

磷脂酰肌醇磷酸酶Sac1功能研究进展

陈红^{1,2} 胡曼东² 陈芳艳² 赵静雅² 李定辰² 韩黎^{2*}

(¹中国医科大学, 沈阳 110122; ²中国人民解放军疾病预防控制中心, 北京 100071)

摘要 磷脂酰肌醇磷酸酶(phosphatidylinositol phosphatases, PIPases) Sac1是细胞内磷脂酰肌醇磷酸(phosphatidylinositol phosphates, PIPs)代谢途径中一类重要磷酸酶, 可以使磷脂酰肌醇-4-磷酸去磷酸化, 同时参与肌醇代谢、肌动蛋白细胞骨架重排、ATP转运等一系列细胞功能。该文对磷脂酰肌醇磷酸酶Sac1的结构、功能及其在哺乳动物细胞、酵母细胞和其他真核细胞中的功能研究最新发现进行了综述。

关键词 磷脂酰肌醇; 磷脂酰肌醇磷酸酶; Sac1; 真菌

Advances of Research on Phosphatidylinositol Phosphatases Sac1

CHEN Hong^{1,2}, HU Mandong², CHEN Fangyan², ZHAO Jingya², LI Dingchen², HAN Li^{2*}

(¹China Medical University, Shenyang 110122, China;

²Chinese PLA Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100071, China)

Abstract PIPases (phosphatidylinositol phosphatases) Sac1 is an important group of phosphatases involved in the metabolic pathway of phosphatidylinositol phosphates, which can dephosphorylate phosphatidylinositol 4-phosphate and participate in a series of cellular functions such as inositol metabolism, actin cytoskeletal rearrangement and ATP transport. In this paper, the structure and function of phosphatidylinositol phosphatase Sac1 and its functions in mammalian cells, yeast cells and other eukaryotic cells are reviewed.

Keywords phosphatidylinositol; phosphatidylinositol phosphatases; Sac1; fungi

磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)是细胞膜磷脂的主要成分之一, 占膜磷脂的10%~20%, 其由二酰基甘油(diacylglycerol, DAG)主链组成, 通过磷酸二酯键连接肌醇基团^[1]。PI可以在肌醇基团的-3、-4和-5位置发生磷酸化, 产生7种不同的磷脂酰肌醇磷酸(phosphatidylinositol phosphates, PIPs), 如磷脂酰肌醇-4-磷酸(PI4P)、PI5P、PI3P、磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸PI(4,5)P₂、PI(3,4)P₂、PI(3,5)P₂和PI(3,4,5)P₃。PIPs在控制细胞骨架重组、增殖代谢、信号转导和基因表达等方面发挥着重要作用^[2], 且几乎所有的细胞内膜转运途径都有不同种类的PIPs参与调控^[3]。在细胞核中也发现了磷脂酰肌醇磷酸, 参与转录、染

色质重塑和mRNA成熟等过程^[1]。PIPs之间的相互转换由一系列磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol kinases, PIKs)和PIPases催化, 这些酶具有高度的特异性, 它们的催化活性和亚细胞定位受到严格调控, 可精确地控制细胞中PIPs的分布与功能^[4]。其中, Sac1是一类高度保守的PI4P磷酸酶, 可水解肌醇环的第4位磷酸, 主要调节限制PI4P水平, 维持PIPs的动态平衡。

1 Sac1的主要结构特点和催化活性

Sac1蛋白是磷脂酰肌醇磷酸酶(phosphatidylinositol phosphatases, PIPases)家族中的一种, 其与该家

收稿日期: 2021-10-23 接受日期: 2022-02-11

国家自然科学基金(批准号: 81971914)资助的课题

*通讯作者。Tel: 010-66948316, E-mail: hanlicdc@163.com

Received: October 23, 2021 Accepted: February 11, 2022

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81971914)

*Corresponding author. Tel: +86-10-66948316, E-mail: hanlicdc@163.com

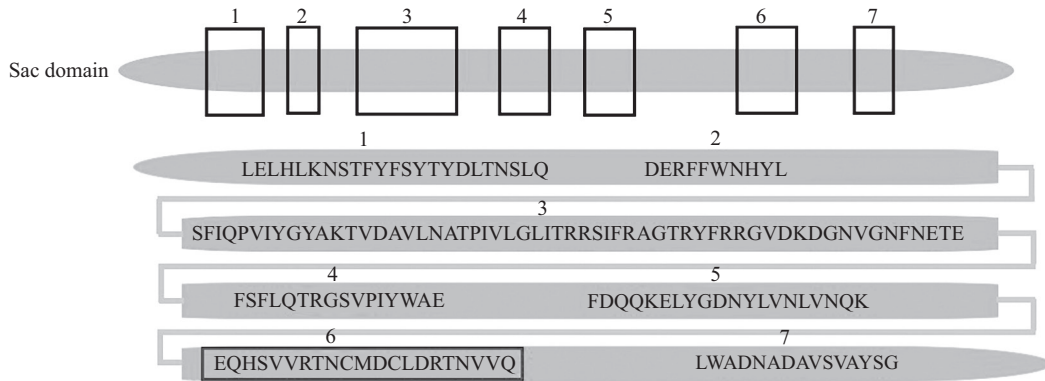


图1 Sac1结构域包含7个高度保守的基序(根据参考文献[5]修改)

Fig.1 Sac1 domain contains seven highly conserved motifs (modified from reference [5])

族的其他成员,如Sjl1/Inp51、Sjl2/Inp52、Sjl3/Inp53和Fig4/Sac3等一样,包含一个保守的SAC(suppressor of actin)结构域,这个结构域长度约为500个氨基酸,包含7个保守基序(图1),这些基序定义了磷酸肌醇磷酸酶活性。特别是,第六基序中的CX5R(T/S)序列在所有已知的含有SAC结构域的蛋白质中高度保守,被认为是SAC结构域磷酸酶的催化核心^[5]。在含有SAC结构域的蛋白中,Sac1最早是因被鉴定为酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)肌动蛋白突变抑制因子而被发现的,也是唯一完整的膜磷酸酶^[6-7],从酵母到哺乳动物和植物,这种酶的研究已取得了较大的进展。MANFORD等^[8]发现了Sac1蛋白的整体晶体结构。Sac1蛋白可分为两个结构域:一个N-端结构域和一个约320残基的C-端催化结构域。酿酒酵母Sac1是一种分子量为65 kDa的未糖基化的低水平表达的II型跨膜蛋白,有两个C-端跨膜结构域(C-terminal transmembrane domain, TMD)将其锚定在膜上,这构成了一个“J”拓扑,使N-端和C-端都面向胞质^[9]。其C-端含有一个外壳蛋白I(coat protein complex I, COPI)结合基序(KEKIDD),这对于Sac1在高尔基体(Golgi)和ER上的定位是必不可少的^[9-10]。

Sac1蛋白在不同物种中的表达情况不同。大鼠(*Rattus norvegicus*)和小鼠(*Mus musculus*)的Sac1蛋白在成年和胚胎组织中普遍表达,在浦肯野细胞(Purkinje cell)中表达水平最高^[11-12];果蝇(*Drosophila melanogaster*) Sac1蛋白在所有组织和发育阶段均有表达^[13]。Sac1对果蝇和小鼠的生长是必需的,但对酵母的生长很大程度上不是必需的^[10,14]。Sac1是果蝇视网膜^[13,15]和背闭合(dorsal closure, DC)完整所必需的,Sac1的缺失会导致果蝇胚胎致死^[16]。在小鼠中,

Sac1的功能性消减会导致小鼠胚胎植入前死亡^[10]。

不同物种中Sac1蛋白的序列同源性存在差异。大鼠和小鼠Sac1蛋白与酵母Sac1蛋白的序列同源性为35%,果蝇Sac1蛋白与哺乳动物Sac1蛋白的序列同源性为47%,整体同源性均不高。不同物种中Sac1对底物的特异性也有所不同。酵母细胞的*sac1*突变体中PI4P的水平增加了6~19倍,PI3P则增加了2.0~2.5倍,PI(3,5)P₂增加了2.5~7.0倍^[7,17-19],而PI(4,5)P₂水平没有变化或略有下降^[17]。在人体细胞中,Sac1对PI4P和PI3P的亲和力最高,对PI(3,5)P₂和PI(3,4,5)P₃的亲和力中等,对PI(3,4)P₂和PI(4,5)P₂的亲和力较低。总体而言,Sac1对单独的磷酸基团表现出磷酸酶活性,而具有相邻磷酸基团的PIPs对Sac1去磷酸化具有抵抗力。Sac1的激活似乎具有特异性,Sac1磷酸酶活性可被Vps74/GOLPH3、阴离子PI、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)等激活,而其他带负电荷的脂质,如PI(4,5)P₂和PI(3,4)P₂则不能激活Sac1^[20-21]。此外,外源H₂O₂能使哺乳动物细胞中Sac1发生可逆的失活,从而增加Golgi中PI4P的含量,这可以在一定程度上促进细胞的生长^[22]。

2 Sac1的功能特点

2.1 Sac1影响蛋白质的合成、加工

内质网(endoplasmic reticulum, ER)是蛋白质、脂质和糖类的重要合成加工场所,其功能的正常对细胞的生长至关重要。细胞对ER中PI4P含量的减少在一定程度上可以耐受,但PI4P过量则会显著影响ER正常稳态。Sac1通过对PI4P的去磷酸化而在一定程度上维持ER的稳定。ATP进入ER是ER管腔内多种蛋白进行加工的先决条件,而Sac1是微粒体ATP转

运的重要调节因子, *sac1*基因缺失的细胞将ATP转运到ER管腔的能力大大降低, 而过度表达*sac1*的细胞ATP的转运能力则得到了增强^[23]。

蛋白质在ER中的加工需要多种糖基转移酶对新生多肽进行翻译后修饰。羧肽酶Y(carboxypeptidases Y, Cpy)的成熟和运输是研究酵母蛋白质加工和运输的常用方法。在ER中, pro-Cpy的N-端被糖基化产生pre-Cpy, pre-Cpy再被输送到Golgi进行进一步处理。酵母*sac1*突变体中pro-cpy的比例比野生型高, 这表明pro-cpy在ER中有积累^[23-25]。这进一步支持了Sac1在ER动态平衡中的作用。酵母Sac1影响ER中N-糖基化底物的获得可能是这种积累的原因。二磷酸甘露糖(Dol-P-Man)合成酶(Dpm1)是一种ER驻留蛋白。DOL-P-Man是产生G₃M₉N₂(Glc₃Man₉GlcNAc₂-PP-Dol)所必需的, G₃M₉N₂是N-连接糖基化的底物。化学交联实验表明, *Sac1*与Dpm1的结合对ER中有效的核心糖基化是必不可少的^[26]。*sac1*突变体中G₃M₉N₂的表达量减少, 证明Cpy在ER的长时间积累可能是由于N-糖基化缺陷所致的^[27]。在Golgi中, *sac1*的缺失也会影响蛋白的进一步加工。如哺乳动物细胞中的*sac1*缺失会导致糖基化酶Man-II和GnT-I的异常定位, 并改变N-和O-糖基化的各个方面, 特别是Golgi内侧修饰的破坏。因此, 在哺乳动物细胞中, *sac1*缺失导致Golgi中驻留酶的不正确迁移和异常分布, 从而影响Golgi的结构完整性和蛋白质处理能力。

2.2 Sac1影响细胞分泌过程

细胞的生长依赖于蛋白质和脂质从母细胞按比例输送到细胞外。研究表明, PI4P高度集中在Golgi中, 并且在Golgi分泌和膜运输过程中起着重要作用。PI4P可由几种磷脂酰肌醇4-激酶(Pi4k, 如Pik1和Stt4)产生, *Pi4k*基因突变会导致严重的分泌缺陷^[28]。Sac1是调节PI4P水平的主要磷酸酶, 在细胞指数生长过程中, Sac1主要局限于ER, 无法进入Pik1特异的PI4P高尔基池, 但Sac1可将另一种酵母必需的Pi4k(Stt4)产生的独立PI4P转化为PI^[19,29]。Sac1的该功能控制了PI4P在细胞膜上的随机平衡, 从而维持了特异性的磷脂酰肌醇池^[29-30]。FAULHAMMER等^[31]研究表明, Sac1直接参与饥饿期间Golgi中PI4P的周转。当*pik1*突变导致Golgi中的PI4P合成减少时, 即使在没有Sac1的情况下, 饥饿诱导的PI4P也会从Golgi中消除。在这种条件下, 另一种脂磷酸酶的活性可能足以转化有限数量的Golgi

PI4P。当细胞所处环境中营养物质被剥夺时, 细胞生长和细胞分裂速度就会减慢, 蛋白的表达和分泌就会被下调^[32]。营养剥夺还触发了Pik1/Frq1复合体从Golgi释放(Frq1是Pik1的调节亚基, 帮助Pik1定位于Golgi产生PI4P), 并促进Sac1从ER到Golgi的快速移位。在饥饿细胞中, Sac1定位于Golgi是消除Pik1特异性的PI4P池所必需的^[31]。因此, Sac1和Pik1在调节Golgi PI4P以适应营养供应从而调节细胞增殖方面起着关键作用, 二者作为一种独特的机制元件, 可以使ER和Golgi膜的分泌能力同步, 以响应不同的生长条件。有研究证明, Golgi中Sac1蛋白的CX5R活性位点基序中的催化位点半胱氨酸易被H₂O₂氧化, 使得Sac1发生可逆失活, 同时Golgi中PI4P水平增加, 蛋白分泌水平也增加^[33]。该研究结果进一步证明了Sac1通过控制Golgi PI4P的含量, 影响细胞的生长。对磷脂酰四磷酸接头蛋白-1(phosphatidylinositol-4-phosphate-adaptor-protein-1, Fapp1)的研究也证实了Sac1的这一功能, Fapp1定位于ER和反式高尔基体网络(trans-Golgi network, TGN)之间的接触位点, 充当Golgi出口的“守门员”——影响蛋白的分类和输出。这依赖于Fapp1与Sac1的结合, 将Sac1定位在PI4P浓度升高的TGN结构域附近, 从而允许PI4P的去磷酸化^[34]。

2.3 Sac1影响细胞肌动蛋白骨架重排

细胞肌动蛋白骨架在菌丝发育和细胞完整性中发挥着不可替代的作用。Sac1是一种重要的肌动蛋白相关蛋白, 最初被发现为“肌动蛋白抑制因子”^[35], 是正常细胞形态发生、细胞壁合成和肌动蛋白骨架重排所必需的。Sac1对PIPs的调节可能是其影响细胞肌动蛋白骨架重排的主要原因。对植物细胞的研究表明, 多种肌动蛋白调节蛋白, 如Profilin和Gelsolin的活性受到PI(4,5)P₂的调节^[36]。在拟南芥中, 含有SAC结构域蛋白之一的AtSac1的突变体中积累了高水平的PI(4,5)P₂。因此, Sac1对肌动蛋白的影响可能与调节PI(4,5)P₂水平有关。同样, 在拟南芥中AtSac1被发现是一种PI(3,5)P₂磷酸酶^[37], 并影响肌动蛋白的重排。AtSac1表现出与酵母Fig4相同的生化活性^[37], Fig4是一种镁激活的PI(3,5)P₂选择性磷酸肌醇磷酸酶, 其对PI(3,5)P₂的调节已被证明是酵母中正常肌动蛋白重排所必需的。在植物中也检测到了PI(3,5)P₂, 可能与酵母对应物Sac1和Fig4一样, AtSac1也参与调节PI(3,5)P₂代谢, 从而影响肌动蛋白

骨架重排。在白色念珠菌(*Candida albicans*)中,与野生型菌丝细胞相比, *sac1*突变细胞中肌动蛋白的分布没有规律性,几乎随机分布在菌丝细胞中,没有顶端聚集现象。磷脂酰肌醇代谢和肌动蛋白骨架重排之间的相关性已经被证实^[38]。*fra3*基因编码一种对PI(4,5)P₂具有最高底物亲和力的II型肌醇多磷酸5-磷酸酶, *fra3*突变导致F-肌动蛋白纤维束异常,提示磷脂酰肌醇代谢在植物F-肌动蛋白组织中起重要作用。

2.4 Sac1影响脂质代谢

Sac1除了参与PIPs的代谢之外,还参与其他几种脂质代谢的调节。在*sac1*突变细胞中表现出异常的脂质代谢,即鞘脂(sphingolipids, SP)代谢的改变^[39],磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)合成的加速^[40]和磷脂酰丝氨酸(PS)水平的降低^[41]。

*sac1*的缺失影响细胞内多种脂类的合成和分布。Sac1与鞘脂的生物合成有关。鞘脂在形式和功能上极其多样化,在细胞凋亡、周期调节和细胞运动、分化、黏附的过程以及作为细胞膜结构成分中起着至关重要的作用。鞘脂生物合成从ER开始,产生长链碱基(long-chain bases, LCB)^[39]。LCB由丝氨酸棕榈酰转移酶生成,LCB可以发生N-酰化或羟基化并酰化形成神经酰胺,神经酰胺通过囊泡和非囊泡运输到Golgi,在Golgi中进一步修饰以生成复杂的鞘脂。首先, Sac1直接调节丝氨酸棕榈酰转移酶功能。Sac1是丝氨酸棕榈酰转移酶复合物(serine palmitoyltransferase, SPOT, 包括Orml1/2、Tsc3、Sac1)的成员^[42],该复合物结合Lcb1/2并负调节ER中LCB的产生。当*orm*基因缺失时, Sac1的缺失会导致合成致死性,且*sac1*突变株对Lcb1/2抑制剂多球壳菌素高度耐药^[43]。因此,在酵母中, Sac1似乎是鞘脂前体的直接负调控因子。其次,在*sac1*缺失细胞中,由PI4P去磷酸化产生PI的量减少,导致可用于复杂鞘脂生物合成的PI量的减少^[18,44],并可能导致Sac1缺失细胞中鞘脂水平的整体下降。目前尚不清楚Sac1是否在包括果蝇和人类在内的多细胞生物的鞘脂调节中发挥作用。在酵母中, *sac1*的缺失不仅影响了PS的水平,也会扰乱PS的分布。正常的PIPs代谢对细胞PS的维持是重要的^[45-47]。研究发现, PI4P和PS在体内相互调节彼此的膜定位和细胞水平^[48]。这些脂质的相互调节可能发生在ER和质膜(plasma membrane, PM)的接触位点,在那里PS和PI4P被交换以建立脂质

梯度并调节脂质稳态^[49]。PS与PI4P的持续交换,以及PS在PM处的富集,都需要PI4P水解。在没有Sac1介导的PI4P代谢的情况下, PS不能被转移到PM,而是在ER中积累,从而阻止PS的进一步产生。有趣的是,膜上的Sac1磷酸酶活性需PS激活^[48]。当ER中PS水平增加时, PS激活Sac1去磷酸化PI4P,从而刺激PS向PM的转移。相反,当PS缺乏时, Sac1不会被激活,而PI4P水平会增加。因此, PS可以通过与PIPs代谢偶联,直接激活Sac1来调节自身在细胞中的分布和丰度。除了PI和PS水平的变化外, *sac1*突变体还表现出PC含量的轻微增加(10%的增加)。这种PC的增加可能是以减少PS的合成作为代价的,因为这些途径共享代谢前体^[18,40,47],因此, Sac1的丢失不仅影响细胞内PI4P和PI的水平,而且对其他的膜脂,特别是PS、PC和复合鞘脂也有显著的影响。

2.5 Sac1影响宿主的自噬作用

细胞内包裹病原体的自噬体递送到溶酶体是先天免疫的核心机制,增强宿主吞噬外源物质的能力是一种很有希望的、强有力的抗感染方法。自噬体始于与ER、Golgi和ER-Golgi中间室相关的特殊区域^[50],是一种特殊的膜结构。自噬体与溶酶体(在哺乳动物细胞中)或液泡(在酵母和植物中)融合,最终被降解^[51]。在研究膜脂成分和信号在自噬调控中的作用时,发现跨膜PI4P磷酸酶Sac1是自噬的重要调节因子,从酵母到哺乳动物细胞, Sac1在自噬中的功能高度保守。Atg9小泡被认为是自噬体的膜来源^[52]。Pi4k和Sac1可能通过调控PI4P整合到Atg9囊泡中,在时间和/或空间上协同参与自噬过程。Pi4k和Sac1均定位于Golgi, Pi4k生成PI4P,并整合到Atg9囊泡中,促进其退出并通过Golgi转运。然而,在Atg9小泡离开Golgi之前, Sac1可以降低PI4P的水平,使Atg9小泡携带适当的脂质到自噬体形成的位置。当*sac1*缺失时,含有较高水平的PI4P的Atg9小泡异常整合到自噬体中。富含PI4P的自噬体未能招募可溶性N-乙基马来酰亚胺敏感融合蛋白黏附蛋白受体(soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptors, SNARE),无法与溶酶体融合,最终导致自噬过程的阻断^[53]。Sac1不仅影响受损的细胞器、蛋白质聚集物的自噬,而且也会对细胞内病原体通过选择性自噬机制降解产生影响。选择性自噬清除细胞内病原体,被称为xenophagy,是一种重要的先天防御反应,而沙门氏

菌是易受这种防御机制影响的模型细菌。沙门氏菌分泌的效应因子SteA, 它部分地与含细菌的自噬体上的PI4P结合, 以促进细菌存活^[54]。在Sac1缺失的情况下, PI4P在自噬体膜上积累并增强SteA的作用, 阻止溶酶体融合并增加细菌复制。

3 Sac1在病原真菌中的功能

Sac1在真菌中的研究目前主要集中在酵母菌中, 在临床重要病原真菌, 如念珠菌、曲霉和隐球菌中的相关报道还非常少。下面对已报道的病原真菌中Sac1的研究进行综述。

3.1 白色念珠菌中Sac1的功能

Sac1最早是作为肌动蛋白突变抑制因子而被发现的, 现也已经证明, 肌动蛋白细胞骨架介导了从细胞极性到细胞分裂和菌丝顶端生长的多个过程^[55]。对白色念珠菌的研究发现, *sac1*突变体表现出分散和去极化的肌动蛋白分布以及Hwp1蛋白的错误定位, 随后菌丝肿胀和变短^[56]。Hwp1是一种细胞表面甘露糖蛋白, 功能分析表明, 它是菌丝生长和黏附口腔上皮细胞所必需的^[57]。在菌丝发育过程中, 环磷酸腺苷信号通路激活了Hwp1的表达。然后, Hwp1在ER中被常规处理, 并通过分泌途径运输到细胞表面^[58]。肌动蛋白与细胞分泌途径有关, 对囊泡定向转运至关重要。因此, 肌动蛋白功能障碍可能是Hwp1在*sac1*突变体中错误定位的原因, 从而导致菌丝生长和生物膜形成缺陷。白色念珠菌中Sac1还在细胞膜动态平衡中发挥重要作用。*sac1*的缺失导致PI4P从内膜到PM的大规模异常再分布, 这种异常进一步导致了PM负静电场的干扰和PI(4,5)P₂的异常斑点分布, 这些变化也导致了菌丝极性生长的严重缺陷^[59]。细胞壁完整性(cell wall integrity, CWI)对于细胞活性是必不可少的。在白色念珠菌中发现*sac1*的缺失将会导致CWI缺陷, 进而使其对化学和物理胁迫的敏感性增加, 并导致其中甲壳素含量的增加。这可能是CWI被破坏的结果, CWI通路反过来激活CWI途径, 导致甲壳素合成增加。导致CWI通路激活的另一种机制可能源于细胞内PIPs水平的变化。一项研究表明, 酿酒酵母中PI(4,5)P₂的波动与CWI通路的异常激活有关^[60]。白色念珠菌中Inp51通过调节PI(4,5)P₂水平影响菌丝形成和细胞完整性途径, 也证明了细胞内PIPs水平可影响CWI^[61]。因此, CWI的破坏和CWI通路的异常激活可能与*sac1*突变体的肌动蛋白功能

障碍和PI水平的变化有关。

3.2 烟曲霉中Sac1的功能

本课题组前期研究发现, 烟曲霉*sac1*基因表达与功能受到了一类长末端串联重复序列Aftu4的调控^[62]。Sac1是Aftu4序列的重要相邻下游因子, 当Aftu4全部或者其5'-LTR区敲除时, *Sac1*表达明显下调; 另外, 对*sac1*在唑类耐药中的潜在作用研究发现, *sac1*的过表达增强了烟曲霉的唑类药物耐药性。这也是首次在烟曲霉中发现并证明Sac1在介导唑类药物耐药中具有重要作用。在实验中发现, *sac1*的过表达不仅提高了烟曲霉对伏立康唑(voriconazole, VRC)(从0.5 mg/L到2.0 mg/L)和泊沙康唑(posaconazole, POS)(从0.125 mg/L到0.500 mg/L)的抗性, 而且也提高了其对伊曲康唑(Itraconazole, ITC)(从0.5 mg/L到2.0 mg/L)的抗性; 此现象与酿酒酵母中Sac1较为类似, 即*sac1*突变可能影响烟曲霉对唑类药物的敏感性^[63]。

4 展望

综上所述, Sac1在细胞中参与多种生物性活动, 在细胞的生长、代谢、膜稳态中发挥重要作用。尽管在同一物种中Sac1蛋白在序列、细胞定位和功能上是保守的, 但是在不同物种中Sac1蛋白的功能仍有较大的差异。近年来, Sac1的相关功能性研究主要集中在哺乳动物以及果蝇和酵母细胞等真核生物中; 但其在重要真核细胞微生物-病原真菌中, 无论是从结构还是其功能以及对不同底物的水解特异性方面的相关报道均较少。随着广谱抗菌药物、免疫抑制剂的广泛使用, 器官移植以及侵入性治疗措施的急剧增加, 病原真菌感染的风险上升, 而且耐药菌株也不断出现, 增加了临床治疗的难度、患者的死亡率, 深入研究Sac1在病原真菌中的结构和功能, 尤其在细胞壁应激、菌丝发育以及耐药机制等过程中的作用, 将为深入理解真菌感染机制和寻找新的可能药物靶点提供一定理论基础。

参考文献 (References)

- [1] FIUME R, FAENZA I, SHETH B, et al. Nuclear phosphoinositides: their regulation and roles in nuclear functions [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(12): 2991.
- [2] HAMMOND G R V, BURKE J E. Novel roles of phosphoinositides in signaling, lipid transport, and disease [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2020, 63: 57-67.
- [3] COCKCROFT S, DE MATTEIS M A. Inositol lipids as spatial

- regulators of membrane traffic [J]. *J Membr Biol*, 2001, 180(3): 187-94.
- [4] BALLA T. Phosphoinositides: tiny lipids with giant impact on cell regulation [J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(3): 1019-137.
- [5] HUGHES W E, COOKE F T, PARKER P J. Sac phosphatase domain proteins [J]. *Biochem J*, 2000, 350(Pt 2): 337-52.
- [6] CLEVES A E, NOVICK P J, BANKAITIS V A. Mutations in the SAC1 gene suppress defects in yeast Golgi and yeast actin function [J]. *J Cell Biol*, 1989, 109(6 Pt 1): 2939-50.
- [7] HUGHES W E, WOSCHOLSKI R, COOKE F T, et al. SAC1 encodes a regulated lipid phosphoinositide phosphatase, defects in which can be suppressed by the homologous Inp52p and Inp53p phosphatases [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(2): 801-8.
- [8] MANFORD A, XIA T, SAXENA A K, et al. Crystal structure of the yeast Sac1: implications for its phosphoinositide phosphatase function [J]. *EMBO J*, 2010, 29(9): 1489-98.
- [9] DEL BEL L M, BRILL J A. Sac1, a lipid phosphatase at the interface of vesicular and nonvesicular transport [J]. *Traffic*, 2018, 19(5): 301-18.
- [10] LIU Y, BOUKHELIFA M, TRIBBLE E, et al. The Sac1 phosphoinositide phosphatase regulates Golgi membrane morphology and mitotic spindle organization in mammals [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(7): 3080-96.
- [11] WHITTERS E A, CLEVES A E, MCGEE T P, et al. SAC1p is an integral membrane protein that influences the cellular requirement for phospholipid transfer protein function and inositol in yeast [J]. *J Cell Biol*, 1993, 122(1): 79-94.
- [12] KONRAD G, SCHLECKER T, FAULHAMMER F, et al. Retention of the yeast Sac1p phosphatase in the endoplasmic reticulum causes distinct changes in cellular phosphoinositide levels and stimulates microsomal ATP transport [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(12): 10547-54.
- [13] GRIFFITHS N W, DEL BEL L M, WILK R, et al. Cellular homeostasis in the *Drosophila retina* requires the lipid phosphatase Sac1 [J]. *Mol Biol Cell*, 2020, 31(11): 1183-99.
- [14] WANG J, CHEN J, ENNS C A, et al. The first transmembrane domain of lipid phosphatase SAC1 promotes Golgi localization [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71112.
- [15] DEL BEL L M, GRIFFITHS N, WILK R, et al. The phosphoinositide phosphatase Sac1 regulates cell shape and microtubule stability in the developing *Drosophila* eye [J]. *Development*, 2018, 145(11): dev151571.
- [16] WEI H C, SANNY J, SHU H, et al. The Sac1 lipid phosphatase regulates cell shape change and the JNK cascade during dorsal closure in *Drosophila* [J]. *Curr Biol*, 2003, 13(21): 1882-7.
- [17] GUO S, STOLZ L E, LEMROW S M, et al. SAC1-like domains of yeast SAC1, INP52, and INP53 and of human synaptojanin encode polyphosphoinositide phosphatases [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(19): 12990-5.
- [18] RIVAS M P, KEARNS B G, XIE Z, et al. Pleiotropic alterations in lipid metabolism in yeast sac1 mutants: relationship to "bypass Sec14p" and inositol auxotrophy [J]. *Mol Biol Cell*, 1999, 10(7): 2235-50.
- [19] FOTI M, AUDHYA A, EMR S D. Sac1 lipid phosphatase and Stt4 phosphatidylinositol 4-kinase regulate a pool of phosphatidylinositol 4-phosphate that functions in the control of the actin cytoskeleton and vacuole morphology [J]. *Mol Biol Cell*, 2001, 12(8): 2396-411.
- [20] CAI Y, DENG Y, HORENKAMP F, et al. Sac1-Vps74 structure reveals a mechanism to terminate phosphoinositide signaling in the Golgi apparatus [J]. *J Cell Biol*, 2014, 206(4): 485-91.
- [21] ZHONG S, HSU F, STEFAN C J, et al. Allosteric activation of the phosphoinositide phosphatase Sac1 by anionic phospholipids [J]. *Biochemistry*, 2012, 51(15): 3170-7.
- [22] PARK S, LIM J M, PARK S H, et al. Inactivation of the PtdIns₄P phosphatase Sac1 at the Golgi by H₂O₂ produced via Ca²⁺-dependent Duox in EGF-stimulated cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 131: 40-9.
- [23] MAYINGER P, BANKAITIS V A, MEYER D I. Sac1p mediates the adenosine triphosphate transport into yeast endoplasmic reticulum that is required for protein translocation [J]. *J Cell Biol*, 1995, 131(6 Pt 1): 1377-86.
- [24] GARDNER B M, PINCUS D, GOTTHARDT K, et al. Endoplasmic reticulum stress sensing in the unfolded protein response [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(3): a013169.
- [25] KOCHENDÖRFER K U, THEN A R, KEARNS B G, et al. Sac1p plays a crucial role in microsomal ATP transport, which is distinct from its function in Golgi phospholipid metabolism [J]. *EMBO J*, 1999, 18(6): 1506-15.
- [26] BURDA P, JAKOB C A, BEINHAEUER J, et al. Ordered assembly of the asymmetrically branched lipid-linked oligosaccharide in the endoplasmic reticulum is ensured by the substrate specificity of the individual glycosyltransferases [J]. *Glycobiology*, 1999, 9(6): 617-25.
- [27] FAULHAMMER F, KONRAD G, BRANKATSCHK B, et al. Cell growth-dependent coordination of lipid signaling and glycosylation is mediated by interactions between Sac1p and Dpmlp [J]. *J Cell Biol*, 2005, 168(2): 185-91.
- [28] HIGHLAND C M, FROMME J C. Arf1 directly recruits the Pik1-Frq1 PI4K complex to regulate the final stages of Golgi maturation [J]. *Mol Biol Cell*, 2021, 32(10): 1064-80.
- [29] TAHIROVIC S, SCHORR M, MAYINGER P. Regulation of intracellular phosphatidylinositol-4-phosphate by the Sac1 lipid phosphatase [J]. *Traffic*, 2005, 6(2): 116-30.
- [30] ROY A, LEVINE T P. Multiple pools of phosphatidylinositol 4-phosphate detected using the pleckstrin homology domain of Osh2p [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(43): 44683-9.
- [31] FAULHAMMER F, KANJILAL-KOLAR S, KNODLER A, et al. Growth control of Golgi phosphoinositides by reciprocal localization of sac1 lipid phosphatase and pik1 4-kinase [J]. *Traffic*, 2007, 8(11): 1554-67.
- [32] ALLEN C, BUTTNER S, ARAGON A D, et al. Isolation of quiescent and nonquiescent cells from yeast stationary-phase cultures [J]. *J Cell Biol*, 2006, 174(1): 89-100.
- [33] LIM J M, PARK S, LEE M S, et al. Accumulation of PtdIns(4)P at the Golgi mediated by reversible oxidation of the PtdIns(4)P phosphatase Sac1 by H₂O₂ [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 130: 426-35.
- [34] VENDITTI R, MASONE M C, REGA L R, et al. The activity of Sac1 across ER-TGN contact sites requires the four-phosphate adaptor protein-1 [J]. *J Cell Biol*, 2019, 218(3): 783-97.
- [35] NOVICK P, OSMOND B C, BOTSTEIN D. Suppressors of yeast actin mutations [J]. *Genetics*, 1989, 121(4): 659-74.
- [36] YAMAMOTO W, WADA S, NAGANO M, et al. Distinct roles

- for plasma membrane PtdIns(4)P and PtdIns(4,5)P(2) during receptor-mediated endocytosis in yeast [J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(1): jcs207696.
- [37] ZHONG R, BURK D H, NAIRN C J, et al. Mutation of SAC1, an Arabidopsis SAC domain phosphoinositide phosphatase, causes alterations in cell morphogenesis, cell wall synthesis, and actin organization [J]. *Plant Cell*, 2005, 17(5): 1449-66.
- [38] ZHONG R, YE Z H. Molecular and biochemical characterization of three WD-repeat-domain-containing inositol polyphosphate 5-phosphatases in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45(11): 1720-8.
- [39] BRESLOW D K, COLLINS S R, BODENMILLER B, et al. Orm family proteins mediate sphingolipid homeostasis [J]. *Nature*, 2010, 463(7284): 1048-53.
- [40] TANI M, KUGE O. Requirement of a specific group of sphingolipid-metabolizing enzyme for growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* under impaired metabolism of glycerophospholipids [J]. *Mol Microbiol*, 2010, 78(2): 395-413.
- [41] EISENREICHOVA A, RÓŻYCKI B, BOURA E, et al. Osh6 revisited: control of PS transport by the concerted actions of PI4P and Sac1 phosphatase [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 747601.
- [42] HAN G, GUPTA S D, GABLE K, et al. The ORMs interact with transmembrane domain 1 of Lcb1 and regulate serine palmitoyl-transferase oligomerization, activity and localization [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2019, 1864(3): 245-59.
- [43] GURURAJ C, FEDERMAN R S, CHANG A. Orm proteins integrate multiple signals to maintain sphingolipid homeostasis [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(28): 20453-63.
- [44] BRICE S E, ALFORD C W, COWART L A. Modulation of sphingolipid metabolism by the phosphatidylinositol-4-phosphate phosphatase Sac1p through regulation of phosphatidylinositol in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(12): 7588-96.
- [45] MOSER VON FILSECK J, ČOPIČ A, DELFOSSE V, et al. INTRACELLULAR TRANSPORT. Phosphatidylserine transport by ORP/Osh proteins is driven by phosphatidylinositol 4-phosphate [J]. *Science*, 2015, 349(6246): 432-6.
- [46] MOSER VON FILSECK J, VANNI S, MESMIN B, et al. A phosphatidylinositol-4-phosphate powered exchange mechanism to create a lipid gradient between membranes [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6671.
- [47] TANI M, KUGE O. Involvement of Sac1 phosphoinositide phosphatase in the metabolism of phosphatidylserine in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Yeast*, 2014, 31(4): 145-58.
- [48] SOHN M, IVANOVA P, BROWN H A, et al. Lenz-Majewski mutations in PTDSS1 affect phosphatidylinositol 4-phosphate metabolism at ER-PM and ER-Golgi junctions [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(16): 4314-9.
- [49] CHUNG J, TORTA F, MASAI K, et al. INTRACELLULAR TRANSPORT. PI4P/phosphatidylserine countertransport at ORP5- and ORP8-mediated ER-plasma membrane contacts [J]. *Science*, 2015, 349(6246): 428-32.
- [50] GE L, MELVILLE D, ZHANG M, et al. The ER-Golgi intermediate compartment is a key membrane source for the LC3 lipidation step of autophagosome biogenesis [J]. *eLife*, 2013, 2: e00947.
- [51] WEN X, KLIONSKY D J. An overview of macroautophagy in yeast [J]. *J Mol Biol*, 2016, 428(9 Pt A): 1681-99.
- [52] YAMAMOTO H, KAKUTA S, WATANABE T M, et al. Atg9 vesicles are an important membrane source during early steps of autophagosome formation [J]. *J Cell Biol*, 2012, 198(2): 219-33.
- [53] ZHANG H, ZHOU J, XIAO P, et al. PtdIns4P restriction by hydrolase SAC1 decides specific fusion of autophagosomes with lysosomes [J]. *Autophagy*, 2021, 17(8): 1907-17.
- [54] CAREY K L, LIU K, XAVIER R J. Innate host defense mechanisms SAC bacteria by regulating phosphoinositide kinases and phosphatases [J]. *Autophagy*, 2021, 8(2): 452-4.
- [55] CABALLERO-LIMA D, KANEVA I N, WATTON S P, et al. The spatial distribution of the exocyst and actin cortical patches is sufficient to organize hyphal tip growth [J]. *Eukaryot Cell*, 2013, 12(7): 998-1008.
- [56] ZHANG B, YU Q, JIA C, et al. The actin-related protein Sac1 is required for morphogenesis and cell wall integrity in *Candida albicans* [J]. *Fungal Genet Biol*, 2015, 81: 261-70.
- [57] HE H, WANG Y, FAN Y, et al. Hypha essential genes in *Candida albicans* pathogenesis of oral lichen planus: an *in-vitro* study [J]. *BMC Oral Health*, 2021, 21(1): 614.
- [58] YU Q, DING X, ZHANG B, et al. Inhibitory effect of verapamil on *Candida albicans* hyphal development, adhesion and gastrointestinal colonization [J]. *FEMS Yeast Res*, 2014, 14(4): 633-41.
- [59] ZHANG B, PENG L, ZHU N, et al. Novel role of the phosphatidylinositol phosphatase Sac1 in membrane homeostasis and polarized growth in *Candida albicans* [J]. *Int J Med Microbiol*, 2020, 310(4): 151418.
- [60] GUILLAS I, VERNAY A, VITAGLIANO J J, et al. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate is required for invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 16): 3602-14.
- [61] BADRANE H, NGUYEN M H, CHENG S, et al. The *Candida albicans* phosphatase Inp51p interacts with the EH domain protein Irs4p, regulates phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate levels and influences hyphal formation, the cell integrity pathway and virulence [J]. *Microbiology*, 2008, 154(Pt 11): 3296-308.
- [62] HU M, LI Z, LI D, et al. Long terminal repeat retrotransposon Afut4 promotes azole resistance of *aspergillus fumigatus* by enhancing the expression of sac1 gene [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65(12): e0029121.
- [63] HUGHES W E, POCKLINGTON M J, ORR E, et al. Mutations in the *Saccharomyces cerevisiae* gene SAC1 cause multiple drug sensitivity [J]. *Yeast*, 1999, 15(11): 1111-24.