

DOI: 10.13376/j.cblls/2017078

文章编号: 1004-0374(2017)06-0575-07

## 植物磷脂酶C的功能研究进展

黄冬, 吴燕\*

(武汉大学生命科学院, 杂交水稻国家重点实验室, 武汉 430072)

**摘要:** 磷脂酶 C (phospholipase C, PLC) 是一类重要的水解酶, 根据作用底物的不同可主要区分为磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 C (phosphoinositide-specific PLC, PI-PLC) 和非特异性磷脂酶 C (non-specific PLC, NPC)。在植物细胞的信号转导中, PLC 及其产物均发挥重要的媒介作用。不同于动物细胞, 植物细胞中的六磷酸肌醇 (inositol hexaphosphate, IP<sub>6</sub>) 和磷脂酸 (phosphatidic acid, PA) 被认为是传递植物磷脂信号的主要成员。现概述磷脂酶 C 的结构、家族成员的分类以及它们在细胞信号转导过程中发挥的作用, 并对相关领域今后的研究方向提出展望。

**关键词:** 磷脂酶 C; 三磷酸肌醇; 六磷酸肌醇; 磷脂酸; 信号转导

**中图分类号:** Q946.5      **文献标志码:** A

## The research progress on the functions of plant phospholipase C

HUANG Dong, WU Yan\*

(State Key Laboratory of Hybrid Rice, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** Phospholipase C (PLC) is a class of important hydrolytic enzymes. Based on the specificity of substrates, PLC is mainly categorized into two groups: PI-PLC (phosphoinositide-specific PLC) and NPC (non-specific PLC). The important roles of PLCs and their products in mediating signal transduction in plant cells are indispensable. Other than in animal cells, both IP<sub>6</sub> (inositol hexaphosphate) and PA (phosphatidic acid) are considered as the key components of the phospholipid-based signaling in plants. In this article, we summarize the structures of PLC proteins and the classification of PLC family members. We also highlight the functions of plant PLCs and discuss the prospect underlying the molecular mechanisms involved in plant development.

**Key words:** phospholipase C; inositol 1,4,5-trisphosphate; inositol hexaphosphate; phosphatidic acid; signal transduction

磷脂酶 (phospholipases) 是催化水解磷脂的酶类, 它们普遍存在于动物和植物细胞中。在磷脂的代谢中, 磷脂酶是最重要的代谢酶之一。根据切割磷脂位点的不同, 磷脂酶可分为 4 大类: 磷脂酶 A1 (phospholipase A1, PLA1)、磷脂酶 A2 (PLA2)、磷脂酶 C (PLC) 和磷脂酶 D (PLD)<sup>[1]</sup>。其中, 磷脂酶 C 介导的细胞信号通路是信号转导中最经典的通路之一<sup>[1-2]</sup>。1980 年, Irvine 等<sup>[3]</sup> 最早从芹菜和其他高等植物的可溶性提取物中分离得到一种只能分解磷脂酰肌醇的 PLC。随后, 单子叶植物和双子叶植物中的 PLC 也相继被人们克隆了出来。

人们对植物磷脂酶 C 的理解建立在对动物的

相关研究之上。植物 PLC 主要参与细胞的生长与分化、激素信号转导、应答生物和非生物胁迫及调节极性生长等过程<sup>[4]</sup>。近年来, 越来越多的植物 PLC 的功能得以报道, 尤其在拟南芥和水稻中。1997 年, Hirayama 等<sup>[5]</sup> 从拟南芥中克隆到一个在营养组织和花器官中组成型表达的 PLC, 并命名为 *AtPLC2*。本实验室在进行相关研究时发现, 拟南芥 *AtPLC2* 的缺失会导致拟南芥雌、雄配子体发育异

收稿日期: 2016-12-16; 修回日期: 2017-01-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31270333)

\*通信作者: E-mail: wuy@whu.edu.cn

常,花药开裂、花粉粒萌发、胚囊形成甚至胚胎发育均严重受阻,最终导致植株败育<sup>[6]</sup>。Fino等<sup>[7]</sup>也发现AtPLC2能通过影响细胞的有丝分裂来调控拟南芥的胚胎发育。在对水稻的基因组进行分析时,Amarjeet等<sup>[8]</sup>预测水稻中有9个PLC家族成员,同时发现PLC在水稻幼苗、根、茎和花序中广泛表达,暗示着PLC功能的多样性;并且,水稻PLC基因还能应答一些非生物胁迫,例如干旱胁迫、低温胁迫和盐胁迫等。2016年,Cao等<sup>[9]</sup>研究发现,如果水稻细胞中*OsNPC1*表达水平发生变化,会引起水稻茎分生细胞中硅质分布的改变,从而影响水稻茎节的机械强度。

因此,磷脂酶C在植物生长过程中所发挥的作用十分重要。本文就目前对植物磷脂酶C的结构分类、上游激活机制、信号转导过程以及生理功能的研究进行总结,并对相关领域今后的研究方向提出展望。

## 1 植物磷脂酶C分类和结构

根据作用的底物不同,可将磷脂酶C分为磷脂酰肌醇特异性磷脂酶C(phosphoinositide-specific PLC, PI-PLC)、非特异性磷脂酶C(non-specific PLC, NPC)和糖基磷脂酰肌醇特异性磷脂酶C(glycosylphosphatidylinositol PLC, GPI-PLC)<sup>[1,4]</sup>。PI-PLC主要水解4,5二磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP<sub>2</sub>)产生三磷酸肌醇(inositol 1,4,5-trisphosphate, IP<sub>3</sub>)和甘油二酯(1,2-diacylglycerol, DAG); NPC主要水解磷脂酰胆碱(phosphocholine, PC)和磷脂酰乙醇氨(phosphatidylethanolamine, PE)并生成DAG;而GPI-PLC则水解连接在内质网上的糖基磷脂酰肌醇锚蛋白。拟南芥基因组中存在9个PI-PLC和6个NPC相关基因,水稻基因组中预测可能具有4个PI-PLC和5个NPC。而对GPI-PLC的研究大多集中在动物和微生物中,目前仅在花生种子中纯化出了GPI-PLC的一个片段<sup>[1-2]</sup>。因此,本文论述的重点是PI-PLC和NPC。

动物的PI-PLC根据其蛋白质结构和功能的不同可以分为6个家族:PLC-β、PLC-γ、PLC-δ、PLC-ε、PLC-ζ和PLC-η,其中PLC-ζ是一类独特的磷脂酶C,它与植物PI-PLC均不含PH结构域。PLC-ζ只在脊椎动物的精子中表达,在精卵融合过程中,内源PLC-ζ<sup>[2]</sup>和外源PLC-ζ的mRNA<sup>[10]</sup>均能引起细胞质中的Ca<sup>2+</sup>震荡信号。PLC-ζ同样能通过增加细胞质中Ca<sup>2+</sup>浓度来激活因ICSI(intracyto-

plasmic sperm injection)处理而失活的卵细胞<sup>[11]</sup>。

植物PI-PLC大多由EF手型(EF-hand lobe)结构域、X结构域、Y结构域和C2结构域(Ca<sup>2+</sup> phospholipid-binding domain)组成<sup>[1]</sup>。EF手型结构域位于N端,具有4个螺旋-环-螺旋结构,它有助于精细胞中的PLC-ζ与其底物PIP<sub>2</sub>特异性结合<sup>[12]</sup>。在植物应答外界生物胁迫的过程中,EF手型结构域还能调控还原型辅酶II(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶RBOHD的功能<sup>[13]</sup>。C2结构域位于C端,它能够与Ca<sup>2+</sup>结合引起磷脂酶C疏水性发生变化,并能优化膜催化核心的磷脂水解率<sup>[14]</sup>。X、Y结构域位于N端和C端之间,它们是磷脂酶C最保守的两个结构域,用以行使酶的催化功能。此结构域还能借由静电相互作用来介导PLC-ζ的靶向膜定位<sup>[15]</sup>。

对NPC进行序列分析发现,高等植物的NPC蛋白主要由510~540个氨基酸残基组成,仅具有一个发挥磷脂水解酶活性所需的磷酸酶结构域<sup>[1]</sup>。

## 2 植物磷脂酶C的亚细胞定位和组织分布

TMHMM数据库(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM>)显示,植物PI-PLC和NPC均不含跨膜结构域。荧光融合蛋白质法和串联质谱法证实了大部分PLC定位在细胞膜上<sup>[1]</sup>。随着研究的发展和深入,人们还发现PLC还具有细胞质定位的特点,如拟南芥AtNPC5<sup>[16]</sup>和烟草NtPLC61<sup>[17]</sup>定位在细胞质中,PI-PLC这种在细胞质和细胞膜不同定位的特点主要是受细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度的影响<sup>[18]</sup>。多室脂质体(multilamellar vesicles, MLV)实验表明,PI-PLC的C2结构域会影响PI-PLC的膜定位,而且这种影响还受Ca<sup>2+</sup>的调控<sup>[19]</sup>。随后的研究发现,EF手型结构域也会影响NtPLC3正确的膜定位<sup>[20]</sup>。虽然绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)融合实验证实了大部分的AtNPC定位在细胞膜上,但是人们对NPC膜定位的机制目前尚不清楚<sup>[21]</sup>。

PI-PLC和NPC在植物的不同组织中有着多变的转录和表达水平,实时定量PCR结果显示PI-PLC在拟南芥的根、茎、叶和花中均有分布<sup>[22]</sup>。而GUS(β-glucuronidase)染色实验显示,AtPLC1主要存在于叶柄和维管组织中,而AtPLC5的信号在保卫细胞、根部以及维管细胞中都可以检测到<sup>[23]</sup>。本实验室研究结果显示,拟南芥PI-PLC家族基因*AtPLC2*在花序和角果中有着明显的表达优势,这一现象与它在植株的生殖发育过程中起着至关重要

的作用相一致<sup>[6]</sup>。同样地,在水稻生长发育的营养和生殖阶段均能检测到 PI-PLC 的活性<sup>[24]</sup>。阵列数据显示 NPC 的活性在发育中的种子中显著增强,尤其集中在植物脂质的储存和代谢场所,例如胚乳和种皮<sup>[25]</sup>。

### 3 磷脂酶C的激活和活性调节

在动物细胞中, PLC 具有多种亚基,它们除了含有相似的保守结构域之外,还具有一些信号蛋白通常具有的调节功能域,而这些调节域赋予了各亚类不同的调控方式。如 PLC- $\beta$  N 端的 PH 结构域与 G $\beta\gamma$  直接相互作用来激活 PLC 的活性<sup>[26]</sup>; PLC- $\gamma$  能够被一些多肽类细胞生长因子激活<sup>[2]</sup>。而对于植物中 PLC 的上游激活机制,近年来虽然有许多探索性的研究证明 PLC 的激活与 G 蛋白有关,但是到目前为止在植物中暂未发现有力的证据来证明这种直接激活调节机制,如 G 蛋白的激活子霍乱毒素(cholera toxin, CTX)和抑制百日咳毒素(pertussis toxin, PTX)都能够影响 PI-PLC 的表达水平<sup>[27]</sup>。2009年, Kost 等<sup>[28]</sup>在调控花粉管生长的过程中也发现, PIP<sub>2</sub> 和 Rho 超家族中与 Ras 相关的小 G 蛋白——Rac 家族发挥着相同的作用。2003年, Apone 等<sup>[29]</sup>发现, G 蛋白的偶联受体 GPCR 和 GPA1 过表达能使 PI-PLC 的活性增强,并以此提出 PI-PLC 属于 GRC1 (G protein-coupled receptor 1) 下游信号分子的结论。但是, GRC1 属于 G 蛋白信号通路的上游信号分子这一说法仍存在争议<sup>[30]</sup>。并且, G 蛋白调节 PLC 的研究过程大多使用 mastoparan (一种 G 蛋白的激活剂),而 mastoparan 的处理可导致细胞质膜成孔,从而允许一些小分子通过,所以, mastoparan 处理植物细胞后导致 Ca<sup>2+</sup> 的明显增加可能并非是因为 G 蛋白激活 PLC 所导致<sup>[31]</sup>。

PI-PLC 是 Ca<sup>2+</sup> 依赖水解酶,在植物中, PI-PLC 的底物特异性可因 Ca<sup>2+</sup> 浓度的变化而改变<sup>[32]</sup>。其中一类以磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)为底物,发挥磷脂酶 C 的功能需要毫摩尔级的 Ca<sup>2+</sup>,且定位在细胞质中;另一类以 4-磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 4-bisphosphate, PIP) 或 PIP<sub>2</sub> 为底物,发挥磷脂酶 C 的功能需要微摩尔级的 Ca<sup>2+</sup>,定位在细胞膜上<sup>[1]</sup>。NPC 发挥酶活性的过程并不需要 Ca<sup>2+</sup> 的参与,如拟南芥的 AtNPC3 水解生成单酰基甘油(monoacylglycerol, MAG)的过程并不依赖 Ca<sup>2+</sup> 或其他阳离子<sup>[33]</sup>。AtNPC4 的活性也不受 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 或 Cu<sup>2+</sup> 的影响,反而 EGTA 的加入会使 AtNPC4

的活性提高,可能是因为 EGTA 螯合了一些抑制 AtNPC4 活性的二价阳离子,如 Co<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup> 等<sup>[34]</sup>。

### 4 磷脂酶C的信号转导途径

在动物中,磷脂酶 C 的信号转导途径研究得比较清楚,磷脂作为 PLC 的底物是细胞膜的重要组成部分之一,它不仅是细胞膜上其他磷脂酶的底物,同时也为诸多膜蛋白和多聚糖提供了在细胞膜上的锚定位点。激活的 PLC 能将 PIP<sub>2</sub> 水解生成 DAG 和 IP<sub>3</sub>,它们是参与细胞信号转导的重要二级信使。脂溶性的 DAG 不仅可以结合蛋白的 C1 保守结构域,从而激活并调控其靶标蛋白 PKC (protein kinase C) 家族成员的活性,如 PLC/PKC 途径能激活 TRPV1 (transient receptor potential vanilloid receptor 1) 通路,从而影响肺伤害性感受器的敏感性<sup>[35]</sup>,它还能改变生物膜的膜脂结构来反馈调控 PLC 的活性<sup>[4]</sup>。而水溶性的 IP<sub>3</sub> 可以和内质网上的 Ca<sup>2+</sup> 通道结合,调控细胞内的 Ca<sup>2+</sup> 水平,细胞内 IP<sub>3</sub> 含量的变化还会影响内质网和质膜之间的联系<sup>[4]</sup>。

在植物细胞中, IP<sub>3</sub> 会迅速地被 IPK2 (inositol pentakisphosphate kinase 2)、IPK1 等一系列磷酸化激酶作用生成 IP<sub>6</sub><sup>[2]</sup>。Lemtiri-Chlieh 等<sup>[36]</sup>研究发现, IP<sub>6</sub> 介导的 Ca<sup>2+</sup> 释放效率要比 IP<sub>3</sub> 高 100 多倍。到目前为止,在拟南芥基因组中并没有检索到 IP<sub>3</sub> 控制 Ca<sup>2+</sup> 释放的通道基因,因此, IP<sub>6</sub> 可能才是植物细胞内 Ca<sup>2+</sup> 通道的主导者,并且在植物细胞中也暂未发现 DAG 的靶标蛋白——PKC 家族<sup>[37]</sup>,所以,目前仍未确定在植物中是否存在着 DAG 影响下游 PKC 的信号传递模式。研究发现,植物细胞中的二酰甘油二酯激酶(diacylglycerol kinase, DGK) 能将 DAG 磷酸化生成磷脂酸(phosphatidic acid, PA); 药理学、遗传学等研究手段表明, PA 在植物体内作为一个较小的脂类物质却发挥着重要功能。众多学者预测 PA 才是在植物细胞内发挥着二级信使功能的信号分子。PLC/DGK 途径或者 PLD 直接水解磷脂以及 DGPP (DAG pyrophosphate) 的去磷酸化都可以合成 PA<sup>[1]</sup>。在植物细胞中, PA 经微生物植酸酶分解生成磷酸盐以供拟南芥生长所需<sup>[38]</sup>。当植物受到干旱胁迫、盐胁迫以及真菌等病原菌侵染后会激活 PLC/DGK 途径,在一氧化氮存在的条件下,植物中的 DAG 能被 DGK 迅速磷酸化生成 PA<sup>[39]</sup>,而 PA 可激活 MAPK (mitogen-activated protein kinase)、CDPK (calcium-dependent protein kinase)、离子通道

和 NADPH 氧化酶级联途径<sup>[40]</sup>, 随后激发 ROS 并触发过敏反应, 最终导致细胞程序性死亡。植物中的 DAG 不仅是 PA 合成的中间体, 它还是合成二半乳糖二酰基丙三醇 (digalactosyldiacylglycerol, DGDG) 的重要前体, 因此, DAG 可以用来调动细胞体内无机磷酸盐和磷脂质<sup>[40]</sup>。

## 5 磷脂酶C的生理功能

### 5.1 PLC调节了花粉管的伸长

人们发现 PLC 以及它的底物 PIP<sub>2</sub> 和产物 DAG、IP<sub>6</sub>、PA 都参与了花粉管生长的过程, 如矮牵牛花 *PetPLC1* 基因的沉默会引起顶端 Ca<sup>2+</sup> 浓度梯度范围扩大、肌动蛋白细胞骨架解体和花粉管顶端膨大<sup>[21]</sup>; 而 PIP<sub>2</sub> 是 Ras/Rop GTPase 的效应物, Ras/Rop GTPase 的过表达会导致 PIP<sub>2</sub> 分布去极化, 花粉管失去方向性, 从而导致螺旋状生长<sup>[41]</sup>。PI-PLC 的水解产物 IP<sub>6</sub> 能引起细胞内的 Ca<sup>2+</sup> 震荡信号, 它通过调控肌动蛋白的结合蛋白 (actin binding proteins, ABPs) 来重塑肌动蛋白和重组微管, 最终影响花粉管的伸长<sup>[42]</sup>。Koichi 等<sup>[43]</sup> 研究结果表明, 在磷酸盐饥饿状态下, DAG 的下游产物 B 型 MGDG 合成酶在萌发的花粉管中表达, 这暗示着 PC-PLC 在花粉管的极性生长过程中也起着重要作用。此外, PLC 的下游信号分子 PA 能够通过改变质膜的生物和物理性质来调控花粉管的伸长<sup>[44]</sup>。

### 5.2 PLC参与激素信号转导

研究发现, PLC 参与了动植物体内多种激素信号的调控<sup>[45-46]</sup>, 如在人体精细胞获能过程中, PLC/PKC 途径参与了促黄体生成激素的合成过程<sup>[47]</sup>。在植物中, PLC 参与了脱落酸 (abscisic acid, ABA) ABA 控制气孔关闭这一调控过程。在 ABA 的诱导下, PLC 的下游信号分子 IP<sub>6</sub> 可通过调控胞内 Ca<sup>2+</sup> 水平的变化, 从而使胞内的膨压下降, 最终导致气孔关闭, PLC 抑制剂 U73122 可以抑制 ABA 引起的气孔关闭和 Ca<sup>2+</sup> 振荡<sup>[48]</sup>。降低 PI-PLC 的表达水平也能减弱烟草叶片气孔对 ABA 的敏感度<sup>[49]</sup>。

本实验室也发现, AtPLC2 参与了细胞内生长素的合成及其信号的传递。在拟南芥 *plc2*<sup>-/-</sup> 纯合突变体植株的花器官中, 生长素水平明显上升, 而这一生长素水平升高的现象与其合成基因 *YUCCA1*、*YUCCA2*、*YUCCA4*、*YUCCA6* 和 *YUCCA8* 的表达水平显著增强密切相关。在大孢子发育过程中, 生长素集中分布在胚珠的珠孔端, 导致大孢子分裂极性紊乱、胚囊无法形成。显然, PLC2 能够影响胞

内生长素的水平, 籍此调节生殖发育过程<sup>[6]</sup>。另外, PLC 还参与了水杨酸<sup>[50]</sup> 和芸苔素内酯<sup>[51]</sup> 的信号通路。

### 5.3 PLC参与了生物和非生物胁迫的应答

研究人员通过分析拟南芥<sup>[52]</sup> 和水稻<sup>[8]</sup> 的 PLC 基因发现, 它们的启动子上均具有能响应外界胁迫的顺式调控元件。现已有大量证据表明, PLC 参与了生物和非生物胁迫的应答<sup>[53]</sup>, 如在拟南芥中, PLC 能够介导 *DREB1* 和 *DREB2* 的差异性表达以应答干旱胁迫<sup>[54-55]</sup>。在盐胁迫的条件下, 水稻和拟南芥中的 PI-PLC 表达量会增加<sup>[56-57]</sup>, *AtNPC5* 突变体侧根的发育则会受阻<sup>[58]</sup>。*AtPLC1* 也已被证实属于 AP2/ERF 转录家族的下游信号分子, 干旱和盐胁迫都能诱导这个家族的转录, 从而参与到拟南芥应答非生物胁迫的过程中<sup>[59]</sup>。

PLC 除了参与应答干旱和盐胁迫之外, 它还响应了其他的非生物胁迫信号。在热胁迫条件下, 拟南芥 *plc9* 突变体中 Ca<sup>2+</sup> 浓度的降低会减弱植株防卫逆境反应的能力<sup>[60]</sup>, 并且 *npc1* 突变体的叶绿素含量在高温处理下会急剧下降<sup>[61]</sup>。磷酸盐饥饿状态会从转录水平上影响拟南芥细胞中 NPC 的表达, 在缺少磷的条件下, *AtNPC4*<sup>[51]</sup> 和 *AtNPC5*<sup>[16]</sup> 的转录水平会上调。

PLC 在植物中除了参与应答各种非生物胁迫的响应, 它在抵御真菌感染的过程中也发挥了重要作用。拟南芥 *plc2* 突变体植株的根对衣霉素诱导的内质网应激反应更加敏感<sup>[62]</sup>。在 *AtIPS2* 和 *AtIPK1* 基因功能缺失的条件下, 植物细胞内 IP<sub>6</sub> 的水平因此被降低, 从而导致水杨酸的含量减少, 最终削弱了拟南芥抵御病原菌侵染的能力<sup>[63]</sup>。如果下调番茄的 *SiPLC4* 和 *SiPLC2* 的表达水平则会损害植物免疫叶霉病菌<sup>[64]</sup>、灰霉病<sup>[65]</sup> 以及真菌诱导的木聚糖酶<sup>[66]</sup> 的功能。在大豆中, PLC/DGK 通路产生的 PA 能够激活 MAPK 通路中的 *GMK1*<sup>[67]</sup>。这些结果都表明, PI-PLC 参与了生物胁迫信号传递的过程。植物在抵御真菌侵染时, IP<sub>6</sub> 虽然发挥了一定的功能, 但这种防御机制主要是依靠 PA 来进行的<sup>[68]</sup>。

## 6 总结与展望

磷脂酶 C 是生物体内十分重要的磷脂水解酶, 参与了生物体诸多细胞信号转导过程, 包括细胞的分裂、生长和分化以及细胞的免疫等<sup>[1-2]</sup>, 如 PLC 能调控胞内的 Ca<sup>2+</sup> 浓度来引起细胞肿胀<sup>[69]</sup>, 还能够影响自分泌的血管内皮生长因子 (VEGF) 通路,

从而抑制胃癌的发生<sup>[70]</sup>。了解磷脂酶C在不同生理条件下的作用机制,将为攻克细胞免疫,研究癫痫、癌症等疾病的发生机制提供宝贵的理论依据。近年来,真菌PLC的研究也已成为十分热门的课题,因为PLC在生物胁迫应答过程中发挥着重要作用,如哈维氏弧菌的胞外分泌物磷脂酶等毒力因子会使海水鱼类致病,磷脂酶C信号对灵芝菌丝体发酵产生抗癌刺激代谢产物灵芝酸具有一定影响<sup>[71]</sup>。因此,研发生物活性强的小分子非肽类磷脂酶C抑制剂或激活剂可以成为研究真菌感染等疾病的重点。而磷脂酶C作为磷脂水解过程中重要的一类酶,一直以来在食品行业中得到广泛的应用,如提高油脂精炼率、酶法脱胶等。

在动物细胞内,IP<sub>3</sub>和DAG作为信号传递链中重要的二级信使,为启动胞内下游信号分子的功能发挥了无可替代的媒介作用。因此,植物细胞中磷脂酶C的功能作用越来越受到人们的重视<sup>[1-2]</sup>。在研究PLC的结构时发现,植物PLC缺失PH结构域,而这种结构在酶与膜上的底物特异性结合时发挥着重要作用<sup>[1]</sup>,所以,植物PLC与膜磷脂特异结合的方式是否由其他的结构域所“取代”,其具体的作用机制仍需更多的研究来揭示。目前由于暂未在植物细胞中发现PLC下游的PKC信号传递模式以及IP<sub>3</sub>释放Ca<sup>2+</sup>的通道蛋白,所以,它们的磷酸化产物PA和IP<sub>6</sub>被认为是植物体内新兴的二级信使。IP<sub>6</sub>在动物细胞中能介导泛素化调控系统<sup>[72]</sup>和影响肌醇的合成<sup>[73]</sup>,这暗示着在植物细胞内IP<sub>6</sub>除了能够释放Ca<sup>2+</sup>库外还有更多的功能可供发掘。而目前PA发挥功能的脂质结合结构域并没有完整地定义。PLD、PLC/DGK、DGPP途径都可以生成PA,但是这些途径所调控的下游信号各不相同,这也暗示PA可能具有不同的分子种类,不同途径的PA应答外界胁迫信号的贡献率也可能不一样<sup>[18]</sup>。据预测,PLC具有多个磷酸化位点,AtPLC2也被证实是能够响应flg22(microbial elicitor flagellin)的磷酸化的质膜蛋白<sup>[18]</sup>。不过这种磷酸化区域对于PLC的活性发挥具有何种意义却鲜有报道。更重要的是,植物PLC的上游激活机制仍悬而未决。这些问题亟待解答,同时也为探究磷脂酶C在植物体内的功能开辟了新的研究方向。值得注意的是,目前研究人员大多使用U73122作为PLC的抑制剂来探究PLC在植物体内的生理功能,但是U73122最早是作为PLA2的抑制剂而使用的,它除了能够影响PLC的信号转导通路,同时也会抑制PLD的信号

传递,因此,U73122处理的实验结果的可靠性需要更加严谨的工作来证实<sup>[74]</sup>。

### [参 考 文 献]

- [1] Hong Y, Zhao J, Guo L, et al. Plant phospholipases D and C and their diverse functions in stress responses. *Prog Lipid Res*, 2016, 62: 55-74
- [2] Kadamur G, Ross EM. Mammalian phospholipase C. *Annu Rev Physiol*, 2013, 33: 431-55
- [3] Irvine RF, Letcher AJ, Dawson RMC. Phosphatidylinositol phosphodiesterase in higher plants. *Biochem J*, 1980, 192: 279-83
- [4] Meijer HJ, Munnik T. Phospholipid-based signaling in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54: 265-306
- [5] Hirayama T, Mitsukawa N, Shibata D, et al. *AtPLC2*, a gene encoding phosphoinositide-specific phospholipase C, is constitutively expressed in vegetative and floral tissues in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 1997, 34: 175-80
- [6] Li L, He Y, Wang Y, et al. *Arabidopsis* PLC2 is involved in auxin-modulated reproductive development. *Plant J*, 2015, 84: 504-15
- [7] Fino LMD, D'Ambrosio JM, Tejos R, et al. *Arabidopsis* phosphatidylinositol-phospholipase C2 (PLC2) is required for female gametogenesis and embryo development. *Planta*, 2017, 245: 717-28
- [8] Amarjeet S, Poonam K, Amita P, et al. Comprehensive genomic analysis and expression profiling of phospholipase C gene family during abiotic stresses and development in rice. *PLoS One*, 2013, 8: 588-98
- [9] Cao H, Zhuo L, Su Y, et al. Non-specific phospholipase C1 affects silicon distribution and mechanical strength in stem nodes of rice. *Plant J*, 2016, 86: 308-21
- [10] Kashir J, Jones C, Lee HC, et al. Loss of activity mutations in phospholipase C zeta (PLC $\zeta$ ) abolishes calcium oscillatory ability of human recombinant protein in mouse oocytes. *Hum Reprod*, 2011, 26: 3372-87
- [11] Sanusi R, Yu Y, Nomikos M, et al. Rescue of failed oocyte activation after ICSI in a mouse model of male factor infertility by recombinant phospholipase C $\zeta$ . *Mol Hum Reprod*, 2015, 21: 783-91
- [12] Nomikos M, Sanders JR, Parthimos D, et al. Essential role of the EF-hand domain in targeting sperm phospholipase C $\zeta$  to membrane phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>). *J Biol Chem*, 2015, 290: 29519-30
- [13] Kadota Y, Shirasu K, Zipfel C. Regulation of the NADPH oxidase RBOHD during plant immunity. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56: 177-80
- [14] Lyon AM, Dutta S, Boguth CA, et al. Full-length G $\alpha$ q-phospholipase C- $\beta$ 3 structure reveals interfaces of the C-terminal coiled-coil domain. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20: 3784-9
- [15] Nomikos M. Novel signalling mechanism and clinical applications of sperm-specific PLC $\zeta$ . *Biochem Soc Trans*, 2015, 43: 371-6
- [16] Gaude N, Nakamura Y, Ohta H, et al. Phospholipase C5 (NPC5) is involved in galactolipid accumulation during

- phosphate limitation in leaves of *Arabidopsis*. *Plant J*, 2008, 56: 28-39
- [17] Tripathy MK, Tyagi W, Goswami M, et al. Characterization and functional validation of tobacco PLC  $\delta$  for abiotic stress tolerance. *Plant Mol Biol Rep*, 2012, 30: 488-97
- [18] Wang X. Phospholipases in Plant Signaling [M]//Series Editor Frantisek Baruska. Signaling & Communication in Plants. Germain: Springer, 2014
- [19] Rupwate SD, Rajasekharan R. C2 domain is responsible for targeting rice phosphoinositide specific phospholipase C. *Plant Mol Biol*, 2012, 78: 247-58
- [20] Helling D, Possart A, Cottier S, et al. Pollen tube tip growth depends on plasma membrane polarization mediated by tobacco PLC3 activity and endocytic membrane recycling. *Plant Cell*, 2006, 18: 3519-34
- [21] Pokotylo I, Pejchar P, Potocký M, et al. The plant non-specific phospholipase C gene family. Novel competitors in lipid signalling. *Prog Lipid Res*, 2013, 52: 62-79
- [22] Pokotylo I, Kolesnikov Y, Kravets V, et al. Plant phosphoinositide-dependent phospholipases C: variations around a canonical theme. *Biochimie*, 2014, 96: 144-57
- [23] Hunt L, Otterhag L, Lee JC, et al. Gene-specific expression and calcium activation of *Arabidopsis thaliana* phospholipase C isoforms. *New Phytol*, 2004, 162: 643-54
- [24] Singh A, Kanwar P, Pandey A, et al. Comprehensive genomic analysis and expression profiling of phospholipase C gene family during abiotic stresses and development in rice. *PLoS One*, 2013, 8: e62494
- [25] Xiang D, Venglat P, Tibiche C, et al. Genome-wide analysis reveals gene expression and metabolic network dynamics during embryo development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2011, 156: 346-56
- [26] Kadamur G, Ross EM. Intrinsic pleckstrin homology (PH) domain motion in phospholipase C- $\beta$  exposes a G $\beta\gamma$  protein binding site. *J Biol Chem*, 2016, 291: 11394-406
- [27] Pan YY, Wang X, Ma LG, et al. Characterization of phosphatidylinositol-specific phospholipase C (PI-PLC) from *Lilium daviddi* pollen. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46: 1657-65
- [28] Kost B, Lemichez E, Spielhofer P, et al. Rac homologues and compartmentalized phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate act in a common pathway to regulate polar pollen tube growth. *J Cell Biol*, 1999, 145: 317-30
- [29] Apone F, Alyeshmerni N, Wiens K, et al. The G-protein-coupled receptor GCR1 regulates DNA synthesis through activation of phosphatidylinositol-specific phospholipase C. *Plant Physiol*, 2003, 133: 571-9
- [30] Urano D, Jones AM. "Round up the usual suspects": a comment on nonexistent plant G protein-coupled receptors. *Plant Physiol*, 2013, 161: 1097-102
- [31] Muellerroeber B, Pical C. Inositol phospholipid metabolism in *Arabidopsis*. Characterized and putative isoforms of inositol phospholipid kinase and phosphoinositide-specific phospholipase C. *Plant Physiol*, 2002, 130: 22-46
- [32] Drøbak BK. The plant phosphoinositide system. *Biochem J*, 1993, 288: 697-712
- [33] Reddy VS, Rao DR, Rajasekharan R. Functional characterization of lysophosphatidic acid phosphatase from *Arabidopsis thaliana*. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1801: 455-61
- [34] Nakamura Y, Awai K, Masuda T, et al. A novel phosphatidylcholine-hydrolyzing phospholipase C induced by phosphate starvation in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 2005, 280: 7469-76
- [35] Gu QD, Joe DS, Gilbert CA. Activation of bitter taste receptors in pulmonary nociceptors sensitizes TRPV1 channels through PLC and PKC signaling pathway. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 312: L326-33
- [36] Lemtiri-Chlieh F, Macrobbe EA, Brearley CA. Inositol hexakisphosphate is a physiological signal regulating the K<sup>+</sup>-inward rectifying conductance in guard cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 8687-92
- [37] Munnik T, Testerink C. Plant phospholipid signaling: "in a nutshell". *J Lipid Res*, 2009, 50: S260-5
- [38] Belgaroui N, Berthomieu P, Rouached H, et al. The secretion of the bacterial phytase PHY-US417 by *Arabidopsis* roots reveals its potential for increasing phosphate acquisition and biomass production during co-growth. *Plant Biotechnol J*, 2016, 14: 1914-24
- [39] Raho N, Ramirez L, Lanteri ML, et al. Phosphatidic acid production in chitosan-elicited tomato cells, via both phospholipase D and phospholipase C/diacylglycerol kinase, requires nitric oxide. *J Plant Physiol*, 2011, 168: 534-9
- [40] Härtel H, Dörmann P, Benning C. DGD1-independent biosynthesis of extraplastidic galactolipids after phosphate deprivation in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 10649-54
- [41] Klahre U, Kost B. Tobacco RhoGTPase ACTIVATING PROTEIN1 spatially restricts signaling of RAC/Rop to the apex of pollen tubes. *Plant Cell*, 2006, 18: 3033-46
- [42] Singh A, Bhatnagar N, Pandey A, et al. Plant phospholipase C family: regulation and functional role in lipid signaling. *Cell Calcium*, 2015, 58: 139-46
- [43] Kobayashi K, Awai K, Takamiya K, et al. *Arabidopsis* type B monogalactosyldiacylglycerol synthase genes are expressed during pollen tube growth and induced by phosphate starvation. *Plant Physiol*, 2004, 134: 640-8
- [44] Roman P, Přemysl P, Radek B, et al. Turnover of phosphatidic acid through distinct signaling pathways affects multiple aspects of pollen tube growth in Tobacco. *Front Plant Sci*, 2012, 3: 54
- [45] Kalachova T, Puga-Freitas R, Kravets V, et al. The inhibition of basal phosphoinositide-dependent phospholipase C activity in *Arabidopsis*, suspension cells by abscisic or salicylic acid acts as a signalling hub accounting for an important overlap in transcriptome remodelling induced by these hormones. *Environ Exp Bot*, 2016, 123: 37-49
- [46] Kalachova T, Kravets V, Zachowski A, et al. Importance of phosphoinositide-dependent signaling pathways in the control of gene expression in resting cells and in response to phytohormones. *Plant Signal Behav*, 2015, 10: e1019983

- [47] López-Torres AS, González-González ME, Mata-Martínez E, et al. Luteinizing hormone modulates intracellular calcium, protein tyrosine phosphorylation and motility during human sperm capacitation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483: 834-9
- [48] Jacob T, Ritchie S, Assmann SM, et al. Abscisic acid signal transduction in guard cells is mediated by phospholipase D activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 12192-7
- [49] Mills LN, Hetherington AM. The effects of manipulating phospholipase C on guard cell ABA-signalling. *J Exp Bot*, 2004, 55: 199-204
- [50] Ruelland E, Pokotylo I, Djafi N, et al. Salicylic acid modulates levels of phosphoinositide dependent-phospholipase C substrates and products to remodel the *Arabidopsis* suspension cell transcriptome. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 608
- [51] Wimalasekera R, Pejchar P, Holk A, et al. Plant phosphatidylcholine-hydrolyzing phospholipases C NPC3 and NPC4 with roles in root development and Brassinolide signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant*, 2010, 3: 610-25
- [52] Tasma IM, Brendel V, Whitham SA, et al. Expression and evolution of the phosphoinositide-specific phospholipase C gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol Biochem*, 2008, 46: 627-37
- [53] Abd-El-Halim AM, Vossen JH, Zeijl AV, et al. Biochemical characterization of the tomato phosphatidylinositol-specific phospholipase C (PI-PLC) family and its role in plant immunity. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1861: 1365-78
- [54] Ruelland E, Djafi N, Zachowski A. The phosphoinositide dependent-phospholipase C pathway differentially controls the basal expression of *DREB1* and *DREB2* genes. *Plant Signal Behav*, 2013, 8: e26895
- [55] Djafi N, Vergnolle C, Cantrel C, et al. The Arabidopsis DREB2 genetic pathway is constitutively repressed by basal phosphoinositide-dependent phospholipase C coupled to diacylglycerol kinase. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 307
- [56] Darwish E, Testerink C, Khalil M, et al. Phospholipid signaling responses in salt-stressed rice leaves. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50: 986-97
- [57] Daniela K, Zuzana K, Přemysl P, et al. The phosphatidylcholine-hydrolyzing phospholipase C NPC4 plays a role in response of *Arabidopsis* roots to salt stress. *J Exp Bot*, 2011, 62: 3753-63
- [58] Peters C, Kim SC, Devaiah S, et al. Non-specific phospholipase C5 and diacylglycerol promote lateral root development under mild salt stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 2014, 37: 2002-13
- [59] Hsieh EJ, Cheng MC, Lin TP. Functional characterization of an abiotic stress-inducible transcription factor AtERF53 in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 2013, 82: 223-37
- [60] Zheng SZ, Liu YL, Li B, et al. Phosphoinositide-specific phospholipase C9 is involved in the thermotolerance of *Arabidopsis*. *Plant J*, 2012, 69: 689-700
- [61] Krčková Z, Brouzdová J, Daněk M, et al. *Arabidopsis* non-specific phospholipase C1: characterization and its involvement in response to heat stress. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 928
- [62] Kanehara K, Yu CY, Cho Y, et al. *Arabidopsis* AtPLC2 is a primary phosphoinositide-specific phospholipase C in phosphoinositide metabolism and the endoplasmic reticulum stress response. *PLoS Genet*, 2015, 11: e1005511
- [63] Murphy AM, Otto B, Brearley CA, et al. A role for inositol hexakisphosphate in the maintenance of basal resistance to plant pathogens. *Plant J*, 2008, 56: 638-52
- [64] Vossen JH, Abd-El-Halim A, Fradin EF, et al. Identification of tomato phosphatidylinositol-specific phospholipase-C (PI-PLC) family members and the role of PLC4 and PLC6 in HR and disease resistance. *Plant J*, 2010, 62: 224-39
- [65] Gonorazky G, Guzzo MC, Laxalt AM. Silencing of the tomato phosphatidylinositol-phospholipase C2 (SIPLC2) reduces plant susceptibility to *Botrytis cinerea*. *Mol Plant Pathol*, 2016, 17: 1354-63
- [66] Gonorazky G, Ramirez L, Abdelhalim A, et al. The tomato phosphatidylinositol-phospholipase C2 (SIPLC2) is required for defense gene induction by the fungal elicitor xylanase. *J Plant Physiol*, 2014, 171: 959-65
- [67] Im JH, Lee H, Kim J, et al. Soybean MAPK, GMK1 is dually regulated by phosphatidic acid and hydrogen peroxide and translocated to nucleus during salt stress. *Mol Cells*, 2012, 34: 271-8
- [68] Yao H, Wang G, Guo L, et al. Phosphatidic acid interacts with a MYB transcription Factor and regulates its nuclear localization and function in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2013, 25: 5030-42
- [69] Tolstykh GP, Thompson GL, Beier HT, et al. nsPEF-induced PIP<sub>2</sub> depletion, PLC activity and actin cytoskeletal cortex remodeling are responsible for post-exposure cellular swelling and blebbing. *Biochem Biophys Rep*, 2017, 9: 36-41
- [70] Lin Y, Zhai E, Liao B, et al. Autocrine VEGF signaling promotes cell proliferation through a PLC-dependent pathway and modulates Apatinib treatment efficacy in gastric cancer. *Oncotarget*. 2017[Epub ahead of print]
- [71] Moroz OV, Blagova E, Lebedev AA, et al. The structure of a calcium-dependent phosphoinositide-specific phospholipase C from *Pseudomonas* sp. 62186, the first from a Gram-negative bacterium. *Acta Crystallogr D Struct Biol*, 2017, D73: 32-44
- [72] Scherer PC, Ding Y, Liu Z, et al. Inositol hexakisphosphate (IP<sub>6</sub>) generated by IP5K mediates cullin-COP9 signalosome interactions and CRL function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 3503-8
- [73] Yu W, Ye C, Greenberg M, et al. Inositol hexakisphosphate kinase 1 (IP6K1) regulates inositol synthesis in mammalian cells. *J Biol Chem*, 2016, 291: 10437-44
- [74] Hörnig M, Markoutsas S, Häfner AK, et al. Inhibition of 5-lipoxygenase by U73122 is due to covalent binding to cysteine 416. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 182: 279-86