

领域前沿 · 中国



柴继杰, 国家杰出青年科学基金获得者, 长江学者, 博士生导师, 清华大学生命科学学院教授。1997年毕业于中国协和医科大学药物研究所, 获博士学位; 1999–2004年于美国普林斯顿大学做博士后研究工作; 2004–2009年任北京生命科学研究所以实验室主任; 2009年至今在清华大学生命科学学院任教授。2009年被评为长江学者, 2010年获得国家杰出青年基金。中国晶体学会理事, 中国生物化学、分子生物学会蛋白质学专业委员会成员。2004年建立独立实验室以来, 柴继杰研究组长期从事具有重要生物学意义的蛋白质晶体结构研究, 解析了许多重要的结构, 作为通讯作者在Nature、Science、Nat Struct Mol Biol、Nat Neuro Sci、Mol Cell、Structure、Plant Cell、Cell Host Microbe、Cell Res等国际高影响力著名学术期刊上发表学术论文23篇, 尤其在植物受体激酶的研究方面作出了出色的成绩。该实验室近几年解析了BRI1LRR-BL-BAK1LRR、FLS2LRR-flg22-BAK1LRR、AtCERK1-chitin等许多植物重要受体激酶复合物结构。课题组近期在Nature上发表论文报道了植物重要受体激酶植物磺化肽激素受体(phytosulfokine receptor, PSKR)激活复合物结构, 揭示了植物磺化肽激素(phytosulfokine, PSK)的识别和受体激活分子机理(Wang *et al.* Nature 2015)。

植物肽激素受体激活的新机制

王继纵^{1#} 李红菊^{2#} 韩志富¹ 张贺桥¹ 王童² 林光忠¹ 常俊标³ 杨维才^{2*} 柴继杰^{1*}

(¹清华大学-北京大学生命科学联合中心, 清华大学生命科学学院, 结构生物学中心, 教育部蛋白质科学重点实验室, 北京 100084; ²中国科学院遗传与发育生物学研究所, 分子发育生物学国家重点实验室, 北京 100101; ³郑州大学化学与分子工程学学院, 郑州 450001)

摘要 植物磺化肽类激素(phytosulfokine, PSK)是植物肽类激素的典型代表, 它是两个酪氨酸磺酸化修饰的直链五肽, 在植物体的生长和发育过程中有广泛而重要的调控作用。PSK发挥作用需要被细胞膜上的受体激酶PSKR(phytosulfokine receptor)识别来进行信号转导。但目前该肽激素的信号识别和其受体激活的分子机制还不清楚。该实验室通过解析PSKR胞外结构域没有结合PSK和结合PSK以及结合PSK和共受体这三种状态的晶体学结构, 直观而全面地揭示了激素识别和受体激活的分子机制。PSK通过形成反向 β 片层与PSKR岛区中的 β 片层互作而结合, PSK的两个磺酸化基团直接参与同PSKR的结合。通过遗传和生化等实验的验证, 发现PSK可以介导PSKR和体细胞胚胎发育受体激酶(somatic embryogenesis receptor like kinases, SERKs)的结合。进一步通过解析PSK-PSKR-SERK的受体激活复合物的晶体学结构发现, PSK没有同SERK结合, 而是通过诱导PSKR岛区的构象变化来别构介导PSKR与SERK结合, 这一机制区别于经典的“分子胶”模式。该研究揭示了PSK识别的分子机制和受体PSKR的激活新机制。

[#]共同第一作者

*通讯作者。Tel: 010-62797718, E-mail: chajij@mails.tsinghua.edu.cn; Tel: 010-64807761, E-mail: wcyang@genetics.ac.cn

[#]These authors contributed equally to this work

*Corresponding authors. Tel: +86-10-62797718, E-mail: chajij@mails.tsinghua.edu.cn; Tel: +86-10-64807761, E-mail: wcyang@genetics.ac.cn

网络出版时间: 2016-02-16 16:57:28

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160216.1657.002.html>

关键词 植物磺化肽类激素(PSK); 植物磺化肽类激素受体(PSKR); 体细胞胚胎发育受体激酶(SERKs); 识别机制; 激活机制; 别构受体激活

Receptor Allosteric Activation by the Plant Peptide Hormone Phytosulfokine

Wang Jizong^{1#}, Li Hongju^{2#}, Han Zhifu¹, Zhang Heqiao¹, Lin Guangzhong¹,
Chang Junbiao³, Yang Weicai^{2*}, Chai Jijie^{1*}

(¹Ministry of Education Key Laboratory of Protein Science, Center for Structural Biology, School of Life Sciences, Tsinghua-Peking Joint Center for Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China; ²State Key Laboratory of Molecular Developmental Biology, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; ³Department of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract Phytosulfokine (PSK) is a kind of typical plant peptide signals, but has conserved five-amino acids sequence and two tyrosine sulfation modification in different species, playing a ubiquitous role in plant growth and development. PSK is perceived by its receptor PSKR, a leucine-rich repeat receptor kinase (LRR-RK). But the mechanism underlying recognition and activation remain elusive. Here we provide structural evidence that PSK mainly binds the island domain and the inner surface LRRs of PSKR, and PSK binding renders the island domain well structured by inducing violently conformational change. The two sulfate moieties of PSK directly interact with PSKR, sensitizing PSKR recognition of PSK. Supported by several lines of evidence, we verify that PSK binding induces PSKR heterodimerization with somatic embryogenesis receptor like kinases (SERKs). Our ternary activation complex structure reveals that PSK is not involved in PSKR-SERK interaction but stabilizes PSKR island domain for recruitment of a SERK, which differs to the classic “molecular glue” mechanism. Our data reveal the structural basis for PSKR recognition of PSK and an unprecedented mechanism of ligand-induced RK heterodimerization.

Keywords phytosulfokine (PSK); phytosulfokine receptor (PSKR); somatic embryogenesis receptor like kinases (SERKs); recognition mechanism; activation mechanism; allosteric receptor activation

1 植物肽类激素及其受体

植物经典激素都是小分子化合物并且对植物生理活动具有广泛而重要的调控作用^[1]。但最近十几年的研究表明,植物肽类激素同植物经典激素一样,调节着植物体的生长、发育、免疫和抗逆等生理活动^[2]。自从1991年番茄系统素作为第一个植物肽类激素被发现之后^[3],很多植物肽类激素被陆续鉴定。目前,植物肽类激素根据其序列特点可以分为两大类:一类是小的带有翻译后修饰的肽类激素,它们是前体肽激素经过翻译后剪切并加以磺酸化、羟基化和糖基化等修饰产生的小肽段;另一类是富含半胱氨酸的多肽激素,它们是含有多对分子内二硫键、有高级结构的小蛋白^[4-5]。肽类激素不能自由跨膜运输,因此需要位于细胞膜表面的特异性受体

来进行信号转导。目前的研究表明,植物肽类激素受体都是受体激酶(receptor-like kinases, RLKs)或者受体蛋白(receptor-like proteins, RLPs),从结构域组成看,RLKs含有一个胞外配体结合结构域、一个单次跨膜结构域和一个胞内激酶结构域,而RLPs缺少胞内激酶结构域^[6]。植物磺化肽类激素(phytosulfokine, PSK)是1996年被发现和研究的一种含两个酪氨酸磺化修饰的五肽激素[Tyr(SO₃H)-Ile-Tyr(SO₃H)-Thr-Gln]^[7]。后续的研究表明,它在植物的生长发育、抗逆和先天免疫等方面有广泛调控作用^[8-9]。PSK发挥活性是通过与细胞膜上的受体激酶-植物磺化肽类激素受体(phytosulfokine receptor, PSKR)结合来发挥功能的^[10-12]。但PSK如何结合受体PSKR以及后续的PSK-PSKR识别复合物如何招募共受体成员来激活

PSK信号通路的分子机制还需要阐明。

2 PSK被受体PSKR识别的分子机制

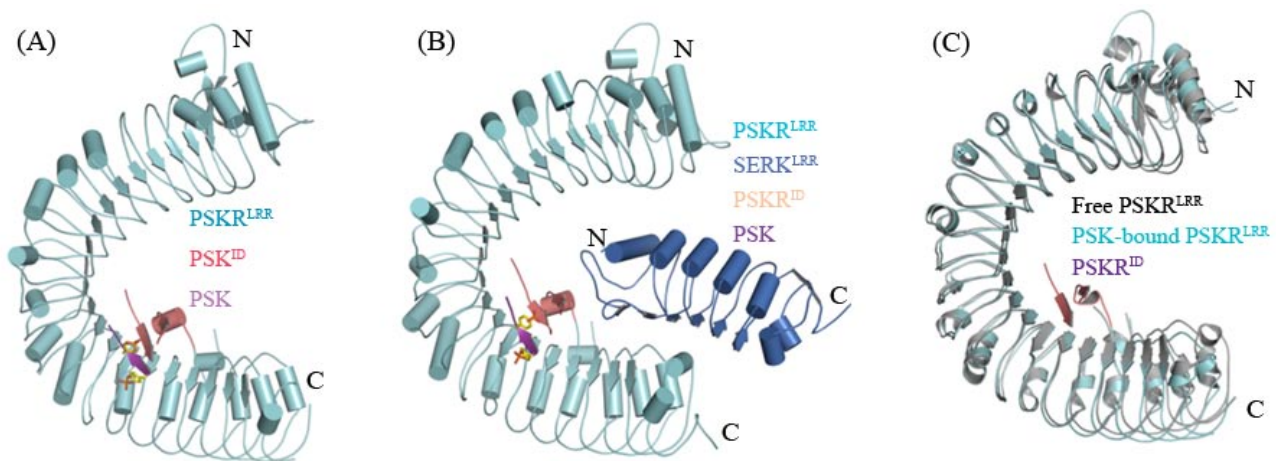
根据已知的PSK-PSKR的配体-受体关系, 我们利用结构生物学的方法成功解析受体PSKR胞外区(PSKR^{LRR})结合PSK的复合物结构(图1A)。根据结构我们清楚地看到, PSK主要与PSKR岛区(PSKR island domain, PSKR^{ID})互作, 本来线性的多肽也因为与受体互作而形成一个反向的 β 片层二级结构, 夹在PSKR^{LRR}内侧和PSKR^{ID}之间形成类似“三明治”结构。PSK的两个磷酸根通过与受体PSKR的直接互作来加强PSKR对PSK的识别。基于结构的观察, 我们设计了PSKR结合PSK关键氨基酸位点的突变分析实验, 进一步通过微量热泳动体外亲和力测定实验和体内遗传互补实验, 我们验证了这些氨基酸位点对于PSK识别的重要性, 从而具体阐释了PSK被受体PSKR识别的分子机制。

3 PSKR受体激活的新机制

虽然有关PSK生理学功能的研究已经取得相当多的进展, 但对于PSK结合PSKR之后如何激活PSKR受体的研究依旧处于空白。体细胞胚胎发育受体激酶(somatic embryogenesis receptor kinase, SERK)家族成员作为共受体参与植物受体激酶的激活已经在油菜素内酯受体1(brassinolide insensitive 1, BRI1)和鞭毛蛋白受体2(flagellin-sensitive 2, FLS2)

被广泛证明^[13-14], 且相关的激活复合物结构也被我们成功地解析并报道^[15-17]。基于对这些受体激酶结构的深入分析和理解, 加上已知文献报道的PSKR同BRI1属于同一受体激酶家族^[6]和PSK能促进体细胞胚胎发育的生理学表型^[18]同SERK功能相似的事实, 我们提出SERK家族成员可能作为共受体参与PSKR的受体激活。首先, 我们利用体外生化重组的实验成功组装了PSK-PSKR^{LRR}-SERK^{LRR}三元复合物, 从而初步证明了我们的假设。然后, 通过与中国科学院遗传与发育研究所杨维才研究员研究组合作, 利用植物体内生化和遗传学的方法, 最终证明了SERK家族成员参与肽激素PSK介导的信号转导通路。这是利用结构生物学指导发现信号转导通路新成分的成功案例。

之后经过大量结晶尝试, 我们成功解析了PSK-PSKR^{LRR}-SERK^{LRR}三元激活复合物的晶体学结构(图1B)。SERK主要通过其N-端的loop区域同PSKR的岛区互作以及通过SERK^{LRR}内侧 β 片层同PSKR^{LRR}的C-端内侧 β 片层互作来结合到PSK-PSKR^{LRR}复合物上形成激活复合物。但是该受体激活复合物的最突出特点是, 配体PSK完全不参与同共受体SERK的结合, 这似乎与“PSK介导的PSKR与SERK的互作”的结论矛盾。为了解决这个矛盾, 我们进一步解析单独的PSKR结构并与PSK结合的PSKR结构进行对比分析(图1C), 发现了PSK通过诱导原本无序的受体PSKR岛区产生与共受体SERK结合的有序新界面从



A: PSK-PSKR^{LRR}识别复合物结构; B: PSK-PSKR^{LRR}-SERK^{LRR}激活复合物结构; C: 单独的PSKR^{LRR}和结合PSK的PSKR^{LRR}结构比较。

A: overall structure of PSK-PSKR^{LRR} recognition complex; B: overall structure of PSK-PSKR^{LRR}-SERK^{LRR} activation complex; C: structural comparison of free PSKR^{LRR} and PSK-bound PSKR^{LRR}.

图1 植物磺化肽激素PSK的分子作用机制(根据参考文献[19]修改)

Fig.1 The molecular mechanism of phytosulfokine (modified from reference [19])

而别构激活受体PSKR的新机制。

4 未来的研究方向和应用

磺酸化修饰是植物肽类激素的一种常见的翻译后修饰, 我们的研究首次揭示磺酸化修饰对于配体-受体结合的分子学功能。PSKR也是继BRI1之后第二个被解析的以岛区结合配体的植物受体激酶, 印证了BRI1的岛区识别理论^[20-21], 但PSK的结合对PSKR岛区的构象改变更加剧烈并产生规则的结构域, 且该结构域将介导后续的共受体SERK结合, 这一点丰富了植物受体激酶岛区的功能。PSK-PSKR-SERK激活复合物是第一个植物肽类激素的激活复合物结构, 为其他植物肽类信号的受体激酶活化提供思路, 并进一步推广了植物受体激酶异元二聚化的活化模式和SERK家族的信号枢纽功能, 同时也为PSK信号通路更多下游成分的鉴定提供线索, 为其他含有类似PSKR岛区的受体蛋白家族的激活分子机制提供暗示^[22]。我们的研究从结构角度首次揭示配体通过别构诱导受体构象变化来介导受体与共受体互作的受体激活模式, 区别于BRI1和FLS2通过配体的“胶联”作用结合共受体^[15-16,23]的这一类似于植物经典激素受体活化的“分子胶”模式。另外, 基于PSK受体结构的PSK类似物的研发可用于提高作物产量的生长添加剂, 具有重要的实际应用意义。

参考文献 (References)

- Matsubayashi Y, Sakagami Y. Peptide hormones in plants. *Annu Rev Plant Biol* 2006; 57: 649-74.
- Murphy E, Smith S, de Smet I. Small signaling peptides in *Arabidopsis* development: How cells communicate over a short distance. *Plant Cell* 2012; 24(8): 3198-217.
- Pearce G, Strydom D, Johnson S, Ryan CA. A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. *Science* 1991; 253(5022): 895-7.
- Matsubayashi Y. Post-translational modifications in secreted peptide hormones in plants. *Plant Cell Physiol* 2011; 52(1): 5-13.
- Matsubayashi Y. Posttranslationally modified small-peptide signals in plants. *Annu Rev Plant Biol* 2014; 65: 385-413.
- Morillo SA, Tax FE. Functional analysis of receptor-like kinases in monocots and dicots. *Curr Opin Plant Biol* 2006; 9(5): 460-9.
- Matsubayashi Y, Sakagami Y. Phytosulfokine, sulfated peptides that induce the proliferation of single mesophyll cells of *Asparagus officinalis* L. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(15): 7623-7.
- Kutschmar A, Rzewuski G, Stuhrowoldt N, Beemster GT, Inze D, Sauter M. PSK-alpha promotes root growth in *Arabidopsis*. *New Phytol* 2009; 181(4): 820-31.
- Stuhrowoldt N, Dahlke RI, Steffens B, Johnson A, Sauter M. Phytosulfokine-alpha controls hypocotyl length and cell expansion in *Arabidopsis thaliana* through phytosulfokine receptor 1. *PLoS One* 2011; 6(6): e21054.
- Matsubayashi Y, Ogawa M, Morita A, Sakagami Y. An LRR receptor kinase involved in perception of a peptide plant hormone, phytosulfokine. *Science* 2002; 296(5572): 1470-2.
- Matsubayashi Y, Ogawa M, Kihara H, Niwa M, Sakagami Y. Disruption and overexpression of *Arabidopsis* phytosulfokine receptor gene affects cellular longevity and potential for growth. *Plant Physiol* 2006; 142(1): 45-53.
- Amano Y, Tsubouchi H, Shinohara H, Ogawa M, Matsubayashi Y. Tyrosine-sulfated glycopeptide involved in cellular proliferation and expansion in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(46): 18333-8.
- Belkhadir Y, Yang L, Hetzel J, Dangl JL, Chory J. The growth-defense pivot: Crisis management in plants mediated by LRR-RK surface receptors. *Trends Biochem Sci* 2014; 39(10): 447-56.
- Chinchilla D, Shan L, He P, de Vries S, Kemmerling B. One for all: the receptor-associated kinase BAK1. *Trends Plant Sci* 2009; 14(10): 535-41.
- Sun Y, Han Z, Tang J, Hu Z, Chai C, Zhou B, *et al.* Structure reveals that BAK1 as a co-receptor recognizes the BRI1-bound brassinolide. *Cell Res* 2013; 23(11): 1326-9.
- Sun Y, Li L, Macho AP, Han Z, Zipfel C, Zhou J, *et al.* Structural basis for flg22-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science* 2013; 342(6158): 624-8.
- Han Z, Sun Y, Chai J. Structural insight into the activation of plant receptor kinases. *Curr Opin Plant Biol* 2014; 20: 55-63.
- Hanai H, Matsuno T, Yamamoto M, Matsubayashi Y, Kobayashi T, Kamada H, *et al.* A secreted peptide growth factor, phytosulfokine, acting as a stimulatory factor of carrot somatic embryo formation. *Plant Cell Physiol* 2000; 41(1): 27-32.
- Wang J, Li H, Han Z, Zhang H, Wang T, Lin G, *et al.* Allosteric receptor activation by the plant peptide hormone phytosulfokine. *Nature* 2015; 525(7568): 265-8.
- She J, Han Z, Kim TW, Wang J, Cheng W, Chang J, *et al.* Structural insight into brassinosteroid perception by BRI1. *Nature* 2011; 474(7352): 472-6.
- Hothorn M, Belkhadir Y, Dreux M, Dabi T, Noel J, Wilson I, *et al.* Structural basis of steroid hormone perception by the receptor kinase BRI1. *Nature* 2011; 474(7352): 467-71.
- Fritz-Laylin LK, Krishnamurthy N, Tor M, Sjolander KV, Jones JD. Phylogenomic analysis of the receptor-like proteins of rice and *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2005; 138(2): 611-23.
- Santiago J, Henzler C, Hothorn M. Molecular mechanism for plant steroid receptor activation by somatic embryogenesis co-receptor kinases. *Science* 2013; 341(6148): 889-92.