含有 N 端转运肽的前体蛋白,之后运输到叶绿体被相应的蛋白酶切割得到成熟肽。过去几十年的研究已经揭示了 20 多种叶绿体蛋白酶,分别定位于特定的亚细胞器^[20]。来源于细菌的 Clp 和 FtsH 都是 ATP 依赖型的蛋白酶,分别定位于细胞质基质和类囊体膜,是维持蛋白质稳态的核心。此外,定位于类囊体腔的蛋白酶 CtpA 和 Deg 对 PS II 的生物发生和维持至关重要。

3.1 CtpA 蛋白酶

CtpA(carboxyl-terminal processing enzyme A)蛋白酶定位在类囊体腔中。对斜链球菌 CtpA 的结构分析中发现它是一个具有 3 个可折叠结构域(A、B 和 C)的单体酶,B 结构域即 PDZ(post-synaptic density-95/discs large/zonula occludens-1)结构域,可以与底物 pD1 的 C 末端结合^[3]。最早在聚球藻和斜生栅藻中发现缺少 CtpA 会导致 pD1 的加工受阻,从而使光合活性下降。拟南芥 *ctpA* 突变体中的 pD1 蛋白可以正常组装形成 PS II 单体和二聚体,但 LHC II 与 PS II 二聚体不能结合形成超级复合体,这说明 CtpA 可以通过影响 pD1 的加工成熟来影响 PS II 超级复合体的组装^[21]。聚球藻、莱茵衣藻和小立碗藓的 *CtpA* 基因均可回补拟南芥 *ctpA* 突变体的致死表型,因此 CtpA 加工 pD1 的功能从单细胞绿藻到高等植物是保守的^[22]。

3.2 Deg 蛋白酶

Deg(degradation of periplasmic)蛋白酶家族最早是在大肠杆菌中发现的,大肠杆菌 Deg 具有 2 个

PDZ 结构域,这 2 个结构域可以与底物蛋白 C 末端的氨基酸残基相互作用^[4]。拟南芥 Deg1、Deg5 和 Deg8 是不依赖 ATP 的丝氨酸蛋白酶,定位在类囊体腔中。Deg1 形成 1 个同源六聚体,而 Deg5 和 Deg8 形成 1 个异源六聚体。当植物受到光胁迫时, Deg1、Deg5 和 Deg8 蛋白酶协助降解受损的 D1 蛋白,并且 Deg1 可以作为分子伴侣与 D2 蛋白一起参与 D1 的翻译和组装^[23]。最新研究发现 Deg1 表达水平降低的植株 *deg1-2* 和 *deg1-4* 的 PS II 最大光合效率(F_v/F_m)显著降低,非光化学淬灭(NPQ)增加。此外, Deg1 蛋白的减少还导致 Q_B^- 还原中心数量减少以及 Q_B^- 非还原中心的积累,抑制了 PS II 受体侧电子转移。这些结果表明 Deg1 蛋白酶在 PS II 供体侧和受体侧电子转移过程中发挥着重要作用^[24]。生化证据表明 Deg1 在植物体内的蛋白丰度高于 Deg5-Deg8,并且 Deg1 具有较高的蛋白水解酶活性,因此在高光胁迫下, *deg1* 突变体比 *deg5* 和 *deg8* 突变体受损更加严重,同时过表达 Deg5 和 Deg8 仅可以部分补偿 Deg1 的缺陷^[25]。

4 亲免蛋白家族

亲免蛋白包括 CYPs (cyclophilins) 和 FKBP (FK506 binding proteins) 2 个家族,它们共同的特点是都含有 PPIase (peptidyl-prolyl cis/trans isomerase) 结构域^[5]。PPIase 是肽基脯氨酸顺反异构酶结构域,可以催化蛋白序列 X-Pro 之间肽键的顺反异构反应,这对于蛋白质的快速折叠是必需的。研究表明,植物体内部分亲免蛋白的生理功能并不依赖于 PPIase 活性。亲免蛋白广泛存在于细菌、真菌和动植物体中。植物体内拥有众多亲免蛋白,大多数与光合作用有关。在拟南芥中已经鉴定出 52 个亲免蛋白基因,包括 29 个 CYPs 和 23 个 FKBP; 水稻中有 56 个,包括 29 个 FKBP 和 27 个 CYPs^[26]; 衣藻中有 52 个,包括 26 个 FKBP 和 26 个 CYPs^[27]。类囊体腔中存在大量亲免蛋白,它们在调节植物生长发育、免疫反应以及光合作用中起着关键作用。

4.1 CYP38

CYP38 是一种存在于类囊体腔的亲免蛋白,它的 C 端 PPIase 结构域没有酶活性。拟南芥 *cyp38* 突变体植株具有明显的发育不良和高光敏感表型,并且 PS II 超级复合物几乎完全缺失,这说明 CYP38 对 PS II 的组装和稳定起着关键作用^[28]。对拟南芥 CYP38 的研究还发现突变体中 D1 蛋白的

降解速度比野生型快,这可能是因为拟南芥 CYP38 蛋白可以通过抑制 PsbO-2 的 GTPase 活性,使 D1 处于相对稳定的磷酸化状态,避免过度降解^[29]。此外, CYP38 蛋白的缺失还会影响拟南芥叶绿体形态建成和类囊体堆积^[30]。蓝藻 CYP40 是拟南芥 CYP38 的同源蛋白,其 C 端的 PPIase 结构域具有酶活性,并且在调节 PS I 的组装过程中发挥关键作用^[31]。CYP38 的晶体结构已经被揭示: N 端由 α 螺旋组成, C 端由 β 折叠片组成,中间靠酸性 loop 环连接在一起。CYP38 可以与 PS II 核心蛋白 CP43 和 CP47 的 loop 环之间相互作用。最近的研究发现 loop 区的碱性氨基酸可以通过调节 CYP38 的构型来调节 N 端和 C 端 2 个结构域的相互作用,进而影响 C 端结构域和靶蛋白相互作用^[32]。通过筛选酵母双杂交文库以及通过 pull-down 和 Co-IP 实验鉴定出了一些与 CYP38 的 C 端结构域有潜在互作的类囊体腔蛋白,这为未来研究 CYP38 在类囊体腔内的工作模式奠定了基础^[33]。

4.2 CYP20-2

CYP20-2 同样为类囊体腔的亲免蛋白,具有 PPIase 活性^[34]。当拟南芥暴露在强光或低温下时, CYP20-2 的转录水平显著增加,因此该蛋白可能在适应非生物胁迫中发挥重要作用^[35]。将水稻 CYP20-2 基因在烟草和拟南芥中过表达增强了其对于干旱和强光的耐受性,这说明水稻 CYP20-2 可能也具有和拟南芥 CYP20-2 相同的功能。蛋白质谱分析表明,水稻 CYP20-2 具有叶绿体和细胞核的双定位。在低温胁迫下,水稻 CYP20-2 分别靶向细胞核和叶绿体中的 SLR1 和 FSD2,以协调植株的生长和耐冷性^[36]。另有研究发现,拟南芥 CYP20-2 可以进入细胞核作用于 BZR1,通过改变后者的二级结构,促进 BZR1 的磷酸化。FLD 是 BZR1 的直接靶点, BZR1 与 FLD 结合可以调控拟南芥开花^[34]。

4.3 CYP28

CYP28 是最近发现的一种调节拟南芥 PS II-LHC II 超级复合体组装和积累的类囊体腔蛋白。在正常光照条件下,拟南芥 *cyp28* 突变体植株的叶片生长加快,开花时间提前, PS II-LHC II 超级复合体的积累量增加。CYP28 具有 PPIase 活性,并且在体内通过改变 Lhcb6 的构象而调节拟南芥 PS II-LHC II 超级复合物的组装和积累^[38]。莱茵衣藻 CYN28 是拟南芥 CYP28 的同源蛋白,研究表明它也具有 PPIase 活性^[39]。衣藻 *cyn28* 突变体对高光极度敏感,并且 PS II-LHC II 超级复合体的积累显

著减少。CYN28 被证实通过与 FtsH 蛋白酶相互作用来促进 FtsH 的重新合成,参与高光胁迫下受损伤 D1 蛋白的周转,最终促进 PS II 的修复。这 2 个同源蛋白的功能截然不同,表明亲免蛋白进化过程中可能出现功能分化。

4.4 CYP37

最近的研究表明,类囊体腔亲免蛋白 CYP37 与拟南芥高光抵御相关。高光生长条件下,拟南芥 *cyp37* 敲除突变体的线性电子传递速率降低,PS I 供体侧的电子传递受到抑制,活性氧(ROS)积累增多,花青素的积累减少^[37]。此外,该研究发现 CYP37 可以与 *Cytb₆f* 复合体亚基 PetA 相互作用,作为辅助因子来维持 *Cytb₆f* 复合物的活性。CYP37 的缺少会导致 *Cytb₆f* 复合物活性下降,线性电子传递受阻,进而导致 ROS 过度积累,花青素的生物合成减少^[37]。

4.5 FKBP20-2

FKBP20-2 定位于类囊体腔,是 FK506 结合蛋白家族的一员。拟南芥 *fkbp20-2* 突变体植株生长矮小,PS II 超级复合物的积累下降,说明 FKBP20-2 在 PS II-LHC II 超级复合物的积累或稳定中起着重要作用。此外,该研究还发现 FKBP20-2 具有极低的 PPIase 活性,蛋白 C 端的二硫键能被硫氧还蛋白(thioredoxin, Trx)还原,该二硫键在除了蓝藻以外的陆地植物和真核藻类中保守,表明这种潜在的氧化还原调节仅存在于叶绿体^[40]。

4.6 FKBP13

FKBP13 与 CYP20-2 一样,是目前已知具有 PPIase 活性的类囊体腔亲免蛋白。FKBP13 的 x 射线结构展示其含有 1 对二硫键,这对二硫键可以被叶绿体或细菌来源的硫氧还蛋白还原,导致酶活性丧失^[41]。FKBP13 前体蛋白可以与 *Cytb₆f* 复合体的 Rieske 亚基相互作用来抑制其在拟南芥中的积累,从而参与调控 *Cytb₆f* 复合体的组装过程^[42]。最新研究发现,白菜 HTT4(heat-induced tas1 target4)蛋白在体内和体外都与 FKBP13 存在互作。HTT4 被报道是一种白菜分枝的负调节因子,推测它可能通过促进 FKBP13 的表达来影响 Rieske 蛋白的积累,进而通过光合作用调控白菜分枝^[43]。

5 放氧相关复合物蛋白

放氧复合体(oxygen-evolving complex, OEC)能够在光照条件下催化水裂解并释放氧气^[6]。在高等植物中,OEC 由锰簇、氯离子、钙离子以及 4 个附

着在 PS II 管腔一侧的外周蛋白(PsbQ、PsbP、PsbO 和 PsbR)组成^[44-45]。这些外周蛋白能够稳定锰簇蛋白进而促进水的裂解。在受到热、冷、盐和强光等非生物胁迫时,位于类囊体管腔侧的 PsbO、PsbP、PsbQ 和 PsbR 很容易受到破坏,这些蛋白的不稳定性会导致 ROS 分子的产生,从而破坏 OEC,最终导致植物的光合速率下降^[46]。在高等植物中,PsbO 和 PsbP 是光合自养生长所必需的,而 PsbQ 及 PsbR 的缺失也会对 PS II 活性产生影响^[47-48]。

5.1 PsbO

PsbO 在稳定 OEC 的过程中发挥着重要作用,尤其对于 Mn 簇的稳定,所以又叫做锰稳定蛋白(manganese stabilizing protein, MSP)。在被子植物中有 PsbO-1 和 PsbO-2 两个亚型^[49],它们在氨基酸组成和功能上具有差异。拟南芥 PsbO-1 在 PS II 利用钙离子促进放氧过程中发挥主要作用,PsbO-2 具有 GTPase 活性,在 PS II 修复过程中调节 D1 蛋白磷酸化^[45]。植物和蓝藻的 PsbO 蛋白表面都带有大量负电荷,从而保证其更好地结合在 PS II 上^[50]。莱茵衣藻 PsbO 对维持成熟 PS II 反应中心的稳定性是必需的,并且 PsbO 蛋白寿命在很大程度上依赖于光强度和碳源种类^[51]。小麦 PsbO 突变体植株呈现黄化表型,表明 PsbO 的缺失会影响光合作用,进而导致植株的黄化^[52]。

5.2 PsbP

拟南芥 PsbP 蛋白对幼苗早期发育阶段 PS II 的初始组装是必需的^[48]。高等植物 PsbP 蛋白通过调节必需辅助因子 Ca^{2+} 和 Cl 的结合特性维持 PS II 内 Mn 簇的稳定。PsbP 的稳定性对于植物在逆境下的光合活性十分重要,甘薯中的 Orange 蛋白可以通过 PsbP 维持 PS II 在热胁迫下的稳定性增强植物的耐热性^[53]。

5.3 PsbQ

蓝藻中的 PsbQ 通常被称之为 CyanoQ,从而与植物和藻类区分。高等植物和藻类的 PsbQ 结合在成熟 PS II 复合物的类囊体腔一侧,最近对蓝藻 PsbQ 的晶体结构解析发现它在 PS II 上的结合位点与高等植物和藻类 PsbQ^[54] 几乎相同。PsbQ 通过与 PsbP 相互作用来稳定 PsbP 与 PS II 的结合,从而维持高等植物 PS II 的锰簇稳定^[55]。除此之外,拟南芥 PsbQ 与 LHC II 的磷酸化和状态转化有关^[48]。

5.4 PsbR

PsbR 是植物中特有的放氧复合物组分,参与 PsbP 与 PS II 核心复合物的结合。PsbR 缺失显著

减少了类囊体膜的放氧活性,并使得 PsbP 和 PsbQ 的积累量下降。PsbR 可以在强光及高温等逆境下稳定并维持 PS II 的放氧活性^[46]。

6 PsbP 类蛋白和 PsbP 结构域蛋白

植物中还存在着一些与 PsbP 相关的蛋白家族,称为 PsbP 类蛋白(PsbP-like proteins, PPLs)和 PsbP 结构域蛋白(PsbP-domain protein, PPDs),它们都与 PsbP 具有较高的氨基酸序列同源性,同时具有多样的功能^[9-10]。目前 PsbP 蛋白的研究已较为广泛,而关于 PPLs 和 PPDs 在真核生物中功能的研究相对较少。

6.1 PsbP 类蛋白

植物 PPL1 和 PPL2 已被鉴定为叶绿体类囊体腔蛋白,系统发育分析表明,PPL1、PPL2 和蓝藻 CyanoP 可能存在同源关系^[7]。

PPL1 是一种类囊体腔外周蛋白,富集于基质薄片和基粒边缘。在正常光照和高光条件下,拟南芥 PPL1 蛋白的缺失都会影响 PS II 的活性及有效修复。此外,在低光强下,*ppl1* 突变体的 PS II 超级复合体积累减少,表明 PPL1 可能参与了拟南芥 PS II-LHC II 超级复合体的组装^[7,56]。研究表明,拟南芥 *ppl1* 突变体从状态 1 到状态 2 的跃迁加快,这些差异会降低植物对不断变化的光环境的适应能力,从而导致植物在自然波动光环境下的生长减弱^[56]。

PPL2 是一种高等植物特异性 PPL 蛋白,尚未在蓝藻、真核藻类、苔藓或蕨类植物中发现。拟南芥 *ppl2* 突变体中 NDH 亚基不能积累,缺乏 NDH 复合体活性^[7]。此外,通过蓝绿胶活性电泳和免疫印迹分析发现,PPL2 蛋白与 NDH 亚基共迁移。这些数据表明,PPL2 是叶绿体 NDH 复合体的一个亚基。

6.2 PsbP 结构域蛋白

PsbP 结构域蛋白(PsbP-domain protein, PPDs)与 PsbP 蛋白在结构和序列上的相似程度较低,对 PsbP 家族成员的系统进化分析表明,大多数 PPD 蛋白是高等植物和绿藻所特有的^[7]。目前在拟南芥中发现了 9 种 PPD 蛋白(PPD1-PPD9),这些蛋白可能在类囊体腔内发挥着广泛的功能^[57]。

PPD1 是一种核基因编码的类囊体腔蛋白。拟南芥 *ppl1* 突变体不能进行光合自养,并且 PS I 复合物的组装存在缺陷。体内和体外实验都证明 PPD1 可以与 PsbA 和 PsbA 暴露在类囊体腔的结构域相互作用,进而帮助 PsbA 和 PsbA 正确折叠并整

合到类囊体膜上^[58]。通过 RNAi 获得拟南芥 PPD1 的敲低突变体,发现在有少量 PPD1 存在的情况下,PS I 复合物仅有少量积累,且这些复合物在 LHC I 与 PS I 的结合以及从质体蓝素到 P700⁺ 的电子转移方面存在缺陷,这表明 PPD1 的减少会导致 PS I 在类囊体腔侧的组装缺陷^[59]。

拟南芥 PPD2 的功能尚不明确,莱茵衣藻 PsbP₂ 与拟南芥 PPD2 具有较高的同源性,被认为是单线态氧信号通路的成员,参与调节复杂的单线态氧依赖性信号系统^[60]。拟南芥 PPD3 是感觉质体和叶绿体双定位蛋白。PPD3 缺失的突变体表现出生长缓慢、开花延迟、活性氧信号传导紊乱以及盐胁迫敏感的表现。遗传和生化证据表明 PPD3 与 MSH1(MutS1 HOMOLOG 1)存在互作,参与感觉质体介导的表现遗传调控^[61]。

拟南芥 *ppl5* 突变体表现出侧根分支增多和腋芽形成缺陷,而这种发育缺陷与突变体中独角金内酯合成不足相关^[8]。在干旱胁迫中,*ppl5* 突变体表现出气孔关闭增加以及保卫细胞 H₂O₂ 的积累增多,从而负向调节植物的抗旱性^[62]。PPD5 基因可以和编码叶绿体或胞质核糖体蛋白的基因共表达,推测 PPD5 可能参与到蛋白质的从头合成过程中,当植物受到胁迫时在维持 PS II 活性方面发挥一定作用^[63]。

PPD6 是一种独特的 PsbP 家族成员,通过对 PPD6 的晶体结构进行解析发现它包含 1 个保守的二硫键,可以在体外被硫氧还蛋白还原^[64]。Cd 胁迫降低了黄瓜和烟草叶片中 PPD6 的基因表达^[65-66],进而可能影响到植物的光合作用。

7 展 望

类囊体腔对于高效的光合电子转移、光复合体的组装和维持都至关重要。已知有许多类囊体腔蛋白参与了这些过程,但大多数类囊体腔蛋白的功能仍不清楚。类囊体腔中最丰富的蛋白质是 PS II 的放氧复合体蛋白。其他已知的蛋白有亲免蛋白家族,PsP 类蛋白家族,分子伴侣和水解活性相关蛋白等。考虑到腔内蛋白在类囊体膜中的空间位置,可以预期有多种蛋白质参与了光合作用调控。而随着光合生物的长期进化,类囊体腔蛋白的功能也存在不同程度的分化。对类囊体腔蛋白的功能挖掘将加深我们对叶绿体亚细胞器的认识,研究结果将具有重要的理论意义。

参考文献:

- [1] KIRCHHOFF H. Chloroplast ultrastructure in plants[J]. *New Phytologist*, 2019, 223(2): 565-574.
- [2] MEURER J, MEIERHOFF K, WESTHOFF P. Isolation of high-chlorophyll-fluorescence mutants of *Arabidopsis thaliana* and their characterization by spectroscopy, immunoblotting and northern hybridization[J]. *Planta*, 1996, 198(3): 385-396.
- [3] LIAO D I, QIAN J, CHISHOLM D A, *et al.* Crystal structures of the photosystem II D1 C-terminal processing protease[J]. *Nature Structural Biology*, 2000, 7(9): 745-753.
- [4] SCHUHMANN H, ADAMSKA I. Deg proteases and their role in protein quality control and processing in different sub-cellular compartments of the plant cell [J]. *Physiologia Plantarum*, 2012, 145(1): 224-234.
- [5] ROMANO P, GRAY J, HORTON P, *et al.* Plant immunophilins: Functional versatility beyond protein maturation [J]. *New Phytologist*, 2005, 166(3): 753-769.
- [6] BRICKER T M, ROOSE J L, FAGERLUND R D, *et al.* The extrinsic proteins of photosystem II [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Bioenergetics*, 2012, 1817(1): 121-142.
- [7] ISHIHARA S, TAKABAYASHI A, IDO K, *et al.* Distinct functions for the two PsbP-like proteins PPL1 and PPL2 in the chloroplast thylakoid lumen of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(3): 668-679.
- [8] ROOSE J L, FRANKEL L K, BRICKER T M. Developmental defects in mutants of the PsbP domain protein 5 in *Arabidopsis thaliana* [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28624.
- [9] PYRIH J, ŽÁRSKÝ V, FELLOWS J D, *et al.* The iron-sulfur scaffold protein HCF101 unveils the complexity of organellar evolution in SAR, Haptista and Cryptista [J]. *BMC Ecology and Evolution*, 2021, 21(1): 46.
- [10] DAS A, SUBRAHMANYAN N, GABILLY S T, *et al.* Two disulfide-reducing pathways are required for the maturation of plastid c-type cytochromes in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Genetics*, 2023, 225(2): iyad155.
- [11] KNOPPOVÁ J, YU J F, JANOUŠKOVEC J, *et al.* The photosystem II assembly factor Ycf48 from the *Cyanobacterium synechocystis* sp. PCC 6803 is lipidated using an atypical lipobox sequence [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(7): 3733.
- [12] ZHAO Z Y, VERCELLINO I, KNOPPOVÁ J, *et al.* The Ycf48 accessory factor occupies the site of the oxygen-evolving manganese cluster during photosystem II biogenesis [J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 4681.
- [13] YU J, KNOPPOVÁ J, MICHOUX F, *et al.* Ycf48 involved in the biogenesis of the oxygen-evolving photosystem II complex is a seven-bladed beta-propeller protein [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(33): 7824-7833.
- [14] WEI L L, GUO J K, OUYANG M, *et al.* LPA19, a Psb27 homolog in *Arabidopsis thaliana*, facilitates D1 protein precursor processing during PSII biogenesis [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(28): 21391-21398.
- [15] HOU X, FU A G, GARCIA V J, *et al.* PSB27: A thylakoid protein enabling *Arabidopsis* to adapt to changing light intensity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(5): 1613-1618.
- [16] WEISZ D A, JOHNSON V M, *et al.* A novel chlorophyll protein complex in the repair cycle of photosystem II [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(43): 21907-21913.
- [17] WU H Y, LIU M S, LIN T P, *et al.* Structural and functional assays of AtTLP18.3 identify its novel acid phosphatase activity in thylakoid lumen [J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(3): 1015-1025.
- [18] SIRPIÖ S, ALLAHVERDIYEVA Y, SUORSA M, *et al.* TLP18.3, a novel thylakoid lumen protein regulating photosystem II repair cycle [J]. *The Biochemical Journal*, 2007, 406(3): 415-425.
- [19] JÄRVI S, ISOJÄRVI J, KANGASJÄRVI S, *et al.* Photosystem II repair and plant immunity: lessons learned from *Arabidopsis* mutant lacking the thylakoid lumen protein 18.3 [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 405.
- [20] NISHIMURA K, KATO Y, SAKAMOTO W. Chloroplast proteases: Updates on proteolysis within and across suborganellar compartments [J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(4): 2280-2293.
- [21] CHE Y F, FU A G, HOU X, *et al.* C-terminal processing of reaction center protein D1 is essential for the function and assembly of photosystem II in *Arabidopsis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(40): 16247-16252.
- [22] CHANG W D, LI C G, CUI Z, *et al.* Diverged early from CtpB and CtpC, CtpA has evolved to process D1 precursor in oxygenic photosynthetic organisms [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 676036.
- [23] SUN X W, OUYANG M, GUO J K, *et al.* The thylakoid protease Deg1 is involved in photosystem-II assembly in *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 2010, 62(2): 240-249.
- [24] WEN X G, YANG Z P, DING S H, *et al.* Analysis of the changes of electron transfer and heterogeneity of photosystem II in Deg1-reduced *Arabidopsis* plants [J]. *Photosynthesis Research*, 2021, 150(1): 159-177.
- [25] BUTENKO Y, LIN A, NAVEH L, *et al.* Differential roles of the thylakoid luminal deg protease homologs in chloroplast proteostasis [J]. *Plant Physiology*, 2018, 178(3): 1065-1080.
- [26] AHN J C, KIM D W, YOU Y N, *et al.* Classification of rice

- (*Oryza sativa* L. Japonica nipponbare) immunophilins (FK-BPs, CYPs) and expression patterns under water stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2010, 10: 253.
- [27] VALLON O. *Chlamydomonas* immunophilins and parvulins: Survey and critical assessment of gene models[J]. *Eukaryotic Cell*, 2005, 4(2): 230-241.
- [28] FU A G, HE Z Y, CHO H S, *et al.* A chloroplast cyclophilin functions in the assembly and maintenance of photosystem II in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(40): 15947-15952.
- [29] WANG Y Q, ZENG L Z, XING D. ROS-mediated enhanced transcription of CYP38 promotes the plant tolerance to high light stress by suppressing GTPase activation of PsbO2[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 777.
- [30] VOJTA L, TOMAŠIĆ PAIĆ A, HORVAT L, *et al.* Complex luminal immunophilin AtCYP38 influences thylakoid remodelling in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2019, 243: 153048.
- [31] YADAV S, CENTOLA M, GLAESMANN M, *et al.* Cyclophilin anaCyp40 regulates photosystem assembly and phycobilisome association in a cyanobacterium[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 1690.
- [32] SHI L J, DU L L, WEN J R, *et al.* Conserved residues in the C-terminal domain affect the structure and function of CYP38 in *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 630644.
- [33] HAO Y Q, CHU J S, SHI L J, *et al.* Identification of interacting proteins of *Arabidopsis* cyclophilin38 (AtCYP38) via multiple screening approaches reveals its possible broad functions in chloroplasts [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2021, 264: 153487.
- [34] ZHANG Y Y, LI B B, XU Y Y, *et al.* The cyclophilin CYP20-2 modulates the conformation of BRASSINAZOLE-RESISTANT1, which binds the promoter of FLOWERING LOCUS D to regulate flowering in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2013, 25(7): 2504-2521.
- [35] GOULAS E, SCHUBERT M, KIESELBACH T, *et al.* The chloroplast lumen and stromal proteomes of *Arabidopsis thaliana* show differential sensitivity to short- and long-term exposure to low temperature[J]. *The Plant Journal*, 2006, 47(5): 720-734.
- [36] GE Q, ZHANG Y Y, XU Y Y, *et al.* Cyclophilin OsCYP20-2 with a novel variant integrates defense and cell elongation for chilling response in rice[J]. *The New Phytologist*, 2020, 225(6): 2453-2467.
- [37] YANG X X, CHE Y F, GARCÍA V J, *et al.* Cyclophilin 37 maintains electron transport via the cytochrome b6/f complex under high light in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2023, 192(4): 2803-2821.
- [38] ZHU W N, XU L Q, YU X X, *et al.* The immunophilin CYCLOPHILIN28 affects PS II-LHC II supercomplex assembly and accumulation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64(4): 915-929.
- [39] FU W H, CUI Z, GUO J, *et al.* Immunophilin CYN28 is required for accumulation of photosystem II and thylakoid FtsH protease in *Chlamydomonas* [J]. *Plant Physiology*, 2023, 191(2): 1002-1016.
- [40] LIMA A, LIMA S, WONG J H, *et al.* A redox-active FKBP-type immunophilin functions in accumulation of the photosystem II super complex in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(33): 12631-12636.
- [41] GOPALAN G, HE Z Y, BALMER Y, *et al.* Structural analysis uncovers a role for redox in regulating FKBP13, an immunophilin of the chloroplast thylakoid lumen[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(38): 13945-13950.
- [42] GUPTA R, MOULD R M, HE Z Y, *et al.* A chloroplast FKBP interacts with and affects the accumulation of Rieske subunit of cytochrome *b_f* complex[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(24): 15806-15811.
- [43] GUO M L, XU L L, LONG Y, *et al.* BcHTT4 inhibits branching of non-heading Chinese cabbage at the vegetative stage[J]. *Plants*, 2021, 10(3): 510.
- [44] IFUKU K, NOGUCHI T. Structural coupling of extrinsic proteins with the oxygen-evolving center in photosystem II [J]. *Frontiers on Recent Developments in Plant Science*, 2016, 7: 84.
- [45] ROOSE J L, FRANKEL L K, MUMMADISSETTI M P, *et al.* The extrinsic proteins of photosystem II: Update[J]. *Planta*, 2016, 243(4): 889-908.
- [46] GUPTA R. The oxygen-evolving complex: A super catalyst for life on earth, in response to abiotic stresses[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2020, 15(12): 1 824 721.
- [47] GISRIEL C J, BRUDVIG G W. Comparison of PsbQ and Psb27 in photosystem II provides insight into their roles[J]. *Photosynthesis Research*, 2022, 152(2): 177-191.
- [48] ALLAHVERDIYEVA Y, SUORSA M, ROSSI F, *et al.* *Arabidopsis* plants lacking PsbQ and PsbR subunits of the oxygen-evolving complex show altered PS II super-complex organization and short-term adaptive mechanisms [J]. *The Plant Journal*, 2013, 75(4): 671-684.
- [49] DUCHOSLAV M, FISCHER L. Parallel subfunctionalisation of PsbO protein isoforms in angiosperms revealed by phylogenetic analysis and mapping of sequence variability onto protein structure [J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15: 133.
- [50] DEL VAL C, BONDAR A N. Charged groups at binding interfaces of the PsbO subunit of photosystem II: A combined bioinformatics and simulation study[J]. *Biochimica et Bio-*

- physica Acta (BBA) -Bioenergetics*, 2017, 1858(6): 432-441.
- [51] VIDAL-MEIRELES A, KUNTAM S, SZÉLES E, *et al.* The lifetime of the oxygen-evolving complex subunit PSBO depends on light intensity and carbon availability in *Chlamydomonas*[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2023, 46(2): 422-439.
- [52] WANG S, LI Q P, WANG J F, *et al.* YR36/WKS₁-mediated phosphorylation of PsbO, an extrinsic member of photosystem II, inhibits photosynthesis and confers stripe rust resistance in wheat [J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(12): 1639-1650.
- [53] KANG L, KIM H S, KWON Y S, *et al.* IbOr regulates photosynthesis under heat stress by stabilizing IbPsbP in sweetpotato[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 989.
- [54] GISRIEL C J, WANG J M, LIU J C, *et al.* High-resolution cryo-electron microscopy structure of photosystem II from the mesophilic *Cyanobacterium*, *Synechocystis* sp. PCC 6803 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(1): e2116765118.
- [55] GRAÇA A T, HALL M, PERSSON K, *et al.* High-resolution model of *Arabidopsis* photosystem II reveals the structural consequences of digitonin-extraction[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 15534.
- [56] CHE Y F, KUSAMA S, MATSUI S, *et al.* *Arabidopsis* PsbP-like protein 1 facilitates the assembly of the photosystem II super complexes and optimizes plant fitness under fluctuating light[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2020, 61(6): 1168-1180.
- [57] GOLLAN P J, TROTTA A, BAJWA A A, *et al.* Characterization of the free and membrane-associated fractions of the thylakoid lumen proteome in *Arabidopsis thaliana* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(15): 8126.
- [58] LIU J, YANG H X, LU Q T, *et al.* PsbP-domain protein1, a nuclear-encoded thylakoid lumenal protein, is essential for photosystem I assembly in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(12): 4992-5006.
- [59] ROOSE J L, FRANKEL L K, BRICKER T M. The PsbP domain protein 1 functions in the assembly of lumenal domains in photosystem I [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(34): 23776-23785.
- [60] BRZEZOWSKI P, WILSON K E, GRAY G R. The PSBP₂ protein of *Chlamydomonas reinhardtii* is required for singlet oxygen-dependent signaling [J]. *Planta*, 2012, 236(4): 1289-1303.
- [61] JEH H E, SANCHEZ R, BELTRÁN J, *et al.* Sensory plastid-associated PsbP DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 3 triggers plant growth- and defense-related epigenetic responses[J]. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 2023, 115(2): 414-433.
- [62] HONG Y C, WANG Z, LIU X, *et al.* Two chloroplast proteins negatively regulate plant drought resistance through separate pathways[J]. *Plant Physiology*, 2020, 182(2): 1007-1021.
- [63] IFUKU K, ISHIHARA S, SATO F. Molecular functions of oxygen-evolving complex family proteins in photosynthetic electron flow[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2010, 52(8): 723-734.
- [64] HALL M, KIESELBACH T, SAUER U H, *et al.* Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of PPD6, a PsbP-domain protein from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Acta Crystallographica Section F, Structural Biology and Crystallization Communications*, 2012, 68(Pt 3): 278-280.
- [65] SUN H Y, DAI H X, WANG X Y, *et al.* Physiological and proteomic analysis of selenium-mediated tolerance to Cd stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 133: 114-126.
- [66] ZHANG H H, XU Z S, GUO K W, *et al.* Toxic effects of heavy metal Cd and Zn on chlorophyll, carotenoid metabolism and photosynthetic function in tobacco leaves revealed by physiological and proteomics analysis[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 202: 110856.