

植物中一氧化氮参与的蛋白质翻译后修饰

吴飞华^{1,2} 肖强^{4,2} 陈娟^{1,2} 裴真明^{2*} 郑海雷^{1,2,3*}

(¹ 厦门大学亚热带湿地生态系统研究教育部重点实验室, 厦门 361005; ² 厦门大学生命科学学院, 厦门 361005; ³ 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361005; ⁴ 湖北省生物资源保护与利用重点实验室, 恩施 445000)

摘要 一氧化氮(NO)作为信号分子在植物的生长发育中发挥着重要的调控功能。对其在信号转导中的作用机制的研究也不断深入, NO主要由依赖于cGMP的途径发挥作用。近年来, 不依赖于cGMP途径的研究受到越来越多的关注。在不依赖于cGMP途径中, NO能直接对蛋白质进行修饰, 行使其调控功能。本文综述了NO直接与蛋白质中的过渡金属形成金属亚硝酰化(metal nitrosylation)、对蛋白质半胱氨酸残基的S-亚硝酰化(S-nitrosylation)和酪氨酸残基的硝基化(tyrosine nitration)等蛋白质翻译后修饰, 及其在NO介导的细胞信号转导途径中的作用。

关键词 一氧化氮; 蛋白质翻译后修饰; S-亚硝酰化; 酪氨酸硝基化

近年来, 一氧化氮(nitric oxide, NO)在植物体内的合成途径、生理功能及信号转导等方面的研究均取得了很大进展^[1~4]。在植物体内, NO可经内源代谢生成, 其合成机制包括硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)途径^[5,6]和非酶促合成途径^[7], 而类似于哺乳动物一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)的植物NOS尚未能确认。虽然Guo等^[8]报道在拟南芥中克隆到*AtNOS1*, 并发现该基因通过影响NO的产生^[8,9]在植物生长、激素应答^[8]及其开花^[10]等关键生理过程中起了重要的作用, 但随后有研究者提出质疑, 认为它表达的是一个定位在线粒体内类似GTPase的蛋白质, 并不具有NOS活性^[11], 而最新的研究^[12]则表明该蛋白质定位在叶绿体中, 并表现出涉及叶绿体内核糖体装配的功能。近两年仍有研究证明植物中存在NOS活性^[13,14], 由此看来, 植物中可能还是存在类似动物NOS的蛋白质。

植物NO信号转导中的作用机制目前认为主要有两条途径(与哺乳动物细胞中类似): 依赖于cGMP的途径和不依赖于cGMP的途径, 此外还有一些其他的信号转导途径共存, 包括环核苷酸、Ca²⁺等(图1)^[3,15]。很多研究利用药理学方法证明NO可引发植物体内cGMP含量的上升, 而施加鸟苷酸环化酶(guanylate cyclase, GC)抑制剂可阻断NO引发的很多下游响应过程, 这些充分说明cGMP参与了NO介导的细胞信号转导途径^[3]。此外, 在植物中NO也可通过依赖于cADPR的信号网络起作用, 且cGMP和cADPR可进而调节Ca²⁺通道活性, 从而提高胞质Ca²⁺浓度^[3], 这

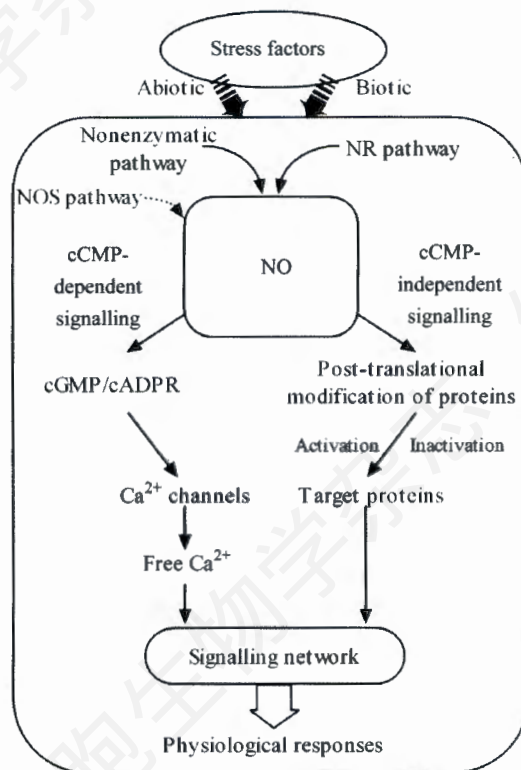


Fig.1 The NO signal transduction pathway in plants^[1]

些NO介导的第二信使通过信号调控网络影响植物的生长发育。

收稿日期: 2008-05-12 接受日期: 2009-02-02

国家自然科学基金(No.30670317, No.30770192, No.30271065)、

厦门大学启动基金(NCETXMU07115, X09111)资助项目

* 共同通讯作者。Tel: 0592-2181005, Fax: 0592-2181015, E-mail: zmpei@xmu.edu.cn, zhenghl@xmu.edu.cn

而 NO 不依赖于 cGMP 的信号转导途径则主要是通过 NO 参与的蛋白质翻译后修饰来实现。作为活性氮(reactive nitrogen species, RNS)的一种, NO 在植物体内以多种形式存在, 能直接对蛋白质进行修饰, 主要包括与蛋白质中的过渡金属(Fe、Cu、Zn、Mn 等)共价结合形成金属亚硝酰化(metal nitrosylation)、对蛋白质半胱氨酸残基的 S-亚硝酰化(S-nitrosylation)和酪氨酸残基的硝基化(tyrosine nitration)修饰等方式。此外, NO 还可通过调节蛋白激酶(protein kinases, PKs)对目的蛋白进行磷酸化修饰。

早年对 NO 信号转导途径的研究多集中在依赖于 cGMP 的途径, 但植物中的 GC 活性在体外并不被 NO 所影响^[16], 在植物细胞中 NO 是如何调控 cGMP 的合成仍不清楚。此外, NO 在植物抗逆、病原入侵、细胞程序性死亡、开花、根的向地性等诸多方面发挥重要的作用, NO 功能的多样性如何实现, 与植物激素等其他生长调节物质间的关系等均是研究热点问题。

近年来 NO 参与的蛋白质翻译后修饰在 NO 信号转导途径中的作用受到广泛关注, 蛋白质翻译后修饰使蛋白质的结构更为复杂, 功能更为完善, 调节更为精细, 作用更为专一, NO 功能的多样性有可能就是通过复杂的蛋白质翻译后修饰实现的。

1 NO与蛋白质中过渡金属离子的金属亚硝酰化修饰

在哺乳动物细胞中, NO 诱导 cGMP 的产生, 就是通过 NO 与可溶性的 GC 中血红素基团的 Fe 共价结合后, 促使 GC 活性短暂升高 200 多倍, 形成大量 cGMP 并立即激活下游靶目标^[3]。

在植物中, NO 也能通过金属亚硝酰化修饰对其信号转导进行调控。在 NO 清除机制中, 血红蛋白(haemoglobins, Hbs)就可通过其血红素基团和 NO 结合, 从而调控植物体内 NO 功能, 特别是在缺氧胁迫及病原侵害时植物 Hbs 对 NO 生物活性的调节已有相当多的研究^[17]。纯化的拟南芥非共生型血红蛋白 AHb1 在有 O₂ 时和 NO 反应, 生成硝酸盐和高铁血红蛋白, NADPH 直接将中间产物高铁血红蛋白中的 Fe³⁺ 还原为 Fe²⁺, 这样 AHb1 可不断与 NO 反应, 达到“消除”NO 的目的^[18]。

值得注意的是, 最近的研究表明硝酸还原酶(NR)作为含有血红素基团的蛋白质, 其活性也会受其副产物 NO 的调控^[19]。外源 NO 供体硝普钠(sodium nitro-

prusside, SNP)、偶氮烯翁二醇[2-(N,N-diethylamino)-diazene-2-oxide sodium, DEA NONOate]以及气体 NO 都能显著提高植物体内 NR 活性^[19], 但并不直接影响 NR 的表达量。进一步研究表明, NO 可能是与 NR 的血红素基团和 / 或钼辅因子作用, 提高其活性。有趣的是, 在动物细胞中 NO 也可与 NOS 中的金属共价结合, 但会导致 NOS 活性下降^[4]。

此外, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)与 NO 密切相关, 而含有血红素基团的质外体抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)和过氧化氢酶(catalase, CAT)也是 NO 的靶蛋白, 在烟草超敏反应(hypersensitive response, HR)中产生的 NO 抑制这些酶活性, 减少 H₂O₂ 降解^[20]。

NO 不仅能够与蛋白质中的 Fe 共价结合, 而且不论在缺铁^[21]还是过量铁胁迫^[22]下的植物铁代谢响应机制中, NO 都是一个关键的组分。其机制之一是 NO 能与顺乌头酸酶(aconitase)的铁硫基团作用, 抑制其活性, 并将胞内顺乌头酸酶转化为一种涉及到胞内铁平衡的蛋白(iron-regulatory protein, IRP1), 随之胞内铁蛋白(ferritin)含量下降, 导致游离铁增多^[23]。

2 NO对蛋白质半胱氨酸残基的 S-亚硝酰化修饰

1994 年, Stamler^[24]首次提出蛋白质 S-亚硝酰化修饰的概念: NO 与蛋白质半胱氨酸的巯基 -SH 作用生成 -SNO, 从而调控胞内氧化还原信号转导过程。

蛋白质 S-亚硝酰化修饰包括两种方式: 一种是蛋白质半胱氨酸残基被 NO (主要是通过 NO⁺ 形式)直接修饰; 另一种则是由 NO 转化的其他活性成分通过转亚硝酰化作用对蛋白质进行修饰, 这些活性成分主要包括氮氧化物(NO_x)、过渡金属与 NO 作用的复合物(M-NO)、低分子量巯基亚硝酰化化合物(RSNO)以及过氧化亚硝酸根离子(ONOO⁻)等^[25]。

目前认为蛋白质 S-亚硝酰化修饰与蛋白质磷酸化修饰类似, 通过改变蛋白质空间构象修饰其活性, 而且两者有许多共同的靶点: 酶、离子通道、表面受体、转录因子、激酶等^[26]。但与蛋白质磷酸化修饰仅有的“有无”两种修饰状态相比, 由于多种活性氧 ROS 和 RNS 之间会在蛋白质的同一个巯基上竞争反应位点, 因此蛋白质的巯基呈现出多种“渐进”的活性响应形态, 蛋白质亚硝酰化修饰也被人称为潜在的“纳米传感器”^[3]。

Lindennayr 等^[27]利用生物素标记(biotin switch)

的蛋白质组学方法,首次证明 NO 参与的 S-亚硝酰化修饰也存在于植物中,已经鉴定出许多蛋白质是 S-亚硝酰化作用的候选靶对象,其中利用 NO 供体亚硝基谷胱甘肽(S-nitrosoglutathione, GSNO)处理拟南芥悬浮细胞发现 63 个发生 S-亚硝酰化修饰的蛋白质,而用气体 NO 处理的叶片中则有 52 个蛋白质被修饰。这些蛋白质功能主要涉及胁迫响应、氧化还原、信号转导/调节、细胞骨架和代谢相关等方面,且有近 50% 的靶蛋白与动物细胞中的 S-亚硝酰化修饰靶蛋白类似^[27]。其中值得注意的是,很多叶绿体蛋白会发生 S-亚硝酰化修饰,特别是 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶(1,5-bisphosphate ribulose carboxylase, Rubisco)等参与卡尔文循环的重要蛋白质,这与叶绿体是 NO 主要产生来源之一相符^[13]。而 PSII 蛋白早在 2002 年就被发现 NO 能可逆性抑制其光合磷酸化活性^[28], 现在的研究则表明 PSII 蛋白也是 NO 作用的 S-亚硝酰化修饰的靶蛋白之一^[27]。此外,靶蛋白中还包括甘油醛-3-磷酸脱氢酶蛋白(GAPDH)等 5 个与糖酵解途径有关的酶类。

Romero-Puertas 等^[29]也利用同样的方法找到了拟南芥在 HR 反应中 16 个受 S-亚硝酰化修饰的靶蛋白,主要涉及中间代谢、信号转导以及抗氧化酶等,其中与 Lindennayr 等^[27]的研究结果相同或相关的有 5 个,如 GAPDH、Rubisco 大亚基等。此外还有一些蛋白质是首次发现会受到 NO 的修饰,丙二烯氧化物环化酶(allene oxide cyclase, AOC)就是其中之一,它能把一种不稳定的具有立体特异性的丙二烯氧化物催化氧化成茉莉酸(JA)的最终前体^[30],且该酶是 JA 合成途径中的关键调控酶之一^[31],而 JA 在植物对生物和非生物胁迫响应中与 NO 密切相关,表明 AOC 在发生 S-亚硝酰化后生物功能的变化可能是将 NO 与 JA 的生物合成联系在一起的重要环节。

而对一种 CAM 植物 *Kalanchoe pinnata* 的类似研究^[32]也找到了 19 个靶蛋白,太多与拟南芥中发现的蛋白质相同,未被报道的靶蛋白包括:类驱动蛋白(kinesin)运动蛋白、乙醇酸氧化酶、UDP-葡萄糖-4-差向异构酶、DNA 拓扑异构酶 II 等。

除蛋白质组学外,还可以通过生物信息学的手段对 S-亚硝酰化修饰加以分析。对动物细胞中可被 S-亚硝酰化修饰的蛋白质特征结构域(motif)的分析表明,存在 680 多个潜在的靶蛋白^[33]。而在拟南芥的蛋白质数据库中,用特征结构域[GSTCYNQ]-[KRHDE]-C-[DE]进行搜索,可得到 99 个匹配的蛋白

质^[34],此外 Wang 等^[25]也提出另一个 NO 的靶蛋白结构域:[HKR]-C-[VILMFWC]-x-[DE] (x 为任意氨基酸)。植物中这些潜在的靶蛋白主要涉及细胞信号转导、物质运输、细胞周期和新陈代谢等^[34],但与蛋白质组学研究结果相比较,两者之间相同的蛋白质很少^[2]。这种差异说明 S-亚硝酰化修饰可能主要由蛋白质空间构象决定,胞内 pH、氧化还原状态、金属离子含量以及蛋白质巯基的电离常数(pKa)或疏水性等都可以通过影响蛋白质构象来调控 S-亚硝酰化修饰^[25]。

对于植物中发现的 S-亚硝酰化修饰靶蛋白,还需要进一步通过生化、分子等手段研究其修饰后的蛋白质活性、生理功能的变化,目前仅有 5 个蛋白质进行了相关的研究。如上文提到的拟南芥非共生血红蛋白 AHb1,其清除 NO 的功能有一部分是通过 S-亚硝酰化的方式实现^[18]。Lindennayr 等^[27]则着重研究了甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH),结果表明在体外试验中该蛋白质也会被 S-亚硝酰化修饰,并抑制其活性。值得注意的是, GAPDH 不仅会被 NO 所修饰,在 ROS(如 H_2O_2)的攻击下其巯基也会被修饰, Hancock 等^[35]研究发现 GAPDH 是 H_2O_2 的下游靶蛋白之一。而 H_2O_2 与 NO 关系密切,在 ABA 介导的气孔关闭过程中, H_2O_2 的产生是 NO 产生所必须的^[6], GAPDH 同时受 NO 和 H_2O_2 的调控,表明 GAPDH 很可能是这两个信号分子调控途径的交汇点之一。此外, Lindennayr 等^[36]还对蛋氨酸腺苷转移酶(methionine adenosyl transferase, MAT)进行深入研究,发现在体外重组纯化的三种 MAT 中只有 MAT1 活性受 NO 抑制,而 MAT 的产物 S-腺苷蛋氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)是甲基化的甲基供体,也是多胺和乙烯合成的前体。NO 通过 S-亚硝酰化下调 MAT1 的活性,降低了 SAM 的含量,从而可以调控乙烯合成,而且蛋氨酸腺苷合成酶(SAM synthetase)也是 S-亚硝酰化修饰的靶蛋白之一^[27],说明 S-亚硝酰化参与 NO 对乙烯信号途径的调控。此外 NO 还可使拟南芥半胱氨酸依赖的天冬氨酸特异蛋白酶原(metacaspase 9)在一个特定 Cys 残基上发生 S-亚硝酰化,从而调控其活性^[37]。另外,最新研究^[38]表明,过氧化物酶家族的 peroxidase II E (PrxII E)活性受 NO 参与的 S-亚硝酰化修饰后下降,从而导致 ONOO⁻ 积累,这一发现说明 NO 可通过 S-亚硝酰化对自身活性成分的转变进行调控。

蛋白质 S-亚硝酰化修饰是一种可逆性的特异修饰,包括亚硝酰化、转亚硝酰化和去亚硝酰化,其

中最重要的转亚硝酰化作用是通过 GSNO 还原酶(S-nitrosoglutathione reductase, GSNOR)来实现的^[25]。而利用 T-DNA 插入 *AtGSNOR1* 构建的拟南芥突变体中, 蛋白质 S-亚硝酰化水平增高, 并且这些 S-亚硝酰化修饰的蛋白质在植物抗菌中发挥核心作用, 导致抗菌能力下降, 相应地, 过表达 GSNOR 的植株则表现出更高的抗菌能力^[39]。而最近有研究^[40]表明, 豌豆在镉(Cd)胁迫下, GSNOR 的表达与活性都会显著降低, 且 NO 会促进 Cd 的胁迫作用, 这说明 S-亚硝酰化修饰在非生物胁迫和生物胁迫的应答机制中都会发挥作用。此外 GSNOR 在水杨酸(SA)信号途径中也是一个关键组分^[41], 在缺失 *AtGSNOR1* 的拟南芥突变体中 SA 的积累和作用都被削弱^[39], 表明 NO 与 SA 信号转导途径间可能通过 GSNOR 交叉调控。

3 NO对蛋白质酪氨酸残基的硝基化修饰

NO 还可引起蛋白质酪氨酸残基的硝基化修饰, 其作用机制主要是 NO 与超氧自由基 O_2^- 或过氧化氢 (H_2O_2) 作用, 生成的 $ONOO^-$ 或二氧化氮 (NO_2) 与蛋白质的酪氨酸残基作用, 引起酪氨酸硝基化修饰^[42]。

已有研究证明, 在离体条件下 $ONOO^-$ 可引起蛋白质酪氨酸硝基化^[43]。而在利用反义技术下调亚硝酸还原酶(nitrite reductase, NiR)的烟草中, NO 释放量上升近 100 倍, 同时蛋白质酪氨酸硝基化修饰程度也大幅增加^[44]。在盐胁迫下的橄榄叶片中, 随 NO 的积累也发现大量蛋白质酪氨酸硝基化现象^[45]。其原因可能是高浓度 NO 通过对 PrxII E 进行 S-亚硝酰化修饰后抑制其活性, 积累的 $ONOO^-$ 会促进酪氨酸的硝基化^[38]。不过 NO_2 所触发的酪氨酸硝基化在植物体中也占据了主要的地位^[46], 有研究表明 3 种拟南芥血红蛋白在表现出类似过氧化物酶活性的同时, 也可在植物体内不同程度的促进蛋白质酪氨酸硝基化修饰^[47]。

酪氨酸硝基化修饰作为一种不可逆的蛋白质修饰, 在植物的信号转导机制中的功能仍不明确。在动物中的研究表明, 酪氨酸残基的硝基化可以改变蛋白质的构象、功能活性以及对蛋白酶降解的敏感度, 例如人体在遭受病原体入侵时, 过氧化物歧化酶(Mn-SOD)会发生酪氨酸硝基化修饰从而改变活性^[42]。此外, 蛋白质酪氨酸硝基化和酪氨酸磷酸化也有非常密切的关系, 一方面两者会相互竞争位点, 阻止蛋白质发生磷酸化; 另一方面, 酪氨酸硝基化修饰可能在结构上能模仿磷酸化修饰所引起的构象变化, 从而起

到类似磷酸化的作用^[48]。

4 NO参与的其他蛋白质翻译后修饰

NO 不仅可以通过 S-亚硝酰化、酪氨酸硝基化修饰来影响蛋白质的磷酸化状态, NO 也可通过蛋白质激酶直接调控蛋白质的磷酸化修饰。在 NO 参与的信号级联网络中, 蛋白质激酶就是主要成分之一^[1-3], 已有不少研究工作利用 “in-gel kinase assay” 方法鉴定了一些受外源 NO 快速而短暂诱导的蛋白质激酶, 其中大多数都表现出 MAPK 活性, 此外 NO 还能诱导烟草丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 NtOSAK 活性^[49], 调节依赖于 Ca^{2+} 的蛋白激酶(Ca^{2+} -dependent protein kinases, CDPK)活性^[50]等。其中 NO 激活的蛋白质激酶 NtOSAK 可以通过质膜和胞内 Ca^{2+} 通道发挥作用, 促进胞内钙信号的产生, 从而为 NO 与第二信使 Ca^{2+} 的交互提供了新的证据^[49]。但是 NO 如何激活蛋白激酶尚未有深入研究, 通过生物信息学的研究表明, 有些 MAPK 包含 S-亚硝酰化特征结构域^[2], 暗示 NO 可能是通过 S-亚硝酰化来调控蛋白激酶活性的。

另外, 泛素化也是蛋白质翻译后修饰的一种, 它作为蛋白质降解的主要途径, 在植物的生长发育中也起着重要作用^[51]。在拟南芥中, 高铁诱导铁蛋白的产生, 其重要机制在于 NO 作为关键组分, 通过激发铁蛋白基因 *AtFer1* 转录抑制因子的泛素化, 导致该转录抑制因子被 26S 蛋白酶体降解, 从而铁蛋白的表达量上升^[22]。而植物激素的信号途径与关键转录因子的泛素化密切相关^[51], NO 也可能通过调控植物激素信号途径中 F-box 蛋白家族及其泛素化机制, 与诸多植物激素间进行交互调控^[2]。

5 展望

随着对 NO 信号转导研究的不断深入, NO 参与的蛋白质翻译后修饰在 NO 下游信号转导途径中的作用日益受到人们的关注。正如前文所述, 一方面, NO 可通过蛋白质修饰影响 NR、PrxII E 等活性, 调控自身产生强度和活性成分组成; 另一方面 Hbs 也可通过 Fe 的价态转变和 S-亚硝酰化作用来清除 NO。NO 通过该机制可直接调控众多 NO 上下游信号转导途径元件, 而且 ABA、SA、JA 以及乙烯等植物激素信号转导途径与 NO 信号转导途径的交叉很有可能也是通过 NO 所参与的蛋白质翻译后修饰来实现的(图 2)。

不过依赖 cGMP 途径中各 NO 信号转导途径关

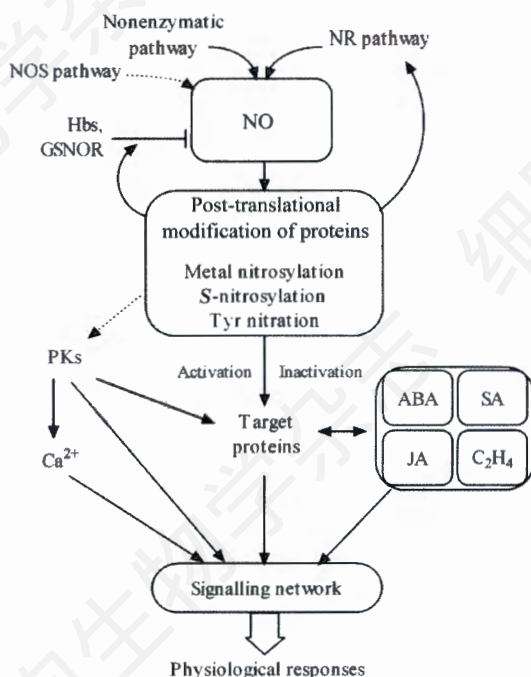


Fig.2 The roles of post-translational modification of proteins in the NO signal transduction pathway in plants ^[4]

键组分与 NO 参与的蛋白质修饰之间的交互关系仍不清楚,植物中是否还存在可感受 NO 的 GC,以及 NO 如何通过激酶直接引起 Ca^{2+} 的浓度变化等问题还有待进一步研究。

在诸多 NO 参与修饰的靶蛋白中,对蛋白质修饰后活性变化及其生理功能研究较少。且 NO 参与的蛋白质翻译后修饰依赖于胞内氧化还原环境,调控机制非常复杂,与胞内 ROS 等成分如何交互调控,也是深入研究 NO 参与蛋白质翻译后修饰的重要问题。

此外,NO 与其他蛋白质翻译后修饰的关系也是值得关注的重要领域。在动物细胞中,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)在 S-亚硝酰化后与泛素化途径中的 E3 连接酶 Siah1 相互作用,共同入核,造成泛素化介导的核靶蛋白的降解,导致细胞凋亡^[52]。在植物细胞中,GAPDH 在 NO 处理下^[27]以及病原入侵的 HR 过程中^[29]都发生其 S-亚硝酰化修饰,在 HR 过程中是否也能与泛素化等其他蛋白质翻译后修饰相互作用诱导细胞凋亡还有待进一步研究。

参考文献(References)

[1] Arasimowicz M, Floryszak-Wieczorek J. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses, *Plant Sci*, 2007, 172(5): 876-887
[2] Wilson ID, Neill SJ, Hancock JT. Nitric oxide synthesis and

signalling in plants, *Plant Cell Environ*, 2008, 31(5): 622-631
[3] Neill SJ, Desikan R, Hancock JT. Nitric oxide signalling in plants, *New Phytol*, 2003, 159(1): 11-35
[4] Besson-Bard A, Pugin A, Wendehenne D. New insights into nitric oxide signaling in plants, *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 21-39
[5] Rockel P, Strube F, Rockel A, *et al*. Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate reductase *in vivo* and *in vitro*, *J Exp Bot*, 2002, 53(366): 103-110
[6] Bright J, Desikan R, Hancock JT, *et al*. ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H_2O_2 synthesis, *Plant J*, 2006, 45(1): 113-122
[7] Bethke PC, Badger MR, Jones RL. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues, *Plant Cell*, 2004, 16(2): 332-341
[8] Guo FQ, Okamoto M, Crawford NM. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling, *Science*, 2003, 302(5642): 100-103
[9] Vitecek J, Reinohl V, Jones RL. Measuring NO production by plant tissues and suspension cultured cells, *Mol Plant*, 2008, 1 (2): 270-284
[10] He YK, Tang RH, Hao Y, *et al*. Nitric oxide represses the *Arabidopsis* floral transition, *Science*, 2004, 305(5692): 1968-1971
[11] Zemojtel T, Frohlich A, Palmieri MC, *et al*. Plant nitric oxide synthase: a never-ending story?, *Trends Plant Sci*, 2006, 11 (11): 524-525
[12] Flores-Perez U, Sauret-Gueto S, Gas E, *et al*. A mutant impaired in the production of plastome-encoded proteins uncovers a mechanism for the homeostasis of isoprenoid biosynthetic enzymes in *Arabidopsis* plastids, *Plant Cell*, 2008, 20(5): 1303-1315
[13] Jasid S, Simontacchi M, Bartoli CG, *et al*. Chloroplasts as a nitric oxide cellular source. Effect of reactive nitrogen species on chloroplastic lipids and proteins, *Plant Physiol*, 2006, 142(3): 1246-1255
[14] Tischner R, Galli M, Heimer YM, *et al*. Interference with the citrulline-based nitric oxide synthase assay by argininosuccinate lyase activity in *Arabidopsis* extracts, *FEBS J*, 2007, 274(16): 4238-4245
[15] 肖强,郑海雷.一氧化氮与植物胁迫响应, *植物生理学通讯*, 2004, 40(3): 379-384
[16] Ludidi N, Gehring C. Identification of a novel protein with guanylyl cyclase activity in *Arabidopsis thaliana*, *J Biol Chem*, 2003, 278(8): 6490-6494
[17] 陈娟,肖强,裴真明,等.对植物血红蛋白功能的新发现——调节 NO 的生物活性, *细胞生物学杂志*, 2007, 29(4): 513-518
[18] Perazzolli M, Dominici P, Romero-Puertas MC, *et al*. *Arabidopsis* nonsymbiotic hemoglobin AHb1 modulates nitric oxide bioactivity, *Plant Cell*, 2004, 16(10): 2785-2794
[19] Du ST, Zhang YS, Lin XY, *et al*. Regulation of nitrate reductase by nitric oxide in Chinese cabbage pakchoi (*Brassica chinensis* L.), *Plant Cell Environ*, 2008, 31(2): 195-204
[20] Clarke A, Desikan R, Hurst RD, *et al*. NO way back: nitric oxide and programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures, *Plant J*, 2000, 24(5): 667-677
[21] Graziano M, Lamattina L. Nitric oxide accumulation is re-

- quired for molecular and physiological responses to iron deficiency in tomato roots, *Plant J*, 2007, 52(5): 949-960
- [22] Arnaud N, Murgia I, Boucherez J, *et al.* An iron-induced nitric oxide burst precedes ubiquitin-dependent protein degradation for *Arabidopsis AtFer1* ferritin gene expression, *J Biol Chem*, 2006, 281(33): 23579-23588
- [23] Navarre DA, Wendehenne D, Durner J, *et al.* Nitric oxide modulates the activity of tobacco aconitase, *Plant Physiol*, 2000, 122(2): 573-582
- [24] Stamler JS. Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide, *Cell*, 1994, 78(6): 931-936
- [25] Wang Y, Yun BW, Kwon E, *et al.* S-nitrosylation: an emerging redox-based post-translational modification in plants, *J Exp Bot*, 2006, 57(8): 1777-1784
- [26] Lane P, Hao G, Gross SS. S-nitrosylation is emerging as a specific and fundamental posttranslational protein modification: head-to-head comparison with O-phosphorylation, *Sci STKE*, 2001, 2001(86): RE1
- [27] Lindermayr C, Saalbach G, Durner J. Proteomic identification of S-nitrosylated proteins in *Arabidopsis*, *Plant Physiol*, 2005, 137(3): 921-930
- [28] Takahashi S, Yamasaki H. Reversible inhibition of photophosphorylation in chloroplasts by nitric oxide, *FEBS Lett*, 2002, 512(1-3): 145-148
- [29] Romero-Puertas MC, Campostrini N, Mattè A, *et al.* Proteomic analysis of S-nitrosylated proteins in *Arabidopsis thaliana* undergoing hypersensitive response, *Proteomics*, 2008, 8(7): 1459-1469
- [30] Ziegler J, Stenzel I, Hause B, *et al.* Molecular cloning of allene oxide cyclase. The enzyme establishing the stereochemistry of octadecanoids and jasmonates, *J Biol Chem*, 2000, 275(25): 19132-19138
- [31] Stenzel I, Hause B, Maucher H, *et al.* Allene oxide cyclase dependence of the wound response and vascular bundle-specific generation of jasmonates in tomato - amplification in wound signalling, *Plant J*, 2003, 33(3): 577-589
- [32] Abat JK, Mattoo AK, Deswal R. S-nitrosylated proteins of a medicinal CAM plant *Kalanchoe pinnata* - ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity targeted for inhibition, *FEBS J*, 2008, 275(11): 2862-2872
- [33] Hess DT, Matsumoto A, Kim SO, *et al.* Protein S-nitrosylation: purview and parameters, *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(2): 150-166
- [34] Huber SC, Hardin SC. Numerous posttranslational modifications provide opportunities for the intricate regulation of metabolic enzymes at multiple levels, *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7(3): 318-322
- [35] Hancock JT, Henson D, Nyirenda M, *et al.* Proteomic identification of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase as an inhibitory target of hydrogen peroxide in *Arabidopsis*, *Plant Physiol Bioch*, 2005, 43(9): 828-835
- [36] Lindermayr C, Saalbach G, Bahnweg G, *et al.* Differential inhibition of *Arabidopsis* methionine adenosyltransferases by protein S-nitrosylation, *J Biol Chem*, 2006, 281(7): 4285-4291
- [37] Belenghi B, Romero-Puertas MC, Vercammen D, *et al.* Metacaspase activity of *Arabidopsis thaliana* is regulated by S-nitrosylation of a critical cysteine residue, *J Biol Chem*, 2007, 282(2): 1352-1358
- [38] Romero-Puertas MC, Laxa M, Matte A, *et al.* S-nitrosylation of peroxiredoxin II E promotes peroxynitrite-mediated tyrosine nitration, *Plant Cell*, 2007, 19(12): 4120-4130
- [39] Feechan A, Kwon E, Yun BW, *et al.* A central role for S-nitrosothiols in plant disease resistance, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(22): 8054-8059
- [40] Barroso JB, Corpas FJ, Carreras A, *et al.* Localization of S-nitrosoglutathione and expression of S-nitrosoglutathione reductase in pea plants under cadmium stress, *J Exp Bot*, 2006, 57(8): 1785-1793
- [41] Shah J. The salicylic acid loop in plant defense, *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 6(4): 365-371
- [42] Radi R. Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(12): 4003-4008
- [43] Delledonne M, Zeier J, Marocco A, *et al.* Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(23): 13454-13459
- [44] Morot-Gaudry-Talarmin Y, Rockel P, Moureaux T, *et al.* Nitrite accumulation and nitric oxide emission in relation to cellular signaling in nitrite reductase antisense tobacco, *Planta*, 2002, 215(5): 708-715
- [45] Valderrama R, Corpas FJ, Carreras A, *et al.* Nitrosative stress in plants, *FEBS Lett*, 2007, 581(3): 453-461
- [46] Brennan ML, Wu WJ, Fu XM, *et al.* A tale of two controversies - Defining both the role of peroxidases in nitrotyrosine formation *in vivo* using eosinophil peroxidase and myeloperoxidase-deficient mice, and the nature of peroxidase-generated reactive nitrogen species, *J Biol Chem*, 2002, 277(20): 17415-17427
- [47] Sakamoto A, Sakurao S, Fukunaga K, *et al.* Three distinct *Arabidopsis* hemoglobins exhibit peroxidase-like activity and differentially mediate nitrite-dependent protein nitration, *FEBS Lett*, 2004, 572(1-3): 27-32
- [48] Zaninotto F, La Camera S, Polverari A, *et al.* Cross talk between reactive nitrogen and oxygen species during the hypersensitive disease resistance response, *Plant Physiol*, 2006, 141(2): 379-383
- [49] Lamotte O, Courtois C, Dobrowolska G, *et al.* Mechanisms of nitric-oxide-induced increase of free cytosolic Ca²⁺ concentration in *Nicotiana plumbaginifolia* cells, *Free Radical Biol Med*, 2006, 40(8): 1369-1376
- [50] Lanteri ML, Pagnussat GC, Lamattina L. Calcium and calcium-dependent protein kinases are involved in nitric oxide- and auxin-induced adventitious root formation in cucumber, *J Exp Bot*, 2006, 57(6): 1341-1351
- [51] Stone SL, Callis J. Ubiquitin ligases mediate growth and development by promoting protein death, *Curr Opin Plant Biol*, 2007, 10(6): 624-632
- [52] Hara MR, Agrawal N, Kim SF, *et al.* S-nitrosylated GAPDH initiates apoptotic cell death by nuclear translocation following Siah1 binding, *Nat Cell Biol*, 2005, 7(7): 665-674

Nitric Oxide Participates Post-translational Modification of Proteins in Plants

Fei-Hua Wu^{1,2}, Qiang Xiao^{4,2}, Juan Chen^{1,2}, Zhen-Ming Pei^{2*}, Hai-Lei Zheng^{1,2,3*}

(¹Key Laboratory for Subtropical Wetland Ecosystem Research (Xiamen University), Ministry of Education, Xiamen 361005, China; ²School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China; ³State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China; ⁴Key Laboratory of Biological Resources Protection and Utilization of Hubei Province, Enshi 445000, China)

Abstract Nitric oxide (NO) as a key signaling molecule plays crucial roles in plant growth and development. A decade-long investigation focused on the signal transduction pathway of NO. In plants, the signaling of NO mostly be realized via a cGMP-dependent pathway, until recently researchers are beginning to unravel the mechanisms underlying the cGMP-independent pathway. In this pathway, NO exerts its cellular effects through interacts with target proteins directly. This review discusses the post-translational modification of proteins triggered by NO, which includes metal nitrosylation, S-nitrosylation and tyrosine nitration in plants.

Key words nitric oxide; post-translational modification; S-nitrosylation; tyrosine nitration

Received: May 12, 2008 . Accepted: February 2, 2009

This work was supported by the Natural Science Foundation of China (No.30670317, No.30770192, No.30271065) and the Startup Fund from Xiamen University (NCETXMU07115, X09111)

*Corresponding author: Tel: 86-592-2181005, Fax: 86-592-2181015, E-mail: zmpei@xmu.edu.cn, zhenghl@xmu.edu.cn