

植物氧化胁迫信号应答的研究进展

周恒 谢彦杰

(南京农业大学生命科学学院, 南京 210095)

摘要: 干旱、盐害以及极端温度等非生物胁迫是影响植物生长发育的重要因子。植物在遭受胁迫时, 活性氧的快速积累导致胞内氧化还原稳态被打破, 进一步诱导产生次级氧化胁迫损伤。除了初级非生物胁迫胁迫信号外, 植物细胞也需要产生一系列的次级氧化胁迫信号。氧化还原信号的感知与传递在植物氧化胁迫应答过程中发挥重要的作用, 其生物化学基础是功能蛋白质发生的氧化还原翻译后修饰, 分别又由多种具有氧化还原活性的小分子介导。本文综述了近年来植物氧化还原信号的研究进展, 展望了未来的研究方向, 以期为进一步研究植物氧化胁迫应答及氧化还原信号转导提供参考。

关键词: 氧化胁迫; 活性氧; 氧化还原信号; 蛋白质翻译后修饰

DOI:10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2023-0519

Recent Progress in Oxidative Stress Signaling and Response in Plants

ZHOU Heng XIE Yan-jie

(College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: Abiotic stress such as drought, salt, and extreme temperature are important factors affecting plant growth and development. The rapid accumulation of reactive oxygen species can lead to the disruption of intracellular redox homeostasis, further inducing secondary oxidative stress damage, when plants are subjected to stress. In addition to primary stress signals, plant cells also need secondary oxidative stress signals to respond abiotic stress. The perception and transmission of redox signals play an important role in plant oxidative stress response, which relies on reversible oxidative post-translational modifications of proteins mediated by a variety of small molecules with redox activity. This article reviews the research progress in plant redox signals, and discusses the future direction in this field, aiming to provide reference for further research on plant oxidative stress response and redox signal transduction.

Key words: oxidative stress; reactive oxygen species; redox signaling; post-translational modification

植物因为不能移动, 因此容易受到经常性的不利于植物生长和发育的胁迫环境的影响, 包括生物胁迫(如病原体感染和食草动物的啃食)和非生物胁迫(如干旱、盐害、极端温度以及重金属毒害等)^[1]。这些不利条件改变了活性氧(reactive oxygen species, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)的代谢。在胁迫早期, 低浓度的ROS和RNS可作为信号分子参与植物生长、发育以及胁迫响应过程的调控^[2-3]。随着胁迫的持续, 高浓度的

ROS和RNS积累会扰乱植物细胞内氧化还原稳态, 引发对脂质、蛋白质和核酸等大分子不可逆氧化损害, 破坏新陈代谢过程, 并最终导致植物细胞死亡^[4]。因此, 维持细胞内氧化还原稳态对于提高植物抗逆性至关重要。在长期进化过程中, 植物相应地进化出了酶促和非酶促两种类型的保护系统通过清除过量产生的ROS来维持细胞内的氧化还原稳态。

近年来的研究表明ROS和RNS等活性小分子介导的氧化还原信号转导主要依赖于其介导的基于

收稿日期: 2023-05-30

基金项目: 江苏省基础研究计划青年基金项目(BK20200561), 江苏省基础研究计划杰出青年基金项目(BK20220084), 国家自然科学基金项目(32101671)

作者简介: 周恒, 副研究员, 研究方向: 植物氧化还原信号转导与调控机制; E-mail: hengzhou@njau.edu.cn

通讯作者: 谢彦杰, 教授, 研究方向: 植物氧化还原信号转导与调控机制; E-mail: yjxie@njau.edu.cn

半胱氨酸巯基的可逆的氧化蛋白质翻译后修饰^[3,5]。这些活性小分子可通过氧化修饰相关蛋白,例如代谢相关酶和转录因子等,改变其活性及功能,进而调控相关基因表达。了解氧化还原信号转导的功能与作用方式,以及植物氧化胁迫应答的机理,对改善及提高植物对非生物胁迫抗逆性具有重要参考价值。本文阐述了植物氧化胁迫下细胞内氧化还原稳态的调控方式,并重点介绍了氧化还原信号转导的分子机制,以期为进一步研究植物氧化胁迫应答的作用机制提供参考。

1 植物氧化还原信号的来源

正常条件下,细胞内环境处于还原状态,而当遭受胁迫时,初级胁迫响应造成的细胞内新陈代谢紊乱促使了几类具有氧化能力的活性亲电小分子,主要包括 ROS、RNS 和活性硫(reactive sulfur species, RSS)等的急剧产生,使得细胞内氧化还原平衡被打破。这类活性小分子作为第二信使,是使细胞能够快速响应环境变化的关键信号分子,在植物非生物和生物胁迫感知过程中起着至关重要的作用。ROS、RNS 和 RSS 可通过不同的环境信号的整合以及激活胁迫响应通路,从而帮助植物建立防御机制,提高植物对胁迫的耐受性^[3,6-7]。

1.1 ROS

活性氧是一类源自分子氧(oxygen, O_2)的代谢产物。细胞中 ROS 的主要形式在性质和化学反应性方面差异很大,包括过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)、超氧阴离子(super-oxide anion, $O_2^{\cdot-}$)、羟自由基(hydroxyl radical, $\cdot OH$)、单线态氧(singlet oxygen, 1O_2)以及各种形式的有机和无机过氧化物等。虽然 O_2 通常对大多数细胞成分不具有反应性,但 ROS 会导致细胞中脂质、蛋白质、RNA、DNA 和许多小分子的氧化。其中 H_2O_2 因其相对稳定(半衰期 $>1\text{ ms}$)以及可通过水通道蛋白进行跨膜运输的性质在 ROS 调控的生物活性中起主要作用。

胁迫条件下植物中 ROS 通过许多代谢途径产生。植物线粒体、叶绿体和过氧化物酶体,以及其他一些具有高氧化活性或强电子传递功能的细胞器是 ROS 产生的主要场所^[8]。叶绿体是绿色植物中 ROS 产生的主要来源^[9]。当植物处于缺水环境中

时,光能的吸收效率会降低。二氧化碳在植物中的固定受阻导致烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸(niacinamide adenine dinucleoside phosphate, $NADP^+$)供应减少,光合电子转移到 O_2 的速率相对增加以形成 $O_2^{\cdot-}$, $O_2^{\cdot-}$ 可以进一步引发一系列连锁反应,在植物中产生大量的 ROS^[3]。此外,在高光胁迫下光合系统 I 和 II 分别会产生大量的 $O_2^{\cdot-}$ 和 1O_2 ,而当光呼吸被激活时, O_2 在过氧化物酶体中的乙醇酸氧化酶作用下生成 H_2O_2 。线粒体是另一种重要的产生 ROS 的细胞器。在呼吸链的电子转移过程中,一些电子在中途泄漏,使 O_2 形成 $O_2^{\cdot-}$,并在歧化作用下进一步生成 H_2O_2 。植物中的 ROS 也可以在质膜中产生。质膜上的 NADPH 氧化酶、pH 依赖性细胞壁过氧化物酶、草酸盐氧化酶和胺氧化酶都是 ROS 的来源。此外,内质网和其他细胞器中的酶,如环氧化酶、过氧化物酶和脂氧合酶,可以通过一系列化学反应产生 ROS。

1.2 RNS

活性氮指的是一类含氮活性自由基,包括一氧化氮(nitric oxide, NO)及其与 O_2 或者 ROS 反应后生成的活性衍生物,如一氧化二氮、过氧亚硝基阴离子(peroxynitrite, $ONOO^-$)和亚硝酰基阴离子(nitrosyl cation, NO^+)等。作为最主要的 RNS,植物中 NO 的产生来源还不明确。动物中的研究表明一氧化氮合酶(NOS)通过氧化 L-精氨酸产生 NO^[10]。然而在植物中并没有编码与动物 NOS 类似的基因,但是却能在叶绿体和过氧化物酶体中检测到依赖于 L-精氨酸的 NOS 活性^[11]。目前的研究表明硝酸还原酶(NR)是植物中 NO 产生的关键来源,此外过氧化物酶体中的黄嘌呤氧化还原酶和多聚胺/羟胺介导的 NO 合成也是潜在的 NO 产生来源^[12]。

1.3 RSS

活性硫在化学性质上与活性氧类似,可由硫化氢(hydrogen sulfide, H_2S)产生,包括硫自由基(thiyl radical, $HS^{\cdot}$)、过硫化氢(hydrogen persulfide, H_2S_2)、过硫化自由基(persulfide radical, $HS_2^{\cdot-}$)、亚硫酸盐(sulfite, SO_3^{2-})和硫酸盐(sulfate, SO_4^{2-})等。其中目前研究最为普遍的是 H_2S ,其介导的生物学功能也被广泛地报道^[7]。在植物中, H_2S 主要

产生于胞质、叶绿体、线粒体以及过氧化物酶体^[13]。在拟南芥中, H₂S 可以通过细胞质中的半胱氨酸脱硫基酶 (cysteine desulfhydrase, CDes) 和 O-乙酰丝氨酸硫醇裂解酶 (O-acetylserine thiol lyase, OAS-TL) 催化降解半胱氨酸产生。线粒体定位的氰丙氨酸合成酶 (β -cyanoalanine synthase, CAS) 可以以氰化物和半胱氨酸为底物, 生成氰丙氨酸与 H₂S。此外, 在叶绿体中, 亚硫酸盐可在亚硫酸盐还原酶 (sulfite reductase, SiR) 的作用下进一步还原生成 H₂S。

2 植物氧化还原稳态的维持

在面对胁迫导致的 ROS 过量积累时, 植物体可通过酶促和非酶促系统清除 ROS, 维持细胞内氧化还原稳态。植物中 ROS 的非酶促系统主要包括抗坏血酸、还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、抗坏血酸、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸、类胡萝卜素和类黄酮等。这些物质可以直接与 ROS 反应, 或在 ROS 清除机制中作为其他抗氧化酶的底物提供还原力。参与植物抗氧化保护的酶主要包括超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX)、过氧化物酶 (peroxidase, POD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPX)、谷胱甘肽硫转移酶 (glutathione S-transferase, GST) 和谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR) 等。SOD 的主要功能是清除 O₂^{•-}, 其能将 O₂^{•-} 转化为 H₂O₂。CAT、POD、APX 和 GR 主要负责去除生物体内的 H₂O₂, 是非常重要的 H₂O₂ 清除酶。GPX 则表现为催化脂质和烷基过氧化物的氧化代谢。此外, 硫氧还蛋白 (thioredoxin, Trx)、谷氧还蛋白 (glutaredoxin, Grx) 以及过氧化物酶 (peroxiredoxin, Prx) 在维持细胞内氧化还原平衡中也发挥着重要作用^[14-15]。

3 植物氧化还原信号的产生

ROS/RNS/RSS 参与植物生长发育以及胁迫应答的调控已被广泛地报道, 然而与大多数“经典”信号转导分子 (如具有特定受体的激素或小肽) 不同, 细胞中 ROS、RNS 和 RSS 水平的变化可以通过改变蛋白质的结构和功能, 影响许多不同的信号转导途径。ROS/RNS/RSS 所引起的氧化还原信号主要

是通过介导相应的蛋白质氧化翻译后修饰 (oxidative post-translational modifications, OxiPTMs) 产生^[5, 15]。

蛋白质半胱氨酸硫基具有亲核性, 对它的氧化还原修饰能可逆可控地调节蛋白质活性、稳定性或亚细胞定位等功能, 从而实现对信号通路和生物学进程的精细调控。例如, 许多蛋白质的半胱氨酸的硫醇容易受到活性分子的亲核攻击。其中依赖于 ROS 的氧化还原信号来自蛋白质半胱氨酸 (Cys) 残基的氧化^[16]。H₂O₂ 与硫醇 (-SH) 的初始反应形成次磺酸 (S-sulfenylation, R-SOH), 它本质上不稳定, 因此通常作为中间产物介导进一步的蛋白质翻译后修饰 (图 1)。例如进一步在 H₂O₂ 作用下形成对稳定的亚磺酸 (S-sulfinylation, R-SO₂H) 和磺酸 (S-sulfonation, R-SO₃H)。通常情况下蛋白质磺酰化和亚磺酰化的形成不可逆转, 会进一步引发蛋白质降解。而在一定条件下, 有一些蛋白质发生亚磺酰化后依然可以被还原, 例如, 有一些过氧化物氧还蛋白在 ATP 存在下, 能被亚磺酸还原酶 (sulfiredoxin, Srx) 还原^[17]。此外, -SOH 可以与近端 -SH 基团反应形成分子内或分子间二硫键, 亦或是与 GSH 或者 H₂S 反应发生谷胱甘肽化修饰 (S-glutathionylation, R-SSG) 或者硫疏基化修饰 (S-persulfidation, R-SSH)。除亚磺酰化和磺酰化修饰外, 以上发生的修饰均能被 Trx 和 Grx 还原为巯基。因此, 谷胱甘肽化修饰和硫疏基化修饰被认为是细胞防止蛋白质在氧化胁迫下发生不可逆氧化损伤而产生的一种保护机制^[15]。NO 与 ONOO⁻ 也能与蛋白质半胱氨酸硫基发生亲核反应, 导致蛋白质发生亚硝基化 (S-nitrosylation, R-SNO)。除直接与硫基发生反应形成亚硝基化修饰外, 一些蛋白可以将其自身携带的 NO 基团传递至另一个蛋白的硫基, 导致后者发生的亚硝基化修饰, 这一过程被称为转亚硝基化 (transnitrosylation)^[18]。蛋白质硫基的亚硝基化修饰可被 Trx 或 GSH 以酶促和非酶促形式还原为巯基^[19-20]。

4 植物氧化还原信号的感知与传递

有研究表明, 大多上述的氧化 PTMs 可以通过引起蛋白质 (包括激酶、磷酸酶和转录因子等) 构象变化, 改变它们的活性、特异性或者定位, 进而调控胁迫应答信号转导的激活或抑制^[20-22]。这一过

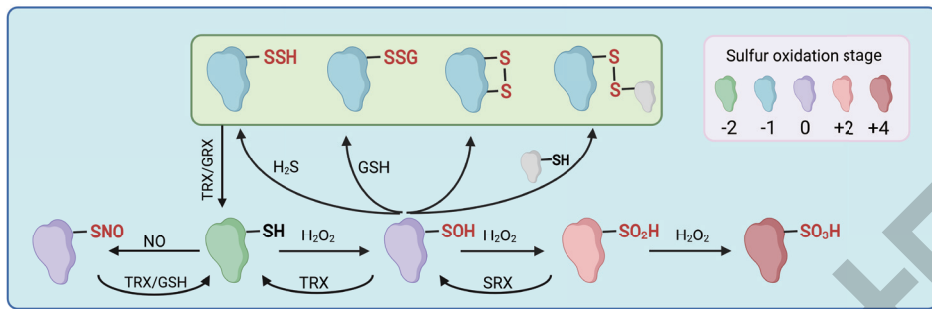


图1 蛋白质半胱氨酸残基上发生的氧化翻译后修饰

Fig. 1 Different oxidative post-translational modifications (OxiPTMs) on protein cysteine residues

程中氧化还原信号的感知与传递发挥着重要的作用。

在氧化还原信号中, ROS 信号的感知一直备受关注。在响应外界环境变化时, 质膜上的 NADPH 氧化酶在胞外产生的超氧阴离子可在超氧化物歧化酶作用下转化为 H_2O_2 , 胞外积累的 H_2O_2 可在细胞表面诱导 Ca^{2+} 内流或者通过水通道蛋白进入细胞内激活钙信号及其下游信号转导过程。最近的研究表明, 拟南芥中一种定位于细胞表面的富亮氨酸重复受体激酶 HPCA1 (hydrogen-peroxide-induced Ca^{2+} increases) 被认为是胞外 H_2O_2 受体, 介导了 H_2O_2 诱导的钙信号激活^[23]。HPCA1 的胞外结构域含有两对特殊的 Cys 残基, 可在胞外 H_2O_2 存在下被氧化分别形成分子内二硫键进而改变其蛋白构象增强其胞内激酶活性和自磷酸化水平。激活的 HPCA1 能进一步诱导钙离子通道的激活及钙离子的内流, 引发气孔关闭。此外胞内钙离子浓度的提高也可进一步通过钙依赖性蛋白激酶 CPKs (calcium dependent protein kinase) 以及类钙调神经磷酸酶 B 蛋白 (calcineurin B-like proteins, CBLs) 和其结合的蛋白激酶 (CBL-interacting protein kinases, CIPK) 磷酸化激活 NADPH 氧化酶 RBOHs (respiratory burst oxidase homolog protein) 促进 H_2O_2 的产生^[24-25]。 Ca^{2+} 和 H_2O_2 信号之间相互激活和放大构成了植物早期胁迫响应的关键^[1]。

胁迫下细胞内 H_2O_2 的积累通过氧化下游靶标蛋白进一步传递氧化信号。硫醇过氧化物酶 (thiol peroxidase, TPX) 不仅可作为抗氧化酶直接清除 ROS, 还在胁迫早期感知并传递 H_2O_2 信号过程中发挥重要作用^[26]。TPX 包括 PRX 和 GPX, 它们的功

能依赖于其保守的 Cys 残基。在拟南芥免疫过程中, 细胞质中 PRXIIB 保守的第 52 位 Cys 易被 H_2O_2 氧化, 并通过与磷酸酶 ABI2 (abscisic acid insensitive 2) 形成分子间二硫键传递氧化信号, 抑制 ABI2 磷酸酶活性, 进而调控气孔关闭^[27]。体外实验也显示单独 H_2O_2 对 ABI2 蛋白磷酸酶活性的半抑制浓度为 $112 \mu\text{mol/L}$, 而在加入 PRXIIB 后该浓度降为 $0.1-1 \mu\text{mol/L}$, 表明 PRXIIB 可能在低浓度 H_2O_2 积累的胁迫早期参与氧化还原信号的感知与传递^[27]。水稻中 GPX1 也能感知胞内 H_2O_2 信号, 传递氧化信号。在渗透胁迫下, 细胞质中的 GPX1 被氧化形成分子内二硫键, 进而转移进细胞核与下游转录因子 bZIP68 (basic-region leucine-zipper 68) 互动, 促进其寡聚化进而激活下游胁迫响应基因表达^[28]。此外, 植物静止蛋白巯基氧化酶同源物 (quiescin sulfhydryl oxidase homolog, QSOX1) 是一种负调控植物对细菌病原体免疫的氧化还原传感器^[29]。QSOX1 可被病原体刺激诱导的 H_2O_2 氧化, 其后与亚硝基谷胱甘肽还原酶 (S-nitrosoglutathione reductase, GSNOR) 互动传递氧化信号氧化并抑制 GSNOR 活性。GSNOR 催化生物体内 NO 重要储存形式 S-亚硝基谷胱甘肽 (GSNO) 还原为氧化型谷胱甘肽 (oxidized glutathione, GSSG), 从而调控胞内 NO 含量。最新的研究表明酰基蛋白硫酯酶 APT1 (acyl-protein thioesterases 1) 作为氧化还原感受器参与苜蓿氧化胁迫应答^[30]。正常条件下, APT1 保守的第 20、22 和 37 位 Cys 的谷胱甘肽化修饰使其蛋白以单体形式存在并抑制其去棕榈酰化活性, 在遭受氧化胁迫时, APT1 被 H_2O_2 氧化进而形成四聚体, 这种构型的改

变恢复了 APT1 的活性。具有功能的 APT1 则通过去棕榈酰化转录因子 NACsa (S-acetylated NAC) 使其重定位到细胞核并上调乙二醛酶基因 *GLYI* (glyoxalase I) 的转录水平, 最终通过提高谷胱甘肽的还原型/氧化型比例 (GSH/GSSG) 来调控细胞内的氧化还原平衡^[30-31]。

胞内 H_2O_2 也可通过直接修饰胁迫响应相关靶标蛋白, 调控植物生长和胁迫响应。例如, 在低温胁迫下, H_2O_2 通过次磺酰化修饰烯醇化酶 2 (ENOLASE2, ENO2) 第 408 位 Cys 促进其寡聚体形成, 并诱导其从细胞质向细胞核转移, 增强其对冷胁迫关键调节基因 *CBF1* (C-repeat-binding factor 1) 的结合与激活^[32]。在干旱或盐胁迫处理下, 生长素合成途径中的关键酶——色氨酸合成酶 TSB1 (tryptophan synthase β subunit1) 的第 308 位 Cys 受 H_2O_2 作用发生次磺酰化修饰, 活性被抑制, 导致色氨酸和生长素含量降低, 抑制植物生长^[33]。此外, 次磺酰化修饰抑制了 TSB1 与 β 葡萄糖苷酶 (β -glucosidase 1, BG1) 的互作, 解除了 TSB1 对 BG1 的抑制, 进而提高植物中脱落酸 (abscisic acid, ABA) 的含量, 增强植物的 ABA 应答^[33]。 H_2O_2 诱导的 TSB1 活性抑制也参与了植物免疫响应过程^[34]。盐胁迫诱导的 H_2O_2 通过次磺酰化修饰叶绿体磷酸丙糖异构酶 (plastid triose phosphate isomerase, pdTPI) 的第 74 位 Cys, 抑制其活性以促进甲基乙二醛 (methylglyoxal, MG) 积累, 进而抑制植物生长^[35]。 H_2O_2 通过次磺酰化修饰油菜素内酯 BR (brassinosteroid) 信号关键元件 BZR1 (brassinazole-resistant1) 促进其与下游靶标转录因子的结合介导 BR 信号转导, 调控植物根系发育、气孔运动等过程^[21, 36-37]。硫氧还蛋白介导的氧化还原调控在植物生长发育和胁迫响应过程中也发挥着重要作用。例如, TRX-h5 参与 BZR1 蛋白氧化还原状态的调节。此外, 低温胁迫下, 拟南芥 TRX-h2 从细胞质向细胞核转移, 还原并激活处于氧化态的 CBFs 蛋白寡聚体和单体, 进而促进冷胁迫响应相关基因的表达^[38]。

NO 介导的亚硝基化修饰在植物胁迫响应过程中也发挥着重要的作用, 例如, 盐胁迫下第 59 和 84 位 Cys 的亚硝基化修饰通过改变 PRXIIIF 的构象抑制其过氧化物酶活性^[39-40]。高温诱导的 NO 产生可通

过诱导三螺旋转录因子 GT1 第 324 和 347 位 Cys 的亚硝基化修饰增强其对下游热胁迫响应关键转录因子 HsfA2 (heat shock transcription factor A2) 启动子的结合及基因表达激活, 进而提高拟南芥耐热性^[41]。此外, 高温通过诱导转录因子 HFR1 (long hypocotyl in far-red) 蛋白第 164 位 Cys 的亚硝基化修饰, 促进其蛋白降解, 进而解除其对 PIF1 (phytochrome-interacting factor 1) 的结合和抑制^[42]。解除抑制的 PIF1 通过激活 CCCH 类锌指蛋白 SOMNUS 的表达调节 GA 和 ABA 的代谢进而抑制种子萌发。

最近, H_2S 介导的硫基化修饰调控的氧化还原信号受到了广泛的关注^[43-44]。例如, ABA 处理下, H_2S 的产生可通过硫基化修饰 ABA 信号通路中关键组分, 如 SnRK2.6 (sucrose non-fermenting-1-related kinase 2.6)^[45]、RBOHD^[22] 以及 ABI4^[46], 改变其蛋白活性及功能, 调节气孔关闭。干旱胁迫下, LCD1 产生的 H_2S 可通过硫基化修饰硝酸还原酶 NIA2 (nitrate reductase 2), 抑制其活性, 进而提高干旱胁迫响应相关基因的表达^[47]。 H_2S 通过介导自噬相关蛋白 ATG4a (autophagy-related 4a) 和 ATG18a 的硫基化修饰改变其活性调控细胞自噬过程^[48-49]。此外, 在根发育以及果实成熟过程中 H_2S 介导的硫基化修饰也发挥着重要的功能^[50-51]。

值得注意的是, 在 H_2O_2 、NO 和 H_2S 调节的氧化还原信号中, 这些信号分子的酶学来源多数都是其介导的氧化 PTMs 的修饰靶标。例如, 作为 H_2O_2 重要来源的 RBOHD 的第 890 位 Cys 的亚硝基化修饰导致其活性受到抑制^[52], 而其第 825 和 890 位 Cys 的硫基化修饰则增强其活性^[22]。此外, H_2O_2 介导的氧化修饰和 NO 介导的亚硝基化修饰均能抑制 GSNOR 活性^[18, 53]。而细胞质中 H_2S 合成酶 L-半胱氨酸脱硫基酶 (L-cysteine desulphydrase 1, DES1) 活性受硫基化修饰调控, 其第 44 和 205 位 Cys 的硫基化修饰增强了 DES1 活性^[22]。这些信号分子介导的不同的蛋白质翻译后修饰之间的相互作用共同调节着生物体内氧化还原信号转导。

5 总结与展望

已知具有氧化还原活性的小分子, 包括 ROS、RNS 和 RSS 引起的氧化还原信号等在植物氧化胁迫

应答过程中发挥着重要作用。这些活性小分子的生物学功能依赖于其介导的蛋白质氧化翻译后修饰。氧化还原信号通过调控相应靶标蛋白的氧化翻译后修饰改变其结构、定位、活性及功能进而参与植物生长发育以及胁迫应答过程。在这一过程中,许多植物激素包括生长素、BR、SA 以及 ABA 的合成关键酶以及通路中的关键组分是氧化修饰的靶标,表明了氧化还原信号与激素信号之间的相互作用,也强调了氧化还原信号在调节植物生长发育以及胁迫响应过程中的重要性及复杂性。因此,植物氧化还原信号途径的阐明将有助于进一步理解植物氧化胁迫应答的作用机理。目前的蛋白质组学也揭示了大量的发生不同修饰的蛋白^[54-59],为后续的研究提供了基础,然而总的来说,植物中氧化还原信号转导方面的研究才刚刚起步。

首先,氧化信号的感知仍然是核心问题之一。除 HPCA1 外,是否存在其他的 H_2O_2 受体以及不同非生物胁迫下 H_2O_2 受体是否一致? 先前的研究已经提供了较为实用且高效的方法^[23],有助于我们进一步的探究。同样的,除 TPX、QSOX1 和 APT1 外,是否存在其他的氧化还原感受器,以及其在不同非生物胁迫下的功能还需要进一步的研究。

其次,氧化修饰的还原调控方式还不明了。TRX 和 GRX 在还原受不同氧化修饰的蛋白质过程中发挥重要的作用,然而目前已知具有调控氧化还原功能的 TRX 和 GRX 尤其对于其作用的靶标,还知之甚少。因此通过蛋白组学方式进一步筛选胁迫下已知氧化还原感受器传递氧化信号的其他靶标以及 TRX 和 GRX 调控的还原底物,将有助于拓展我们对于胁迫下氧化还原信号转导的作用机制的理解。

再次,蛋白质组学结果显示植物中不同的修饰之间存在共同性和特异性,由于这些氧化修饰是高度动态且可逆的,胁迫应答过程中这些修饰之间的动态变化和特异性的决定机制并不清楚。考虑到蛋白及活性小分子的不同亚细胞定位,胁迫下氧化还原信号是如何在不同亚细胞器之间传递也需要进一步地探究。

最后,目前的蛋白质组学方法尚不能高效且特异的鉴定植物中不同氧化修饰蛋白,尤其是亚硝基化和硫疏基化修饰。因此,进一步发展和改进修饰

蛋白质组学鉴定与定量方法有助于我们深入了解植物中氧化蛋白质翻译后修饰的功能。

参考文献

- [1] Zhu JK. Abiotic stress signaling and responses in plants [J]. Cell, 2016, 167 (2): 313-324.
- [2] Hancock JT, Veal D. Nitric oxide, other reactive signalling compounds, redox, and reductive stress [J]. J Exp Bot, 2021, 72 (3): 819-829.
- [3] Mittler R, Zandalinas SI, Fichman Y, et al. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 23 (10): 663-679.
- [4] Del Río LA. ROS and RNS in plant physiology: an overview [J]. J Exp Bot, 2015, 66 (10): 2827-2837.
- [5] Zhou H, Huang JJ, Willems P, et al. Cysteine thiol-based post-translational modification: what do we know about transcription factors? [J]. Trends Plant Sci, 2023, 28 (4): 415-428.
- [6] Kolbert Z, Lindermayr C, Loake GJ. The role of nitric oxide in plant biology: current insights and future perspectives [J]. J Exp Bot, 2021, 72 (3): 777-780.
- [7] Zhang J, Zhou MJ, Zhou H, et al. Hydrogen sulfide, a signaling molecule in plant stress responses [J]. J Integr Plant Biol, 2021, 63 (1): 146-160.
- [8] Noctor G, Foyer CH. Intracellular redox compartmentation and ROS-related communication in regulation and signaling [J]. Plant Physiol, 2016, 171 (3): 1581-1592.
- [9] Dietz KJ, Turkan I, Krieger-Liszka A. Redox- and reactive oxygen species-dependent signaling into and out of the photosynthesizing chloroplast [J]. Plant Physiol, 2016, 171 (3): 1541-1550.
- [10] Correa-Aragunde N, Foresi N, Lamattina L. Structure diversity of nitric oxide synthases (NOS): the emergence of new forms in photosynthetic organisms [J]. Front Plant Sci, 2013, 4: 232.
- [11] Astier J, Gross I, Durner J. Nitric oxide production in plants: an update [J]. J Exp Bot, 2018, 69 (14): 3401-3411.
- [12] Chamizo-Ampudia A, Sanz-Luque E, Llamas A, et al. Nitrate reductase regulates plant nitric oxide homeostasis [J]. Trends Plant Sci, 2017, 22 (2): 163-174.
- [13] Gotor C, García I, Aroca Á, et al. Signaling by hydrogen sulfide and cyanide through post-translational modification [J]. J Exp Bot, 2019, 70 (16): 4251-4265.

- [14] Knuesting J, Scheibe R. Small molecules govern thiol redox switches [J]. *Trends Plant Sci*, 2018, 23 (9): 769-782.
- [15] Corpas FJ, González-Gordo S, Rodríguez-Ruiz M, et al. Thiol-based oxidative posttranslational modifications (OxiPTMs) of plant proteins [J]. *Plant Cell Physiol*, 2022, 63 (7): 889-900.
- [16] Poole LB, Schöneich C. Introduction: what we do and do not know regarding redox processes of thiols in signaling pathways [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 80: 145-147.
- [17] Sevilla F, Camejo D, Ortiz-Espín A, et al. The thioredoxin/peroxiredoxin/sulfiredoxin system: current overview on its redox function in plants and regulation by reactive oxygen and nitrogen species [J]. *J Exp Bot*, 2015, 66 (10): 2945-2955.
- [18] Chen LC, Wu R, Feng J, et al. Transnitrosylation mediated by the non-canonical catalase ROG1 regulates nitric oxide signaling in plants [J]. *Dev Cell*, 2020, 53 (4): 444-457.e5.
- [19] Kneeshaw S, Gelineau S, Tada Y, et al. Selective protein denitrosylation activity of Thioredoxin-h5 modulates plant immunity [J]. *Mol Cell*, 2014, 56 (1): 153-162.
- [20] Zhang TR, Ma MY, Chen T, et al. Glutathione-dependent denitrosation of GSNOR1 promotes oxidative signalling downstream of H₂O₂ [J]. *Plant Cell Environ*, 2020, 43 (5): 1175-1191.
- [21] Tian YC, Fan M, Qin ZX, et al. Hydrogen peroxide positively regulates brassinosteroid signaling through oxidation of the BRASSINAZOLE-RESISTANT1 transcription factor [J]. *Nat Commun*, 2018, 9 (1): 1063.
- [22] Shen J, Zhang J, Zhou MJ, et al. Persulfidation-based modification of cysteine desulfhydrase and the NADPH oxidase RBOHD controls guard cell abscisic acid signaling [J]. *Plant Cell*, 2020, 32 (4): 1000-1017.
- [23] Wu FH, Chi Y, Jiang ZH, et al. Hydrogen peroxide sensor HPCA1 is an LRR receptor kinase in *Arabidopsis* [J]. *Nature*, 2020, 578 (7796): 577-581.
- [24] Drerup MM, Schlücking K, Hashimoto K, et al. The Calcineurin B-like calcium sensors CBL1 and CBL9 together with their interacting protein kinase CIPK26 regulate the *Arabidopsis* NADPH oxidase RBOHF [J]. *Mol Plant*, 2013, 6 (2): 559-569.
- [25] Han JP, Köster P, Drerup MM, et al. Fine-tuning of RBOHF activity is achieved by differential phosphorylation and Ca²⁺ binding [J]. *New Phytol*, 2019, 221 (4): 1935-1949.
- [26] Vogelsang L, Dietz KJ. Plant thiol peroxidases as redox sensors and signal transducers in abiotic stress acclimation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 193 (Pt 2): 764-778.
- [27] Bi GZ, Hu M, Fu L, et al. The cytosolic thiol peroxidase PRXIIIB is an intracellular sensor for H₂O₂ that regulates plant immunity through a redox relay [J]. *Nat Plants*, 2022, 8 (10): 1160-1175.
- [28] Zhou H, Zhang F, Zhai FC, et al. Rice GLUTATHIONE PEROXIDASE1-mediated oxidation of bZIP68 positively regulates ABA-independent osmotic stress signaling [J]. *Mol Plant*, 2022, 15 (4): 651-670.
- [29] Chae HB, Kim MG, Kang CH, et al. Redox sensor QSOX1 regulates plant immunity by targeting GSNOR to modulate ROS generation [J]. *Mol Plant*, 2021, 14 (8): 1312-1327.
- [30] Ji T, Zheng LH, Wu JL, et al. The thioesterase APT1 is a bidirectional-adjustment redox sensor [J]. *Nat Commun*, 2023, 14 (1): 2807.
- [31] Duan M, Zhang RX, Zhu FG, et al. A lipid-anchored NAC transcription factor is translocated into the nucleus and activates *Glyoxalase I* expression during drought stress [J]. *Plant Cell*, 2017, 29 (7): 1748-1772.
- [32] Liu WC, Song RF, Qiu YM, et al. Sulfenylation of ENOLASE2 facilitates H₂O₂-conferred freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Dev Cell*, 2022, 57 (15): 1883-1898.e5.
- [33] Liu WC, Song RF, Zheng SQ, et al. Coordination of plant growth and abiotic stress responses by tryptophan synthase β subunit 1 through modulation of tryptophan and ABA homeostasis in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2022, 15 (6): 973-990.
- [34] Yuan HM, Liu WC, Lu YT. CATALASE2 coordinates SA-mediated repression of both auxin accumulation and JA biosynthesis in plant defenses [J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 21 (2): 143-155.
- [35] Fu ZW, Feng YR, Gao X, et al. Salt stress-induced chloroplastic hydrogen peroxide stimulates pdTPI sulfenylation and methylglyoxal accumulation [J]. *Plant Cell*, 2023, 35 (5): 1593-1616.
- [36] Li JG, Fan M, Hua WB, et al. Brassinosteroid and hydrogen peroxide interdependently induce stomatal opening by promoting guard cell starch degradation [J]. *Plant Cell*, 2020, 32 (4): 984-999.
- [37] Tian YC, Zhao N, Wang MM, et al. Integrated regulation of periclinal cell division by transcriptional module of BZR1-SHR in

- Arabidopsis* roots [J]. *New Phytol*, 2022, 233 (2): 795-808.
- [38] Lee ES, Park JH, Wi SD, et al. Redox-dependent structural switch and CBF activation confer freezing tolerance in plants [J]. *Nat Plants*, 2021, 7 (7): 914-922.
- [39] Camejo D, Ortiz-Espín A, Lázaro JJ, et al. Functional and structural changes in plant mitochondrial PrxII F caused by NO [J]. *J Proteomics*, 2015, 119: 112-125.
- [40] Klupczyńska EA, Dietz KJ, Małecka A, et al. Mitochondrial peroxiredoxin-IIIF (PRXIIIF) activity and function during seed aging [J]. *Antioxidants*, 2022, 11 (7): 1226.
- [41] He NY, Chen LS, Sun AZ, et al. A nitric oxide burst at the shoot apex triggers a heat-responsive pathway in *Arabidopsis* [J]. *Nat Plants*, 2022, 8 (4): 434-450.
- [42] Ying SB, Yang WJ, Li P, et al. Phytochrome B enhances seed germination tolerance to high temperature by reducing S-nitrosylation of HFR1 [J]. *EMBO Rep*, 2022, 23 (10): e54371.
- [43] Liu H, Wang JC, Liu JH, et al. Hydrogen sulfide (H_2S) signaling in plant development and stress responses [J]. *aBIOTECH*, 2021, 2 (1): 32-63.
- [44] Huang JJ, Xie YJ. Hydrogen sulfide signaling in plants [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2023, 10.1089/ars.2023.0267.
- [45] Chen SS, Jia HL, Wang XF, et al. Hydrogen sulfide positively regulates abscisic acid signaling through persulfidation of SnRK2.6 in guard cells [J]. *Mol Plant*, 2020, 13 (5): 732-744.
- [46] Zhou MJ, Zhang J, Shen J, et al. Hydrogen sulfide-linked persulfidation of ABI4 controls ABA responses through the transactivation of MAPKKK18 in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2021, 14 (6): 921-936.
- [47] Zhou H, Zhou Y, Zhang F, et al. Persulfidation of nitrate reductase 2 is involved in l-cysteine desulfhydrase-regulated rice drought tolerance [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (22): 12119.
- [48] Laureano-Marín AM, Aroca Á, Esther Pérez-Pérez M, et al. Absciscic acid-triggered persulfidation of the cys protease ATG4 mediates regulation of autophagy by sulfide [J]. *Plant Cell*, 2020, 32 (12): 3902-3920.
- [49] Aroca A, Yruela I, Gotor C, et al. Persulfidation of ATG18a regulates autophagy under ER stress in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118 (20): e2023604118.
- [50] Li JS, Chen SS, Wang XF, et al. Hydrogen sulfide disturbs actin polymerization via S-sulphydration resulting in stunted root hair growth [J]. *Plant Physiol*, 2018, 178 (2): 936-949.
- [51] Sun C, Yao GF, Li LX, et al. E3 ligase BRG3 persulfidation delays tomato ripening by reducing ubiquitination of the repressor WRKY71 [J]. *Plant Physiol*, 2023, 192 (1): 616-632.
- [52] Yun BW, Feechan A, Yin MH, et al. S-nitrosylation of NADPH oxidase regulates cell death in plant immunity [J]. *Nature*, 2011, 478 (7368): 264-268.
- [53] Kovacs I, Holzmeister C, Wirtz M, et al. ROS-mediated inhibition of S-nitrosogluthathione reductase contributes to the activation of anti-oxidative mechanisms [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 1669.
- [54] Hu JL, Huang XH, Chen LC, et al. Site-specific nitrosoproteomic identification of endogenously S-nitrosylated proteins in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2015, 167 (4): 1731-1746.
- [55] Aroca A, Benito JM, Gotor C, et al. Persulfidation proteome reveals the regulation of protein function by hydrogen sulfide in diverse biological processes in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2017, 68 (17): 4915-4927.
- [56] Huang JJ, Willems P, Wei B, et al. Mining for protein S-sulfenylation in *Arabidopsis* uncovers redox-sensitive sites [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116 (42): 21256-21261.
- [57] Wei B, Willems P, Huang JJ, et al. Identification of sulfenylated cysteines in *Arabidopsis thaliana* proteins using a disulfide-linked peptide reporter [J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 777.
- [58] Jurado-Flores A, Romero LC, Gotor C. Label-free quantitative proteomic analysis of nitrogen starvation in *Arabidopsis* root reveals new aspects of H_2S signaling by protein persulfidation [J]. *Antioxidants*, 2021, 10 (4): 508.
- [59] Jurado-Flores A, Aroca A, Romero LC, et al. Sulfide promotes tolerance to drought through protein persulfidation in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2023, erad165. doi:10.1093/jxb/erad165.