

综 述 Reviews

植物纤维素合酶复合体组装与运输研究进展

刘振东^{1,2,#}, 赵淑举^{1,*}, 蒋苏^{1,*}, 张古玥¹¹齐鲁师范学院生命科学学院, 济南250200²山东师范大学生命科学学院, 济南250014

摘要: 纤维素是植物细胞壁的主要组分, 也是生物圈中最丰富的生物质。纤维素由位于质膜的纤维素合酶复合体(CSC)合成。纤维素合酶(CESA)在内质网中合成, 在内质网或者高尔基体中组装成完整的CSC, 通过囊泡运输转运到质膜, 质膜上的CSC可通过网格蛋白介导的内吞作用回收胞内。因此, CSC胞内运输机制研究是理解纤维素合成和细胞壁形成的重要环节。随着组学研究的深入和活细胞成像技术的发展, 与CSC运输有关的新组分和新结构不断被发现和鉴定。本文综述了CSC在细胞内组装和转运的研究进展, 以期为该领域研究提供参考。

关键词: 细胞壁; 纤维素; 纤维素合酶复合体; 囊泡运输

细胞壁作为植物细胞的重要结构, 不仅具有支持和保护作用, 还参与细胞生长、信号转导和植物抗逆等多种生物学过程(张蕊和李来庚2018)。植物细胞壁分为初生壁和次生壁, 其主要成分是纤维素。纤维素是由D-葡萄糖通过 β -1,4-糖苷键连接而成的一种线性多聚葡萄糖, 通过位于质膜上的纤维素合酶复合体(cellulose synthase complex, CSC)催化合成(McFarlane等2014)。CSC至少由18个纤维素合成酶(cellulose synthase, CESA)亚基组成, 这些亚基由CESA基因家族编码(McFarlane等2014)。譬如, 在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组中鉴定出10个CESA基因, 其中CESA1、CESA3和CESA6 (CESA2、CESA5和CESA9可替代复合体中的CESA6)负责合成初生壁中的纤维素, CESA4、CESA7和CESA8参与次生壁中纤维素的合成(朱晓博等2017; McFarlane等2014)。CESAs是膜整合蛋白, 合成于内质网(endoplasmic reticulum, ER), 在ER或者高尔基体中特定的CESA亚基组装成参与初生壁或初生壁形成的CSC, 通过经典囊泡运输途径转运到质膜上合成纤维素; 质膜上CSC的密度通过胞吐和内吞协同调控(McFarlane等2014)。CSC在不同发育时期的细胞膜上的丰度和排布不同, 譬如, 拟南芥下胚轴快速伸长的表皮细胞质膜CSC丰度最大, 呈线性分布, 且其线性走向与细胞伸长方向垂直(Paredes等2006; Crowell等2009)。因此,

植物细胞通过CSC的组装及运输调控细胞壁的形成, 从而参与植物的形态建成和逆境应答。由此可见, 研究CSC组装及运输的调控机制意义重大。本文对近年来CSC的组装及运输的研究进展进行综述和展望, 以期对相关研究提供参考。

1 CSC的组装

Mueller等(1980)利用冷冻蚀刻电镜技术首次在玉米(*Zea mays*)和绿豆(*Phaseolus aureus*)的质膜上观察到呈六瓣莲座结构的CSC。Kimura等(1999)进一步确定了CESA是CSC的组分。随后, 人们对CESA如何构成CSC进行了探究。结合电镜观察结果, 人们普遍认为CESA首先形成亚复合体(花瓣), 再由亚复合体组装成六瓣CSC。但是, 关于CSC中CESA各亚型组成及其之间的结构关系尚未达成共识。最初研究建立起的CSC结构模型由36或72个CESAs组成(图1-A~D); 后来诸多研究者利用核磁共振、广角X射线散射、小角中子散射以及计算机建模等多种技术手段, 对不同植物细胞壁微纤丝进行分析, 证实纤维素微纤丝由18~24

收稿 2020-05-07 修定 2020-07-03

资助 国家自然科学基金(31571467)和山东省自然科学基金(ZR-2017BC020)。

并列第一作者。

* 通讯作者(jiangsu@qlnu.edu.cn)。

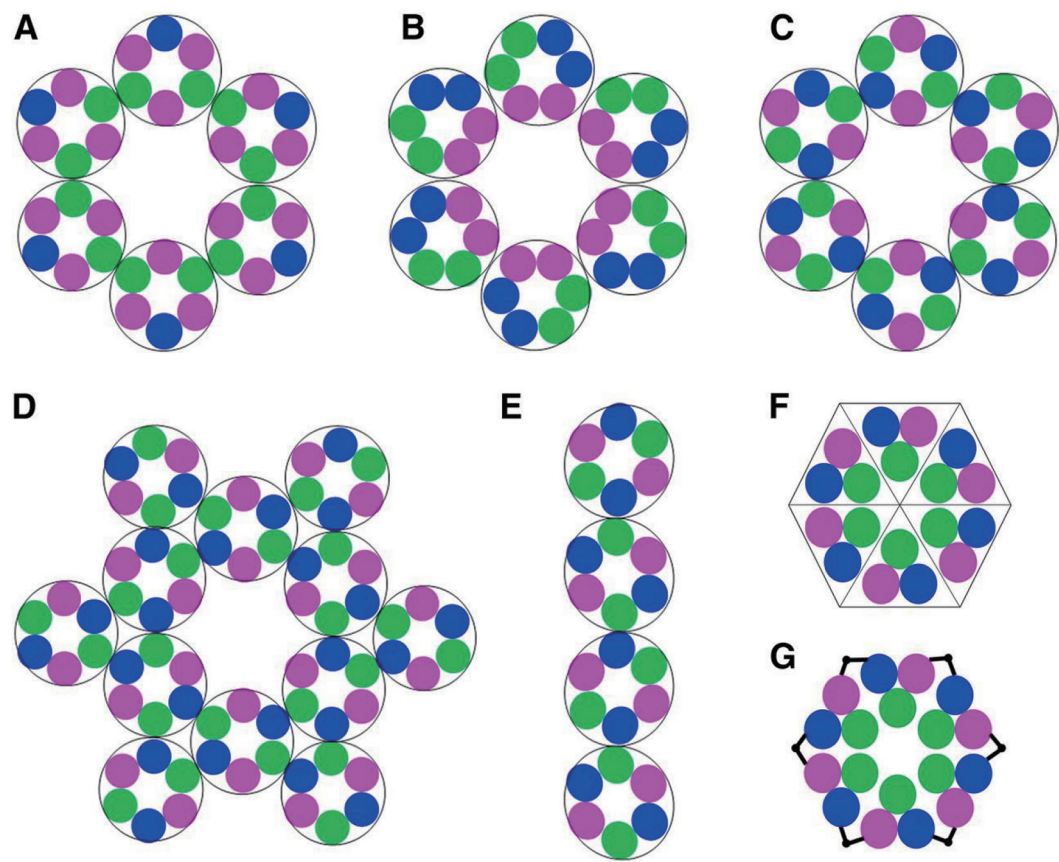


图1 CSC组装模型

Fig.1 Hypothetical models of CSC

A: 各CESA亚型按照1:2:3的化学计量比组装成36亚基CSC。B~G: 各CESA亚型按照1:1:1的化学计量比组装成CSC的几种可能组合 [B: 36个CESA构成6个亚复合体, 亚复合体内两个同亚型的CESA组成同源二聚体, 该模型亚型之间的互作关系不同; C: 36个CESA构成6个亚复合体, 亚复合体中各亚型CESA之间互作关系相同; D: 以C模型为基础构建的由72个CESA组成的CSC; E: 24个CESA形成的线性CSC; F: 18个CESA组成的CSC, 亚复合体由3个不同亚型的CESA组成, CESA亚型之间的互作关系相同, 亚复合体之间相对独立; G: CSC由18个CESA组成, 相邻CESA形成三聚体的亚复合体, 亚复合体通过其N端结构域(黑线)相接形成CSC]。紫、绿、蓝色圆形分别代表不同CESA亚型。参考Hill等(2014)并略作修改。

条线性 β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-葡聚糖链聚合而成, 由此推测CSC至少由18个CESAs组成 (图1-E~G) (McFarlane等2014; Thomas等2013; Hill等2014)。对无论何种CSC组装模型, 至少有一点很明确: 组成CSC的CESA种类和数量是特定的。拟南芥初生壁(CESA1、CESA3、CESA6)和次生壁(CESA4、CESA7、CESA8)中CESAs化学计量分析证明, 拟南芥CSC中的各种CESA亚型均以等分子质量出现, 据此推测每个CSC亚复合体都由3种不同CESA亚型相间排列构成(Hill等2014)。遗传学证据显示CSC中不同亚型的CESA对复合体功能都至关重要, 例如

CESA1、*CESA3*功能缺失导致配子体致死; *CESA6*突变体下胚轴变短, 纤维素含量降低(Persson等2007)。综上所述, CSC是合成纤维素的“纳米机器”, 其“构件”(CESAs)的组装受到精密控制, CSC组装机制是纤维素合成相关研究的热点。

了解CSC的组装机制首先需明确完成其组装的亚细胞结构。目前, 关于CSC的组装位置还未有定论。鉴于ER是膜蛋白和分泌型蛋白修饰、加工的场所(如二硫键的形成以及错误折叠的纠正), 因此推测CSC在ER中组装。肽链二硫键的形成发生于ER, 体外实验发现, 利用能够破坏蛋白质二硫

键的还原剂处理棉花CESAs或拟南芥CESA4、CESA7和CESA8导致CSC的稳定性降低(Atanasso等2009; Kurek等2002), 从而间接证明CSC可能在ER中组装。但是, 目前利用电镜和活细胞成像技术尚未直接观察到CSC在ER中的定位。

高尔基体是蛋白质加工、分类与包装的场所, 细胞学观察显示CSC定位于高尔基体(Crowell等2009; Paredez等2006; Haigler和Brown 1986), 因此推测高尔基体参与CSC的组装。进一步研究发现定位于高尔基体的STELLO1/2 (STL1/2)蛋白参与CSC组装调控(Zhang等2016)。作者通过BN-PAGE以及SDS-PAGE分析表明, 在*stl1 stl2*双突变体中CESA3或CESA8蛋白的含量几乎没有发生改变, 但是有活性的CSC含量显著降低, 这表明高尔基体参与了CSC的组装调控, 但CSC在高尔基体中的组装机制并不清楚。

综上, 纤维素的合成基于CSC的正确组装, 关于CSC组装及其质量调控的机制目前还不清楚, 尚需进一步鉴定CSC组装调控蛋白, 建立其调控网络。

2 CSC向质膜的转运

CSC向质膜的转运在纤维素合成中发挥着重要作用。现有研究显示高尔基体中完成组装的CSC通过经典分泌途径, 经高尔基体反面网状结构(trans-Golgi network, TGN)及其之后的膜结构转运至质膜(McFarlane等2014)。

2.1 CSC经过TGN向质膜的转运

TGN是植物胞吐和内吞途径的枢纽, 在囊泡运输过程中发挥重要的调控作用。活体细胞学观察显示, 胞质中存在一类CSC群体(population), 其在胞质中快速无规则运动, 该类CSCs与TGN的标记物VHA-a1-mRFP共定位, 表明CSC可经TGN转运(Crowell等2009)。对油菜素内酯(brassinosteroid, BR)不敏感突变体*det3* (编码胞质V-ATPase亚基C)的研究发现, TGN中pH升高导致CESA3的上膜速率降低、纤维素含量下降, 说明TGN参与CSC向质膜转运的调控, TGN在调控CSC向质膜转运过程中的作用还不清晰(Luo等2015)。由于TGN参与胞吐和内吞两个过程, 因此TGN中定位的CSCs是即将转运到质膜还是内吞回收的CESAs需要进一步明

确, 高分辨率单分子活体观察技术的发展有助于这些问题的解答。

2.2 TGN后的膜结构参与CSC向质膜的转运

早期的研究表明, CSC存在于质膜附近的囊泡或者小的膜结构中(Haigler和Brown 1986), 利用荧光蛋白(fluorescent protein, FP)标记的CESA (FP-CESA)观察确认了这类结构, 并命名为small CESA compartments (SmaCCs) (Gutierrez等2009)或microtubule-associated cellulose synthase compartments (MASCs) (Crowell等2009)。细胞皮层中的SmaCCs/MASCs在渗透胁迫或者纤维素合成抑制剂isoxaben处理下数量增加(Crowell等2009; Gutierrez等2009), 说明这类结构与细胞胁迫响应有关。初步研究发现, 细胞皮层中增加的SmaCCs可能是由于分泌受阻造成的, 利用FM4-64 (标记内吞途径的染料)染色显示, 这些增加的SmaCCs并没有被标记, 这表明SmaCCs参与了CSC向质膜的转运(Gutierrez等2009)。对SmaCCs的动态观察发现, 一个SmaCC可以分裂成两个小的FP-CESA颗粒, 其中一个FP-CESA颗粒出现在质膜中(Gutierrez等2009), 表明CSC经由SmaCCs向质膜转运。

综上, SmaCCs参与了CSC上膜过程, 但MASCs的功能还需明确; 关于SmaCC和MASC是否为同一个结构仍需要进一步的证明。尽管有证据表明SmaCC可能在CSC分泌过程中发挥作用, 仍不能排除有一部分SmaCCs参与质膜上CSC的内吞过程(Lei等2015)。因此, 关于SmaCCs/MASCs调控CSC转运的机制仍需深入探讨。

2.3 细胞骨架参与了CSC上膜位置的确定

细胞骨架系统在囊泡运输过程中发挥重要作用。已有的研究表明肌动蛋白骨架参与质膜中CSC的分布, 利用微丝解聚剂latrunculin B (Lat B)处理拟南芥下胚轴后, 携带CESA的高尔基体在细胞内出现局部聚集, 此时CSC上膜事件主要发生在高尔基体聚集区域, 进而导致CSC在质膜上不均匀的分布(Sampathkumar等2013; Crowell等2009; Gutierrez等2009)。近期的研究发现, 肌球蛋白XI是介导CSC向质膜插入的关键因子(Zhang等2019)。遗传学研究显示, 拟南芥*Myosin xi3ko*突变体(肌球蛋白XI1、XI2、XIK三基因敲除突变体)中CSC上

膜速率及膜上密度显著降低;进一步的细胞学观察发现, CESA6和Myosin XIK同时到达质膜附近, 并且Myosin XIK在CSC上膜过程中保持数秒停滞消失(Zhang等2019)。上述结果表明Myosin XI作为肌动蛋白骨架的分子马达参与了CSC的上膜过程。

皮层微管(cortical microtubule, CMT)在CSC上膜位置的决策中发挥重要作用。CSC在质膜上的排布和运动轨迹与膜下CMT的排列相吻合, 利用微管解聚剂oryzalin处理后CSC在质膜上的排布失去线性分布规律, 呈弥散状态分布, 表明CSCs在质膜上的排布和运动与膜下CMT排列相关(黄成和李来庚2016; Gutierrez等2009; Paredez等2006)。活细胞成像观察到在新上膜的CSC中, 有78%的CSC与膜下CMT相关, 这表明CSC优先整合到膜下存在CMT的质膜区域(Gutierrez等2009)。最近还发现膜外已合成纤维素微纤丝的走向指导着膜上CSC的分布和运动, 说明存在一种不依赖于CMT的CSC运动机制(Chan和Coen 2020)。利用oryzalin将CMT解聚后, CSC的上膜速率并未受到影响, 表明CMT在CSC向质膜整合的过程中不是必需的(Zhang等2019; Gutierrez等2009)。由此可见, CMT决定了CSC上膜的位置, 但对于CSC向质膜插入这一过程并不关键。

综上所述, 细胞骨架参与了CSC上膜位置的决策, 但细胞骨架通过何种机制决定CSC上膜的位置仍需深入探究。

2.4 携带CSC的囊泡与质膜的拴系

运输囊泡沿细胞骨架到达质膜附近后, 通过拴系因子(tethers)将携带CSC的囊泡拴系到质膜, 胞泌复合体(exocyst)很有可能介导了这一过程。胞泌复合体由8个亚基(SEC3、SEC5、SEC6、SEC8、SEC10、SEC15、EXO84、EXO70s)组成(李彤辉等2019; 杨俊杰等2013)。已有研究发现拟南芥中的CESA6与多个胞泌复合体亚基互作; 进一步的遗传学和细胞学实验显示, SEC5、SEC6突变后会导致下胚轴变短以及纤维素含量下降, CESA6上膜速率显著降低(Zhu等2018)。胞泌复合体功能缺失也会导致拟南芥和水稻木质部导管细胞中次生壁加厚模式发生改变(Vukašinović等2017; Tu等

2015; Li等2013)。其中, 胞泌复合体亚基EXO70A1以及EXO84B突变后导致CESA7在膜上的极性定位发生改变(Vukašinović等2017)。这些结果表明胞泌复合体介导了CSC向质膜的转运, 并且极有可能参与CSC囊泡与质膜的拴系过程。

胞泌复合体互作蛋白的鉴定有利于理解携带CSC囊泡的上膜机制。近期发现胞泌复合体可与Cellulose Synthase Interactive Protein 1 (CSII)、PATROL1 (PTL1)互作(Zhu等2018)。对CSII、CESAs、PTL1和SEC5B时空表达顺序的分析表明, 在CSC向质膜转运的过程中, CSII首先出现在质膜中, 随后是胞泌复合体介导携带CSC的囊泡拴系到质膜上, 同时伴有PTL1的出现, 这表明胞泌复合体、CSII和PTL1相互协作介导携带CSC的囊泡的上膜过程, 且胞泌复合体作用于CSII的下游(Zhu等2018)。

对植物胞泌复合体的研究仍处于起步阶段, 胞泌复合体介导的拴系过程怎样调控携带CSC囊泡向质膜的转运尚需进一步探讨。

2.5 CSC囊泡与质膜的融合

拴系因子介导运输囊泡拴系到目的膜后, 同时激活SNARE (soluble *N*-ethylmaleimidesensitive factor attachment protein receptors)蛋白, 从而启动囊泡与靶膜的融合过程(Dubuke和Munson 2016)。SNAREs是一类进化上高度保守的蛋白, 根据SNARE结构域氨基酸序列的特征, 将SNARE蛋白分为位于靶膜上的Q-SNARE和位于囊泡膜上的R-SNARE(Dubuke和Munson 2016)。植物基因组存在多个SNARE蛋白, 有研究证明SYP121 (Syntaxin of Plants 121)驻留于质膜, 与SYP61形成复合体参与离子通道蛋白和水孔蛋白的向膜转运(Hachez等2014)。SYP121介导的向膜运输是具有货物选择性还是具有通用性? 其是否也介导CSC囊泡与质膜的融合过程? 这些问题尚需进一步探究。总之, 目前对参与调控CSC囊泡与质膜融合的组分和分子机制还不了解, 相信随着组学技术和细胞学技术的发展, 将很快有研究结果填补这一空白。

2.6 质膜CSC密度的调控

随细胞生长状态的变化, 质膜CSC密度也会发生相应变化(Crowell等2009), 从而保证纤维素准

确高效的合成。近期的研究表明, 质膜定位的 *SHOU4* 及其同源基因 *SHOU4L* 在调控质膜 CSC 密度方面发挥着重要作用 (Polko 等 2018)。遗传学研究发现, *shou4 shou4l* 双突变体表现出一系列发育缺陷表型, 包括株型矮小、根毛发育受阻等; 用纤维素合成抑制剂 isoxaben 处理后, *shou4 shou4l* 根毛生长恢复, 表明根毛变短的表型是突变体中纤维素合成过量导致的。与此相一致的是, *shou4 shou4l* 中质膜上的 CESAs 密度升高导致非结晶的纤维素含量增加; 酵母双杂交实验证实 SHOU4 和 SHOU4L 的 N 端胞质结构域能与 CESA1 直接互作。上述结果表明, SHOU4 通过与质膜上的 CSC 互作, 负调控 CSC 向质膜的转运, 以保证质膜中 CSC 的合适水平 (Polko 等 2018)。

综上所述, CSC 通过经典分泌途径到达质膜的过程对于纤维素合成的调控具有重要作用, 但是对于 CSC 向质膜转运的过程仍需进一步研究, 以明确其转运的具体细节。这不仅对于调控纤维素的合成具有重要意义, 更能为解析高尔基体与质膜之间的囊泡转运机制提供很好的研究模型。

3 CSC的回收再利用

在纤维素合成过程中, CSC 可被植物细胞循环利用。正常情况下, CSC 在质膜上存在 15~40 min; 而当遭遇到胁迫时, 质膜中的 CSC 会迅速减少 (Bashline 等 2013; Paredez 等 2006; Crowell 等 2009; Gutierrez 等 2009)。无论是正常周转的 CSC 还是胁迫诱导时下膜的 CSC, 都会通过内吞作用回收至胞质中 (McFarlane 等 2014)。如前所述, 每个 CSC 都由多个 CESA 亚基组成, 而如此大的蛋白复合体的合成和组装需要消耗细胞大量能量和时间, 因此回收至胞质的 CSC 重新转运到质膜被再次利用的意义重大, 特别是在胁迫消失后有利于质膜 CSC 的快速恢复。

3.1 质膜中CSC的回收

网格蛋白介导的内吞作用 (clathrin-mediated endocytosis, CME) 参与多种膜蛋白 (包括质膜中的 CSC) 的内吞。CME 是一种进化上保守的内吞方式, 在动物细胞中 CME 的启动依赖于接头蛋白复合体 AP2 (adaptor protein 2), AP2 不仅能结合网格蛋白,

而且还能识别膜上受体, 通过招募网格蛋白并使膜内陷启动内吞作用 (Hong 等 2015)。Bashline 等 (2013) 报道, 拟南芥 AP2M [medium subunit of the heterotetrameric CME adaptor protein 2 (AP2) complex, 又称 $\mu 2$] 参与 CESAs 的内吞过程。利用酵母双杂交和 Pull-down 实验发现 AP2M/ $\mu 2$ 与 CESA1、CESA3、CESA6 相互作用; 在 *ap2m-1/ $\mu 2$* 突变体中, 定位于质膜的 YFP-CESA6 密度增加, 但是 CSC 上膜速率以及在膜上的运动速度并未发生改变; 活细胞观察发现质膜定位的 mCherry-CESA6 随着 AP2M/ $\mu 2$ -YFP 的出现而消失, 这些结果说明 AP2M/ $\mu 2$ 参与质膜中 CSC 的回收 (Bashline 等 2013)。在植物中除了 AP2M/ $\mu 2$ 外, 还存在另一种 CME 接头蛋白复合体 TPLATE complex (TPC), TPC 的亚基 TWD40-2 突变后导致质膜上的 YFP-CESA6 密度增加、纤维素的含量显著降低, 说明内吞途径在纤维素合成过程中发挥重要作用; *twd40-2-3 ap2m-1/ $\mu 2$* 双突变体中的纤维素的含量较 *twd40-2-3* 显著降低, 表明 AP2M/ $\mu 2$ 和 TWD40-2 协同参与质膜中 CSC 的回收 (Bashline 等 2015)。最近研究发现, TPC 的其他成员 (TML 和 TPLATE) 也与 CESA 互作以介导 CSC 的内吞作用 (Sánchez-Rodríguez 等 2018)。

3.2 CSC的再利用

经内吞回收的 CSC 将会进入膜下特定的膜结构, 或被降解或重新转运到质膜中被再次利用。研究发现, isoxaben、CGA 以及渗透胁迫都会导致细胞皮层中的 SmaCCs/MASCs 数量增加和膜上 CSC 信号减少 (Lei 等 2015; Crowell 等 2009; Gutierrez 等 2009)。这些增加的 SmaCCs/MASCs 有一部分通过内吞作用形成, 在利用内吞抑制剂 wortmannin 处理后, 经 isoxaben 诱导形成的 SmaCCs/MASCs 数量显著减少; 与此相一致, 在 *ap2m-1/ $\mu 2$* 中, isoxaben 处理下形成的 SmaCCs/MASCs 数量也会减少 (Lei 等 2015)。这些结果表明通过内吞作用回收的 CSC 会在细胞皮层中形成 SmaCCs/MASCs。当然, 不能排除在这些增加的 SmaCCs/MASCs 中有一部分可能是由于分泌受阻导致的 (Gutierrez 等 2009)。进一步研究发现, isoxaben 处理后 *csi1* 下胚轴细胞中几乎检测不到 SmaCCs/MASCs 的累积, 说明胁迫处理下, CSI1 在 SmaCCs/MASCs 形成过程中发挥关

键作用;而洗脱isoxaben后质膜定位的CSC在*csi1*中恢复速率变慢,表明CSI1参与了胁迫消失后质膜CSC快速恢复的过程(Lei等2015)。上述结果说明在抵抗胁迫的反应过程中,SmaCC/MASC可以作为CSC的临时存储结构,有助于胁迫消失后质膜CSC的快速恢复(Lei等2015)。综上,CSI1在CSC循环再利用的过程中发挥关键作用。然而,CSC重新转运到质膜中被再次利用还有哪些组分参与?这些组分如何参与CSC循环再利用?这些问题还需要进一步研究。

4 总结与展望

地球上绿色植物通过光合作用每年大约能够产生2 000亿t生物质,其中纤维素的累积达1 000亿t以上,约占植物生物质总量的50%,是地球上最丰富的生物大分子和重要的可再生能源。因此,对于纤维素合成机制的研究不仅有助于人们对细胞壁形成机理的理解,也对生物质能源高效利用具有重大的意义。在细胞初生壁纤维素合成过程中,CSC向质膜的转运和回收再利用调控CSC在膜上的排布模式及丰度,从而调控细胞壁的合成,多种蛋白质协同作用参与了不同环节的调控(表1)。近

年来随着活细胞成像技术的不断发展,活体观察的时空分辨率大大提高,使得实时追踪CSC的运输过程成为可能(Zhao等2019)。通过已有的研究,我们已经对CSC在胞内的转运机制有了初步的了解,携带CSC的囊泡在多种蛋白质的参与下通过胞吐作用将CSC整合到质膜的特定位置,并通过内吞作用将质膜上的CSC重新回收到胞质,或被降解或再次被利用。但是,CESAs通过何种蛋白利用何种机制组装成有功能的CSC?介导CSC上膜的相关蛋白如何协同发挥作用?回收到胞质中的CSC通过何种机制重新回到质膜?初生壁和次生壁中的CSC转运机制有何异同?这些问题还需要深入研究。另外,目前人们对CSC转运机制的了解主要来自拟南芥下胚轴表皮细胞的研究,这一机制是否同样适用于其他植物或其他类型细胞也是值得探讨的问题。

参考文献(References)

Atanassov II, Pittman JK, Turner SR (2009). Elucidating the mechanisms of assembly and subunit interaction of the cellulose synthase complex of *Arabidopsis* secondary cell walls. *J Biol Chem*, 284 (6): 3833–3841
Bashline L, Li S, Anderson CT, et al (2013). The endocytosis

表1 已知参与CSC组装及运输的相关蛋白

Table 1 Summary of proteins involved in the assembly and trafficking of CSC

蛋白名称	参与的过程	在CSC转运过程中发挥的功能		参考文献
		初生壁	次生壁	
STELLO1/STELLO2	CSC组装	调控CSCs组装	调控CSCs组装	Zhang等2016
Myosin XI	CSC胞吐	参与CSCs到达膜上最初停留或者拴系过程	—	Zhang等2019
Exocyst	CSC胞吐	Exocyst的多个亚基与CESA6有相互作用,其中SEC5B、SEC6参与CSC上膜的过程	EXO84B和EXO70A1突变后会导致CESA7定位发生改变	Zhu等2018; Vukašinović等2017
CSI1	CSC胞吐; CSC再利用	参与CSCs上膜的过程;在胁迫处理下,CSI1参与SmaCC/MASC的形成,并在胁迫消失后参与质膜中CSC快速恢复的过程	—	Zhu等2018; Lei等2015
PTL1	CSC胞吐	参与CSCs上膜的过程	—	Zhu等2018
SHOU4/SHOU4L	CSC胞吐	通过与CESA结合,负调控CSC向质膜的转运	—	Polk等2018
AP2M/μ2	CSC内吞	参与网格蛋白介导的CESAs内吞作用	—	Bashlin等2013
TWD40-2	CSC内吞	参与网格蛋白介导的CESAs内吞作用	—	Bashlin等2015
TML	CSC内吞	参与网格蛋白介导的CESAs内吞作用	—	Sánchez-Rodríguez等2018
TPLATE	CSC内吞	参与网格蛋白介导的CESAs内吞作用	—	Sánchez-Rodríguez等2018

“—”表示尚未见文献报道。

- of cellulose synthase in *Arabidopsis* is dependent on $\mu 2$, a clathrin-mediated endocytosis adaptin. *Plant Physiol*, 163 (1): 150–160
- Bashline L, Li S, Zhu X, et al (2015). The TWD40-2 protein and the AP2 complex cooperate in the clathrin-mediated endocytosis of cellulose synthase to regulate cellulose biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (41): 12870–12875
- Chan J, Coen E (2020). Interaction between autonomous and microtubule guidance systems controls cellulose synthase trajectories. *Curr Biol*, 30 (5): 941–947
- Crowell EF, Bischoff V, Desprez T, et al (2009). Pausing of Golgi bodies on microtubules regulates secretion of cellulose synthase complexes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21 (4): 1141–1154
- Dubuke ML, Munson M (2016). The secret life of tethers: the role of tethering factors in SNARE complex regulation. *Front Cell Dev Biol*, 4: 42
- Gutierrez R, Lindeboom JJ, Paredez AR, et al (2009). *Arabidopsis* cortical microtubules position cellulose synthase delivery to the plasma membrane and interact with cellulose synthase trafficking compartments. *Nat Cell Biol*, 11 (7): 797–806
- Hachez C, Laloux T, Reinhardt H, et al (2014). *Arabidopsis* SNAREs SYP61 and SYP121 coordinate the trafficking of plasma membrane aquaporin PIP2;7 to modulate the cell membrane water permeability. *Plant Cell*, 26 (7): 3132–3147
- Haigler CH, Brown RM (1986). Transport of rosettes from the Golgi apparatus to the plasma membrane in isolated mesophyll cells of *Zinnia elegans* during differentiation to tracheary elements in suspension culture. *Protoplasma*, 134: 111–120
- Hill JLJ, Hammudi MB, Tien M (2014). The *Arabidopsis* cellulose synthase complex: a proposed hexamer of CESA trimers in an equimolar stoichiometry. *Plant Cell*, 26 (12): 4834–4842
- Hong SH, Cortesio CL, Drubin DG (2015). Machine-learning-based analysis in genome-edited cells reveals the efficiency of clathrin-mediated endocytosis. *Cell Rep*, 12 (12): 2121–2130
- Huang C, Li L (2016). Research progress on regulation of plant secondary cell wall thickening. *Plant Physiol J*, 52 (1): 8–18 (in Chinese with English abstract) [黄成, 李来庚(2016). 植物次生细胞壁加厚调控研究进展. *植物生理学报*, 52 (1): 8–18]
- Kimura S, Laosinchai W, Itoh T, et al (1999). Immunogold labeling of rosette terminal cellulose-synthesizing complexes in the vascular plant *Vigna angularis*. *Plant Cell*, 11 (11): 2075–2086
- Kurek I, Kawagoe Y, Jacob-Wilk D, et al (2002). Dimerization of cotton fiber cellulose synthase catalytic subunits occurs via oxidation of the zinc-binding domains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99 (17): 11109–11114
- Lei L, Singh A, Bashline L, et al (2015). CELLULOSE SYNTHASE INTERACTIVE1 is required for fast recycling of cellulose synthase complexes to the plasma membrane in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 27 (10): 2926–2940
- Li S, Chen M, Yu D, et al (2013). EXO70A1-mediated vesicle trafficking is critical for tracheary element development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25 (5): 1774–1786
- Li T, Liu X, Xu J, et al (2019). Research advances in the functions of exocyst complex in plants. *Chin Bull Bot*, 54 (5): 642–651 (in Chinese with English abstract) [李彤辉, 刘晓楠, 徐静等(2019). 胞泌复合体在植物中的功能研究进展. *植物学报*, 54 (5): 642–651]
- Luo Y, Scholl S, Doering A, et al (2015). V-ATPase activity in the TGN/EE is required for exocytosis and recycling in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 1: 15094
- McFarlane HE, Döring A, Persson S (2014). The cell biology of cellulose synthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 65: 69–94
- Mueller SC, Brown RMJ (1980). Evidence for an intramembrane component associated with a cellulose microfibril synthesizing complex in higher plants. *J Cell Biol*, 84 (2): 315–326
- Paredez AR, Somerville CR, Ehrhardt DW (2006). Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science*, 312 (5779): 1491–1495
- Persson S, Paredez A, Carroll A, et al (2007). Genetic evidence for three unique components in primary cell-wall cellulose synthase complexes in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 (39): 15566–15571
- Polko JK, Barnes WJ, Voiniciuc C, et al (2018). SHOU4 proteins regulate trafficking of cellulose synthase complexes to the plasma membrane. *Curr Biol*, 28 (19): 3174–3182
- Sampathkumar A, Gutierrez R, McFarlane HE, et al (2013). Patterning and lifetime of plasma membrane-localized cellulose synthase is dependent on actin organization in *Arabidopsis* interphase cells. *Plant Physiol*, 162 (2): 675–688
- Sánchez-Rodríguez C, Shi Y, Kesten C, et al (2018). The cellulose synthases are cargo of the TPLATE adaptor complex. *Mol Plant*, 11 (2): 346–349
- Thomas LH, Forsyth VT, Šturcová A, et al (2013). Structure of cellulose microfibrils in primary cell walls from collenchyma. *Plant Physiol*, 161 (1): 465–476
- Tu B, Hu L, Chen W, et al (2015). Disruption of *OsEXO70A1* causes irregular vascular bundles and perturbs mineral nutrient assimilation in rice. *Sci Rep*, 5: 18609

- Vukašinović N, Oda Y, Pejchar P, et al (2017). Microtubule-dependent targeting of the exocyst complex is necessary for xylem development in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 213 (3): 1052–1067
- Yang JJ, Yu DL, Chu W, et al (2013). Research advance of the *EXO70* gene family in plants. *Plant Physiol J*, 49 (9): 882–888 (in Chinese with English abstract) [杨俊杰, 于大力, 褚蔚等(2013). 植物*EXO70*基因家族的研究进展. 植物生理学报, 49 (9): 882–888]
- Zhang R, Li L (2016). Research progress of the plant cell wall signaling. *Plant Physiol J*, 54 (8): 1254–1262 (in Chinese with English abstract) [张蕊, 李来庚(2018). 植物细胞壁信号研究进展. 植物生理学报, 54 (8): 1254–1262]
- Zhang W, Cai C, Staiger CJ (2019). Myosins XI are involved in exocytosis of cellulose synthase complexes. *Plant Physiol*, 179 (4): 1537–1555
- Zhang Y, Nikolovski N, Sorieul M, et al (2016). Golgi-localized STELLA proteins regulate the assembly and trafficking of cellulose synthase complexes in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 7: 11656
- Zhao Y, Man Y, Wen J, et al (2019). Advances in imaging plant cell walls. *Trends Plant Sci*, 24 (9): 867–878
- Zhu X, Li S, Pan S, et al (2018). CSI1, PATROL1, and exocyst complex cooperate in delivery of cellulose synthase complexes to the plasma membrane. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115 (15): E3578–E3587
- Zhu X, Zhang G, Cheng P (2017). Research progress in the transcriptional regulation of secondary cell wall thickening. *Plant Physiol J*, 53 (9): 1598–1608 (in Chinese with English abstract) [朱晓博, 张贵粉, 陈鹏(2017). 植物次生细胞壁加厚过程的转录调控. 植物生理学报, 53 (9): 1598–1608]

Assembly and trafficking of the cellulose synthase complex in plants

LIU Zhendong^{1,2,#}, ZHAO Shuju^{1,#}, JIANG Su^{1,*}, ZHANG Guyue¹

¹*School of Life Sciences, Qilu Normal University, Jinan 250200, China*

²*School of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China*

Abstract: As a main component of plant cell wall and the most abundant biomass in the biosphere, cellulose is synthesized by the plasma membrane (PM)-localized cellulose synthase complex (CSC). The functional CSC is composed of multiple cellulose synthases (CESA) subunits synthesized at the endoplasmic reticulum (ER), assembled in the ER or Golgi apparatus, subsequently delivered to the PM by vesicles, and eventually recycled via clathrin-mediated endocytosis. With the development of omics and living cell imaging technologies, new components and structures related to CSC trafficking have been identified and characterized. This review updates the research advances of CSC assembly and trafficking, providing reference in cellulose synthesis and cell wall formation.

Key words: cell wall; cellulose; cellulose synthase complex; vesicular trafficking

Received 2020-05-07 Accepted 2020-07-03

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31571467), and the Shandong Natural Science Foundation (ZR-2017BC020).

#Co-first authors.

*Corresponding author (jiangsu@qlnu.edu.cn).