

# 植物PP2C 蛋白磷酸酶负调控ABA 信号转导途径研究进展

阮海华 (天津大学药物科学与技术学院, 天津300072)

**摘要** PP2C (PP2C type protein phosphatases) 蛋白磷酸酶是一类丝氨酸/苏氨酸残基蛋白磷酸酶, 植物体内目前已经发现了4种PP2C 蛋白磷酸酶: ABI, AtPP2C HABI, AtPP2CA 以及 MP2C。大量的研究表明植物PP2C 蛋白磷酸酶参与了 ABA 信号转导途径的负调控功能。就高等植物PP2C 的分类及其对 ABA 信号转导途径的负调控功能的研究进展进行了综述。

**关键词** PP2C 蛋白磷酸酶; ABA; 负调控

中图分类号 Q256 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)03-00652-02

## Research Progress in the Negative Regulation of PP2C type Protein Phosphatase in ABA Signaling of Plant

RUAN Hai-hua (School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072)

**Abstract** The PP2C type protein phosphatases (PP2Cs) is a distinct family of protein Ser/Thr phosphatases. Until now, four PP2Cs have been found in plants, including ABI, AtPP2C HABI, AtPP2CA and MP2C. Evidences indicated that the PP2C was involved in the negative control of ABA signaling, therefore, the category and the recent progress of PP2C in the regulation of PP2C in ABA transduction pathway in plants were briefly summarized.

**Key words** PP2C; ABA; Negative regulation

环境胁迫是限制植物生长和作物产量的重要因素, 而水分亏缺又是对植物生长最不利的因素之一。植物在长期的进化过程中形成了一系列的信号转导机制来避免引起水分亏缺。已有大量的研究表明, 植物激素 ABA 参与了包括种子萌发、休眠、营养器官发育以及胁迫耐受性等多种生理功能。其中, 蛋白质的磷酸化和去磷酸化在 ABA 参与的信号转导途径中发挥重要的功能。目前在植物中已确定了多种蛋白激酶和蛋白磷酸酶<sup>[1]</sup>。有关蛋白激酶方面的研究较多, 而蛋白磷酸酶方面的研究较少, 现有的研究已发现蛋白磷酸酶和蛋白激酶一样被受到严密的调控, 同样对生物体内的有关代谢起重要的调节作用。众所周知, 植物PP2C (PP2C type protein phosphatases) 蛋白磷酸酶是一类丝氨酸/苏氨酸残基蛋白磷酸酶, 对 ABA 信号转导途径具有负调控功能<sup>[2-3]</sup>。迄今为止, 已经发现的植物PP2C 主要包括4种: ABI1 和 ABI2, AtPP2C HABI, AtPP2CA 以及 MP2C。笔者分别对植物体内这4种重要的PP2C 功能研究进展进行综述。

## 1 PP2C 的结构

所有PP2C 类蛋白磷酸酶的一个共同特点是在蛋白质的N端或C端的催化区域有11个保守的基序(Motif)<sup>[4]</sup>, 其中大多数保守的基序与细胞内的信号转导有关, 其中包括一些跨膜区域和一些参与蛋白激酶互作的区域, 例如在有丝分裂原激活的蛋白激酶(MAPK)中发现的激酶互作基序KIM(K/R)<sub>34</sub>X<sub>1-6</sub>(L/I)X(L/I), 与动物体内发现的一些MAPK 激酶(MAPKKs)或者MAPK 磷酸酶的基序相似, 目前已经在几种PP2C 类蛋白中被鉴定出来。同样的KIM基序在植物的MAPKK中也被发现, 例如, 在苜蓿MP2C以及大部分的磷酸酶内, PP2C 催化结构域与包括KIM的N末端融合在一起<sup>[2]</sup>。

在拟南芥植物中, 由ABI1 基因编码的PP2C 则包含一个从蛋白的N末端到催化区域的一个与Ca<sup>2+</sup>结合的EF基序。而其他的PP2C 同源物如KAPP(kinase-associated protein phosphatase), 则包括3个基序, 1个N末端膜定位信号序列, 1个类似受体的激酶结构域(RLK)和1个C末端催化结构域<sup>[5]</sup>。

人类PP2C 是一个由螺旋包被的三明治结构, 其中包括4个保守的Asp残基, 1个谷氨酸以及1个由甘氨酸的羰基形成的1个结合位点, 可以结合2个邻近的Mn<sup>2+</sup>和6个水分子<sup>[6]</sup>, 这2个金属离子结合位点分别命名为M1和M2。M1包括3个水分子和2个分别位于239和282位的Asp残基; M2除了水分子以外还通过Gly61和Asp60与目标蛋白直接作用<sup>[7]</sup>; Mn<sup>2+</sup>作为亲核试剂攻击底物的磷酸基团进而发生磷酸水解反应, 实现其去磷酸化功能<sup>[6]</sup>。

目前为止, PP2C 类蛋白在人类基因组中发现大约有15个, 在线虫中有近8个, 在果蝇中有10个, 酵母菌中仅有7个, 而在拟南芥植物中有近76个, 表明植物的PP2C 蛋白磷酸酶较其他的真核生物具有更大的多样性<sup>[2]</sup>。

## 2 植物PP2C 的分类及功能

**2.1 ABI1 和 ABI2** 在拟南芥植物中, ABI1 与 ABI2 基因均编码PP2C 蛋白磷酸酶, 在转录水平上受ABA的正调控, 其中ABI1 和 ABI2 只占ABA诱导的PP2C 活性的50%, 说明植物体内还有其他的PP2C 蛋白磷酸酶参与了ABA信号转导途径, 但是目前还缺乏相关的证据<sup>[8]</sup>。通过对abi1和abi2缺失株的遗传学分析表明, ABI型PP2C 具有对ABA信号转导途径进行负调控的功能, 而PP2C 同源物KAPP 或其他蛋白磷酸酶, 例如, PP1、PP2A、PP2B 均不具有该功能<sup>[9]</sup>。ABI1 和 ABI2 基因的缺失导致植物产生一系列的生长异常, 其中包括种子发芽, 幼苗生长, 气孔的打开与关闭, 以及干旱胁迫下的生长缺陷等。

一直以来, PP2C 负调控ABA途径的机理仍不十分清楚, 最近Mshra等<sup>[10]</sup>在发现ABA调节植物气孔关闭受磷脂酶D PLD1、磷脂酸PA、ABI1和GPA1分支途径的调控。一方面, 通过在大肠杆菌中表达ABI1蛋白, 并对重组蛋白与PA之间的互作进行研究, 发现PLD1催化产生PA, PA能够与ABI1结合并抑制其磷酸酶活性进而抑制了ABI1对ABA信号途径的负调控作用, 该负调控功能可能与ABI1和SRK2E基因编码的SnRK2蛋白激酶之间的互作有关<sup>[11]</sup>, 从而提高了ABA信号, 促进保卫细胞的气孔关闭。此外, PA还具有将ABI1蛋白集聚到细胞膜上的功能, 减少了ABI1向胞浆以及细胞核内的运输, 进而对ABA信号转导途径具有正调控功能。另一方面, PLD1能够通过多重途径调节GPA1的功能,

作者简介 阮海华(1976-), 女, 内蒙古赤峰人, 博士后, 研究方向: 分子生物学。

收稿日期 2006-10-11

PLD 1 激活了鸟苷三磷酸酶活性进而将有活性的G - GTP 转化为无活性的G - GDP, G - GDP 能够与PLD 1 结合并反过来抑制其活性, 而GPA1 能够催化GTP 转化为GDP, GTP 与GPA1 的结合使G 与PLD 1 分离, 因此阻断了PLD 1 活性受抑制的途径, 从而抑制了关闭气孔的重新开放。此外, PA 作用的另一个重要的靶蛋白是鞘氨醇激酶, 其作用于GPA1 的上游, ABA 能够激活PLD 1 和鞘氨醇激酶, 同时在动物方面的研究也发现PA 能够与鞘氨醇激酶结合, 因此表明, ABI1 和GPA1 分别以PLD 1 为分支参与了保卫细胞气孔调控的信号转导。

此外, ABI1 和ABI2 能够与蛋白激酶PKS3 互作。abi1-1 和abi2-1 突变体显著抑制了scabp5 和pks3 突变体植物的种子萌发以及幼苗生长过程中对ABA 的超敏感表型, 表明ABI1 和ABI2 与Ca 调素蛋白ScaBP5 之间存在互作。ABI2 和PKS3 可能共同调控靶蛋白的磷酸化状态, ABI 同时与ABA 诱导的转录因子ATHB6 互作, ATHB6 启动子的表达在abi1-1 突变体内被破坏, 表明ABI1 作用于转录因子的上游<sup>[12]</sup>。

**2.2 AtP2C HAB1** 通过对拟南芥基因组数据库进行分析发现了一种新的与ABI1 和ABI2 结构相似的蛋白, 命名为AtP2C HAB1 (homology to ABI1/ ABI2)。该蛋白C 末端催化结构域的氨基酸序列与ABI1 和ABI2 分别具有64% 和62% 的同源性。而其N 末端比ABI1 和ABI2 相应末端序列长<sup>[13]</sup>。该基因主要在拟南芥植物的根、茎、叶、花和长脚果实内表达, 该磷酸酶的过量表达导致种子和叶肉组织对ABA 不敏感, 表明AtP2C HAB1 能够负调控ABA 信号。此外, AtP2C HAB1 的过量表达还导致气孔关闭失败, 减少了ABA 诱导基因的表达。上述证据表明, AtP2C HAB1 蛋白磷酸酶对ABA 信号转导途径具有负调控功能<sup>[2]</sup>。

**2.3 AtPP2CA** Kuhn 等<sup>[14]</sup> 在种子发芽试验中利用ABA 不敏感突变体扫描了拟南芥35S cDNA 文库, 筛选到了AtPP2CA 基因, 其过量表达导致种子发芽以及气孔关闭反应对ABA 不敏感性。相反, 该基因的缺失株则表现对ABA 超敏感, 证实了PP2C 对ABA 信号转导途径的负调控功能。同时, AtPP2CA 同源基因AHG3 也编码一种PP2C 蛋白磷酸酶, ahg3-1 突变体引起ABA 超敏感的表型。AHG3/ AtPP2CA 是种子内最活跃的PP2C, 在ABA 响应的种子发芽过程中具有重要的功能, 并且其表达的组织以及生长阶段专一性与其生理功能是密不可分的<sup>[15]</sup>。

## 2.4 MP2C

MP2C 是在苜蓿中新发现的一类PP2C 类蛋白磷酸酶, 参与了信息素诱导的细胞周期的调控, 在环境胁迫条件下, 植物叶片MP2C 被诱导, 其诱导的时间恰好与胁迫诱导蛋白激酶途径(SMK) 受抑制的时间成反比, 表明MP2C 可能是SMK 信号通路的负调控因子, 进一步将该基因在酵母中进行表达

发现, MP2C 主要作用于酵母STE11 基因产物, 一种参与胁迫响应的MAPKKK<sup>[16]</sup>。通过将MP2C 与ABI2 和AtP2C HAB1 相比较表明, 只有MP2C 能够将SMK 去磷酸化并失活, 通过酵母双杂交技术验证了MP2C 与SMK 确实存在专一性的互作<sup>[9]</sup>。通过分析SIPK 蛋白表达水平发现, MP2C 的表达并未影响SIPK HA 的水平表明: MP2C 对SIPK 作用是通过将pTEpY 基序上的苏氨酸去磷酸化实现对SMK 翻译后调控的<sup>[16]</sup>。

PP2C 是真核生物体内一大类重要的蛋白磷酸酶, 而植物体内PP2C 的巨大的多样性则表明其在不同的组织和器官中信号转导机制的多样性, 要清楚地了解PP2C 的功能以及作用机制是一项任重而道远的工作。

## 参考文献

- [1] STONE J M, WALKER J C. Hart protein kinase families and signal transduction response[J]. *Hart Physiol*, 1995, 108 (2) : 451 - 457.
- [2] SCHWEGHOFER A, HIRT H, MESKENE I. Hart PP2C phosphatases : emerging functions in stress signaling[J]. *Trends Hart Sci*, 2004, 9(5) : 236 - 243.
- [3] 胡学博, 宋凤鸣, 郑重. 高等植物中蛋白磷酸酶2C 的结构与功能[J]. *细胞生物学杂志*, 2005, 27(1) : 29 - 34.
- [4] BORKP, BROWN NP, HEGYI H, et al. The protein phosphatase 2C (PP2C) superfamily : Detection of bacterial homologues[J]. *Protein Sci*, 1996, 5(7) : 1421 - 1425.
- [5] DAS A K, HELPS NR, COHEN P T, et al. Gystal structure of the protein serine/ threonine phosphatase 2C at 2.0 resolution[J]. *EMBO J*, 1996, 15(24) : 6798 - 6809.
- [6] PULLEN KE, NG H, SUNG P, et al. An alternate conformation and a third metal in BtP/ Ppp, the Mtuberculosis PP2C family Ser/ Thr protein phosphatase[J]. *Structure*, 2004, 12(11) : 1947 - 1954.
- [7] EJELD C C, DENU J M. Kinetic analysis of human serine/ threonine protein phosphatase 2C $\alpha$ [J]. *J Bd Chem*, 1999, 274 (29) : 20336 - 20343.
- [8] MERLOT S, GOSI F, GUERRIER D, et al. The ABI1 and ABI2 protein phosphatase 2C at in a regtive feedback regulatory loop of the abscisic acid signaling pathway[J]. *Hart J*, 2001, 25(3) : 295 - 303.
- [9] MESKENE I, BALDOUN E, SCHWEGHOFER A, et al. The stress-induced protein phosphatase 2C is a regtive regulator of a nitogen-activated protein kinase[J]. *J Bd Chem*, 2003, 278(21) : 18945 - 18952.
- [10] MISHRA G, ZHANG W, DENG F, et al. A bifurcating pathway directs abscisic acid effects on stomatal closure and opening in *Arabidopsis*[J]. *Science*, 2006, 312(5771) : 264 - 266.
- [11] YOSHIDA R, UMEZAWA T, MIZOGUCHI T, et al. The regulatory domain of SRK2E/OST1/ SnRK2.6 interacts with ABI1 and integrates abscisic acid (ABA) and osmotic stress signals controlling stomatal closure in *Arabidopsis* [J]. *J Bd Chem*, 2006, 281(8) : 5310 - 5318.
- [12] GUO Y, XIONG L, SONG C P, et al. A calcium sensor and its interaction protein kinase are global regulators of abscisic acid signaling in *Arabidopsis* [J]. *Dev Cell*, 2002, 3(2) : 233 - 244.
- [13] RODRIGUEZ P L. Protein phosphatase 2C (PP2C) function in higher plants [J]. *Hart Mol Biol*, 1998, 38(6) : 919 - 927.
- [14] KUHN J M, BOISSONDERNER A, DIZON M B, et al. The protein phosphatase AtPP2CA negatively regulates abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis* and effects of abh1 on AtPP2CA mRNA [J]. *Hart Physiol*, 2006, 140 (1) : 127 - 139.
- [15] ZHANG W, QIN C, ZHAO J, et al. Phospholipase D $\alpha$  1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1 phosphatase 2C and regulates abscisic acid signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(25) : 9508 - 9513.
- [16] MESKENE I, BOGRE L, GLASER W. MP2C, a plant protein phosphatase 2C, function as a negative regulator of nitogen-activated protein kinase pathways in yeast and plants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(4) : 1938 - 1943.