

专论与综述 Reviews

高等植物的光系统 II 蛋白磷酸化机制及其对环境胁迫的响应

刘文娟, 袁澍, 林宏辉*

四川大学生命科学学院, 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610064

Mechanism of Phosphorylation of Photosystem II Proteins in Higher Plants and Its Response to Environmental Stress

LIU Wen-Juan, YUAN Shu, LIN Hong-Hui*

Key Laboratory of Bio-resources and Eco-environment (Ministry of Education), College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China

提要: 高等植物的光系统 II 蛋白在环境胁迫, 尤其是强光和高温胁迫时会发生可逆磷酸化。本文介绍环境调节下的高等植物光系统 II 蛋白 D1、LHCII、CP29 及 TSP9 的可逆磷酸化研究进展, 并讨论了这种蛋白磷酸化与光系统 II 蛋白复合物在类囊体膜上的迁移和组装之间的关系。

关键词: 光合作用; 光系统 II; 蛋白磷酸化; 胁迫响应; 类囊体膜

高等植物的光合作用由两种与膜相连的色素蛋白复合物介导: 光系统 I (PSI) 和光系统 II (PSII), PSII 催化水的氧化和质体醌的还原。磷酸化是蛋白翻译前修饰的最常见的形式之一, 在调节从基因表达达到信号和代谢调控等所有细胞功能中都起作用。高等植物类囊体膜上一些蛋白光诱导的磷酸化是 Bennett (1977) 最早发现的。目前发现的 PSII 中能够发生磷酸化的主要蛋白有 D1、D2、CP43 和 PsbH 亚基以及捕光色素蛋白复合物 LHCII 等。这些膜蛋白的可逆磷酸化是光诱导的, 并受类囊体氧化还原调节。采用生化技术检测体内磷酸化蛋白时发现, 这种高等植物类囊体膜蛋白的可逆磷酸化对环境是依赖的, 表明高等植物的光合反应机构对周围环境具有一定的适应和调节能力(Aro 和 Ohad 2003)。

近年来, 光合机构的结构及其功能的研究已取得重大进展, 转基因技术的应用发现了许多以前未知的光合蛋白及其调节组分, 并且一些类囊体蛋白激酶的发现也进一步促进了 PSII 蛋白磷酸化的研究(Depège 等 2003; Bellafiore 等 2005; Vainonen 等 2005; Bonardi 等 2005)。另外, 一些新的检测技术, 尤其是载体蛋白组学技术的采用, 使人们能够精确定位发生磷酸化的氨基酸残基, 从而更加推动了从分子水平上研究蛋白磷酸

化机制的工作。仅在最近一年, 就发现许多新的类囊体膜蛋白磷酸化位点(Turkina 等 2006a, b; Rinalducci 等 2006; Del Riego 等 2006)。通过提取不同环境诱导下的植物细胞或叶片组织中的光合蛋白复合物, 并对这种体内蛋白磷酸化的氨基酸进行定位分析, 可能会增进我们对高等植物光合机构调节和适应性的分子机制的认识。

蛋白磷酸化对于高等植物光合机构对环境的适应和调节很重要, 研究逆境中植物光合蛋白, 尤其是 PSII 功能蛋白磷酸化的变化及其响应机制, 对作物栽培和农业生产也有理论指导意义。但是全面介绍整个 PSII 蛋白磷酸化的文章还很少, 环境胁迫对 PSII 磷酸化的讨论也多局限在光抑制方面。本文介绍近年来高等植物 PSII 主要功能性蛋白可逆磷酸化的研究进展, 并着重分析和阐述多种环境诱导的这种蛋白结构的变化、各种膜蛋白复合物之间结合和分离的状态改变, 以及高等植物光合系统对环境胁迫的适应和调节机制。

收稿 2007-09-11 修定 2007-11-12

资助 国家自然科学基金(30571119)和新世纪优秀人才计划支持项目(NCET-05-0786)。

* 通讯作者(E-mail: honghuilin@hotmail.com; Tel: 028-85411175)。

1 PSII 周转和反应中心 D1 蛋白的可逆磷酸化

尽管光是 PSII 电子传递的原初动能, 但长时间的光照会使 PSII 的光合效率降低, 这种在植物光合作用中发生的光抑制, 会引起 PSII 发生光诱导的氧化性损伤以及光保护机制的启动。整个过程包括 PSII 光合效率的降低、电子传递可逆或不可逆的光失活以及以 D1 蛋白的重新合成为主的 PSII 反应中心的修复(Cai 和 Xu 2002)。PSII 反应中心的修复由一个复杂的循环组成, 包括失活 PSII 二聚体的解聚、光损伤 D1 蛋白的降解以及新合成 D1 的蛋白向 PSII 共转运的插入(Baena-González 和 Aro 2002; 姜闯道等 2002)。高等植物的类囊体膜由垛叠区和非垛叠区组成, 分别称为基粒区域和基质区域。PSII 的修复循环则涉及到 PSII 单位在基粒区和基质区的横向移动(Baena-González 等 1999)。光照下, 位于基粒区的 PSII 的蛋白组分发生磷酸化, 此时, PSII 仍保持二聚体形式, 当长时间的光照造成 D1 蛋白的损伤时, 它可能会导致 PSII 二聚体的单体化(李炯和杜林方 2001)。解聚后的 PSII 单体作为一个整体单位迁移到基质片层中修复。可能是为了阻止到达基质区域前蛋白酶对受损 D1 蛋白的识别, 这时的 PSII 蛋白组分仍处于磷酸化状态。一旦进入基质区域, 则会依次发生 CP43、D2 以及 D1 蛋白的去磷酸化, 从而引起 D1 蛋白的降解和随之新合成蛋白的插入。之后, CP43 再聚集到复合物中, PSII 单体再迁移回基粒区, 在此处它们很有可能重新二聚化并且在光照下又发生磷酸化(Baena-González 和 Aro 2002)。最近, Wei 等(2006)的一项新的研究发现, 在强光照的菠菜叶中 D1 蛋白会与周围 PSII 的其他蛋白组分发生交联, 其中也包括磷酸化的 D1 蛋白, 推测这可能是为了防止在 PSII 修复过程中, 新的 D1 蛋白合成之前的损伤的磷酸化 D1 蛋白降解。最近, Bonardi 等(2005)对光抑制的 PSII 的修复机制提出了另一种观点, 认为可逆的蛋白磷酸化对于 PSII 的修复并不是必需的。他们在缺失 STN8 蛋白激酶的拟南芥突变体中发现, 强光照射对突变体中 PSII 的活性影响非常小, 这一结论的根据是他们在缺失 STN8 蛋白激酶的拟南芥突变体中没有见到 PSII 的蛋白组分发生磷酸化。

D1 蛋白的周转对 PSII 的修复循环至关重要, 但是有研究发现, 在检测到明显的 PSII 光抑制之前, D1 蛋白的磷酸化就已达到饱和, 这说明 PSII 的光抑制不是 D1 蛋白磷酸化的先决条件。光照会导致高等植物 D1 蛋白发生磷酸化, 但只要 PSII 复合物没有受到损伤, 磷酸化的 D1 蛋白就能很容易的在黑暗或弱光下去磷酸化, 于是一个新的磷酸化 D1 蛋白的稳态水平由此建立(张海波和许大全 2003)。与此不同的是, 强光照损伤的 D1 蛋白的去磷酸化对光是依赖的, 而且损伤的 D1 蛋白只有先去磷酸化才能被水解, 因此有人推测, 功能性的(可恢复的)和受损伤的 D1 蛋白的去磷酸化过程是不同的(Baena-González 和 Aro 2002)。Zhang 等(2002)的研究也得出同样的结论, 低光强下, 没有发生光损伤的 D1 蛋白其磷酸化和去磷酸化对 PSII 反应中心的功能没有明显的影响。另外, 在一天之内植物体内 D1 蛋白的磷酸化水平呈周期性摆动, 这种 D1 蛋白磷酸化的生理周期受光照的影响而发生改变(Booij-James 等 2002)。

有研究认为, 至少有两种蛋白酶 DegP2 (Haußühl 等 2001) 和 FtsH (Lindahl 等 2000) 涉及到受损的磷酸化 D1 蛋白的降解。最近有人提出, 在细菌和高等植物中, 受损 D1 蛋白的降解只需要 FtsH 一种蛋白激酶的参与(Nixon 等 2005; Komenda 等 2006)。FtsH 是一种含有 6 个亚基的膜蛋白激酶, 通过 6 个亚基包围的中心孔道识别蛋白终端并分解蛋白。受损 D1 蛋白的降解是从暴露在叶绿体基质侧的 N 端开始的, 这就解释了它在转移到基质侧降解前 N 端发生磷酸化的原因: 即 N 端磷酸化的 D1 蛋白可能与 FtsH 中心孔道的活性位点的亲和力较弱, 需要在降解前发生 D1 蛋白的去磷酸化。最近, Lundin 等(2007)发现一种分子量为 33 kDa 的 PSII 外周蛋白 PsbO, 此种蛋白在拟南芥中有两种同源异构体 PsbO1 和 PsbO2, 其中 PsbO1 与 PSII 活性的稳定有关, 而 PsbO2 可能在 D1 蛋白降解过程中起促进 D1 蛋白向磷酸酶和蛋白酶靠近的作用, 参与调节 D1 蛋白的周转。

2 光合色素蛋白复合物 LHCI 的磷酸化

自 1980 年以来, 很多研究证实捕光色素蛋白复合物 LHCI 的磷酸化与其在类囊体膜上的迁移密切相关。这种状态迁移对光照和类囊体膜氧化还

原状态是依赖的。LHCII 与 PSII 相结合称为状态 1 (State 1), 迁移到 PSI 以后与其相结合的部分称为状态 2 (State 2), 与特定的光系统结合可以特异地增强其光合效率。一直以来, 人们认为 LHCII 以非磷酸化状态的形式与 PSII 结合, 而磷酸化的 LHCII 则迁移到 PSI 并与其结合。磷酸化导致 LHCII 三聚体解聚, 释放出对 PSI 有较高的亲和力的单体磷酸化的 LHCII (Allen 2003)。另外, LHCII 从 PSII 分离出来然后在基粒外周与 PSI 结合, 这有利于 D1 蛋白发生降解, 并增加 PSI 的光能利用率; 而 D1 蛋白的重新合成和新的 PSII 颗粒的组装则可能伴随着 LHCII 的去磷酸化, 同时 PSII 光能利用率增加。所以 PSII 修复过程中 D1 蛋白的周转也是 LHCII 发生可逆磷酸化和状态转移的前提。但最近在一些植物突变体的研究中却发现与 PSI 结合的 LHCII 并没有发生磷酸化 (Zhang 和 Scheller 2004), 而磷酸化的 LHCII 也没有与 PSI 相结合 (Lunde 等 2000; Haldrup 等 2001)。但目前唯一可以肯定的是, 在 LHCII 的状态迁移中涉及到 LHCII 的磷酸化, 而磷酸化的 LHCII 是否与 PSI 结合还有待进一步证实。

Stt7 和 STN7 是首次在藻类和高等植物中发现的 LHCII 磷酸激酶 (Depège 等 2003; Bellafiore 等 2005), 但至今仍没有证据证明 LHCII 是这两种激酶的直接作用底物。现在, 关于 LHCII 磷酸激酶的研究仍在探讨中。质体醌库的氧化还原状态对 LHCII 磷酸化调节的机制一直是国际上的研究热点。LHCII 的磷酸化需要细胞色素 *bf* 复合物的还原, 这样质体醌才能够与还原的细胞色素 *b₆f* 复合物上的醌氧化位点 (Q_0) 结合。结合在 Q_0 位点的质体醌是激酶保持活性的必要条件, 细胞色素 *b₆f* 复合物和激酶之间的相互作用类似于一种信号传导系统, 细胞色素 *b₆f* 复合物是受体, 而配体则是结合在 Q_0 位点的质体醌 (Vener 等 1997; Zito 等 1999)。后来有研究发现, 体内 LHCII 的最大磷酸化仅在低光强下发生, 高光强照射会引起强烈的 LHCII 的负调节反应, 而这种负调节作用又能够在黑暗下为外施的巯基还原物质快速诱导, 这说明除了细胞色素 *b₆f* 复合物依赖的调节方式外, 类囊体膜上还存在着另一种 LHCII 激酶活性的调节机制 (Pursiheimo 等 1998; Carlberg 等 1999)。高

光照下的负调节很可能由叶绿体上的 Fe-S 氧还蛋白系统介导, 与细胞色素 *b₆f* 复合物依赖的正调节方式合作, 共同调节 LHCII 的体内磷酸化水平 (Rintamäki 等 2000)。这种硫氧还蛋白的作用部位是 LHCII 激酶上的二硫键, 黑暗状态下钝化的激酶上的二硫键是暴露的, 易被巯基还原物质还原, 而在活化的激酶中二硫键是隐藏着的, 所以激酶的结构发生改变。强光照射时二硫键再次暴露, 激酶被硫氧还蛋白还原, 使其失活。在此研究基础上, Martinsuo 等 (2003) 提出 LHCII 激酶可能以三种不同的形式存在: (1) 黑暗中, 细胞色素 *b₆f* 复合物 Q_0 位点的还原态质体醌的缺失造成激酶的钝化; (2) 低照度光下, 还原态质体醌与细胞色素 *b₆f* 复合物 Q_0 位点相结合使激酶激活; (3) 强光照射下, 激酶上暴露的二硫键被叶绿体上的硫氧还蛋白还原, 激酶活性受到抑制。并且发现, 过氧化氢作为一种氧化剂催化巯基的氧化, 外施过氧化氢可以恢复 LHCII 激酶的活性。Breitholtz 等 (2005) 用两种比野生型具有较低的非光化学淬灭和较高的 PSII 激发能的拟南芥突变体 *npq1-2* 和 *npq4-1* 为材料, 发现突变体在光照下存在一种特殊的 LHCII 蛋白磷酸化调节方式。他们据此推测, 突变体中较低的非光化学淬灭能力可削弱其对过剩激发能的耗散, 致使叶绿体中活性氧水平升高, 活性氧作为一种氧化剂可催化 LHCII 激酶中巯基的氧化, 从而恢复激酶活性。

LHCII 的蛋白磷酸化的调节方式很复杂。除了上述因素以外, Zer 等 (1999) 的研究表明, 光照可促使 LHCII 蛋白的磷酸化位点朝向激酶。因此, 光不但可以通过光系统电子传递链产生氧化还原信号调节激酶活性, 还可以通过影响蛋白底物的构象调节磷酸化。Hou 等 (2002) 还发现, 除了光照条件以外, 植物的代谢水平, 尤其是糖代谢, 也可调节 LHCII 的蛋白磷酸化水平。

3 其他光系统 II 蛋白的磷酸化

Andreucci 等 (2005) 用高浓度的变性胶分离出的磷酸化和去磷酸化状态的 CP43, 为这种核心天线蛋白可逆磷酸化功能的研究创造了条件。有研究认为, CP43 的可逆磷酸化与 PSII 反应中心的修复有关, 是否为此, 尚需进一步阐明 (Aro 和 Ohad 2003)。

低温和强光可以诱导玉米和大麦叶片CP29的磷酸化,由此证明光抑制条件下,小分子的捕光蛋白CP29的可逆磷酸化可能广泛存在于C3和C4植物中。Hansson和Vener(2003)最早在拟南芥中发现了CP29的体内蛋白磷酸化位点。CP29可以在多个位点上发生磷酸化,并可能作为一种LHCII连接蛋白,通过可逆磷酸化调节和决定LHCII在两个光系统之间的亲和性和LHCII的状态迁移(Turkina等2004;Kargul等2005)。但是,高等植物中CP29的功能研究还不甚清楚,Tikkanen等(2006)的研究表明,在缺失STN7蛋白激酶的拟南芥突变体中,除了LHCII以外,CP29的磷酸化水平也明显下降。迄今虽然在高等植物中这种为STN7激酶催化的CP29只发现有一个磷酸化位点,但也说明它对LHCII的状态迁移非常重要。

在高等植物光系统II中发现的磷酸化蛋白大多数是类囊体的内在蛋白,TSP9是最近发现的能够发生磷酸化的外周蛋白(Carlberg等2003)。光诱导的TSP9的磷酸化可促使这种蛋白的一部分的从类囊体释放到叶绿体基质中,对于这种磷酸化依赖的位置的改变,有人认为植物细胞中的TSP9可能是一种光合膜表面的信号元件(Carlberg等2003)。最近的研究表明,TSP9与LHCII紧密相连,并与PSII的外周亚基(CP29、CP26和PsbS)相交联,根据TSP9这种处于LHCII和PSII交界面的位置,可以推测这种蛋白很有可能涉及到光能捕获和传递的调节。但是,这种调节仅限于高等植物,因为TSP9是一种高等植物的特异蛋白,这种蛋白在四十多种高等植物中均有发现,但绿藻和蓝藻中并没有。高等植物与藻类的状态迁移也有所不同:高等植物中只有15%~20%的LHCII在光系统间发生迁移,而绿藻中是80%(Depège等2003;Bellafiore等2005)。这说明,高等植物和藻类由LHCII吸收的过剩光能的热能耗散调节方式是不同的,光诱导的高等植物TSP9的磷酸化,其功能可能类似位于PSII和LHCII之间的CP29,涉及到高等植物中光依赖的LHCII从PSII的分离,这一推测还需进一步用实验证明(Vener2007)。

4 光系统II的蛋白磷酸化对环境因子的响应

高等植物类囊体膜蛋白的磷酸化最初是通过

高光强诱导发现的(Bennett 1977),如前文所述,此后的大多数研究都以光照作为首选环境条件,发现了很多光诱导的PSII蛋白的可逆磷酸化。但随后的研究又发现温度、pH值、盐离子浓度等其它环境因子的改变也会引起不同程度的PSII蛋白的磷酸化。

温度是影响植物物种分布和生产的一个重要因素,无论是低温或是高温的胁迫,都会对高等植物的正常生长产生一定的影响。许多温带和热带植物如水稻、黄瓜、玉米等对低温十分敏感,它们在0~10℃低温下即会受到不同程度的伤害,其中光合器官的光损伤最为明显(Allen和Ort2001)。Bergantino等(1998)的研究表明,5℃低温会引起大麦中CP29的磷酸化。Pursiheimo等(2001)在冬裸麦中发现低温会诱导CP29和LHCII都发生磷酸化,他们认为低温胁迫下捕光色素蛋白可能通过可逆磷酸化过程调节非辐射能的耗散,降低质体醌的过度还原,从而避免PSII发生光抑制。

高等植物的光系统也具有很强的热敏感性。研究发现,温度由22℃上升至42℃时,菠菜类囊体膜PSII的反应中心蛋白D1、D2和色素结合蛋白CP43会发生快速去磷酸化。体内去磷酸化的研究表明,高温下反应中心D1、D2蛋白的去磷酸化速率迅速增加,远高于捕光色素蛋白LHCII的增加速率(Rokka等2000)。Yoshioka等(2006)也发现,40℃的高温会抑制菠菜类囊体PSII过度的氧还原,并促进D1蛋白的降解。由此看来,反应中心蛋白快速的去磷酸化是高等植物光合膜对高温胁迫的一种适应性调节,推测与PSII的修复循环加快有关。高温主要影响叶绿体内一种蛋白磷酸酶,磷酸化的D1、D2对于这种磷酸酶很敏感,而LHCII不敏感,说明反应中心蛋白和外周蛋白的去磷酸化很可能涉及到不同的磷酸酶(Rokka等2000)。一种脯氨酸多肽转移异构酶TLP40可以通过与磷酸酶的结合或释放调节磷酸酶的活性,它可能参与高温诱导的去磷酸化(Vener等1999;Rokka等2000)。

pH值同样影响PSII蛋白的磷酸化。Vener等(1995,1997)发现,黑暗中低pH(4.3)会激活蛋白激酶,从而诱导LHCII的磷酸化。低pH诱导

的蛋白激酶活性的增加与 PSII 电子传递链上还原态质体醌的增加呈正比, 证明了质体醌的氧化还原状态对 LHCII 的激酶调控起重要作用。随后恢复高 pH, 质体醌快速地被重新氧化, 但没有同时造成蛋白激酶的迅速失活, 推测这可能与质体醌与细胞色素 *bf* 复合物上 Q_0 位点的结合有关(Liu 和 Shen 2004)。

通常认为渗透胁迫会使植物细胞因失水而造成膜结构的破坏, 活性氧水平升高, 光合蛋白稳态水平表达下降, 光系统蛋白的磷酸化水平也轻微下降(Liu 等 2006)。我们的实验也显示在聚乙二醇模拟的渗透胁迫下, LHCII 和 D1 蛋白的去磷酸化速率增加(未发表资料)。这种去磷酸化的加速可能有利于 PSII 蛋白的周转, 是抵抗渗透胁迫的一种适应性调节。但 Liu 和 Shen (2004) 的工作表明, 不同浓度(10%、20% 和 30%)甘油对菠菜 PSII 蛋白磷酸化没有明显影响, 而用 $2.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 处理的 LHCII 磷酸化则明显受抑制, 用 LiCl、KCl 和 NaNO_3 等其它盐胁迫也得到同样的结果, 说明 NaCl 影响的磷酸化水平下降更可能是一种离子效应而非渗透效应。值得注意的是, 盐胁迫对藻类的影响与高等植物相反, NaCl 可以增加光照或黑暗下杜氏盐藻 LHCII 的磷酸化水平, 说明高浓度盐可以激活 LHCII 蛋白激酶的活性。这种变化会导致光合器官发生重排, 利于环式电子流和 ATP 生成, 从而抵抗盐胁迫对能量需求的抑制。由此可见高等植物与藻类光合机构对盐胁迫的反应机制不同, 但其间的具体的机制还需要进一步研究。

不同环境因素下的类囊体蛋白磷酸化状态变化说明, 光合器官对外界环境变化具有很大的适应能力和调节能力, 调节反应的分子机制非常复杂, 应该深入研究。

5 结束语

三十多年来, 随着分子生物学技术的不断发展, 高等植物光系统 II 蛋白磷酸化的研究取得了重大的进展, 已初步证明光系统 II 蛋白通过磷酸化这一结构的改变参与光合机能的调节, 因而高等植物能适应逆境而生长。关于光系统 II 蛋白磷酸化的研究正逐步深入展开, 如发生可逆磷酸化蛋白的种类、磷酸化的调控机制及诱导蛋白磷酸

化的环境因子等, 这些问题的深入研究将有助于人们系统和全面的了解高等植物光合作用调节的分子机制。

随着定量蛋白组技术的应用, 很多新的可发生磷酸化的光系统蛋白有望得到揭示, 如 CP29、TSP9、PsbH 等。这些蛋白的磷酸化状态改变与蛋白周转和迁移密切相关, 通过两者之间的联系可以调节两个光系统间光能的有效分配, 保证受损伤的 PSII 修复循环过程的进行, 从而避免光合器官受到损伤, 因而光合作用得以正常进行。但迄今尚有不少未知功能的可磷酸化蛋白组分还未得到揭示(Vener 2007), 需要深入探讨。

光系统 II 蛋白可逆磷酸化的调控机制是近年来的研究热点之一, STN7 和 STN8 是先后在拟南芥中得到揭示的 2 种与 PSII 蛋白磷酸化有关的蛋白激酶, 前者可能与 LHCII 的磷酸化有关(Bonardi 等 2005), 后者推测可能是 PSII 反应中心蛋白磷酸化所需要的蛋白激酶(Bellafiore 等 2005; Vainonen 等 2005), 但这种看法还需更多的实验支持。探寻两种激酶的确切作用底物, 阐明由质体醌和细胞色素 *bf* 复合物介导的激酶活性的氧化还原调节机制, 以及涉及到光系统 II 磷酸化的其它蛋白激酶和磷酸酶的揭示可能是今后的研究热点。

现已证明, 大多数 PSII 蛋白的磷酸化受外界环境因子诱导, 这是光合机构的一种适应性的调节过程。但不是所有环境因素的改变都能诱导高等植物光系统 II 蛋白的(去)磷酸化, 从目前的研究来看, 这些环境因子主要局限于光照强度、温度、pH 值和盐离子浓度, 其中以高强度光照的诱导最为普遍, 这说明高等植物对逆境胁迫的适应有可能是多样性的, 不同环境因子所诱导的反应途径可能不同。其它环境因素的改变能否诱导 PSII 蛋白的可逆磷酸化, 其反应机制与高强度光诱导有何异同, 这对进一步阐明植物光合作用响应逆境胁迫来说是重要的。另外, 也有人认为, 对于高等植物和藻类来说, 同样的环境胁迫诱导出的 PSII 蛋白磷酸化水平不同(Liu 和 Shen 2004; Vener 2007), 说明光合器官结构的差异可能会导致不同植物对外界环境的改变产生不同的适应机制, 即植物对环境的适应也有物种的多样性, 这对今后研究光系统 II 蛋白磷酸化的方向提出一个

新的启示:在相同的环境胁迫下的不同植物 PSII 蛋白磷酸化水平可能存在差异,从而导致不同植物的抗性不同。所以不同种或不同品系植物的比较研究也是值得研究的问题。

总之,深入研究逆境胁迫条件下的 PSII 蛋白磷酸化机制将会增加人们对植物体如何适应和改变环境的认识,从而设法提高作物的抗逆性。相信,随着生理生化技术方法的进一步发展,更多的可能发生磷酸化的光合蛋白将会得到揭示,并且对这些磷酸化蛋白进行体内定量分析。此外,定量蛋白组学、反向基因组学和定点突变等方法与高效的膜蛋白复合物分离技术的综合应用,许多光系统蛋白磷酸化中的未知问题也将陆续得到阐明。

参考文献

- 姜闯道,高辉远,邹琦(2002). D1 蛋白周转及其对能量耗散的调节. 植物生理学通讯, 38: 207~212
- 李炯,杜林方(2001). 快速检测植物类囊体膜蛋白体内磷酸化的方法. 生物化学与生物物理进展, 28: 740~743
- 张海波,许大全(2003). 光系统 II 蛋白磷酸化及其生理意义. 植物生理与分子生物学学报, 29: 487~493
- Allen DJ, Ort DR (2001). Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. Trends Plant Sci, 6: 36~42
- Allen JF (2003). State transitions - a question of balance. Science, 299: 1530~1532
- Andreucci F, Barbato R, Picollo C, Segalla A (2005). Isolation of phosphorylated and dephosphorylated forms of the CP43 internal antenna of photosystem II in *Hordeum vulgare* L.. J Exp Bot, 56: 1239~1244
- Aro EM, Ohad I (2003). Redox regulation of thylakoid protein phosphorylation. Antioxid Redox Signal, 5 (1): 55~67
- Baena-González E, Aro EM (2002). Biogenesis, assembly and turnover of photosystem II units. Philos Trans Roy Soc Lond B Biol Sci, 357: 1451~1460
- Baena-González E, Barbato R, Aro EM (1999). Role of phosphorylation in the repair cycle and oligomeric structure of photosystem II. Planta, 208: 196~204
- Bellafiore S, Barneche F, Peltier G, Rochaix JD (2005). State transitions and light adaptation require chloroplast thylakoid protein kinase STN7. Nature, 433: 892~895
- Bennett J (1977). Phosphorylation of chloroplast membrane polypeptides. Nature, 269: 344~346
- Bergantino E, Sandonà D, Cugini D, Bassi R (1998). The photosystem II subunit CP29 can be phosphorylated in both C3 and C4 plants as suggested by sequence analysis. Plant Mol Biol, 36: 11~22
- Bonardi V, Pesaresi P, Becker T, Schleiff E, Wagner R, Pfannschmidt T, Jahns P, Leister D (2005). Photosystem II core phosphorylation and photosynthetic acclimation require two different protein kinases. Nature, 437: 1179~1182
- Booij-James IS, Swegle WM, Edelman M, Mattoo AK (2002). Phosphorylation of the D1 photosystem II reaction center protein is controlled by an endogenous circadian rhythm. Plant Physiol, 130: 2069~2075
- Breitholtz HL, Srivastava R, Tyystjärvi E, Rintamäki E (2005). LHCII protein phosphorylation in leaves of *Arabidopsis thaliana* mutants deficient in non-photochemical quenching. Photosynth Res, 84: 217~223
- Cai SQ, Xu DQ (2002). Light intensity-dependent reversible down-regulation and irreversible damage of PSII in soybean leaves. Plant Sci, 163: 847~853
- Carlberg I, Hansson M, Kieselbach T, Schröder WP, Andersson B, Vener AV (2003). A novel plant protein undergoing light-induced phosphorylation and release from the photosynthetic thylakoid membranes. Proc Natl Acad Sci USA, 100: 757~762
- Carlberg I, Rintamäki E, Aro EM, Andersson B (1999). Thylakoid protein phosphorylation and the thiol redox state. Biochemistry, 38: 3197~3204
- Del Riego G, Casano LM, Martín M, Sabater B (2006). Multiple phosphorylation sites in the beta subunit of thylakoid ATP synthase. Photosynth Res, 89: 11~18
- Depège N, Bellafiore S, Rochaix JD (2003). Role of chloroplast protein kinase Stt7 in LHCII phosphorylation and state transition in *Chlamydomonas*. Science, 299: 1572~1575
- Haldrup A, Jensen PE, Lunde C, Scheller HV (2001). Balance of power: a view of the mechanism of photosynthetic state transitions. Trends Plant Sci, 6: 301~305
- Hansson M, Vener AV (2003). Identification of three previously unknown *in vivo* protein phosphorylation sites in thylakoid membranes of *Arabidopsis thaliana*. Mol Cell Proteomics, 2: 550~559
- Haußühl K, Andersson B, Adamska I (2001). A chloroplast DegP2 protease performs the primary cleavage of the photodamaged D1 protein in plant photosystem II. EMBO J, 20: 713~722
- Hou CX, Pursiheimo S, Rintamäki E, Aro EM (2002). Environmental and metabolic control of LHCII phosphorylation: revealing the mechanism for dual regulation of the LHCII kinase. Plant Cell Environ, 25: 1515~1525
- Kargul J, Turkina MV, Nield J, Benson S, Vener AV, Barber J (2005). Light-harvesting complex II protein CP29 binds to photosystem I of *Chlamydomonas reinhardtii* under State 2 conditions. FEBS J, 272: 4797~4806
- Komenda J, Barker M, Kuviková S, De Vries R, Mullineaux CW, Tichy M, Nixon PJ (2006). The FtsH protease slr0228 is important for quality control of photosystem II in the thylakoid membrane of *Synechocystis* sp. PCC 6803. J Biol Chem, 281: 1145~1151
- Lindahl M, Spetea C, Hundal T, Oppenheim AB, Adam Z, Andersson B (2000). The thylakoid FtsH protease plays a role in the light-induced turnover of the photosystem II D1 protein.

- Plant Cell, 12: 419~431
- Liu WJ, Yuan S, Zhang NH, Lei T, Duan HG, Liang HG, Lin HH (2006). Effect of water stress on photosystem 2 in two wheat cultivars. *Biol Plant*, 50: 597~602
- Liu XD, Shen YG (2004). NaCl-induced phosphorylation of light harvesting chlorophyll *a/b* proteins in thylakoid membranes from the halotolerant green alga, *Dunaliella salina*. *FEBS Lett*, 569: 337~340
- Lunde C, Jensen PE, Haldrup A, Knoetzel J, Scheller HV (2000). The PSI-H subunit of photosystem I is essential for state transitions in plant photosynthesis. *Nature*, 408: 613~615
- Lundin B, Hansson M, Schoefs B, Vener AV, Spetea C (2007). The *Arabidopsis* PsbO2 protein regulates dephosphorylation and turnover of the photosystem II reaction centre D1 protein. *Plant J*, 49: 528~539
- Martinsuo P, Pursiheimo S, Aro EM, Rintamäki E (2003). Dithiol oxidant and disulfide reductant dynamically regulate the phosphorylation of light-harvesting complex II protein in thylakoid membranes. *Plant Physiol*, 133: 37~46
- Nixon PJ, Barker M, Boehm M, de Vries R, Komenda J (2005). FtsH-mediated repair of the photosystem II complex in response to light stress. *J Exp Bot*, 56: 357~363
- Pursiheimo S, Mulo P, Rintamäki E, Aro EM (2001). Coregulation of light-harvesting complex II phosphorylation and lhcb mRNA accumulation in winter rye. *Plant J*, 26: 317~327
- Pursiheimo S, Rintamäki E, Baena-González E, Aro EM (1998). Thylakoid protein in evolutionally divergent species with oxygenic photosynthesis. *FEBS Lett*, 423: 178~182
- Rinalducci S, Larsen MR, Mohammed S, Zolla L (2006). Novel protein phosphorylation site identification in spinach stroma membranes by titanium dioxide microcolumns and tandem mass spectrometry. *J Proteome Res*, 5: 973~982
- Rintamäki E, Martinsuo P, Pursiheimo S, Aro EM (2000). Cooperative regulation of light-harvesting complex II phosphorylation via the plastoquinol and ferredoxin-thioredoxin system in chloroplasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 (21): 11644~11649
- Rokka A, Aro EM, Herrmann RG, Andersson B, Vener AV (2000). Dephosphorylation of photosystem II reaction center proteins in plant photosynthetic membranes as an immediate response to abrupt elevation of temperature. *Plant Physiol*, 123: 1525~1536
- Tikkanen M, Piippo M, Suorsa M, Sirpiö S, Mulo P, Vainonen J, Vener AV, Allahverdiyeva Y, Aro EM (2006). State transitions revisited - a buffering system for dynamic low light acclimation of *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 62: 779~793
- Turkina MV, Blanco-Rivero A, Vainonen JP, Vener AV, Villarejo A (2006a). CO₂ limitation induces specific redox-dependent protein phosphorylation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proteomics*, 6: 2693~2704
- Turkina MV, Kargul J, Blanco-Rivero A, Villarejo A, Barber J, Vener AV (2006b). Environmentally modulated phosphoproteome of photosynthetic membranes in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Mol Cell Proteomics*, 5: 1412~1425
- Turkina MV, Villarejo A, Vener AV (2004). The transit peptide of CP29 thylakoid protein in *Chlamydomonas reinhardtii* is not removed but undergoes acetylation and phosphorylation. *FEBS Lett*, 564: 104~108
- Vainonen JP, Hansson M, Vener AV (2005). STN8 protein kinase in *Arabidopsis thaliana* is specific in phosphorylation of photosystem II core proteins. *J Biol Chem*, 280: 33679~33686
- Vener AV (2007). Environmentally modulated phosphorylation and dynamics of proteins in photosynthetic membranes. *Biochim Biophys Acta*, 1767: 449~457
- Vener AV, Rokka A, Fulgosi H, Andersson B, Herrmann RG (1999). A cyclophilin-regulated PP2A-like protein phosphatase in thylakoid membranes of plant chloroplasts. *Biochemistry*, 38: 14955~14965
- Vener AV, van Kan PJM, Gal A, Andersson B, Ohad I (1995). Activation/Deactivation cycle of redox-controlled thylakoid protein phosphorylation. *J Biol Chem*, 270: 25225~25232
- Vener AV, van Kan PJM, Rich PR, Ohad I, Andersson B (1997). Plastoquinol at the quinol oxidation site of reduced cytochrome *bf* mediates signal transduction between light and protein phosphorylation: thylakoid protein kinase deactivation by a single-turnover flash. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 1585~1590
- Wei HM, Guo JW, Zhang SH, Huang B, Liu YQ, Du LF (2006). The presence of phosphorylation form of D1 protein in its cross-linked aggregates in high light treated spinach leaves *in vivo*. *Chin Sci Bull*, 51: 69~74
- Yoshioka M, Uchida S, Mori H, Komayma K, Ohira S, Morita N, Nakanishi T, Yamamoto Y (2006). Quality control of photosystem II. Cleavage of reaction center D1 protein in spinach thylakoids by FtsH protease under moderate heat stress. *J Biol Chem*, 281: 21660~21669
- Zer H, Vink M, Keren N, Dilly-Hartwig HG, Paulsen H, Herrmann RG, Andersson B, Ohad I (1999). Regulation of thylakoid protein phosphorylation at the substrate level: reversible light-induced conformational changes expose the phosphorylation site of the light-harvesting complex II. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 8277~8282
- Zhang HB, Cai SQ, Xu DQ (2002). D1 protein phosphorylation/dephosphorylation alone has no effect on the electron transport activity of photosystem II in soybean leaves. *Plant Sci*, 162 (4): 507~511
- Zhang S, Scheller HV (2004). Light-harvesting complex II binds to several small subunits of photosystem I. *J Biol Chem*, 279: 3180~3187
- Zito F, Finazzi G, Delosme R, Nitschke W, Picot D, Wollman FA (1999). The Q₀ site of cytochrome *bf* complexes controls the activation of the LHCII kinase. *EMBO J*, 18: 2961~2969