

## 植物细胞中磷酸肌醇和磷脂酶C介导的信号转导

李莉, 井文\*, 章文华

南京农业大学生命科学学院, 南京210095

**摘要:** 磷酸肌醇(PIs)是磷脂酰肌醇(PtdIns)单、双、三磷酸化产物的总称。磷脂酶C (PLC)水解磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸[PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>]产生二酰甘油(DAG)和肌醇三磷酸(InsP<sub>3</sub>), 此双信使系统的靶蛋白分别是蛋白激酶C (PKC)和InsP<sub>3</sub>受体(钙通道蛋白)。此经典的信号途径是从动物细胞中发现的。到目前为止, 植物中没有发现PKC或InsP<sub>3</sub>受体, 但有其独特的磷酸肌醇信号组分和途径。与动物不同, 植物PI含量最高的是磷脂酰肌醇-4-磷酸(PtdIns4P), 最多可达PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>的100倍; 而DAG磷酸化产物磷脂酸(PA)和InsP<sub>3</sub>磷酸化产物肌醇六磷酸(InsP<sub>6</sub>)也被证明是植物中重要的信号分子。本文通过比较动、植物细胞中PI和PLC信号途径的差异, 综述了植物细胞中PI和PLC途径的独特作用和调控机理。

**关键词:** 磷酸肌醇; 磷脂酶C; 信号转导

## Signal Transduction by Phosphoinositides and Phospholipase C in Plant Cells

LI Li, JING Wen\*, ZHANG Wen-Hua

College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

**Abstract:** Phosphoinositides (PIs) are mono-, bis-, or tris-phosphorylated derivatives of phosphatidylinositol (PtdIns). Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate [PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>] can be hydrolyzed by phospholipase C (PLC) to produce diacylglycerol (DAG) and inositol trisphosphates (InsP<sub>3</sub>). In animal cells, DAG and InsP<sub>3</sub> are important second messengers that activate protein kinase C (PKC) and InsP<sub>3</sub> receptor (Ca<sup>2+</sup> channel), respectively. However, neither PKC nor InsP<sub>3</sub> receptor has been found in plant cells. Instead, there are unique phosphoinositide signaling pathways in plant cells. In plants, PtdIns4P is the most abundant PI, and the ratio of phosphatidylinositol 4-phosphate (PtdIns4P) to PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> is as high as 100 to 1. The phosphorylated products of DAG and InsP<sub>3</sub>, phosphatidic acid (PA) and inositol hexakisphosphate (InsP<sub>6</sub>), respectively, are as signaling molecules in plants. This paper compared the PI and PLC signalings between plant and animal cells, and summarized the unique mechanism of PI and PLC pathways in plant cells.

**Key words:** phosphoinositides; phospholipase C; signal transduction

细胞膜是细胞与外界环境沟通的屏障, 磷脂作为细胞膜的重要组成部分, 在细胞与外界环境信息传递中起着重要作用。磷酸肌醇(phosphoinositides, PIs)是磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PtdIns)的单、双、三磷酸化产物的总称。在动、植物细胞中, 已经发现的PIs功能包括: 维持细胞结构、控制膜流动、决定膜的特征、调节膜物质(膜脂、膜蛋白等)的转运(trafficking), 以及调控离子通道和转导细胞信号等(Balla 2013)。PIs水平由磷脂激酶和磷酸酶控制。同时, PIs在磷脂酶C (phospholipase C, PLC)的作用下水解成二酰甘油(diacylglycerol, DAG)和肌醇三磷酸(inositol trisphosphates, InsP<sub>3</sub>)。DAG在激酶的作用下转变为磷脂酸(phosphatidic acid, PA), PA已被证明为动、植物细胞中的重要脂信号分子。在植物细胞中, InsP<sub>3</sub>的作用

尚未明确, 但已有证据表明, 其磷酸化产物肌醇五磷酸(inositol pentakisphosphate, InsP<sub>5</sub>)和肌醇六磷酸(inositol hexakisphosphate, InsP<sub>6</sub>)在植物激素信号转导中可能起主要作用。本文重点综述了PIs和磷脂酰肌醇特异性的PLC (PI-PLC)在植物细胞中的作用及其机理。

### 1 磷酸肌醇及其信号功能

磷脂酰肌醇由甘油骨架和肌醇通过磷酸二酯键构成, 肌醇环有5个羟基, 其中D3、D4和D5位的羟基可以被相应的磷脂激酶磷酸化。目前植物中已经发现的PIs有磷脂酰肌醇-3-磷酸(phosphatidy-

收稿 2015-08-17 修定 2015-09-23

资助 国家自然科学基金(31171461和31301294)。

\* 通讯作者(E-mail: jingwen@njau.edu.cn; Tel: 025-84399786)。

inositol 3-phosphate, PtdIns3P)、磷脂酰肌醇-4-磷酸(phosphatidylinositol 4-phosphate, PtdIns4P)、磷脂酰肌醇-5-磷酸(phosphatidylinositol 4-phosphate, PtdIns5P)、磷脂酰肌醇-3,5-二磷酸[phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate, PtdIns(3,5)P<sub>2</sub>], 以及磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸[phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>]. 而磷脂酰肌醇-3,4-二磷酸[phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate, PtdIns(3,4)P<sub>2</sub>]和磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸[phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub>]是否存在于植物中尚有争议(Heilmann和Heilmann 2015)。根据植物PIs各组分在细胞中的含量及其功能重要性, 本文主要对PtdIns3P、PtdIns4P和PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>做详细阐述。

### 1.1 PtdIns3P

在所有真核细胞中, 磷脂酰肌醇单磷酸(phosphatidylinositol monophosphate, PtdInsP)只占细胞膜总磷脂的一小部分, 一般不超过1% (Munnik等1998)。在植物中, PtdIns3P约占总PtdInsP的10%。与在酵母和动物细胞中的作用类似, PtdIns3P在植物中的主要功能是介导胞吞和胞吐过程(Stenmark和Gillooly 2001; Vermeer等2006)。PtdIns3P是由磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)催化形成的。由于完全敲除拟南芥PI3K编码基因会导致植株死亡, Lee等(2008)通过在拟南芥中过量表达多个FYVE氨基酸片段来研究PtdIns3P的功能。FYVE氨基酸片段能够特异地结合细胞中的PtdIns3P, 从而阻碍内源功能蛋白与PtdIns3P的结合。在过表达FYVE氨基酸片段的植物细胞中, 虽然存在PI3K, 能够催化产生PtdIns3P, 但PtdIns3P被没有生理功能的FYVE氨基酸片段结合, 因而无法发挥正常的生理作用。研究结果发现, 过量表达FYVE片段的拟南芥幼苗的主根和根毛生长受到抑制, 但根毛的数量没有受到影响, 这与外用PI3K抑制剂LY294002处理野生型拟南芥幼苗的表型一致。利用同样的转FYVE片段手段, Kale等(2010)发现, 卵菌和真菌致病蛋白中含有的RXLR基序(motif)能够结合寄主植物细胞膜上的PtdIns3P, 并随着膜的内吞作用进入寄主细胞内, 这似乎暗示我们可以通过降低质膜上PtdIns3P的含量以减少致病蛋白进入细胞, 从而提高植物抗病性。另外, PtdIns3P

介导膜内吞作用激活NADPH氧化酶, 既是根毛生长所必需的, 也在植物抗盐过程中起到十分重要的作用(Lee等2008; Leshem等2007)。因此, PI3K在植物生长和抗逆调控中具有双刃剑的作用。

### 1.2 PtdIns4P和PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>

植物细胞中含量最丰富的PIs是PtdIns4P, 约占总PtdInsP的80%。无论是在动物细胞中, 还是在植物细胞中, PtdIns4P通常被认作是合成PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>的前体。但最近对动物细胞的研究发现, PtdIns4P有独立的生理作用, 如调节阳离子通道(Hammond等2012)或作为PLC $\epsilon$ 的底物(Zhang等2013)。

Vermeer等(2009)研究发现, 植物中的PtdIns4P主要分布在质膜和高尔基体膜上。磷脂酰肌醇-4-激酶(phosphatidylinositol 4-kinase, PI4K)可以将PtdIns磷酸化为PtdIns4P。拟南芥基因组中有12个编码PI4K的基因, 同时敲除*AtPI4K $\beta$ 1*和*AtPI4K $\beta$ 2*基因会破坏根毛的极性生长(Preuss等2006)。Thole等(2008)也发现, 拟南芥突变体*rh4-1* (root hair-defective)的根毛生长发育缺陷是由于编码PI4K的基因发生突变导致的。在野生型植株的根毛细胞中, PtdIns4P主要分布在顶端的细胞质膜上; 而在*rh4-1*突变体根毛中PtdIns4P大量积累在内膜系统上。由此可见, 一定的PtdIns4P含量及其正确分布对根毛的定向(极性)生长是十分必要的(Thole等2008)。

这种PtdInsP定量、定点分布的重要性, 还体现在其对主根生长和胚发育的调控上。对于多细胞构成的植物体而言, 细胞的极性分裂和生长对组织分化和植株生长至关重要。细胞极性建立又依赖膜上受体、转运蛋白等的非对称分布。最近, Tejos等(2014)的研究发现, PtdIns4P、PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>以及催化PtdIns4P到PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>合成的磷脂酰肌醇-4-磷酸-5-激酶(phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase, PI4P-5K) PIP5K1和PIP5K2在拟南芥根细胞中的分布是有极性的。具体地说, 沿着根生长的纵轴线方向, PtdIns4P、PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>以及PIP5K1和PIP5K2主要分布在细胞的顶端和基部的细胞膜上, 左右两侧细胞膜分布较少。在*pip5k1/pip5k2*双突变体中, 不但PtdIns4P和PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>的极性分布消失, 吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)转运蛋白PIN在根和胚中的极性分布也受到干扰, 进而影响到IAA的极性运输, 导致幼苗发育畸形、

开花延迟等生长发育问题(Mei等2012; Tejos等2014)。因此, PIs的极性分布可能是PIN等功能蛋白极性分布的基础。

此外, PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>不但参与植物生长发育过程, 也调节植物对逆境的响应。渗透胁迫、盐、冷害等逆境下, 植物细胞内的PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>水平平均会瞬间上升(Darwish等2009), PI4P-5K可能参与了此过程的调节(Ischebeck等2013)。但是, PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>增加后, 在细胞内的具体生理功能尚不清楚。

## 2 PI-PLC

PLC根据其作用底物的不同可以分为两类, 一类为PI-PLC, 专一地水解PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>或PtdIns4P, 产生DAG和InsP<sub>3</sub> [或肌醇二磷酸(inositol bisphosphates, InsP<sub>2</sub>)]; 另一类为非特异性的PLC (nonspecific phospholipase C, NPC), 对底物选择没有特异性, 水解普通的磷脂如磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)生成DAG和磷酸胆碱(phosphocholine)。

在动物细胞中, PI-PLC的一个水解产物——DAG (留在质膜上)的靶蛋白之一是蛋白激酶C (protein kinase C, PKC), 后者通过磷酸化下游蛋白(包括酶、受体、转运体、细胞骨架组分)来调节它们的活性。PI-PLC的另一个水解产物——水溶性的InsP<sub>3</sub>被释放到胞质中, 结合内质网膜上的受体(Ca<sup>2+</sup>通道), 促使储存的Ca<sup>2+</sup>释放(Dowd和Gilroy 2010)。在植物中, 尚未发现PKC的同源蛋白, 也没有鉴定出明确的InsP<sub>3</sub>受体。

作为PI-PLC的底物, PtdIns4P和PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>的含量在动、植物细胞中差异很大。在动物细胞中, PtdIns4P与PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>的比值是1:2; 在植物细胞中, 它们的比值是10:1~100:1 (Boss和Im 2012)。也就是说, 动物细胞中的PIs以PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>为主, 而植物细胞中的PIs则以PtdIns4P占绝对优势。由此, 植物生物学家推测, 植物细胞中PI-PLC的底物可能是PtdIns4P (Boss和Im 2012; Heilmann和Heilmann 2015), 但目前尚未有直接证据。此外, 就酶的分子和生化特性而言, 植物和动物的PI-PLC也存在很大差异, 下面即对植物PI-PLC的结构、功能及其下游信号调控机制做以详细阐述。

### 2.1 PI-PLC的结构与生化特性

在真核生物中, PI-PLCs分为β、γ、δ、ε、η和ζ 6种亚型。哺乳动物细胞中含有全部的亚型PI-

PLC, 主要由pleckstrin homolog (PH, 除PLCζ外)结构域、EF手型(EF-hand)结构域(每个EF手型结构域具有4个手型结构, 但PLCζ只有2个)、X-Y催化区和C2结构域组成(Wang 2004; Fukami等2008; Suh等2008)。PH结构域没有酶活性, 但可以通过异源三聚体G蛋白或酪氨酸激酶受体参与调控(Wing等2003), 帮助PI-PLC结合磷脂底物, 锚定于质膜上。PLCζ没有PH结构域, 它通过X-Y催化区中间的连接序列XY-linker与PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>结合(Nomikos等2007)。EF手型结构用于结合Ca<sup>2+</sup>; C2结构域的功能是结合磷脂, 其过程依赖Ca<sup>2+</sup>, 对保持催化区活性有辅助作用(Rhee 2001; Suh等2008)。

植物中只存在一种亚型的PI-PLC, 由于缺少PH区域, 更接近动物中的PLCζ亚型(Tasma等2008)。对拟南芥AtPLC2的EF手型结构域进行截断缺失实验发现, EF手型结构对保持PI-PLC的活性是不可或缺的, 而被截断的AtPLC2虽然没有了活性, 却不影响它在质膜上的结合(Otterhag等2011)。然而, Dowd等(2006)通过相似的方法研究茄科植物, 却发现缺失EF手型结构域后PLC依然有活性, 看来并不是在所有植物中都需要EF手型结构域来保持PLC活性, 这可能与植物种类有一定的关系。另有研究发现, EF手型和C2结构域都能结合Ca<sup>2+</sup> (Helling等2006)。在花粉管中表达PI-PLC, 只有EF手型和C2结构域同时存在时, PI-PLC才能定位到膜上, 缺少其中任何一个都不能正确锚定在膜上。

对植物PLC体外活性的测定发现, 大多数PLC的活性最适pH范围在6~7之间, 并需要一定浓度的Ca<sup>2+</sup>参与(Munnik等1998)。目前尚缺乏对植物PLC活性上游调控机制的了解。在动物细胞中, PI-PLC上游受G蛋白调控(Munnik和Testerink 2009)。在百合花粉管原生质体实验中, 添加G蛋白的激活剂可以增加PLC活性, 而添加G蛋白的拮抗剂则可以降低PLC活性, 这暗示PI-PLC活性和G蛋白之间具有某种联系(Pan等2005), 但尚缺乏直接证据。另外, 生物信息学分析也指出, 植物中可能不存在调控PLC的G蛋白(Munnik和Testerink 2009)。

### 2.2 PI-PLC介导的信号转导

目前, 对植物PI-PLC的生理功能还知之甚少。用PLC抑制剂U-73122处理拟南芥, 脱落酸(Abscisic acid, ABA)诱导的种子休眠和气孔关闭



受到影响, 这表明PI-PLC途径可能参与ABA调控的这2个生理过程(Sanchez和Chua 2001; Hunt等2003)。在各种生物和非生物逆境(包括盐、干旱、热击、病害等)条件下, PI-PLC基因的表达均会受到诱导(Kim等2004; Vergnolle等2005; Zheng等2012)。在拟南芥基因组中, 共鉴定到9个PI-PLC基因(Mueller-Roeber和Pical 2002)。通过比较各种胁迫处理前后这9个PI-PLC基因的表达量发现, 其中有4个受盐胁迫诱导, 3个受ABA诱导, 4个对冷害有一定响应, 6个可以被干旱诱导(Tasma等2008)。拟南芥PLC9基因缺失的突变体植株对热敏感, 而过表达PLC9的转基因植株比野生型更耐热(Zheng等2012)。类似地, 过表达ZmPLC1可以提高玉米的抗旱能力(Wang等2008)。也有研究发现, 番茄PLCs (*SIPLC4*)参与抗病反应(Vossen等2010)。因此, PI-PLC可能在植物响应逆境胁迫中具有广泛的生理功能。

为了深入研究PI-PLC的作用机理, Dowd等(2006)从牵牛花(*Petunia inflata*)中克隆了主要在花粉管中表达的PI-PLC基因(*PetPLC1*)的cDNA。他们利用花粉特异性启动子, 在花粉中过表达了没有水解活性的PetPLC1 (PetPLC1-H126A), 竞争性地阻断内源PetPLC1上游和下游的信号转导, 抑制了内源PetPLC1的活性。利用该方法, 他们发现PetPLC1-H126A阻断了花粉管内的Ca<sup>2+</sup>梯度分布和微丝的正常排列, 导致花粉管生长受阻、顶端膨大, 并由此推测PetPLC1可能通过控制Ca<sup>2+</sup>信号和细胞骨架的排布来调控花粉管的伸长。Helling等(2006)从烟草中克隆了一个特异在花粉管中表达的PLC基因(*NtPLC3*), 黄色荧光蛋白(yellow fluorescent protein, YFP)标记显示, NtPLC3主要分布在花粉管顶端的两侧, PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>在此位置的分布较少, 暗示它可能被NtPLC3水解。水解生成的DAG被转运到花粉管顶端, 在此处同样积累了较多的PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> (没有被NtPLC3水解)。这种DAG和PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>极性积累是花粉管极性生长所必需的, 类似于前面提到的PtdIns4P积累在根毛细胞顶端是其极性生长所必需的(Thole等2008)。

### 2.2.1 PLC信号: 依赖DAG还是PA

PLC水解产生的DAG会被迅速磷酸化成为PA。作为依据之一, Ruelland等(2002)用<sup>33</sup>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>标

记拟南芥悬浮细胞中的磷脂, 通过薄层层析分离、鉴定、分析细胞中的主要磷脂及其含量, 发现低温(0 °C)处理后, PA和InsP<sub>3</sub>含量上升, 而PtdInsP和PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>含量下降, 推测PLC被激活。用DAG激酶(DAG kinase, DGK, 催化DAG到PA合成)抑制剂R59022处理, 则拟南芥悬浮细胞中PA含量大幅度下降, 这说明PLC-DGK途径贡献了冷处理诱导的PA的生成。采用类似方法, 在经受渗透胁迫或病菌侵染的植物中也发现了通过PLC-DGK途径产生PA的现象(de Jong等2004)。因此, Munnik等认为, 此途径在PA产生中具有普遍性(Munnik和Testerink 2009)。但是, Helling等(2006)利用PA荧光探针, 分析了过表达NtPLC3的花粉管中PA水平是否增加, 发现尽管DAG含量增加, 但PA水平并没有改变。Munnik和Testerink (2009)也发现在拟南芥中有7个DGK编码基因, 表达在各个组织, 并受逆境诱导, 但是, 尚未发现其基因敲除的突变体有什么特殊表型。因此, PLC-DGK介导的PA信号途径有待于遗传学和细胞生物学等方面的实验验证。

PA的产生还有另外一条途径, 即磷脂酶D (PLD)水解各类磷脂直接产生PA。拟南芥有12个编码PLD的基因, 这些基因的缺失突变体对盐、冷、干旱、病、ABA等的响应发生了改变(Zhang等2014)。目前PA已被证明是植物细胞中的重要信号分子, 其靶分子包括蛋白激酶、蛋白磷酸酶、转录因子、微管结合蛋白、微丝顶端蛋白等(Zhang等2014)。

### 2.2.2 PLC信号: InsP<sub>3</sub>还是InsP<sub>5</sub>、InsP<sub>6</sub>

InsP<sub>3</sub>作为PLC途径的另一个产物, 在其信号途径中也占据着相当重要的位置。虽然在高等植物中至今未发现InsP<sub>3</sub>受体, 在衣藻和草履虫中却已找到InsP<sub>3</sub>受体, 猜测可能是高等植物在进化过程中丢失了InsP<sub>3</sub>受体(Munnik和Testerink 2009)。植物中的InsP<sub>3</sub>是通过什么方式参与信号转导的呢? InsP<sub>3</sub>可以被磷酸化成为肌醇四磷酸(inositol tetrakisphosphate, InsP<sub>4</sub>)、InsP<sub>5</sub>和InsP<sub>6</sub>等。Lemtiri-Chlieh等(2000)研究表明, 马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)保卫细胞中存在肌醇一磷酸(inositol monophosphate, InsP)、InsP<sub>2</sub>、InsP<sub>3</sub>、InsP<sub>4</sub>、InsP<sub>5</sub>和InsP<sub>6</sub>, 其中前二者含量最大, 其他4种含量很低。但ABA处理5 min后, 只有InsP<sub>6</sub>含量明显增加(依然

不足InsP<sub>1</sub>和InsP<sub>2</sub>含量的一半),其他InsPs没有明显变化。将“笼型”(caged)InsP<sub>6</sub>导入到蚕豆保卫细胞中,1 s内诱导荧光标记的Ca<sup>2+</sup>上升到最高值,并维持大约5 s。Ca<sup>2+</sup>的来源是细胞内的Ca<sup>2+</sup>库,其中,液泡初步被认定为释放Ca<sup>2+</sup>的库源之一。Ca<sup>2+</sup>的增加会抑制保卫细胞质膜内向K<sup>+</sup>通道,这被认为是InsP<sub>6</sub>介导ABA诱导气孔关闭的机理之一(Lemtiri-Chlieh等2003)。在IAA结合蛋白(TIR1)上,发现了一个InsP<sub>6</sub>结合结构域,但是尚不清楚InsP<sub>6</sub>结合TIR1是否与IAA信号转导有关。再则,到目前为止,InsP<sub>6</sub>的来源也没有线索(Tang等2007)。需要指出的是,InsP<sub>6</sub>大量存在于植物种子中,作为磷和肌醇的储存形式,以备种子萌发时对磷和肌醇的需求(Lee等2015)。因此,InsP<sub>6</sub>的生理功能是多面的,与其存在的时期、组织和细胞部位有关。

结构生物学分析还指出,InsP<sub>5</sub>可能参与茉莉酸激素受体复合体的调控。F-盒蛋白COI1 (coronatine insensitive 1)是茉莉酸(JA-Ile)受体,它含有一个结合InsP<sub>5</sub>的结构域(Sheard等2010)。InsP<sub>5</sub>和InsP<sub>6</sub>等由多磷酸肌醇激酶(inositol polyphosphate kinases, IPKs)催化而来。基于InsP<sub>5</sub>和InsP<sub>6</sub>参与茉莉

酸、生长素以及ABA等激素的信号途径,IPKs被提出是植物激素反应的重要调节因子(Heilmann和Heilmann 2015)。相关实验也证实,在拟南芥*ipk1*突变体中,InsP<sub>5</sub>水平上升、InsP<sub>6</sub>水平下降,表现出对茉莉酸敏感,机械损伤诱导的基因表达增加,同时抗虫能力增强(Mosblech等2011)。

当然,肌醇环(包括可溶性的肌醇InsP,以及磷脂酰肌醇PtdInsP)的磷酸根也可以被脱磷酸化。哺乳动物I型多磷酸肌醇-5-磷酸酶(mammalian type I inositol polyphosphate 5-phosphatase, InsP 5-ptase)专一性地将InsP<sub>3</sub>和InsP<sub>4</sub>的D5位磷酸根去磷酸化。在拟南芥中过表达编码此酶的基因,能够引起细胞内基础InsP<sub>3</sub>、InsP<sub>5</sub>和InsP<sub>6</sub>的水平下降(Perera等2008)。盐胁迫和低温处理会导致Ca<sup>2+</sup>水平上升,但在过表达植株中,Ca<sup>2+</sup>上升幅度被抑制30%。有趣的是,相对于野生型植株,过表达植株中ABA含量下降,保卫细胞对ABA抑制的气孔打开变得不敏感,但对ABA诱导的气孔关闭相对敏感,叶片含水量升高。同时,在过表达植株中,干旱诱导的不依赖ABA的转录因子DREB2A及其调控的基因表达增强,因而显示出比野生型更强的抗旱性。

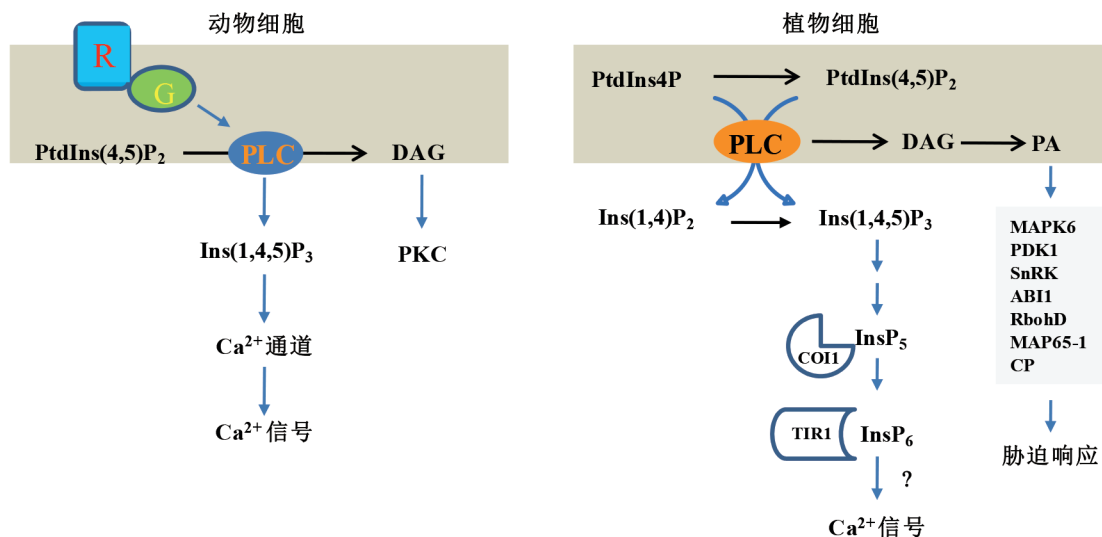


图1 动植物细胞中磷酸肌醇和磷脂酶C介导的信号转导比较

Fig.1 Comparison of PI- and PLC-mediated signalings between animal and plant cells

动物细胞膜上的G蛋白偶联受体(R)接受配体信号,通过G蛋白(G)激活PI-PLC,水解PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>,生成DAG和InsP<sub>3</sub>。它们分别结合并激活PKC和InsP<sub>3</sub>受体(内质网膜上的钙通道蛋白),后者释放Ca<sup>2+</sup>到胞质。植物细胞中尚未鉴定出激活PLC的G蛋白,也没有发现PKC和InsP<sub>3</sub>受体。但DAG在激酶的作用下转变为PA,它通过一系列的靶分子转导逆境信号。InsP<sub>3</sub>被进一步磷酸化为InsP<sub>5</sub>和InsP<sub>6</sub>,在植物激素茉莉酸信号(COI1)和生长素信号(TIR1)转导中可能起重要作用。

### 3 展望

由以上综述可见, 磷酸肌醇及其代谢产物参与植物多种信号的转导过程。与动物细胞相比, 有的PI信号分子在植物中尚未发现, 如调控PLC的G蛋白在植物中还未被鉴定; 有的PI信号作用途径和方式在动、植物细胞中不一样, 如动物细胞中DGK依赖PKC转导信号; 而植物中DAG转变成PA, 通过后者转导信号(图1)。可见, 此类信号途径在动、植物的进化过程中变化较大, 原因和意义均不清楚。

磷酸肌醇成分复杂, 调节其变化的有磷脂激酶、磷脂磷酸酶、磷脂酶等, 且每一类酶都由多个基因编码。在今后的研究中, 首先要探索这些不同的基因及其酶参与何种生理过程。在此基础上, 解析这些酶的作用机理, 是通过蛋白本身起作用, 还是通过产物(或底物)的变化起作用的。再次, 鉴定它们的产物或底物(即不同形式的PIs, 以及可溶性的InsP<sub>3</sub>、InsP<sub>5</sub>等)的作用靶分子是什么? 但是, 由于磷酸肌醇代谢的各种酶受各种信号网络调控, 机理复杂, 加之精确分析磷酸肌醇的化学成分在技术上还存在难度等原因, 要揭示它们在植物中的作用和机理, 还任重道远。

### 参考文献

- Balla T (2013). Phosphoinositides: tiny lipids with giant impact on cell regulation. *Physiol Rev*, 93: 1019~1137
- Boss WF, Im YJ (2012). Phosphoinositide signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 63: 409~429
- Darwish E, Testerink C, Khalil M, El-Shihy O, Munnik T (2009). Phospholipid signaling responses in salt-stressed rice leaves. *Plant Cell Physiol*, 50: 986~997
- de Jong CF, Laxalt AM, Bargmann BOR, de Wit PJGM, Joosten MHAI, Munnik T (2004). Phosphatidic acid accumulation is an early response in the *Cf-4/Avr4* interaction. *Plant J*, 39: 1~12
- Dowd PE, Coursol S, Skirpan AL, Kao TH, Gilroy S (2006). *Petunia* phospholipase C1 is involved in pollen tube growth. *Plant Cell*, 18: 1438~1453
- Dowd PE, Gilroy S (2010). The emerging roles of phospholipase C in plant growth and development. In: Munnik T (ed). *Lipid Signaling in Plants*. Berlin: Springer-Verlag, 23~37
- Fukami K, Ichinohe M, Hirata M, Nakamura Y (2008). Physiological functions of phospholipase C  $\delta$ -type. *Adv Enzyme Regul*, 48: 261~273
- Hammond GR, Fischer MJ, Anderson KE, Holdich J, Koteci A, Balla T, Irvine RF (2012). PI4P and PI(4,5)P<sub>2</sub> are essential but independent lipid determinants of membrane identity. *Science*, 337: 727~730
- Heilmann M, Heilmann I (2015). Plant phosphoinositides-complex networks controlling growth and adaptation. *Biochim Biophys Acta*, 1851: 759~769
- Helling D, Possart A, Cottier S, Klahre U, Kost B (2006). Pollen tube tip growth depends on plasma membrane polarization mediated by tobacco PLC3 activity and endocytic membrane recycling. *Plant Cell*, 18: 3519~3534
- Hunt L, Mills LN, Pical C, Leckie CP, Aitken FL, Kopka J, Mueller-Roeber B, McAinsh MR, Hetherington AM, Gray JE (2003). Phospholipase C is required for the control of stomatal aperture by ABA. *Plant J*, 34: 47~55
- Ischebeck T, Werner S, Krishnamoorthy P, Lerche J, Meijón M, Stenzel I, Löffke C, Wiessner T, Im YJ, Perera IY et al (2013). Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate influences PIN polarization by controlling clathrin-mediated membrane trafficking in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25: 4894~4911
- Kale SD, Gu B, Capelluto DGS, Dou D, Feldman E, Rumore A, Arredondo FD, Hanlon R, Fudal I, Rouxel T et al (2010). External lipid PI3P mediates entry of eukaryotic pathogen effectors into plant and animal host cells. *Cell*, 142: 284~295
- Kim YJ, Kim JE, Lee JH, Lee MH, Jung HW, Bahk YY, Hwang BK, Hwang I, Kim WT (2004). The *Vr-PLC3* gene encodes a putative plasma membrane-localized phosphoinositide-specific phospholipase C whose expression is induced by abiotic stress in mung bean (*Vigna radiata* L.). *FEBS Lett*, 556: 127~136
- Lee HS, Lee DH, Cho HK, Kim SH, Auh JH, Pai HS (2015). InsP<sub>6</sub>-sensitive variants of the Gle1 mRNA export factor rescue growth and fertility defects of the *ipk1* low-phytic-acid mutation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 27: 417~431
- Lee Y, Bak G, Choi Y, Chuang WI, Cho HT, Lee Y (2008). Roles of phosphatidylinositol 3-kinase in root hair growth. *Plant Physiol*, 147: 624~635
- Lemtiri-Chlieh F, MacRobbie EAC, Brearley CA (2000). Inositol hexakisphosphate is a physiological signal regulating the K<sup>+</sup>-inward rectifying conductance in guard cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 (15): 8687~8692
- Lemtiri-Chlieh F, MacRobbie EAC, Webb AAR, Manison NF, Brownlee C, Skepper JN, Chen J, Prestwich GD, Brearley CA (2003). Inositol hexakisphosphate mobilizes an endomembrane store of calcium in guard cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (17): 10091~10095
- Leshem Y, Seri L, Levine A (2007). Induction of phosphatidylinositol 3-kinase-mediated endocytosis by salt stress leads to intracellular production of reactive oxygen species and salt tolerance. *Plant J*, 51: 185~197
- Mei Y, Jia WJ, Chu YJ, Xue HW (2012). *Arabidopsis* phosphatidylinositol monophosphate 5-kinase 2 is involved in root gravitropism through regulation of polar auxin transport by affecting the cycling of PIN proteins. *Cell Res*, 22: 581~597
- Mosblech A, Thurow C, Gatz C, Feussner I, Heilmann I (2011). Jasmonic acid perception by COI1 involves inositol polyphosphates in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 65: 949~957
- Mueller-Roeber B, Pical C (2002). Inositol phospholipid metabolism in *Arabidopsis*. Characterized and putative isoforms of inositol

- phospholipid kinase and phosphoinositide-specific phospholipase C. *Plant Physiol*, 130: 22~46
- Munnik T, Irvine RF, Musgrave A (1998). Phospholipid signalling in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1389: 222~272
- Munnik T, Testerink C (2009). Plant phospholipid signaling: "in a nutshell". *J Lipid Res*, 50: S260~S265
- Nomikos M, Mulgrew-Nesbitt A, Pallavi P, Mihalyne G, Zaitseva I, Swann K, Lai FA, Murray D, McLaughlin S (2007). Binding of phosphoinositide-specific phospholipase C- $\zeta$  (PLC- $\zeta$ ) to phospholipid membranes: potential role of an unstructured cluster of basic residues. *J Biol Chem*, 282 (22): 16644~16653
- Otterhag L, Sommarin M, Pical C (2001). N-terminal EF-hand-like domain is required for phosphoinositide-specific phospholipase C activity in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 497: 165~170
- Pan YY, Wang X, Ma LG, Sun DY (2005). Characterization of phosphatidylinositol-specific phospholipase C (PI-PLC) from *Lilium daviddi* pollen. *Plant Cell Physiol*, 46 (10): 1657~1665
- Perera IY, Hung CY, Moore CD, Stevenson-Paulik J, Boss WF (2008). Transgenic *Arabidopsis* plants expressing the type 1 inositol 5-phosphatase exhibit increased drought tolerance and altered abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 20: 2876~2893
- Preuss ML, Schmitz AJ, Thole JM, Bonner HKS, Otegui MS, Nielsen E (2006). A role for the RabA4b effector protein PI-4K $\beta$ 1 in polarized expansion of root hair cells in *Arabidopsis thaliana*. *J Cell Biol*, 172 (7): 991~998
- Rhee SG (2001). Regulation of phosphoinositide-specific phospholipase C. *Annu Rev Biochem*, 70: 281~312
- Ruelland E, Cantrel C, Gawer M, Kader JC, Zachowski A (2002). Activation of phospholipases C and D is an early response to a cold exposure in *Arabidopsis* suspension cells. *Plant Physiol*, 130: 999~1007
- Sanchez JP, Chua NH (2001). *Arabidopsis* PLC1 is required for secondary responses to abscisic acid signals. *Plant Cell*, 13: 1143~1154
- Sheard LB, Tan X, Mao H, Withers J, Ben-Nissan G, Hinds TR, Kobayashi Y, Hsu FF, Sharon M, Browse J et al (2010). Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor. *Nature*, 468 (7322): 400~405
- Stenmark H, Gillooly DJ (2001). Intracellular trafficking and turnover of phosphatidylinositol 3-phosphate. *Semin Cell Dev Biol*, 12: 193~199
- Suh PG, Park JI, Manzoli L, Cocco L, Peak JC, Katan M, Fukami K, Kataoka T, Yun S, Ryu SH (2008). Multiple roles of phosphoinositide-specific phospholipase C isozymes. *BMB Rep*, 41: 415~434
- Tang RH, Han S, Zheng H, Cook CW, Choi CS, Woerner TE, Jackson RB, Pei ZM (2007). Coupling diurnal cytosolic Ca<sup>2+</sup> oscillations to the CAS-IP<sub>3</sub> pathway in *Arabidopsis*. *Science*, 315: 1423~1426
- Tasma IM, Brendel V, Whitham SA, Bhattacharyya MK (2008). Expression and evolution of the phosphoinositide-specific phospholipase C gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol Biochem*, 46: 627~637
- Tejos R, Sauer M, Vanneste S, Palacios-Gomez M, Li H, Heilmann M, van Wijk R, Vermeer JEM, Heilmann I, Munnik T et al (2014). Bipolar plasma membrane distribution of phosphoinositides and their requirement for auxin-mediated cell polarity and patterning in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26: 2114~2128
- Thole JM, Vermeer JEM, Zhang Y, Gadella Jr TWJ, Nielsen E (2008). *ROOT HAIR DEFECTIVE4* encodes a phosphatidylinositol-4-phosphate phosphatase required for proper root hair development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 20: 381~395
- Vergnolle C, Vaultier MN, Taconnat L, Renou JP, Kader JC, Zachowski A, Ruelland E (2005). The cold-induced early activation of phospholipase C and D pathways determines the response of two distinct clusters of genes in *Arabidopsis* cell suspensions. *Plant Physiol*, 139: 1217~1233
- Vermeer JEM, Thole JM, Goedhart J, Nielsen E, Munnik T, Gadella Jr TWJ (2009). Imaging phosphatidylinositol 4-phosphate dynamics in living plant cells. *Plant J*, 57: 356~372
- Vermeer JEM, van Leeuwen W, Tobeña-Santamaria R, Laxalt AM, Jones DR, Divecha N, Gadella Jr TWJ, Munnik T (2006). Visualization of PtdIns3P dynamics in living plant cells. *Plant J*, 47: 687~700
- Vossen JH, Abd-El-Halim A, Fradin EF, van den Berg GCM, Ekengren SK, Meijer HJG, Seifi A, Bai Y, ten Have A, Munnik T et al (2010). Identification of tomato phosphatidylinositol-specific phospholipase-C (PI-PLC) family members and the role of PLC4 and PLC6 in HR and disease resistance. *Plant J*, 62: 224~239
- Wang CR, Yang AF, Yue GD, Gao Q, Yin HY, Zhang JR (2008). Enhanced expression of phospholipase C 1 (*ZmPLC1*) improves drought tolerance in transgenic maize. *Planta*, 227: 1127~1140
- Wang X (2004). Lipid signaling. *Curr Opin Plant Bio*, 7: 329~336
- Wing MR, Bourdon DM, Harden TK (2003). PLC- $\epsilon$ : a shared effector protein in Ras-, Rho-, and G $\alpha\beta\gamma$ -mediated signaling. *Mol Interv*, 3 (5): 273~280
- Zhang L, Malik S, Pang J, Wang H, Park KM, Yule DI, Blaxall BC, Smrcka AV (2013). Phospholipase C $\epsilon$  hydrolyzes perinuclear phosphatidylinositol 4-phosphate to regulate cardiac hypertrophy. *Cell*, 153 (1): 216~227
- Zhang Q, Que Y, Jing W, Li L, Zhang W (2014). Phospholipase Ds in plant response to hyperosmotic stresses. In: Wang X (ed). *Phospholipases in Plant Signaling*. Berlin: Springer-Verlag, 121~134
- Zheng SZ, Liu YL, Li B, Shang ZL, Zhou RG, Sun DY (2012). Phosphoinositide-specific phospholipase C9 is involved in the thermotolerance of *Arabidopsis*. *Plant J*, 69: 689~700