

高等植物中蛋白磷酸酶 2C 的结构与功能

胡学博^{1,2} 宋凤鸣^{1*} 郑 重¹

(¹ 浙江大学农业与生物技术学院植保系, 水稻生物学国家重点实验室, 杭州 310029;

² 中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 蛋白质磷酸化/去磷酸化是生物信号级联传递的重要方式之一, 主要通过生化性质互为对立的蛋白激酶和蛋白磷酸酶实现。蛋白磷酸酶 2C(PP2C)是蛋白磷酸酶的一个分支, 其生化性质、蛋白质组成与结构都和其他磷酸酶显著不同, 但都在生物信号传递中扮演重要角色。高等植物中 PP2C 广泛参与脱落酸(ABA)的各种信号途径, 包括 ABA 诱导的种子萌发/休眠、保卫细胞及离子通道调控和气孔关闭、逆境胁迫等。PP2C 也多样地参与植物创伤反应、生长发育以及抗病性等各个途径。作为大多数信号途径的负调控因子, PP2C 能直接与激酶结合, 与其他调控蛋白结合, 以及直接与 DNA 结合调控相关基因的表达。

关键词 蛋白磷酸酶 2C(PP2C); 脱落酸; 逆境胁迫; 发育; 抗病反应

生物在不同的发育时期以及在适应多变的外界环境中, 都需要对自身基因的表达方式作出及时而准确的调整。研究表明, 蛋白质的磷酸/去磷酸化在生命活动的各个信号传递途径中扮演重要角色, 通过对底物分子的修饰和去修饰实现信号的级联和传递。这种修饰是由蛋白激酶和蛋白磷酸酶这一对酶的酶促作用完成的, 其中蛋白激酶接受上游信号分子的指令使底物分子磷酸化, 磷酸化的底物分子进而激发下游信号分子, 使信号得以传递; 而蛋白磷酸酶则是当需要解除某种受到激发的信号途径时使之还原到初始状态, 或者是保持某个信号途径的开或关时起调控作用。以往的研究主要侧重于蛋白激酶在信号传递途径中的作用, 现在也逐渐认识到蛋白质去磷酸化对生物信号传递的精细调控作用。正如 Hunter^[1]以中国古代哲学的阴阳平衡来类比一样, 蛋白激酶和蛋白磷酸酶彼此互为对立, 但又相辅相成。本文主要讨论植物中蛋白磷酸酶的分类及其成员磷酸酶 2C 的结构、功能及其研究现状和进展。

1 植物中的蛋白磷酸酶

植物中存在为数众多的蛋白激酶和磷酸酶, 参与体内庞杂信号网络的各个方面, 例如拟南芥基因组中编码蛋白磷酸酶的基因有 112 个^[2]。植物蛋白磷酸酶通常分为两大类, 即蛋白丝氨酸/苏氨酸磷酸酶 (protein Ser/Thr phosphatases, PSPs; EC 3.1.3.16)

和蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein Tyr phosphatases, PTPs; EC 3.1.3.48)。PSPs 专一去除底物蛋白上丝氨酸或苏氨酸残基的磷酸基团, 而 PTPs 则专一去除底物蛋白上酪氨酸残基的磷酸基团。此外, 还有一类对丝氨酸/苏氨酸以及酪氨酸都能起作用的双专化磷酸酶 (dual specificity phosphatases, DSPs)。

根据催化亚基的不同, PSPs 分为 PP1、PP2, 其中 PP2 则因对金属离子的不同要求进一步细分为 PP2A、PP2B、PP2C 等亚类。PP2A 维持其生物活性不需要离子参与, PP2B 需要 Ca^{2+} 参与, 而 PP2C 则需要 Mg^{2+} 。PP1、PP2A、PP2B 间有较高的序列同源性, 组成一个蛋白磷酸酶 P (protein phosphatase P, PPP) 家族; PP2C 则与需要 Mg^{2+} 的丙酮酸脱氢酶磷酸酶和另外一些丝氨酸/苏氨酸磷酸酶 (Ser/Thr phosphatases, STs) 组成蛋白磷酸酶 M (protein phosphatase M, PPM)。蛋白磷酸酶分类见图 1。

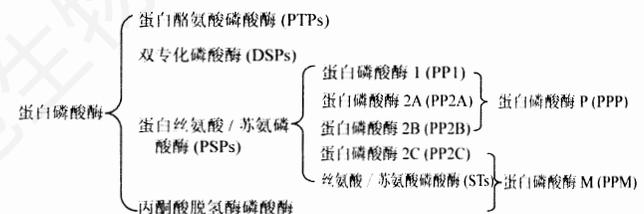


图 1 蛋白磷酸酶的分类

收稿日期: 2004-02-18 接受日期: 2004-08-27

国家自然科学基金资助项目 (No. 30170598)

* 通讯作者。Tel: 0571-86971207, E-mail: fmsong@zju.edu.cn

2 植物中 PP2C 的生化特性与蛋白质结构

PSPs 各亚类中只有 PP2C 没有调控亚基。PP2C 酶活性严格依赖 Mg^{2+} 或者 Mn^{2+} 离子。 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 等其他离子, 一般通过竞争 Mn^{2+} 或 Mg^{2+} 而使 PP2C 的活性丧失^[3, 4]。加入螯合剂 EDTA 后, PP2C 也不再具有生物活性。而对其他一些 PSPs 有显著抑制作用的海绵酸(okadaic acid)、环孢霉素(cyclosporin)等对 PP2C 活性没有影响^[1]。

植物 PP2C 蛋白 C 端有保守的催化结构域, N 端还具功能各异的延伸区。N 端延伸区是植物 PP2C 所特有的, 这些不同长度延伸区赋予 PP2C 不同功能。如 PP2C 成员之一与激酶关联的蛋白磷酸酶(kinase-associated protein phosphatase, KAPP)的 N 端携有与激酶直接相互作用的激酶作用(KI)结构域^[5, 6]。烟草的一个 PP2C 蛋白 DNA 结合的蛋白磷酸酶 1(DNA-binding protein phosphatase 1, DBP1)的 N 端具有转录因子的序列特征, 能够与防卫相关基因启动子区域结合^[7]。拟南芥中参与脱落酸(ABA)信号途径的 PP2C 蛋白 ABI1 的 N 端还对 C 端催化结构域所决定的酶活性有一定的调控作用^[8]。更有甚者, 拟南芥 PP2C 成员 POL 蛋白 N 端区域抑制了其酶活性^[9]。植物体内 PSPs 为数众多且功能多样, 缺少调控亚基的 PP2C 可能需要其多样化的 N 端在其蛋白质活性以及底物专化性识别中起重要作用。

PP2C 催化结构域十分独特。Das 等^[10]首次利用 X 晶体衍射观察到人 PP2C α 的晶体结构, 其催化结构域的主要特征为两平行 β 折叠, 当中包含双金属离子的三明治结构。其间 4 个水分子与两金属离子结合, 为去磷酸化反应提供亲水核。这个三维结构解释了 PP2C 对 Mn^{2+} 或 Mg^{2+} 的严格依赖性, 并且发现 PP2C 大多数保守残基都是位于 PP2C 本身功能的核心区域, 如与二价离子结合的序列 DGH(60~62 位氨基酸)在几乎所有的 PP2C 中都是保守的^[10]。一些保守序列对于 PP2C 的重要性, 还在突变体中得到验证, 例如拟南芥多数 ABI1、ABI2 突变体以及回复突变体都位于保守序列或其附近^[8, 11, 12]。依据催化结构域的保守性, 发现拟南芥中有 69 个 PP2C 基因^[2]。其中大多数在进化上与其他植物的关系更为密切, 形成不同的簇(cluster), 而少数则独立进化为单独的簇。植物 PP2C 基因与动物、真菌 PP2C 基因彼此有显著的不同, 归为不同的簇中^[2]。

3 植物中 PP2C 的功能

3.1 PP2C 参与 ABA 调控的各类信号途径

ABA 是一种重要的植物激素, 在植物生长发育诸如气孔关闭、种子萌发/休眠、叶片水分控制等都有显著的调控作用。同时对干旱、低温冷害及盐渍等外界环境胁迫也能有一定的适应调节反应。

3.1.1 PP2C 参与 ABA 调控的种子休眠/萌发信号途径 一般条件下, ABA 是植物种子萌发的抑制剂。已经筛选到一些 ABA 缺陷和不敏感突变体(ABI), 如 *abi1~abi5* 等, 并且克隆鉴定了这些突变体中相应的基因, 发现 *ABI3*、*ABI4*、*ABI5* 编码转录因子, 而 *ABI1* 和 *ABI2* 都编码 PP2C^[12, 13]。*ABI1* 和 *ABI2* 序列同源性很高, 但分别位于拟南芥不同染色体上。核酸序列分析表明 *abi1* 和 *abi2* 都是由 PP2C 保守结构域内的单核苷酸 G-A(*ABI1*Gly-180Asp; *ABI2*Gly-168Asp)突变引起蛋白性质变化^[12, 14]。

ABI1、*ABI2* 是 ABA 信号的负调控因子。*abi1* 和 *abi2* 均为显性突变。Gosti 等^[11]以 EMS 处理 *abi1-1* 突变体种子, 得到几株隐性回复突变体。回复突变体都是 PP2C 催化结构域内的错义突变, 突变后其蛋白丧失酶活性。由于回复突变体是隐性的, 且在种子休眠与干旱适应性上对 ABA 更为敏感, 丧失功能的 *ABI1* 基因导致植物对 ABA 适应性增强, 证明 *ABI1* 是 ABA 信号途径的负调控因子^[11]。Merlot 等^[15]以同样的方法筛选出 *abi2* 的隐性突变体 *abi2-1R*, 其 PP2C 酶活性比野生型 *ABI2* 低 100 倍, 但在种子萌发与调节气孔关闭上均与野生型无异。而回复突变体 *abi1-1R* 与 *abi2-1R* 的双突变体则又在种子萌发上比野生型更对 ABA 敏感, 表明 *abi2-1R* 突变体中 PP2C 活性的减少是由 *ABI1* 的掩盖所引起的。因此, *ABI2* 也是 ABA 信号途径的负调控因子^[15]。同时, *ABI1* 对 *ABI2* 的这种弥补效应, 说明两者功能上存在一定的重叠。

FsPP2C1 和 *FsPP2C2* 是山毛榉(*Fagus sylvatica*) 种子中两个负调控 ABA 信号转导的 PP2C 基因^[16, 17]。ABA 处理后 *FsPP2C1* 在种子中表达量上升, 且表达量与种子萌发率成反比^[16]。超量表达 *FsPP2C1* 的转基因拟南芥植株种子表现出 ABA 不敏感性, 其萌发不受 ABA 抑制, 一定时间内根生长更快, 种子对盐及渗透压的抗性显著提高, 表明 *FsPP2C1* 是 ABA 信号途径的负调控基因, 并在种子休眠/萌发生理活动中起很大作用^[18]。此外, 转基因植株地上部分也使 ABA 诱导的干旱及冷害相关的基因表达, 但并不调节气孔关闭, 反映出该基因与 *ABI1*、*ABI2* 在

信号中作用方式并不一样^[18]。*FsPP2C2* 与 *FsPP2C1* 不同, 外源 CaCl_2 对其受 ABA 的诱导有协同增效效应, 且无论添加 Ca^{2+} 外源螯合剂 EGTA 或是内源螯合剂 TMB-8, 都显著减少 *FsPP2C2* 的表达^[17]。 Ca^{2+} 如何参与调控 *FsPP2C2* 的表达尚需深入研究。

3.1.2 PP2C 参与 ABA 调控的离子通道与保卫细胞信号转导途径 ABA 参与调节植物气孔关闭已为人熟知。植物气孔的开张主要由保卫细胞的行为引起, 其中最关键的是保卫细胞慢速阴离子通道(slow anion channels, 即 S 型阴离子通道)的激活。受到激活的 S 型阴离子通道使阴离子从保卫细胞持续流出, 造成保卫细胞长时间的去极化。去极化又激发 K^+ 离子流外渗, 导致离子从保卫细胞泄漏, 膨压下降, 体积减少, 从而引起气孔关闭。

磷酸化过程在上述离子通道与保卫细胞中起调控作用。Pei 等^[19]发现保卫细胞中 S 型阴离子能被 ABA 激发, 但是在突变体 *abi1* 和 *abi2* 中受到强烈抑制, 在海绵酸处理的野生型拟南芥中也受到抑制。这些结果都表明磷酸化过程参与调控气孔关闭。由于可逆磷酸化作用一般成对出现, 在 ABA 作用下激酶抑制剂 K-252a 恢复了突变体 *abi1* 对 S 型阴离子流的激发, 但在 *abi2* 中却不能恢复。这表明 ABI2 应在 ABI1 的上游起作用, 但均在慢速离子流前^[19]。ABA 能激发野生型植株中保卫细胞胞质 Ca^{2+} 的上升, 在突变体 *abi1* 和 *abi2* 中却显著降低, 但胞质 Ca^{2+} 激发的 S 型阴离子流在 *abi1* 和 *abi2* 中并未受到抑制, 提高外源 Ca^{2+} 也能使 *abi1* 和 *abi2* 突变体引起气孔关闭。因而磷酸化又在胞质 Ca^{2+} 及阴离子流之前^[20]。

拟南芥 ABI1、ABI2 与活性氧(ROS)、NAD(P)H 及 Ca^{2+} 之间还彼此联系。有几方面证据: (1)保卫细胞受 ABA 处理后 H_2O_2 水平提高, 而且 NAD(P)H 氧化酶抑制剂 DPI 也部分抑制了 ABA 诱导的气孔关闭^[21]。(2)ABA 激发的 Ca^{2+} 通道必须依赖 NAD(P)H 以及 ABI1 和 ABI2, H_2O_2 激发的 Ca^{2+} 通道 Ca^{2+} 流在突变体 *abi2* 中受到抑制而在 *abi1* 中不受影响, 而 ABA 能增强野生型及突变体 *abi2* 的活性氧水平, 而突变体 *abi1* 不受影响^[22]。

拟南芥 AtPP2CA 也可能参与气孔关闭。AtPP2CA 是拟南芥另一个不同于 ABI1、ABI2 的 PP2C 蛋白, 但也是为 ABA 信号途径的负调控因子^[23]。研究发现, AtPP2CA 与 AKT2 相互作用^[24]。AKT2 是调控 K^+ 流通道的一个蛋白质, 其功能主要与木质部 K^+

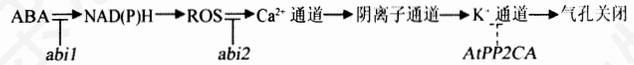


图2 ABA 引起气孔关闭的信号转导过程

运输有关。而 *AtPP2CA* 基因也在拟南芥保卫细胞表达^[24], 因此, *AtPP2CA* 参与的 K^+ 通道可能也与气孔关闭有关。

根据上述结果, ABA 调控气孔关闭的信号传递可总结如图 2。

3.1.3 PP2C 参与 ABA 调控的抗逆信号途径 作为 ABA 信号途径的上游分子, ABI1、ABI2 与 ABA 调控的多样性一致, 在逆境适应性中也起作用。ABI1 基因在冷害处理后的早期(30 min~1 天内)表达上调, 后下降。ABI1 基因突变体在冷害、脱水及盐处理中均受到抑制^[23]。ABI2 基因在冷害处理上与 ABI1 有相似之处, 冷害胁迫基因 *RAB18* 均有表达^[12], 但是在 ABA 诱导的干旱胁迫下, 乙醇脱氢酶在 *abi2* 中表达, 而在 *abi1* 中则不受影响^[25]。相反, 干旱生根能力^[26]以及水胁迫响应基因 *ATHB-7*^[27]及几个冷害诱导基因 *CORs*^[28]则只在 *abi1* 突变体中受到抑制, 而在 *abi2* 中无变化。这些说明对于不同环境胁迫, ABI1 和 ABI2 作用既有重叠, 也存在分歧。

AtPP2CA 基因也受冷害及 ABA 诱导。但受冷害表达模式与 ABI1、ABI2 不同, 它在正常情况下只有较弱的基础表达水平, 而在冷害处理后的极短的时间内(40 s)就开始表达, 而且能持续 4~5 天^[23]。反义抑制 *AtPP2CA* 基因表达的植株提高了对 ABA 的敏感性, 表现得更抗冷害。一些冷害及 ABA 诱导的基因在反义抑制表达植株中表达量也有提高, 也说明 *AtPP2CA* 是冷害及 ABA 诱导的负调控基因^[23]。

ABI2 还参与盐逆境信号。盐过度敏感突变体 2 (salt overly sensitive 2, SOS2)基因是拟南芥一个编码蛋白激酶的耐盐基因。酵母双杂交筛选到 SOS2 的专化作用蛋白为 ABI2。缺失突变分析表明这种作用依赖激酶中一个保守的 37 aa 蛋白磷酸酶互作模体序列^[29]。与 SOS2 互作的还有另一个蛋白质 SOS3, 作用区域是紧邻蛋白磷酸酶互作模体序列的另一个保守模体序列。SOS2、SOS3 之间的互作并不直接依靠磷酸化 / 去磷酸化作用, 但其复合体则可调节 Ca^{2+} 信号^[29]。因此这种作用可能发生在盐逆境信号传递的早期。

3.2 PP2C 参与植物创伤信号途径

PP2C 也参与植物创伤信号转导。生物体内往

往存在多个 MAPK 级联系统, 当受到外界不同刺激, 如渗透压、UV 辐射及生物因子作用时, 启动相应的 MAPK 系统。而当信号需要解除时, 则需要抑制相应的 MAPK 级联。MAPK 的抑制主要通过去磷酸化作用。Meskiene 等^[30]从苜蓿中筛选到一个抑制 MAPK 级联系统分支 SAMK(stress-activated MAPK)途径的蛋白磷酸酶 2C 基因 *MP2C*。受到创伤的苜蓿, 其 SAMK 途径瞬时被激发, 随后 *MP2C* 基因开始表达, 抑制 SAMK 信号传递途径。随后证实 *MP2C* 是作为一个负调控因子起作用的^[31]。创伤反应中 *MP2C* 直接抑制的是 SIMK (stress-inducible MAPK), MAPK 级联系统的另一分支。两者直接作用并依赖 *MP2C* 磷酸酶活性^[31]。由于盐逆境、微生物激发子、创伤等都能激发 SIMK, *MP2C* 如何抑制 SAMK 途径以及 SIMK、SAMK 两个途径在创伤反应中信号如何交流目前还不清楚。

以往研究表明, 以十八烷途径为基础的脂肪酸也参与植物创伤信号传递^[32]。*PP2C* 可能参与这个信号途径, 因为十八烷途径的主要产物长链非饱和脂肪酸与 α 亚麻酸是 *MP2C* 的有效抑制剂^[3], 但是非饱和脂肪酸体外却可以激发哺乳动物 *PP2C α* 、*PP2C β* 的活性, 扩大 Mg^{2+} 发挥作用的浓度范围^[4]。由于这些都是针对体外重组蛋白质的研究, 目前仍不知道植物逆境下是否会诱导产生这些脂肪酸, 它们是否以及多大程度上增强或者抑制 *PP2C* 酶活性, 这种效应又在那些具体途径中发挥作用, 仍需进行深入的研究阐明。

3.3 *PP2C* 参与植物发育生长

高等植物生长发育过程中, 需要维持茎中柱细胞增殖与分化的适当比例, 适时分化出器官, 保持正常株形株貌。植物体内有专门的信号途径, 调控形态与器官形成基因的表达。

KAPP 最初作为受体样激酶 5(receptor-like kinase 5, *RLK5*)相互作用的蛋白质筛选出来的^[5]。近来研究表明, *KAPP* 直接与多个器官形成的蛋白质相互作用。*CLAVATA1(CLVI)*是维持拟南芥细胞增殖与分化平衡的一个基因, *clv1* 突变体导致器官在错误部位形成、花与茎秆粗大等畸形^[33]。*CLVI* 编码受体激酶, 具胞外串联的富含亮氨酸重复序列结构域、疏水膜结合结构域以及胞内保守的 Ser/Thr 蛋白激酶结构域^[33]。分析表明, *CLVI* 能与 *KAPP* 专一结合, 而且必须依赖 *KAPP* 的 KI 结构域。将 *KAPP* 导入突变表型不同的 *clv1* 株系中强表达, 发现

KAPP 表达量与 *clv1* 的抑制率呈反比, 表明 *KAPP* 为 *CLVI* 的负调控因子^[34]。免疫沉淀发现与 *CLVI* 抗血清结合的抗体蛋白有 185 kDa 与 450 kDa 两个。在 450 kDa 复合体中, 含有 *KAPP* 以及另一个 Rho GTPase 相关的蛋白质, 在复合物中 *KAPP* 直接与 *CLVI* 作用。此后还发现形成这个复合物还有必须另外一个蛋白质 *CLV3* 的参与。*CLV3* 功能上与 *CVL1* 相差无几。450 kDa 复合物在 *clv3* 突变体中不能形成, *CLV3* 可能是帮助 *CLVI* 形成复合物的辅助蛋白^[35]。

与拟南芥 *KAPP* 结合的蛋白质可能还有更多。*KAPP* 还与另外一个蛋白质 *AtSERK1*(somatic embryogenesis receptor kinase 1)相互作用。*AtSERK1* 也是一个结构上与 *CLVI* 很类似的蛋白激酶^[36], 不同的是, 它仅在拟南芥胚珠及早期胚胎发育中表达。细胞定位分析表明, *KAPP* 与 *AtSERK1* 均能同时定位于质膜与胞内泡囊上, 但两者仅在泡囊上直接接触, 即 *KAPP* 的作用仅当 *AtSERK1* 进入到胞内时才与之结合^[36]。现在还不清楚是否有其他的蛋白质参与这一作用。

*POLTERGEIST(POL)*也是参与调控植物茎分生组织发育的一个 *PP2C* 基因^[9]。遗传分析还表明在调控中柱发育信号中 *POL* 位于 *CLVI* 下游元件^[37]。*POL* 蛋白结构不同于一般 *PP2C*, 在其 C 端催化结构域有一大约 200 氨基酸的插入。体外表达的 C 端催化区域具有典型 *PP2C* 的性质, 但整个蛋白质则无酶活性, 表明 N 端区域抑制了其活性^[9]。*POL* 在植物的多个器官表达, 并且在相当一些植物中保守, 代表一类新的 *PP2C* 基因^[9, 37]。

3.4 *PP2C* 参与植物抗病反应

植物为应对真菌、病毒、细菌等生物因子的侵害, 形成一套有效的防御体系。植物识别到入侵的病原菌时, 会迅速激活体内的一系列抗病信号, 并传递到细胞核, 激活防卫反应基因的表达, 产生各种抗病防卫反应。水杨酸(SA)、乙烯(ET)、茉莉酸(JA)是植物抗病信号转导途径中的重要信号分子。最近研究还表明, *PP2C* 也参与植物的抗病信号途径。

烟草抗病相关的 *PP2C* *DBP1* 是具 DNA 结合活性的蛋白磷酸酶, 是人们首次发现磷酸酶直接作为转录因子的例子。*DBP1* 结合于一个编码木质素超氧化物酶基因 *CEVI-1*(citrus exocortis viroid induced-1)的启动子^[7]。*CEVI-1* 是西红柿受柑桔裂皮类病毒诱导表达的一个防卫基因, 与一般防卫相关基因表

达模式不同，它不受 SA、ET 或 JA 的诱导。*CEVI-1* 启动子含两个生长素(IAA)反应元件，该基因也的确受 IAA 诱导表达^[38]。但随后研究表明真正结合 *CEVI-1* 基因启动子区域的是 DBP1^[7]。DBP1 含有典型 PP2C 的催化结构域和催化活性，在其序列相对非保守 N 端具转录因子结构特征。

KAPP 也可以在拟南芥抗病反应中担任信号分子。这时 KAPP 与细胞壁相关受体激酶 1(wall-associated receptor kinase 1, wak1)和一个富甘氨酸的胞外蛋白 AtGRP-3 相结合，形成一个三聚单体^[39]。*WAK1* 和 *AtGRP-3* 基因表达都受 SA 诱导，并且依赖 SA 下游的 NPR1/NIM1 途径。在三聚物中，AtGRP-3 与 WAK1 的胞外结构域相结合，而 KAPP 则可能在胞内与 WAK1 的胞内部分结构域结合^[39]。这种结合使得信号跨过膜结构，在质膜内外得到传递。

4 PP2C 在植物体内的靶标

4.1 PP2C 与激酶的相互作用

KAPP 是能与多个激酶相互作用的一个独特的 PP2C 蛋白。目前发现与 KAPP 作用的激酶有 RLK5、CLV1 和 AtSERK1^[5, 34, 36]。Li 等^[40]在 KAPP 的 KI 结构域中进一步鉴定到以 FHA(forkhead associated)为中心的 119 aa 区域，FHA 结构域通常只有 55~75 aa，且十分保守。核磁共振研究表明 KAPP 蛋白 KI-FHA 结构域含多个 β 折叠，其中存在识别其他蛋白质的保守区域，并由一些表面残基决定特异性^[41]。与 KAPP 作用的激酶也有大致相当的二级结构，因而这可能是 KAPP 能与多个蛋白质结合的生化基础。这些激酶都能在其丝氨酸/苏氨酸残基上发生自身磷酸化，KAPP 的结合可促进其磷酸化复位，使初始信号得到还原。但是现在不清楚是什么机制调控 KAPP 和不同的蛋白质有序结合，并在植物的不同发育阶段行使不同的功能。

除 KAPP 与激酶直接作用外，创伤信号中 MP2C 与 SIMK 的互作，盐逆境信号中 ABI2 与 SOS2 的互作，也都表明 PP2C 与激酶的直接作用^[29]。

4.2 PP2C 与转录因子相互作用

PP2C 也能通过与转录因子结合，调控基因表达。利用酵母双杂交筛选到与 ABI1 作用的基因 *ATHB6*，两者的结合必须依赖 ABI1 蛋白的酶活性，突变体 *abi1* 不能与 *ATHB6* 结合^[42]。*ATHB6* 是一类同源亮氨酸拉链(homeodomain-leucine zipper)类型的

转录因子，它在植物种子中组成性表达，但在缺水、渗透胁迫以及外源 ABA 处理条件下能迅速表达，而在 *abi1* 突变体中，*ATHB6* 的表达受到抑制^[43]。此外转基因分析表明 *ATHB6* 启动子受 ABA 强烈诱导^[43]，说明 *ATHB6* 基因本身的表达即受 ABA 信号调控，而且其产物也参与 ABA 信号的传递。

4.3 PP2C 与其他蛋白质的作用

利用酵母双杂交还筛选到其他与 PP2C 相互作用的蛋白质。以 K⁺ 通道蛋白 AKT2 为诱饵，筛选到与之作用的蛋白质 AtPP2CA^[26]。

4.4 PP2C 与 DNA 的结合

PP2C 还作为转录因子与 DNA 结合，调节目的基因的表达。DBP1 能够与防卫相关基因启动子区域结合。它含有典型 PP2C 的催化结构域和催化活性，在其相对非保守的 N 端也具有转录因子的序列特征^[8]。目前尚不知保守的磷酸酶活性是否在两者的结合中发挥作用。

5 小结

作为重要的信号分子，PP2C 在植物体内为数众多，且有保守的结构特征和理化性质。PP2C 参与植物体内多种信号途径，包括参与 ABA 各个途径、逆境适应、生长发育以及抗病等。大量的 PP2C 基因已经克隆到，目前研究主要集中于他们在不同信号途径的角色，少数基因如 *ABI1*、*ABI2* 的生物功能已经了解比较清楚；寻找 PP2C 作用受体成为蛋白磷酸酶的研究热点，是因为可以明确信号经由 PP2C 传递的分子事件，酵母双杂交技术为这一研究提供了极大的便利。今后将会明确更多 PP2C 的功能，一旦信号途径中其他相关基因也得到认识之后，有可能揭示该信号转导的具体过程。

参考文献 (References)

- [1] Hunter T. *Cell*, 1995, **80**: 225
- [2] Kerk D et al. *Plant Physiol*, 2002, **129**: 908
- [3] Baudouin E et al. *Plant J*, 1999, **20**: 343
- [4] Klumpp S et al. *FEBS Lett*, 1998, **437**: 229
- [5] Stone JM et al. *Science*, 1994, **266**: 793
- [6] Li J et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 7821
- [7] Carrasco JL et al. *EMBO J*, 2003, **22**: 3376
- [8] Sheen J. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 975
- [9] Yu LP et al. *Curr Biol*, 2003, **13**: 179
- [10] Das AK et al. *EMBO J*, 1996, **15**: 6798
- [11] Gosti F et al. *Plant Cell*, 1999, **11**: 1897
- [12] Leung J et al. *Plant Cell*, 1997, **9**: 759
- [13] Meyer K et al. *Science*, 1994, **264**: 1452

- [14] Bertauche N *et al.* *Eur J Biochem*, 1996, **241**: 193
[15] Merlot S *et al.* *Plant J*, 2001, **25**: 295
[16] Lorenzo O *et al.* *Plant Physiol*, 2001, **125**: 1949
[17] Lorenzo O *et al.* *Physiol Plant*, 2002, **114**: 482
[18] Gonzalez-Garcia MP *et al.* *Plant Physiol*, 2003, **133**: 135
[19] Pei ZM *et al.* *Plant Cell*, 1997, **9**: 409
[20] Allen GJ *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 1785
[21] Pei ZM *et al.* *Nature*, 2000, **406**: 731
[22] Murata Y *et al.* *Plant Cell*, 2001, **13**: 2513
[23] Tahiharju S *et al.* *Plant J*, 2001, **26**: 461
[24] Cheral I *et al.* *Plant Cell*, 2002, **14**: 1133
[25] de Bruxelles GL *et al.* *Plant Physiol*, 1996, **111**: 381
[26] Vartanian N *et al.* *Plant Physiol*, 1994, **104**: 761
[27] Soderman E *et al.* *Plant J*, 1996, **10**: 375
[28] Gilmour SJ *et al.* *Plant Mol Biol*, 1991, **17**: 1233
[29] Ohta M *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 11771
[30] Meskiene I *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 1938
[31] Meskiene I *et al.* *J Biol Chem*, 2003, **278**: 18945
[32] Conconi A *et al.* *Plant Physiol*, 1996, **111**: 797
[33] Clark SE, *et al.* *Cell*, 1997, **89**: 575
[34] Stone JM *et al.* *Plant Physiol*, 1998, **117**: 1217
[35] Trotochaud AE *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 393
[36] Shah K *et al.* *Genes Dev*, 2002, **16**: 1707
[37] Yu LP *et al.* *Development*, 2000, **127**: 1661
[38] Mayda E *et al.* *Mol Plant Microbe Interact*, 2000, **13**: 23
[39] Park AR *et al.* *J Biol Chem*, 2001, **276**: 26688
[40] Li J, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 7821
[41] Lee GI *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 11261
[42] Himmelbach A *et al.* *EMBO J*, 2002, **21**: 3029
[43] Soderman E *et al.* *Plant Mol Biol*, 1999, **40**: 1073

The Structure and Function of Protein Phosphatase 2Cs in Higher Plants

Xue-Bo Hu^{1,2}, Feng-Ming Song^{1*}, Zhong Zheng¹

(¹State Key Laboratory for Rice Biology and Department of Plant Protection, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; ²Institute of Microbiology, Chinese Academy of Science, Beijing 100080, China)

Abstract Protein phosphorylation and dephosphorylation, which are mainly done by protein kinases and phosphatases, two kinds of enzymes possessing converse functions, are most important aspects of signal transduction pathways in all kinds of organisms. Protein phosphatase 2Cs (PP2Cs) are a subfamily of protein phosphatases and their biochemical properties and protein structures distinguish themselves from any other subgroups. Plant PP2Cs have been demonstrated to play important roles in abscisic acid (ABA)-activated multiple signal transductions, such as ABA-induced seed dormancy/germination, guard cell closure, ion tunnel regulation and stress acclimation. Meanwhile, plant PP2Cs have also been shown to be involved in signaling in wound response, development and pathogen resistance. As negative regulatory factors of many signaling events, PP2Cs can interact with kinases, other regulatory proteins, or directly combine with DNA to control expression of corresponding genes.

Key words protein phosphatase 2C (PP2C); abscisic acid; stress response; development, resistance response

Received: February 18, 2004 Accepted: August 27, 2004

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30170598)

*Corresponding author. Tel: 86-571-86971207, E-mail: fmsong@zju.edu.cn