

植物中蛋白质S-酰化修饰的研究进展

曾慧, 田野, 林建中*, 刘选明*

湖南大学生物学院, 植物功能基因组学和发育调控湖南省重点实验室, 长沙410082

*共同通信作者: 林建中(jianzhlin@hnu.edu.cn)、刘选明(xmL05@hnu.edu.cn)

摘要: 脂类修饰是一种重要的翻译后修饰。蛋白质S-酰化修饰作为脂类修饰中唯一的可逆修饰, 在植物细胞壁合成、蛋白质胞内定位、转运、分选、下游信号转导等生理过程中发挥着重要作用。本文对S-酰化的特性、植物中的S-酰化修饰蛋白质及其生物学功能, 以及去S-酰化的研究进展进行了综述。重点综述了S-酰化修饰参与植物生长发育调控、免疫和非生物胁迫响应等方面的研究, 并对蛋白质S-酰化修饰研究提出了进一步展望。

关键词: 脂类修饰; S-酰化; S-酰基转移酶; 植物

Research advances on S-acylation of protein in plants

ZENG Hui, TIAN Ye, LIN Jianzhong*, LIU Xuanming*

Hunan Province Key Laboratory of Plant Functional Genomics and Developmental Regulation, College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China

*Co-corresponding authors: Lin JZ (jianzhlin@hnu.edu.cn), Liu XM (xmL05@hnu.edu.cn)

Abstract: Lipid modification is an important post-translational modification. As the only reversible modification in lipid modification, S-acylation modification of proteins plays important roles in plant cell wall synthesis, intracellular localization of proteins, transport, sorting, downstream signal transduction and other physiological processes. In this paper, the research progresses of characteristics of S-acylation, biological functions of S-acylation modified proteins, and de-S-acylation in plants are summarized. Meanwhile, the involvement of S-acylation in plant growth and development regulation, immunity and abiotic stress response are mainly reviewed, and the further prospect of S-acylation modification of proteins is also presented.

Key words: lipid modification; S-acylation; S-acyltransferase; plant

蛋白质是生命的物质基础。大多数真核生物的蛋白质都是经过翻译后修饰的, 这种修饰使蛋白质结构更完整, 对蛋白质功能有着重要的影响。常见的翻译后修饰有磷酸化、泛素化、甲基化、糖基化和脂类修饰等(Jiang等2018)。S-酰化(S-acylation)作为脂类修饰的一种重要形式, 不仅能将蛋白质锚定在膜上, 也可作为信号通路的调节机制(Zheng等2019)。近年来发现S-酰化修饰是植物中常见的一种影响多种蛋白质的修饰, 并开启了一个全新的研究领域。然而, 与动物和真菌相比, 植物中蛋白

质S-酰化修饰的研究比较落后, 并且植物中蛋白质S-酰化过程及调节作用与动物和真菌也不完全相同。本文对蛋白质S-酰化修饰的特性、植物中的S-酰化修饰蛋白及其生物学功能, 以及植物蛋白质

收稿 2020-12-17 修定 2021-03-24

资助 国家自然科学基金(31571635、31871595)、湖南省科技重大专项(2018NK1010)、湖南省自然科学基金(2020JJ4004)、广西水稻遗传育种重点实验室开放课题(2018-05-Z06-KF05)和杂交水稻国家重点实验室(湖南杂交水稻研究中心)开放课题(2019KF02)。

的去S-酰化的研究进展进行了综述,为进一步研究植物蛋白质S-酰化修饰的机制提供参考。

1 蛋白质S-酰化修饰

常见的蛋白质脂类修饰有N-豆蔻酰化、异戊烯化和S-酰化。其中,S-酰化是所有真核生物中常见的但人们对其机制了解较少的一种基于脂肪酸的蛋白质翻译后修饰。S-酰化通过硫酯键将多种脂肪酸,即16个碳原子的棕榈酸或18个碳原子的硬脂酸结合到靶蛋白半胱氨酸(Cys)残基上,故常将S-酰化称为棕榈酰化或S-棕榈酰化(Sorek等2017)。大多数蛋白质的S-酰化不是自发发生的,而是由蛋白质S-酰基转移酶(protein S-acyltransferase, PAT)催化的酶促反应过程。根据蛋白质结构的不同, PAT分为MBOAT类棕榈酰基转移酶、Longin-domai类棕榈酰基转移酶和DHHC-CRD类棕榈酰基转移酶三大类。其中DHHC-CRD类棕榈酰基转移酶(DHHC型锌指蛋白)是真核生物S-酰基转移酶中最大也是研究最多的家族,因在CRD (cysteine-rich domain, 半胱氨酸富集区)含有一个DHHC (Asp-His-His-Cys, 天冬氨酸-组氨酸-组氨酸-半胱氨酸)保守结构域而得名。早在1979年, Schmidt等(1979)报道了第一个被S-酰化修饰的蛋白——水疱性口炎病毒的糖蛋白,蛋白质S-酰化修饰作为一种新的蛋白质翻译后修饰方法出现。1987年人们发现叶绿体D1蛋白可以用氘化棕榈酸进行可逆标记(Mattoo和Edelman 1987),蛋白质S-酰化修饰在植物中得以被提出。2002年,人们在酿酒酵母中首次发现蛋白质S-酰基转移酶AKR1 (Roth等2002)。2005年,在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中首次发现了来自植物的S-酰基转移酶AtTIP1 (Schiefelbein等1993)。

1.1 植物蛋白质S-酰化过程的动态可逆性

不同于N-豆蔻酰化和异戊烯化等脂类修饰,S-酰化是脂类修饰中唯一可逆的修饰,在PATs和去S-酰基酶的动态调控下,蛋白质S-酰化和去S-酰化的可逆过程得以完成(Jiang等2018) (图1)。因此,像磷酸化一样,S-酰化修饰可以作为翻译后的开关,通过S-酰化/去S-酰化修饰的周期变化动态调节蛋白质的定位、稳定性和功能,从而赋予S-酰化修饰更多生物学功能。研究表明,动物和酵母中蛋

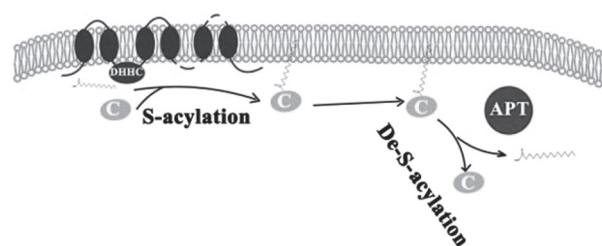


图1 蛋白质S-酰化可逆反应过程

Fig. 1 Reversible reaction of protein S-acylation

S-酰化为通过PAT催化,为靶蛋白添加脂肪酸链,从而锚定在膜上。去S-酰化为通过去S-酰基酶(APT)催化,脱去靶蛋白的脂肪酸链,从而使锚定在膜上的蛋白质失去膜定位。带有DHHC结构域的跨膜结构为PAT,标记“C”的椭圆为靶蛋白。此膜代表细胞内的质膜和内膜系统。

白质的S-酰化和去S-酰化动态可逆过程可快速发生,从而调控蛋白质的定位、分送和功能。Ras蛋白是这一可逆修饰的典型代表。Rocks等(2005)发现H/NRas蛋白能发生质膜、高尔基体之间持续的S-酰化/去S-酰化修饰调控,从而影响下游信号转导的级联反应。在植物中,水稻(*Oryza sativa*) Os-CPK2的S-酰化对其靶向定位于质膜是必需的,而未被S-酰化的OsCPK2定位于细胞质。由于S-酰化是可逆的,推测OsCPK2在受到胁迫后S-酰化状态的改变可能改变其亚细胞分布,并影响下游信号转导的级联反应(Martin和Busconi 2000)。以ROP6为代表的第一类ROPs活化状态的改变依赖于S-酰化和去S-酰化修饰循环的动态调控(Sorek等2010)。目前尚不清楚这种动态调控对ROP6的确切作用,推测可能是动态调控通过改变ROP6所处的膜微环境从而改变与其相互作用的蛋白质。

1.2 植物蛋白质S-酰化修饰底物的特异性

与N-豆蔻酰化和异戊烯化相比,S-酰化修饰的靶蛋白没有明确的共识基序,除了存在一个Cys残基,我们通常无法从蛋白质序列中识别潜在的S-酰化位点。那么,什么可能影响蛋白质S-酰化底物的特异性?

(1)细胞定位可能影响蛋白质S-酰化底物的特异性。膜蛋白PATs有不同的亚细胞定位,如质膜、内质网、高尔基体、液泡膜等。高尔基体被认为是动物体内的S-酰化中心,大多数动物PATs主要定

位在高尔基体, 将高尔基体中的蛋白质输出和分送到质膜中。大多数植物PATs定位于质膜上。例如, 拟南芥中已鉴定出24个PATs, 其中12个定位在质膜上, 8个定位于高尔基体和内质网, 2个位于非高尔基体来源的囊泡中, 2个位于液泡体上(Batistic 2012)。PATs需要与其底物蛋白共域化才能确保S-酰化顺利进行, 因植物和动物的PATs存在一定程度的定位差异, 猜测植物细胞S-酰化的底物和调控作用可能与动物细胞也存在一定的差异。

(2)底物上S-酰化位点附近特定的氨基酸序列或结构域可能影响PAT对底物的识别。研究表明, 突触相关蛋白SNAP25中S-酰化位点附近的Cys79介导了其与DHH15的互作(Greaves等2009)。S-酰化修饰使SNAP25锚定在质膜上, 调节SNAP25在质膜上的动态分布, 从而引起突触前膜蛋白的构象变化。同样, 细胞质关联蛋白ClipR-59的C端膜结合域介导了其与DHH17的相互作用, 使ClipR-59定位于质膜, 从而调节脂肪细胞中Akt信号通路和促进Glut4分子的质膜移位(Ren等2013)。

2 植物中的S-酰化修饰蛋白

蛋白质组学揭示了植物中有许多S-酰化修饰的蛋白(Hemsley等2013), 然而已报道的多数S-酰化蛋白所对应的PAT仍是未知的(表1)。同时, S-酰化修饰常与N-豆蔻酰化或异戊烯化共同修饰目的蛋白, 从而调控蛋白质的定位与功能。因为PATs蛋白家族是膜定位的, 若底物非膜蛋白, 则可通过其他脂质修饰将底物蛋白募集到膜上以进行S-酰化修饰。植物中共同被S-酰化和N-豆蔻酰化修饰的蛋白有许多。一些H型硫氧还蛋白(thioredoxin, TRX)被N-豆蔻酰化修饰后在内质网中被S-酰化修饰, 再输出到质膜(Meng等2010)。N-豆蔻酰化和S-酰化双重修饰使AtCBL1和AtCBL9锚定于质膜上, 进而调控钾通道AKT1的活性; N-豆蔻酰化和S-酰化双重修饰AtCBL4对于其靶向定位于质膜和调控钾通道AKT2的活性是必需的(Held等2011; Maierhofer等2014)。植物中同时被S-酰化和异戊烯化修饰的蛋白有小G蛋白ROP6 (Sorek等2010)、异源三聚体G蛋白的G γ 亚基AGG2 (Zeng等2007)。ROP6被异戊烯化修饰而定位于质膜, 结合GDP的非活化状

态的ROP6依赖S-酰化修饰转化成结合GTP的活化状态的ROP6 (Sorek等2010)。

虽然许多S-酰化蛋白需要经历N-豆蔻酰化或异戊烯化修饰, 但有些蛋白质仅被S-酰化修饰。植物第二类型小G蛋白仅经历S-酰化(Winge等2000)。Batistic等(2012)发现钙调神经磷酸酶B样蛋白(cal-cineurin-B-like proteins, CBLs) CBL2通过三重S-酰化定位于液泡膜上, 进而参与调控对ABA的响应。LIP1和LIP2属于细胞质类受体激酶(receptor-like cytoplasmic kinase, RLCK), 其N端被双S-酰化修饰, 参与引导花粉管向胚珠生长的过程。Liu等(2013)发现S-酰化位点突变不能回补*lip1*和*lip2*突变体的表型, 说明S-酰化对其在花粉管顶端的定位至关重要。Kumar等(2016)发现负责合成纤维素的纤维素合酶复合物(cellulose synthase complex, CSC)是已知S-酰化程度最高的复合物, 具有多重S-酰化修饰。这种程度的S-酰化很可能对周围膜环境产生重要影响。仅仅突变CSC三个亚基中的一个S-酰化位点似乎能使整个复合体失去功能, 但S-酰化修饰如何产生这么重要的影响尚不清楚。

3 蛋白质S-酰化修饰在植物中的生物学功能

由于植物中蛋白质S-酰化的反应机理与动物和真菌是一致的, 随着动物和真菌中蛋白质S-酰化的研究更为深入, 在一定程度上为植物蛋白质S-酰化研究提供了参考。近年来植物中蛋白质S-酰化修饰的研究取得了较大进展, 部分S-酰化蛋白及其相关生物学功能已被解析(图2)。

3.1 蛋白质S-酰化修饰参与植物的生长发育调控

许多蛋白质S-酰化修饰与植物的生长发育相关。例如, 人们早知酵母中的微管蛋白TUB1能被S-酰化修饰(Caron等2001), 对植物的研究表明植物微管蛋白TUB1也能被S-酰化修饰(Hemsley和Grierson 2008)。Allassimone等(2016)发现细胞质类受体激酶SGN1的S-酰化修饰对根中凯氏带(casparian)的形成至关重要。缺乏S-酰化位点的*sgn1*突变体无法回补SGN1的表型, 同时SGN1经历着S-酰化和去S-酰化的循环来维持SGN1的不对称分布。蛋白质组学和生物信息学揭示了拟南芥中有大量的S-酰化修饰的蛋白(Hemsley等2013), 而拟

表1 植物中未知PAT的S-酰化蛋白
Table 1 S-acylated protein of unknown PAT in plants

蛋白种类	蛋白质名称	参考文献
CBL蛋白	AtCBL1	Maierhofer等2014
	AtCBL4	Held等2011
	AtCBL9	Maierhofer等2014
Ca ²⁺ 信号转导相关蛋白	OsCPK2	Martin和Busconi 2000
	LeCPK1	Leclercq等2005
	MsCPK3	Gargantini等2006
异源三聚体G蛋白	AtGPA1	Adjobo-Hermans等2006
	AtAGG2	Zeng等2007
小G蛋白	AtROP6	Sorek等2010
	AtROP9	Hemsley 2009
	AtROP10	Lavy和Yalovsky 2006
纤维素合酶复合体	AtARA6	Grebe等2003
	AtCESA1、AtCESA4、AtCESA5、AtCESA7、AtCESA8	Kumar等2016
	RIN4	Kim等2005
植物免疫相关蛋白	AtFLS2	Hemsley等2013
	AtPBS1	Zhang等2010
	AtRPS5	Qi等2012
细胞质类受体激酶	OsREM1.4、NbREM1.1/1.2	Fu等2018
	NbHIPP26	Cowan等2018
	AtLIP1、AtLIP	Liu等2013
蛋白质磷酸酶	CDG1	Kim等2011
	SGN1	Alassimone等2016
	STRK1	Zhou等2018
转录因子	AtPOL、AtPLL1	Gagne和Clark 2010
	MfNACsa	Duan等2017
	PtTRX-H4、AtTRX-H9	Meng等2010
其他	AtCAN1、AtCAN2	Lesniewicz等2012
	TUB1	Hemsley和Grierson 2008

表中首次出现的物种拉丁学名如下: 紫花苜蓿(*Medicago sativa*)、本氏烟(*Nicotiana benthamiana*)、黄花苜蓿(*Medicago falcate*)、毛果杨(*Populus trichocarpa*)。

南芥中仅有24个PATs, 说明单个PAT可能有多个底物, 通过S-酰化修饰多个蛋白质以参与多种生长发育的过程。PAT突变体的多效表型证明了这一观点的正确性。拟南芥PAT24/TIP1定位于高尔基体, *tip1*突变体表现出花粉管和根毛生长异常、节间缩短、植株矮小、莲座叶变小、植物早花早衰等表型(Schiefelbein等1993; Hemsley等2005)。拟南芥PAT10定位于液泡体, *pat10*突变体在生殖生长及其他多个方面出现发育缺陷, 包括生长缓慢、莲座叶小、花粉管生长的异常等(Qi等2013; Zhou等

2013)。玉米(*Zea mays*) TIP1定位于质膜和高尔基体, 其*tip1*突变体的根毛变短(Zhang等2020)。那么, PATs具体作用于哪些底物蛋白从而调节这些特定生长发育过程呢? 目前, 人们对此知之甚少, 植物中仅有几组PAT-底物对被提出(表2)。因此, 发掘和鉴定更多的PAT-底物对仍将是植物中蛋白质S-酰化修饰研究的重点。

3.2 蛋白质S-酰化修饰参与植物的信号转导

钙是真核细胞的主要第二信使之一, 一些参与Ca²⁺信号转导的蛋白质被S-酰化。拟南芥CBLs

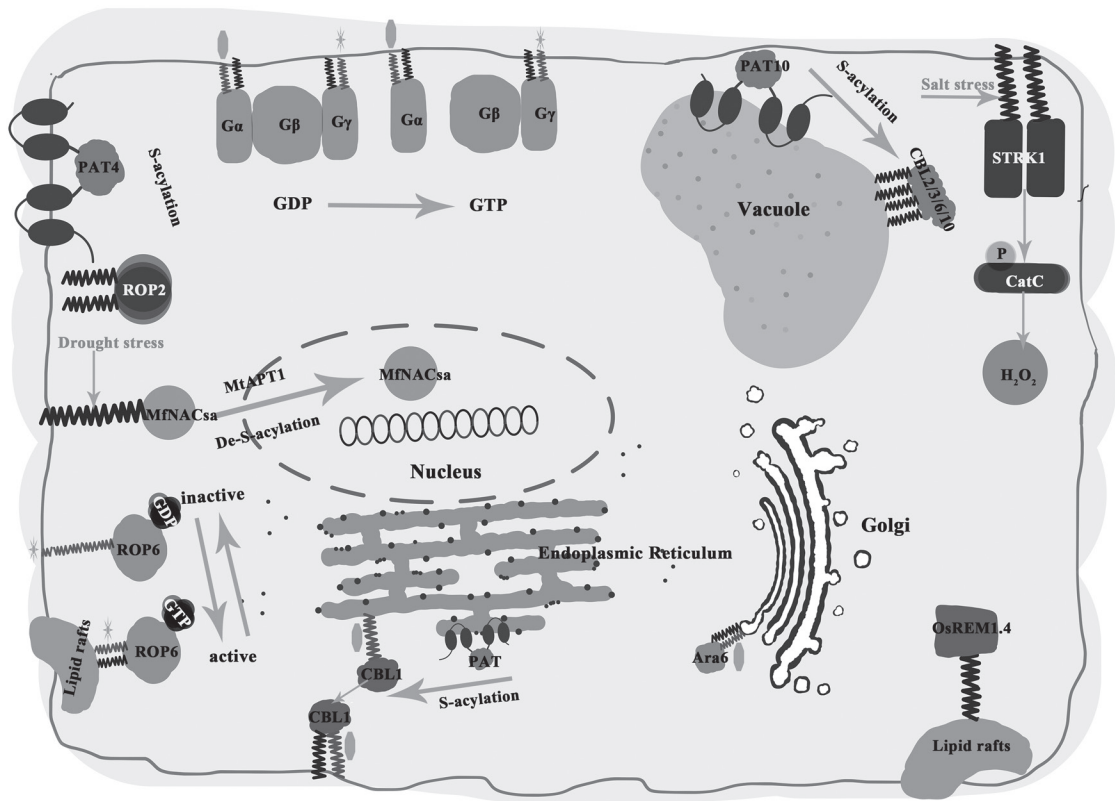


图2 植物中部分已知S-酰化蛋白及其参与的生物学功能

Fig. 2 Some known S-acylated proteins in plants and their involved biological functions

S-酰化修饰用波浪线表示, 异戊烯化修饰用波浪线加雪花形状表示, N-豆蔻酰化修饰用波浪线加多边形形状表示。图中列举了植物蛋白质S-酰化修饰参与不同功能调控机制的实例。参考Zheng等(2019)并加以修改。

表2 植物中PAT蛋白的生理功能
Table 2 Physiological functions of PAT proteins in plants

名称	定位	生理功能	底物	参考文献
AtPAT4	质膜	调控小G蛋白ROP2在质膜上的动态定位, 影响下游微丝骨架排布, 从而介导根毛的顶端长	AtROP2	Wan等 2017
AtPAT10	液泡膜和囊泡	突变体生长缓慢, 莲座叶小, 受孢子体影响的雌雄配子体功能缺陷, 花粉管生长异常, 对盐胁迫超敏感	AtCBL2、3、10	Zhou等2013; Qi等2013
AtPAT13、14	质膜和囊泡	参与调控水杨酸的代谢, 进而调控植物叶片的衰老	AtNOA1	Lai等2015
TIP1/AtPAT24	囊泡	突变体有根毛生长异常、植株矮小、植物早花早衰表型	未知	Schiefelbei等1993; Hemsley等2005
ZmTIP1	质膜和高尔基体	正调控玉米根毛长度和耐旱性, 增强根毛长度, 提高对水分亏缺的耐受性	ZmCPK9	Zhang等2020
OsDHHC1	质膜	参与ABA胁迫的应答, 具有提高水稻产量的功能	未知	Zhou等2017
OsDHHC13	未知	调节H ₂ O ₂ 含量的动态平衡, 正调控水稻的抗氧化胁迫	未知	王文文等2016

家族有10个成员,其中CBL1蛋白在细胞质中经历N-豆蔻酰化修饰后锚定在内质网上(图2),然后通过内质网中的S-酰化修饰转运到质膜(Batistic等2008)。CPK家族蛋白的N端同时被N-豆蔻酰化和S-酰化修饰(Hrabak等2003)。拟南芥CPK1、7、8、9、16、21、28的膜定位与潜在的S-酰化位点有关(Dammann等2003)。研究表明,水稻和番茄中CPK家族蛋白正确的亚细胞定位依赖于S-酰化修饰(Martin和Busconi 2000; Leclercq等2005)。

一些G蛋白也是被S-酰化修饰的。ARA6是一种新型的、植物特有的隶属Rab GTPase家族的小G蛋白。ARA6在Gly2有N-豆蔻酰化位点,在Cys3有S-酰化位点(Ueda等2001),被N-豆蔻酰化和S-酰化修饰后能够定位于内体,但是缺失S-酰化修饰的ARA6不能被正确运输而大量滞留于内质网(Grebe等2003)。拟南芥异源三聚体G蛋白的G_α亚基GPA1在Gly2有N-豆蔻酰化位点,在Cys5有S-酰化位点,这两种脂质修饰将GPA1靶向定位于质膜上(Adjobo-Hermans等2006)。G蛋白的G_γ亚基AGG2也受到S-酰化修饰,该修饰调控AGG2的生物学功能(Zeng等2007)。

细胞表面受体在植物生物学各方面的重要性不言而喻。Kim等(2011)发现拟南芥细胞质类受体激酶CDG1参与油菜素类固醇(brassinosteroid, BR)的信号转导。CDG1的N端Cys4和Cys6被S-酰化而锚定于质膜上。若将Cys4和Cys6突变为丙氨酸(Ala),则突变蛋白定位于核内,且此突变类型的过表达转基因植株无表型,说明CDG1需要质膜定位才能发挥BR信号转导的作用。我们实验室鉴定了一个水稻细胞质类受体激酶STRK1,发现其N端的Cys5、10、14被S-酰化而定位于质膜上,参与盐胁迫响应的信号转导(Zhou等2018)。当将STRK1的Cys5、10、14均突变为Ala时,其突变蛋白的膜定位特性消失,仅分布于细胞质基质中,而且参与盐胁迫信号转导的功能也随之丧失,说明STRK1的S-酰化对其膜定位和参与盐胁迫的信号转导是必需的(图2)。

3.3 蛋白质S-酰化修饰参与植物的免疫过程

一些参与病原体应答的蛋白也发生S-酰化修饰。一方面,植物病毒可以通过S-酰化自身蛋白,

促进病毒在植物中的移动和复制。双生病毒是一类普遍发生且导致严重植物病害的DNA病毒。C4蛋白是多种双生病毒的主要症状决定因子,2种不同的双生病毒的C4蛋白已证明是被S-酰化修饰的,且S-酰化对其毒力的作用至关重要。Carluccio等(2018)发现,绿豆黄花叶病毒(*Mungbean yellow mosaic virus*, MYMV) AC4的S-酰化是抑制细胞间基因沉默信号所必需的。AC4通过S-酰化与质膜结合,定位于质膜的AC4强烈抑制系统沉默来抵消病毒诱导的基因沉默。Li等(2018)发现另一种双生病毒甜菜严重曲顶病毒(*Beet severe curly top virus*, BSCTV) C4的S-酰化在宿主植物茎端发育调控中的作用尤为重要; C4蛋白的S-酰化修饰对其与茎端分生组织维持的重要受体激酶CLAVATA1 (CLV1)的相互作用是必需的,进而影响下游基因WUSCHEL的表达,导致植物组织被侵染的细胞分裂增加。受到甜菜严重曲顶病毒感染的拟南芥长角果发育异常,该病症也取决于C4的S-酰化。

另一方面,植物病毒也可以通过操纵宿主蛋白的S-酰化来改进病毒的生活方式。脂筏蛋白(remorin)是陆地植物特有的膜蛋白,可通过调控胞间连丝的通透性来阻止病毒在细胞间的运动。水稻条纹病毒(*Rice stripe virus*, RSV)编码的运动蛋白NSvc4干扰水稻Remorin1.4和本氏烟Remorin1.1/1.2的S-酰化,削弱其质膜定位,从而诱导细胞通过自噬途径降解Remorin蛋白,减弱其对病毒在宿主细胞间移动的抑制(Fu等2018)。

3.4 蛋白质S-酰化修饰参与植物的非生物胁迫

S-酰化修饰在非生物胁迫中发挥重要作用。Vats等(2016)发现植物中大量与干旱胁迫相关的蛋白质可能受S-酰化修饰的调控。我们实验室发现STRK1正调控水稻的耐盐性(Zhou等2018)。同时,STRK1的N端Cys5、10、14的S-酰化对其参与水稻耐盐性调控是必需的(图2)。Zhang等(2020)发现ZmTIP1正调控玉米耐旱性。在拟南芥和玉米中过表达ZmTIP1能提高植株对于干旱胁迫的耐受性,其功能缺失突变体则表现出相反的表型。同时,ZmTIP1介导钙依赖蛋白激酶ZmCPK9的S-酰化,促进了ZmCPK9与质膜的结合。Chai等(2020)发现在拟南芥中PAT10对CBL10的S-酰化修饰为CBL10的液

泡定位所必需的(图2), 同时CBL10 Cys38位点的S-酰化对其参与盐胁迫响应至关重要。

鉴于人们对植物PATs的研究多源于拟南芥, 对其他植物研究甚少, 而DHHC型锌指蛋白(DHHC蛋白)是真核生物PATs中最大也是研究最多的家族, 因此我们实验室对水稻的DHHC蛋白基因进行了系统分析, 发现在水稻基因组中共有30个*OsDHHC*基因, 其中26个*OsDHHCs*在水稻不同时期、不同组织中发挥功能。通过不同逆境处理的表达模式分析发现, 12个*OsDHHCs*极有可能参与非生物胁迫响应的调控(Li等2016)。王文文等(2016)发现*OsDHHC13*可能参与水稻的盐、干旱和氧化胁迫响应, 其过表达植株中与清除H₂O₂相关的酶基因表达上调, 并对氧化胁迫的耐受性显著升高。Zhou等(2017)克隆了一个新的DHHC蛋白基因*OsDHHC1*, 发现它是*Os02g0819100*基因在水稻体内的另一种剪接方式, 其编码蛋白OsDHHC1具有S-酰基转移酶活性, 并参与ABA胁迫的应答, 调控水稻的株型和产量。因此, 我们推测作为重要PAT的DHHC蛋白通过对目标蛋白的S-酰化修饰参与非生物胁迫响应, 同时其目标蛋白的发掘与鉴定也是未来研究的重要方向。

4 植物蛋白质的去S-酰化

去S-酰化是由去S-酰基酶催化, 将蛋白质Cys残基中通过硫脂键连接的长链脂肪酸去除的酶促反应过程。目前公认的三大类S-酰基酶分别是酰基蛋白硫酯酶(acyl protein thioesterase, APT)、ABHD17水解酶和棕榈酰蛋白硫酯酶(palmitoyl protein thioesterase, PPT) (Hornemann 2015; Lin 和 Conibear 2015)。在动物中, APTs定位于线粒体和细胞质, 不仅可以催化大量S-酰化蛋白的去S-酰化, 而且在运输外周膜蛋白的动态S-酰化循环中起重要作用。PPT定位于溶酶体, 切割Cys残基上的脂肪酸链以回收酰基, 从而参与蛋白质降解过程。研究表明, ABHD17 (而非APT1/APT2)参与细胞N-Ras去S-酰化(Lin和Conibear 2015)。动物中目前发现了4个与去S-酰化相关的硫酯酶, 分别是APT1、APT2、PPT1和PPT2, 均是丝氨酸水解酶家族成员。APT1在小鼠多个组织中都有表达, 通

过调控多种底物去S-酰化从而介导蛋白发生重定位且参与信号转导过程, 其底物包括H-Ras、一氧化氮合酶(ENOS)、G蛋白信号调节因子4 (RGS4)等(Won等2018)。APT2是APT1的同源蛋白, 底物有GAP-43和H-Ras。Abrami等(2020)近期剖析了APT2的作用模式, 发现APT2要通过两个连续的步骤与膜结合后才能作用其靶蛋白, 为了解APT2介导的去S-酰化的动力学奠定了基础。PPT1是S-酰化蛋白在溶酶体降解所必需的, 其底物包括V-AT-Pase和H-Ras等, *PPT1*突变会引起严重的神经退行性疾病(Koster和Yoshii 2019)。PPT2是PPT1的同源蛋白, 也为溶酶体蛋白, 但是能识别特定的底物。植物中有多个编码APT的基因, 但没有一个与已知的APTs具有特别高的序列相似性, 且植物中没有发现编码ABHD17相似度高的同源基因, 表明植物可能有不同于动物和真菌的去S-酰基酶。最近的一项研究表明, 植物中可能存在去S-酰基酶。蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*) MtAPT1 (图2)是第一个在植物中发现的具有去S-酰化活性的蛋白硫酯酶(Duan等2017)。目前还没有足够的遗传和生化证据来支持这一发现, 若找到它将是所有生物体中第一个除丝氨酸水解酶超家族外的S-酰基蛋白硫酯酶。在其他植物中, 已鉴定出若干编码该硫酯酶的基因, 故深入研究这种新的去S-酰基酶很有意义。

5 展望

近年来, 国内外对植物S-酰化修饰的研究取得了较大进步, 蛋白质组学的研究已经大大扩展了植物中S-酰化蛋白的范围。但是, 长期以来由于方法上的限制, 该研究进展缓慢, 大多数植物S-酰化蛋白的S-酰化位点还不明确, 且其对应的PAT尚未知, 仍需进一步挖掘。因此, 开发和改进植物S-酰化蛋白的检测技术对进一步研究S-酰化至关重要。目前, 研究S-酰化蛋白的一些方法已经开发出来, 如生物信息预测、质谱分析法和生化方法等。这些方法用于动物中的研究较多, 同时也为植物中的研究提供了启发。如酰基-生物素置换法(acyl-biotinyl exchange, ABE)和酰基PEG交换法(acyl PEG exchange, APE)近年来已被普遍用于植物蛋白质的S-酰

化的定性分析(Lai等2015; Fu等2018)。Sorek等(2017)使用气相色谱结合质谱法(GC-MS)分析了ROP6的S-酰化, 证明连接到Cys残基的脂质类型是棕榈酸和硬脂酸。除了技术方面, 植物蛋白质S-酰化的研究还存在诸多挑战: (1) PAT介导的植物蛋白质S-酰化的具体机制是怎样的? (2)植物蛋白质中去S-酰基酶是什么? (3) PAT和去S-酰基酶介导的可逆S-酰化作用是如何影响植物功能的? (4) S-酰化的可逆性质表明, 它在调节蛋白质激活状态或控制信号网络激活方面发挥类似于磷酸化的作用。那么在植物中, 哪些蛋白质会发生S-酰化状态的改变, 其具体机制又如何呢? 解决以上问题必将对进一步探索植物中蛋白质S-酰化修饰提供帮助, 同时也会有助于了解蛋白质的S-酰化是如何调节植物生理过程。总之, 本文综述了关于植物蛋白质S-酰化修饰方面的研究进展, 为进一步了解植物蛋白质S-酰化提供参考。

参考文献(References)

- Abrami L, Audagnotto M, Ho S, et al (2020). Molecular mode of action of an Acyl protein thioesterase. *Cell Biol*, <https://doi.org/10.1101/2020.06.18.157545>
- Adjobo-Hermans MJW, Goedhart J, Gadella TWJ (2006). Plant G protein heterotrimers require dual lipidation motifs of Galpha and Ggamma and do not dissociate upon activation. *J Cell Sci*, 119: 5087–5097
- Alassimone J, Fujita S, Doblas VG, et al (2016). Polarly localized kinase SGN1 is required for Casparian strip integrity and positioning. *Nat Plants*, 2: 433–443
- Batistic O (2012). Genomics and localization of the *Arabidopsis* DHHC-cysteine-rich domain S-acyltransferase protein family. *Plant Physiol*, 160: 1597–1612
- Batistic O, Sorek N, Schultke S, et al (2008). Dual fatty acyl modification determines the localization and plasma membrane targeting of CBL/CIPK Ca^{2+} signaling complexes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20: 1346–1362
- Batistic O, Reher M, Akerman A, et al (2012). S-acylation-dependent association of the calcium sensor CBL2 with the vacuolar membrane is essential for proper abscisic acid responses. *Cell Res*, 22: 1155–1168
- Carluccio AV, Prigigallo MI, Rosas-Diaz T, et al (2018). S-acylation mediates Mungbean yellow mosaic virus AC4 localization to the plasma membrane and in turns gene silencing suppression. *PLOS One*, 14: e1007207
- Caron JM, Vega LR, Fleming J, et al (2001). Single site alpha-tubulin mutation affects astral microtubules and nuclear positioning during anaphase in *Saccharomyces cerevisiae*: possible role for palmitoylation of alpha-tubulin. *Mol Biol Cell*, 12: 2672–2687
- Chai S, Ge FR, Zhang Y, et al (2020). S-acylation of CBL10/SCaBP8 by PAT10 is crucial for its tonoplast association and function in salt tolerance. *J Integr Plant Biol*, 62: 718–722
- Cowan GH, Roberts AG, Jones S, et al (2018). Potato mop-Top virus co-opts the stress sensor HIP26 for long-distance movement. *Plant Physiol*, 176: 2052–2070
- Dammann C, Ichida A, Hong BM, et al (2003). Subcellular targeting of nine calcium-dependent protein kinase isoforms from *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 132: 1840–1848
- Duan M, Zhang RX, Zhu FG, et al (2017). A lipid-anchored NAC transcription factor is translocated into the nucleus and activates *Glyoxalase I* expression during drought stress. *Plant Cell*, 29: 1748–1772
- Fu S, Xu Y, Li CY, et al (2018). Rice stripe virus interferes with S-acylation of remorin and induces its autophagic degradation to facilitate virus infection. *Mol Plant*, 11: 269–287
- Gagne JM, Clark SE (2010). The *Arabidopsis* stem cell factor POLTERGEIST is membrane localized and phospholipid stimulated. *Plant Cell*, 22: 729–743
- Gargantini PR, Gonzalez-Rizzo S, Chinchilla D, et al (2006). A CDPK isoform participates in the regulation of nodule number in *Medicago truncatula*. *Plant J*, 48: 843–856
- Greaves J, Prescott GR, Fukata Y, et al (2009). The hydrophobic cysteine-rich domain of SNAP25 couples with downstream residues to mediate membrane interactions and recognition by DHHC palmitoyl transferases. *Mol Biol Cell*, 20: 1845–1854
- Grebe M, Xu J, Mobius W, et al (2003). *Arabidopsis* sterol endocytosis involves actin-mediated trafficking via ARA6-positive early endosomes. *Curr Biol*, 13: 1378–1387
- Held K, Pascaud F, Eckert C, et al (2011). Calcium-dependent modulation and plasma membrane targeting of the AKT2 potassium channel by the CBL4/CIPK6 calcium sensor/protein kinase complex. *Cell Res*, 21: 1116–1130
- Hemsley PA (2009). Protein S-acylation in plants. *Mol Membr Biol*, 26: 114–125
- Hemsley PA, Grierson CS (2008). Multiple roles for protein palmitoylation in plants. *Trends Plant Sci*, 13: 295–302
- Hemsley PA, Kemp AC, Grierson CS (2005). The TIP GROWTH DEFECTIVE1 S-acyl transferase regulates plant cell growth in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17: 2554–2563
- Hemsley PA, Weimar T, Lilley KS, et al (2013). A proteomic approach identifies many novel palmitoylated proteins in

- Arabidopsis*. New Phytol, 197: 805–814
- Hornemann T (2015). Palmitoylation and depalmitoylation defects. J Inherit Metab Dis, 38: 179–186
- Hrabak EM, Chan CWM, Gribskov M, et al (2003). The *Arabidopsis* CDPK-SnRK superfamily of protein kinases. Plant Physiol, 132: 666–680
- Jiang H, Zhang XY, Chen X, et al (2018). Protein lipidation: occurrence, mechanisms, biological functions, and enabling technologies. Chem Rev, 118: 919–988
- Kim HS, Desveaux D, Singer AU, et al (2005). The *Pseudomonas syringae* effector AvrRpt2 cleaves its C-terminally acylated target, RIN4, from *Arabidopsis* membranes to block RPM1 activation. Proc Natl Acad Sci USA, 102: 6496–6501
- Kim TW, Guan SH, Burlingame AL, et al (2011). The CDG1 kinase mediates brassinosteroid signal transduction from BRI1 receptor kinase to BSU1 phosphatase and GSK3-like kinase BIN2. Mol Cell, 43: 561–571
- Koster KP, Yoshii A (2019). Depalmitoylation by palmitoyl protein thioesterase 1 in neuronal health and degeneration. Front Synaptic Neurosci, 11: 25
- Kumar M, Wightman R, Atanassov I, et al (2016). S-acylation of the cellulose synthase complex is essential for its plasma membrane localization. Science, 353: 166–169
- Lai JB, Yu BY, Cao ZD, et al (2015). Two homologous protein S-acyltransferases, PAT13 and PAT14, cooperatively regulate leaf senescence in *Arabidopsis*. J Exp Bot, 66: 6345–6353
- Lavy M, Yalovsky S (2006). Association of *Arabidopsis* type-II ROPs with the plasma membrane requires a conserved C-terminal sequence motif and a proximal polybasic domain. Plant J, 46: 934–947
- Leclercq J, Ranty B, Sanchez-Ballesta MT, et al (2005). Molecular and biochemical characterization of LeCRK1, a ripening-associated tomato CDPK-related kinase. J Exp Bot, 56: 25–35
- Lesniewicz K, Poreba E, Smolarkiewicz M, et al (2012). Plant plasma membrane-bound staphylococcal-like DNases as a novel class of eukaryotic nucleases. BMC Plant Biol, 12: 195
- Li HY, Zeng RX, Chen Z, et al (2018). S-acylation of a geminivirus C4 protein is essential for regulating the CLAV-ATA pathway in symptom determination. J Exp Bot, 69: 4459–4468
- Li YX, Lin JZ, Li L, et al (2016). DHHC-cysteine-rich domain S-acyltransferase protein family in rice: organization, phylogenetic relationship and expression pattern during development and stress. Plant Syst Evol, 302: 1405–1417
- Lin DTS, Conibear E (2015). ABHD17 proteins are novel protein depalmitoylases that regulate N-Ras palmitate turnover and subcellular localization. eLife, 4: e11306
- Liu JJ, Zhong S, Guo XY, et al (2013). Membrane-bound RLCKs LIP1 and LIP2 are essential male factors controlling male-female attraction in *Arabidopsis*. Curr Biol, 23: 993–998
- Maierhofer T, Diekmann M, Offenborn JN, et al (2014). Site- and kinase-specific phosphorylation-mediated activation of SLAC1, a guard cell anion channel stimulated by abscisic acid. Sci Signal, 7: 86
- Martin ML, Busconi L (2000). Membrane localization of a rice calcium-dependent protein kinase (CDPK) is mediated by myristoylation and palmitoylation. Plant J, 24: 429–435
- Mattoo AK, Edelman M (1987). Intramembrane translocation and posttranslational palmitoylation of the chloroplast 32-kDa herbicide-binding protein. Proc Natl Acad Sci USA, 84: 1497–1501
- Meng L, Wong JH, Feldman LJ, et al (2010). A membrane-associated thioredoxin required for plant growth moves from cell to cell, suggestive of a role in intercellular communication. Proc Natl Acad Sci USA, 107: 3900–3905
- Qi BX, Doughty J, Hooley R (2013). A Golgi and tonoplast localized S-acyl transferase is involved in cell expansion, cell division, vascular patterning and fertility in *Arabidopsis*. New Phytol, 200: 444–456
- Qi D, DeYoung BJ, Innes RW (2012). Structure-function analysis of the coiled-coil and leucine-rich repeat domains of the RPS5 disease resistance protein. Plant Physiol, 158: 1819–1832
- Ren WY, Sun YM, Du KY (2013). DHHC17 palmitoylates ClipR-59 and modulates ClipR-59 association with the plasma membrane. Mol Cell Biol, 33: 4255–4265
- Rocks O, Peyker A, Kahms M, et al (2005). An acylation cycle regulates localization and activity of palmitoylated Ras isoforms. Science, 307: 1746–1752
- Roth AF, Feng Y, Chen LY, et al (2002). The yeast DHHC cysteine-rich domain protein Akr1p is a palmitoyl transferase. J Cell Biol, 159: 23–28
- Schiefelbein J, Galway M, Masucci J, et al (1993). Pollen tube and root-hair tip growth is disrupted in a mutant of *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol, 103: 979–985
- Schmidt MFG, Schlesinger MJ (1979). Fatty acid binding to vesicular stomatitis virus glycoprotein: a new type of post-translational modification of the viral glycoprotein. Cell, 17: 813–819
- Sorek N, Poraty L, Sternberg H, et al (2017). Corrected and republished from: Activation status-coupled transient S acylation determines membrane partitioning of a plant Rho-related GTPase. Mol Cell Biol, 37: e0033–17
- Sorek N, Segev O, Gutman O, et al (2010). An S-acylation

- switch of conserved G domain cysteines is required for polarity signaling by ROP GTPases. *Curr Biol*, 20: 914–920
- Ueda T, Yamaguchi M, Uchimiya H, et al (2001). Ara6, a plant-unique novel type Rab GTPase, functions in the endocytic pathway of *Arabidopsis thaliana*. *EMBO J*, 20: 4730–4741
- Vats G, Grover M, Singh A, et al (2016). Role of palmitoylation and nitration in modification of large number of proteins associated with drought stress in plants. *Agrica*, 5: 59–62
- Wan ZY, Zhang Y, Li S (2017). Protein S-acyl transferase 4 controls nucleus position during root hair tip growth. *Plant Signal Behav*, 12: e1311438
- Wang WW (2016). Functional study of *OsDHH13* and bioinformatics analysis of *OsDHH13* in rice (dissertation). Changsha: Hunan University (in Chinese with English abstract) [王文文(2016). 水稻*OsDHH13*基因的生物信息学分析及*OsDHH13*基因的功能研究(学位论文). 长沙: 湖南大学]
- Winge P, Brembu T, Kristensen R, et al (2000). Genetic structure and evolution of RAC-GTPases in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 156: 1959–1971
- Won SJ, Kit MCS, Martin BR (2018). Protein depalmitoylases. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 53: 83–98
- Zeng Q, Wang XJ, Running MP (2007). Dual lipid modification of *Arabidopsis* Gγ-subunits is required for efficient plasma membrane targeting. *Plant Physiol*, 143: 1119–1131
- Zhang J, Li W, Xiang TT, et al (2010). Receptor-like cytoplasmic kinases integrate signaling from multiple plant immune receptors and are targeted by a *Pseudomonas syringae* effector. *Cell Host Microbe*, 7: 290–301
- Zhang XM, Mi Y, Mao H, et al (2020). Genetic variation in ZmTIP1 contributes to root hair elongation and drought tolerance in maize. *Plant Biotechnol J*, 18: 1271–1283
- Zheng LH, Liu P, Liu QW (2019). Dynamic protein S-acylation in plants. *Int J Mol Sci*, 20: 560
- Zhou B, Lin JZ, Peng D, et al (2017). Plant architecture and grain yield are regulated by the novel DHH13-type zinc finger protein genes in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci*, 254: 12–21
- Zhou LZ, Li S, Feng QN, et al (2013). Protein S-acyl transferase10 is critical for development and salt tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25: 1093–1107
- Zhou YB, Liu C, Tang DY, et al (2018). The receptor-like cytoplasmic kinase STRK1 phosphorylates and activates CatC, thereby regulating H₂O₂ homeostasis and improving salt tolerance in rice. *Plant Cell*, 30: 1100–1118