

植物甘油二酯激酶(DGK)信号转导作用

袁苑, 武玉叶, 李德全*

山东农业大学生命科学学院, 山东泰安 271018

Diacylglycerol Kinase Signal Transduction and Function in Plants

YUAN Yuan, WU Yu-Ye, LI De-Quan*

College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China

摘要: 甘油二酯激酶(DGK)是产生信号分子磷脂酸(PA)途径中的一个磷酸激酶, 它与磷脂酶 C (PLC)协同作用产生 PA, 磷脂酶 D (PLD)途径也是 PA 产生的一个来源。PA 是脂质信号分子, 参与调节植物各种细胞生物学过程。文章介绍植物中 DGK 的信号转导作用、分子生物学反应、DGK 的抑制剂以及与底物的亲和力的研究进展。

关键词: 甘油二酯激酶; 磷脂酸; 磷脂酶 C/D; 信号转导

甘油二酯激酶(diacylglycerol kinase, DGK)磷酸化二酯酰甘油(diacylglycerol, DAG)产生磷脂酸(phosphatidic acid, PA)。DAG 和 PA 都是信号分子, 动物中的研究比较深入, 然而在植物中的研究并不多。PA 是膜上分子量最小的磷脂, 同时也是合成膜脂和脂库的一个媒介。PA 在膜的代谢和生物合成过程中起重要的作用。它还是动植物体内的一个脂质调节因子, 在植物体内具有多种细胞生物学功能。在植物的生长、分化、繁殖、激素响应等多种生物和非生物胁迫的信号转导中, PA 都有调控作用。多种生物和非生物胁迫都可以诱导 PA 的产生, 例如病原体的侵入、干旱、盐胁迫及冷害等。PA 的形成主要通过 2 条途径来完成: 一是在磷脂酶 D (phospholipase D, PLD)的作用下, 磷脂酰胆碱水解产生 PA 和胆碱; 另一个是磷脂酶 C (phospholipase C, PLC)水解磷脂酰肌醇产生三磷酸肌醇(trisphosphate inositol, IP_3)和 DAG, DAG 在 DGK 的作用下生成 PA。目前对生成 PA 的 PLD 途径的研究报道较多, 而对 PLC-DGK 途径的研究很少, 尤其是对 DGK 的研究更少。

1 DGK 的信号转导作用

DGK 磷酸化 DAG 产生 PA。PA 不仅在动物细胞中有许多调节功能, 在植物生长发育中, 也参与根分化(起始)和生长有关的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)活性以及肌动蛋白的聚合等, 并广泛存在于多种植物中(Munnik 等 1996)。此外, PA 也参与介导植物的防卫反应。催化形成 PA 的酶主要有以下几种:

(1) PLD, 水解膜上的磷脂; (2) DGK, 磷酸化 DAG; (3) 酰基转移酶, 在可溶性 PA 上添加脂肪酸; (4) 来自于三磷酸甘油醛(glyceraldehyde 3-phosphate, G₃P)和磷酸二羟丙酮(dihydroxyacetone phosphate, DHAP)途径的酶。但在形成 PA 的 4 条途径中, PLC-DGK 与 PLD 是产生信号分子 PA 的 2 条最主要的途径(图 1)。

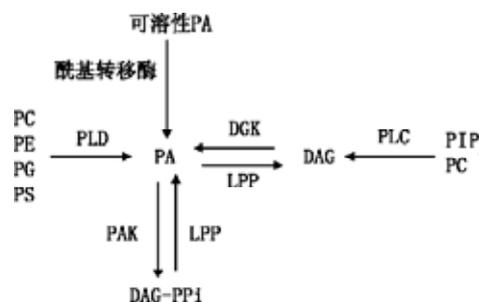


图 1 PA 生成途径

PA: 磷脂酸; PC: 卵磷脂; PE: 磷脂酰乙醇胺; PG: 磷脂酰甘油; PS: 磷脂酰丝氨酸; PLD: 磷脂酶 D; PAK: 蛋白激酶 A; DAG-PPi: 二酯酰甘油焦磷酸; LPP: 磷脂磷酸水解酶; DGK: 甘油二酯激酶; PLC: 磷脂酶 C; DAG: 二酯酰甘油; PIP₂: 磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸。

1.1 DGK 家族 DGK 磷酸化 DAG 产生的 PA 对冷害、盐害、高渗和微生物病原激发等均有响应,

收稿 2007-09-19 修定 2007-10-29

资助 山东农业大学科技创新基金(200623425)。

* 通讯作者(E-mail: dqli@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8249137)。

可以推测, DGK 的活性与这些环境条件有关系 (Ruelland 等 2002; Gómez-Merino 等 2004)。据报道, 在多种植物和动物中都发现了 DGK 的多种基因, 哺乳动物中有 9 个, 拟南芥基因组中有 7 个, 但在酵母中尚未发现 DGK 基因。通过对进化树分析(图 2), 拟南芥中的 DGK 可分为 3 类(Snedden 和 Blumwald 2000; Gómez-Merino 等 2004, 2005)。第一类包括 *AtDGK1* 和 *AtDGK2*。这一类基因含有 2 个典型的 DAG 结合区域, 该区域两端分别与 N 端的基础序列和富含半胱氨酸的延伸区域(extended cysteine-rich domain, extCRD)相连, 在 CRD 区域的下游是催化区和协助催化的辅助区域。*AtDGK2* 位于第 V 号染色体上, 在拟南芥的多类组织结构中都检测到该基因的存在(Katagiri 等 1996)。第二类包括 *AtDGK3*、*AtDGK4* 和 *AtDGK7*。*AtDGK7* 位于第 IV 号染色体上, 现已得到 4 个 *AtDGK7* 的表达序列标签(expressed sequence tag, EST)序列(AV798976、AV827682、CF773882、Z26229)和 2 个 cDNA 序列(AF360174、AY113915)。*AtDGK7* 和 *AtDGK2* 的序列有 40% 的同源性。GenBank 中并没有找到其他物种中这一类基因的全长序列, 但是 EST 序列分析表明, 其他物种中也存在这一类 DGK, 但至今尚未见报道, 如葡萄(GenBank 注册号为 CB981130)、杏树(CB821694)、番茄(AW035995)。第三类包括

AtDGK5 和 *AtDGK6*。这 2 类基因的结构比较简单, 它们不含上游的基础序列、DAG 结合区域和 CRD 区域(Gómez-Merino 等 2004)。

Snedden 和 Blumwald (2000) 在番茄中克隆到一个 cDNA, 命名为 *LeCBDGK*, 它编码一个钙调素结合蛋白, 其序列与动物中的 DGK 类似。这个钙调素结合区域在 *LeCBDGK* 的 C 端有 25 个残基 (Kamada 和 Muto 1991)。他们还分离到另一个 *LeCBDGK*, 它与前一个 *LeCBDGK* 只是缺少一个钙调素结合区域。钙存在的情况下, *LeCBDGK* 可以与细胞膜结合, 而钙调素的拮抗物则能破坏这种结合。这表明, *LeCBDGK* 在从可溶物与细胞膜组分的转变过程中, 钙的作用是不容忽视的 (Snedden 和 Blumwald 2000)。

哺乳动物中的 9 个 DGK 分为 5 类, 这 9 个基因在 N 末端都含有 2 或 3 个 CRD 区域(Topham 和 Prescott 1999)。3 个第一类的基因 *DGK α* 、*DGK β* 、*DGK γ* 都含有 2 个结合 Ca^{2+} 的 EF 手; 而第二类的 *DGK δ* 、*DGK η* 在 N 端都有 1 个 PH 结构域; 第三类基因只有 *DGK ϵ* , 它是这几类基因中没有调节区域的结构最简单的基因; 第四类在其 C 端有 1 个锚蛋白重复序列, 在催化区域的上游还有 1 个与 myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) 蛋白的磷酸化位点同源的区域; 第五类只有 1 个成员 *DGK θ* , 它有 1 个 PH 结构域,

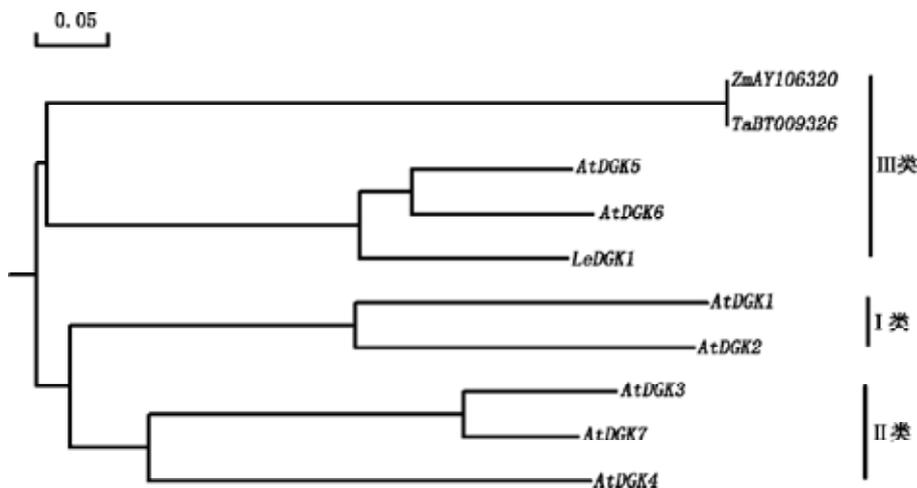


图2 *AtDGK* 和其他 *DGK* 的系统进化树

图中基因在 GenBank 中的注册号分别为: *AtDGK1*, NM_120874; *AtDGK2*, NM_125772; *AtDGK3*, NM_179649; *AtDGK4*, NM_125152; *AtDGK5*, NM_127660; *AtDGK6*, NM_118953; *AtDGK7*, NM_119180; *LeDGK1*, AF198259; *ZmAY106320*, AY106320; *TaBT009326*, BT009326。

但这个结构域不同于第二类,它在CRD区域之后,催化区域的上游。

DGK的活性不仅表现在产生PA上,也表现在消除DAG上。在动物体内,DAG是一个激活蛋白激酶C (protein kinase C, PKC)和其他效应因子的一类有效的脂信号。有报道认为,动物中的DGK通过将DAG转化为PA从而削弱DAG的影响(Regier等2005)。在植物体内,尽管DAG直接的靶目标还没有发现,但现已知道在磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)-PLC途径中产生的DAG能够迅速地转化成PA。动物中的PI-PLC有5类:即PLC β 、 γ 、 δ 、 ϵ 和 ζ 。而拟南芥中有9个PI-PLC,它们的区域结构类似于最简单的动物中的PLC ζ (Mueller-Roeber和Pical 2002; Wang 2004)。

1.2 PLD和DGK产生不同的PA

磷脂信使物质之间能够相互转化,每种信使物质都可以由不同磷脂酶途径产生,这就引出磷脂信号转导所涉及的分子种属问题。因为并不是所有的PA、DAG和溶血磷脂(lysophospholipid, lysoPL)都是化学上完全一致的,在它们的 sn -1和 sn -2位置上的酰基是不同的,因而可以有許多不同的分子种属。例如,PLD的底物卵磷脂(PC)与PLC的底物磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP₂)的酰基组成不同,那么PLC水解PIP₂产生的PA与PLD水解PC产生的PA就是不同的分子种属,而且产生于不同的亚细胞位置。

产生PA的酶的来源对理解PA的分子作用和信号转导中的分子调节是非常重要的。区分产生PA的2条途径PLD和PLC-DGK的方法有3种:遗传操作、通过活体³²P-标记技术来定性区分(Munnik等1998)和定量测定PA的脂肪酸组成,以明确PLC和PLD在PA形成中的贡献率。对于研究PLD和DGK的分子和生理功能来说,基因敲除和过表达的方法已经提供了一些信息(Testerink和Munnik 2005)。在细胞内,ATP是DGK的作用底物,膜脂是PLD的作用底物,用标记的无机磷酸盐处理细胞(提供磷酸基团),ATP比膜脂标记的快,所以依此可以推断PA的生成途径,而长时间标记产生的PA则主要来自PLD途径。

在PLD途径中,用乙醇可以抑制PA的产生。

这是利用了PLD磷脂转移的特性,和乙醇作为底物形成磷脂酰乙醇,这个过程伴随着PA的消耗。但是用乙醇处理时,应考虑到该处理可能引起的乙醇的其他效应,如增强脂的水解、改变脂的组成等。

PA的来源也可以根据PA的分子结构加以推测,如PC和磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)。例如,在冷冻条件下,采用电喷雾-质谱-质谱(electrospray ionization-tandem mass spectrometry, ESI-MS-MS)联用技术和研究其他膜脂分子种类的改变来确定PA的分子种属。大部分PA的酰基链的增加都伴随着PC酰基链的减少(Welti等2002)。再加上冻害条件下,PLD α 1缺失的突变体中的脂质分子种属的分析,可以得出结论,即在冻害条件下,PA主要由PC转化而来。但有一个例外,34:6 PA(34代表总的酰基C原子数,6代表总的双键数目),这个PA是在植物冻害处理之前获得的,其在冻害处理过程中也存在。在半乳糖脂,尤其是单半乳糖二甘油脂(monogalactosyldiacylglycerol, MGDG)中,34:6 PA的酰基组成是18:3/16:3。这些表明有一部分PA是来源于水解MGDG产生的DAG。同样,根据PA分子种属分析可以判断形成PA的2条途径(PLD和PLC-DGK)中的PA主要由哪条途径形成。在PLD途径中,PLD主要的作用底物为PC、PE和磷脂酰甘油(PG),在PLC-DGK途径中的主要底物是PIP₂,PC和PIP₂含有截然不同的脂肪酸组成,因此,在环境刺激中,根据PA的分子种属可以分析出PA的形成途径(Arisz等2003)。

1.3 DGK活性

目前,对拟南芥中DGK活性的研究较为深入(Kamada和Muto 1991; Lundberg和Sommarin 1992; Wissing和Wagner 1992)。AtDGK7的酶活在pH值为6.8时的活性最高,pH值低于6.8和高于7.8的两个临界点之外,其活性会迅速下降。用NaCl和LiCl两种盐处理转入AtDGK7的拟南芥时,在5~50 mmol·L⁻¹的范围内,AtDGK7的活性随着盐浓度的升高而增强,LiCl的浓度为50 mmol·L⁻¹的AtDGK7活性最高;两种盐的浓度为500 mmol·L⁻¹的AtDGK7蛋白活性迅速下降(Fernando 2005)。

众所周知,PA是DGK的直接作用产物,通

过测定PA的多种数据可以间接获得与DGK相关的一些数据。如PA的活性与AtDGK2蛋白量的增加成正比,也就是说,蛋白的量越高,PA的活性越高,即AtDGK2的活性越强。DGK的底物众多,以1,2-二酰基甘油(1,2-dioleoyl-*sn*-glycerol, 1,2-DOG)为例,随着底物浓度的增加,PA的生成率及反应速率呈现对数函数曲线的模式,底物浓度为1000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到饱和,反应速率也达到最大值。AtDGK2的最适pH值为7.2,pH值低于6.5或高于7.8时的AtDGK2活性会迅速降低。NaCl和LiCl对AtDGK2的活性也有影响,两者的浓度分别达到200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,AtDGK2的活性即降低到正常生长条件下的50%。但须特别指出的是,即使是高浓度的 CaCl_2 (1000 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)也不影响产物PA的形成,即不会影响AtDGK2的活性(Fernando 2005)。

1.4 PLC-DGK与PLD途径的交互作用及特异性

PA和DAG两种信使物质之间可以相互转化,但是植物中缺少DAG下游靶物PKC,DAG可能在DGK的作用下迅速转化成PA,作为信使物质将信号向下游传导,因而植物中可能会更多地利用PA作为信使物质。PA产生于PLD和PLC-DGK两条途径,这两条途径既可能平行作用,也可能串联在同一条途径上,还可能单独进行。

2 植物中DGK的分子和生理学效应

2.1 伤胁迫后的AtDGK2 AtDGK2的表达可以由伤信号迅速诱导。将AtDGK2和GUS相融合,转入拟南芥后,AtDGK2在整株植物中都有表达,低温处理时,此基因的表达会增强。当转基因拟南芥受到线虫类物伤害后,AtDGK2的表达也会受到微弱的诱导。在伤胁迫后的15 min~1 h内,拟南芥叶片中AtDGK2的转录水平会表现出较强烈的表达;3 h后,AtDGK2的转录水平会恢复到原来正常生长条件下的水平。但其在根中的表达还没有研究。伤胁迫对AtDGK2基因表达的影响也因拟南芥类型的不同而有明显差异。伤胁迫30 min后,Col型拟南芥AtDGK2的转录水平上升15倍,而C24型则能提高大约24倍(Gómez-Merino等2005)。

2.2 冷害和冻害条件下的DGK 多种生物和非生物胁迫如干旱、盐胁迫、营养不良、活性氧、伤

害、病原物侵害等都能诱导PA的产生,PA主要来源于PLD途径。但有研究表明,在骤冷和冷适应的环境中,PA的量也会增加(Ruelland等2002; Welti等2002)。在这种环境条件下,PLD和PLC-DGK两条途径都能产生PA,PLC-DGK是主要的途径(Ruelland等2002)。但不论哪条途径受到抑制,都可以降低PA的积累。近来,人们用U73122或乙醇,采用基因芯片技术研究检测受PLC和PLD影响的一些基因表达的结果表明,U73122是PLC的抑制剂,而乙醇则可以降低由PLD催化的PA的产生。温度的下调可以引起一些基因的表达升高,而对于某些基因则会抑制它们的表达(Vergnolle等2005)。据统计,有58个基因受PLC的影响,87个基因受PLD产生的PA的影响,有9个基因同时依赖于PLC和PLD(Vergnolle等2005)。这些结果表明,不同的抑制剂抑制不同的冷响应基因。PLC和PLD是激活冷响应上游的2个不同的信号途径。这表明,由PLC-DGK和PLD产生的PA在对冷胁迫的响应中分别起不同的作用。

2.3 外界激发子激活PLC-DGK途径 在有病原物或者激发子存在时,植物细胞PA会迅速产生。PLD的激活对外界因素诱导的PA形成具有特定的作用(Den Hartog等2001),DGK参与由一些激发子和菌类诱导的PA的形成过程。用真菌激发子木聚糖酶处理番茄后,NO即快速积累。Laxalt等(2007)证实,NO的存在有利于PA的产生。这个过程PA主要来源于PLC-DGK途径。而PA和木聚糖酶都能促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生。NO的清除剂或是PLC和DGK的抑制剂都可以减少由木聚糖酶引起的ROS的产生。NO的清除剂cPTIO、PLC的抑制剂U73122和DGK的抑制剂R59022都可以削弱由木聚糖酶引起的细胞死亡。在植物防御系统中,PLC-DGK途径中产生的PA是NO信号网络下游的一个特殊的组分。

2.4 cf-4/Avr4病毒引起的分子效应 番茄细胞与cf-4/Avr4病毒相互作用产生抗性过程中,PA和二酰基甘油焦磷酸盐(diacylglycerol pyrophosphate, DGPP)都快速积累。DGPP是PA在蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)的作用下形成的。这些PA可为PLC的抑制剂阻断,也就是说,在cf-4/

Avr4的影响下产生的PA主要来源于PLC-DGK途径。PA不能为氧猝发的抑制剂DPI所抑制,但可以促使活性氧的产生(De Jong等2004),也就是说,PA的形成过程是氧猝发的上游进程。由N-乙酰氨基葡聚糖诱导的水稻细胞中,PLC参与形成ROS的第一步,而PLD和PA可促使ROS的最终产生(Yamaguchi等2004)。PLD活性与它在膜上的迁移有关。PA和DAG都促使由激发子引起的基因的过量表达。这也表明,PA参与ROS的级联反应及其防御信号的转导。

2.5 结瘤因子引起的分子效应 根瘤菌结瘤因子引起宿主植物根瘤的形成和根毛的变形(Den Hartog等2001)。为了调查结瘤因子是否是通过PLC-DGK途径激活脂信号途径,Den Hartog等(2001)的实验表明,结瘤因子能够激活PLC-DGK和PLD转导,增加PA的形成和甘油二酯焦磷酸盐的积累。肥大细胞脱粒肽也可以模拟结瘤因子的作用,激活这两条信号转导途径。他的工作还指出,PLC的拮抗物新霉素可以与 PIP_2 结合,从而抑制由结瘤因子引起的根毛变形和PA的形成。但还不能确定PLC的另一种抑制剂U73122对由结瘤因子引起的根毛形态学上的变化所起的抑制作用。这也同样说明结瘤因子能够激活PLC途径(Den Hartog等2001)。

3 DGK的抑制剂及其与底物结合时的活性

在动植物中,DGK的抑制剂R59949和R59022已经用于抑制DAG的磷酸化作用。植物中浓度为 $50\sim 100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的R59022可以减弱冷诱导下PA的形成,同时增强激发子诱导的豌豆上胚轴组织的植物抗生素的积累。当抑制剂的浓度为 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,豌豆细胞膜上的DGK活性可受到50%的抑制。先前曾有报道指出,当R59022的浓度相对较低的时候也能抑制重组的AtDGK2活性。有实验证明,浓度为 $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的R59022,并不能抑制AtDGK7,而AtDGK2的活性则降低20%;浓度升高至 $1000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的R59022才会抑制AtDGK7。 $50\sim 100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的DGK抑制剂R59022可以抑制拟南芥根的形成和伸长。在冷害和伤害条件下,AtDGK2的表达可上调(Gómez-Merino等2004)。此外,DGK的另一抑制剂R59949对AtDGK7和AtDGK2的抑制作用都不明显。

对多种动物DGK测试的结果中表明,以上两种抑制剂都能通过调节DAG-PA的信号转导调节细胞的生长发育,R59949是这两种中比较有效的抑制剂(Jiang等2000)。

此外,DGK的主要作用底物是DAG以及DAG的类似物。有报道说,AtDGK2的活性随着底物的不同而有较大差异。AtDGK2与DAG的类似物1,2-SAG(1-stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol)和1,2-DOG结合时的活性最高,在人类DGK的研究中也曾有相同的结果(Schaap等1990;Bunting等1996)。AtDGK2与其他底物1,2-DOCG(1,2-dioctanoyl-*sn*-glycerol)、1,2-DPG(1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycerol)和1,2-DMG(1,2-dimyristoyl-*sn*-glycerol)结合时的活性比与1,2-SAG和1,2-DOG结合时要低很多。而1,2-SAG和1,2-DOG比其他4种底物的不饱和度相对较高(De Jong等2004)。至于其他DGK作用底物的报道还未见。

4 结语

DGK作为植物中一类比较新的激酶,具有特殊的结构特征和理化性质,并参与植物体内多种信号分子的形成。目前对DGK的研究尚处于起步阶段,只是在拟南芥、番茄、水稻、小麦和玉米中克隆到为数不多的几个DGK基因。对所克隆到的这几个基因也仅仅是从酶活、作用底物、抑制剂、基因的组成性表达和定位等方面做了些初步的研究。但关于DGK的分子调控、信号转导中的作用机制以及与其他信号系统的相互影响尚未完全明了,特别是植物信号传递问题还有许多中间环节没有搞清楚,这些都有待进一步的研究。我们实验室现已将AtDGK7转入烟草和拟南芥,得到的初步结果显示,AtDGK7的转入能够增强植物的抗冷性和抗旱性,其对盐胁迫似乎更敏感,这些结果还需进一步验证。DGK基因的功能还不很明确,相信随着研究技术的不断改进和对此问题研究的不断深入,DGK的生物学功能将会得到揭示。

参考文献

- Arisz SA, Valianpour F, van Gennip AH, Munnik T (2003). Substrate preference of stress-activated phospholipase D in *Chlamydomonas* and its contribution to PA formation. *Plant J*, 34: 595-604

- Bunting M, Tang W, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM (1996). Molecular cloning and characterization of a novel human diacylglycerol kinase zeta. *J Biol Chem*, 271: 10230~10236
- De Jong CF, Laxalt AM, Bargmann BOR, de Wit PJGM, Joosten MHAJ, Munnik T (2004). Phosphatidic acid accumulation is an early response in the *Cf-4/Avr4* interaction. *Plant J*, 39: 1~12
- Den Hartog M, Musgrave A, Munnik T (2001). Nod factor-induced phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate formation: a role for phospholipase C and D in root hair deformation. *Plant J*, 25: 55~65
- Fernando D (2005). Intra-ocular nematode worms: rare but important. *Ceylon Med J*, 50: 141~143
- Gómez-Merino FC, Arana-Ceballos FA, Trejo-Téllez LI, Skiryecz A, Brearley CA, Dörmann P, Mueller-Roeber B (2005). *Arabidopsis* AtDGK7, the smallest member of plant diacylglycerol kinases (DGKs), displays unique biochemical features and saturates at low substrate concentration. The DGK inhibitor R59022 differentially affects AtDGK2 and AtDGK7 activity *in vitro* and alters plant growth and development. *J Biol Chem*, 280: 34888~34899
- Gómez-Merino FC, Brearley CA, Ornatowska M, Abdel-Halim ME, Zanor MI, Mueller-Roeber B (2004). AtDGK2, a novel diacylglycerol kinase from *Arabidopsis thaliana*, phosphorylates 1-stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol and 1,2-dioleoyl-*sn*-glycerol and exhibits cold-inducible gene expression. *J Biol Chem*, 279: 8230~8241
- Jiang Y, Sakane F, Kanoh H, Walsh JP (2000). Selectivity of the diacylglycerol kinase inhibitor 3-[2-(4-[bis-(4-fluorophenyl)methylene]-1-piperidiny)ethyl]-2,3-dihydro-2-thioxo-4(1H)quinazolinone (R59949) among diacylglycerol kinase subtypes. *Biochem Pharmacol*, 59: 763~772
- Kamada Y, Muto S (1991). Ca²⁺ regulation of phosphatidylinositol turnover in the plasma membrane of tobacco suspension culture cells. *Biochim Biophys Acta*, 1093: 72~79
- Katagiri T, Mizoguchi T, Shinozaki K (1996). Molecular cloning of a cDNA encoding diacylglycerol kinase (DGK) in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 30: 647~653
- Laxalt AM, Raho N, Have AT, Lamattina L (2007). Nitric oxide is critical for inducing phosphatidic acid accumulation in xylanase-elicited tomato cells. *J Biol Chem*, 282: 21160~21168
- Lundberg GA, Sommarin M (1992). Diacylglycerol kinase in plasma membranes from wheat. *Biochim Biophys Acta*, 1123: 177~183
- Mueller-Roeber B, Pical C (2002). Inositol phospholipid metabolism in *Arabidopsis*. Characterized and putative isoforms of inositol phospholipid kinase and phosphoinositide-specific phospholipase C. *Plant Physiol*, 130: 22~46
- Munnik T, de Vrije T, Irvine RF, Musgrave A (1996). Identification of diacylglycerol pyrophosphate as a novel metabolic product of phosphatidic acid during G-protein activation in plants. *J Biol Chem*, 271: 15708~15715
- Munnik T, Irvine RF, Musgrave A (1998). Phospholipid signaling in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1389: 222~272
- Regier DS, Higbee J, Lund KM, Sakane F, Prescott SM, Topham MK (2005). Diacylglycerol kinase iota regulates Ras guanyl-releasing protein 3 and inhibits Rap1 signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 7595~7600
- Ruelland E, Cantrel C, Gawer M, Kader JC, Zachowski A (2002). Activation of phospholipases C and D is an early response to a cold exposure in *Arabidopsis* suspension cells. *Plant Physiol*, 130: 999~1007
- Schaap D, de Widt J, van der Wal J, Vandekerckhove J, van Damme J, Gussow D, Ploegh HL, van Blitterswijk WJ, van der Bend RL (1990). Purification, cDNA-cloning and expression of human diacylglycerol kinase. *FEBS Lett*, 275: 151~158
- Snedden WA, Blumwald E (2000). Alternative splicing of a novel diacylglycerol kinase in tomato leads to a calmodulin-binding isoform. *Plant J*, 24: 317~326
- Testerink C, Munnik T (2005). Phosphatidic acid: a multifunctional stress signaling lipid in plants. *Trends Plant Sci*, 10: 368~375
- Topham MK, Prescott SM (1999). Mammalian diacylglycerol kinases, a family of lipid kinases with signaling functions. *J Biol Chem*, 274: 11447~11450
- Vergnolle C, Vaultier MN, Taconnat L, Renou JP, Kader JC, Zachowski A, Ruelland E (2005). The cold-induced early activation of phospholipase C and D pathways determines the response of two distinct clusters of genes in *Arabidopsis* cell suspensions. *Plant Physiol*, 139: 1217~1233
- Wang X (2004). Lipid signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 7: 329~336
- Walti R, Li W, Li M, Sang Y, Biesiada H, Zhou HE, Rajashekar CB, Williams TD, Wang X (2002). Profiling membrane lipids in plant stress responses. Role of phospholipase D alpha in freezing-induced lipid changes in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 277: 31994~32002
- Wissing JB, Wagner KG (1992). Diacylglycerol kinase from suspension cultured plant cells. Characterization and subcellular localization. *Plant Physiol*, 98: 1148~1153
- Yamaguchi T, Tanabe S, Minami E, Shibuya N (2004). Activation of phospholipase D induced by hydrogen peroxide in suspension-cultured rice cells. *Plant Cell Physiol*, 45: 1261~1270