

植物鞘脂结构、代谢和功能的研究进展

戴光义, 王铃艳, 黄骊群, 郑萍, 姚楠*

中山大学生命科学学院, 有害生物防治与资源利用国家重点实验室, 广东省热带与亚热带植物资源重点实验室, 广州 510275

摘要: 鞘脂是生物膜的重要结构成分之一, 也是重要的生物活性分子, 参与多种信号转导途径, 在程序性细胞死亡、自噬、植物与病原菌互作以及各种非生物胁迫应答中发挥着重要作用。近年来, 在模式植物拟南芥和水稻中鉴定到许多鞘脂代谢途径中起关键作用的酶, 本文综述了植物鞘脂的代谢调控以及鞘脂代谢途径相关基因功能的研究现状和进展。

关键词: 植物鞘脂; 鞘氨醇; 神经酰胺; 逆境胁迫

鞘脂(sphingolipids)是一种广泛存在于真核生物和少数原核生物膜上的脂质(Heaver等2018)。鞘脂的结构复杂多样, 它既是生物膜的主要结构成分, 又是重要的生物活性分子, 参与多种信号转导途径和各种生命过程。鞘脂代谢相关基因的功能研究表明鞘脂在植株生长、发育和胁迫应答过程中发挥着重要的作用(Liang等2003; Bi等2014; Wu等2015; Li等2016; Zheng等2018)。尽管鞘脂的生物学功能非常重要, 但因常规脂质提取方法以及检测技术的局限, 造成鞘脂研究在一段时期内进展缓慢。近年来, 得益于不断优化的植物鞘脂提取方法、强大的质谱分析能力以及丰富的拟南芥突变体资源(表1), 植物鞘脂研究取得了长足的进步, 促进了植物鞘脂的结构、代谢和生理功能的研究。

1 植物鞘脂的结构

鞘脂是由鞘氨醇(sphingosine)、脂肪酸(fatty acid, FA)和极性头部基团组成(Lynch和Dunn 2004)。鞘氨醇, 又称为长链基团(long chain base, LCB), 是鞘脂特有的结构, 所以也被认为是最简单的鞘脂。神经酰胺由鞘氨醇和脂肪酸通过酰胺键相连而成(图1)。植物中LCBs的链长通常为18个碳原子, 并在 $\Delta 4$ 或 $\Delta 8$ 位产生不饱和双键。 $\Delta 8$ 位双键存在顺式或反式构象, 而 $\Delta 4$ 位仅存在反式构象。初合成的LCB, 在C-1和C-3位含2个羟基, 被称为二羟基鞘氨醇。C-4位可继续进行羟基化修饰, 形成三羟基鞘氨醇(Lynch和Dunn 2004)。在鞘脂结构的命名上, “d18:1”中的“d”表示2个羟基, “18”表示LCB链含有18个碳原子, “0”表示没有双键, “1”表示含1个双键; 而在“t18:1”中的“t”表示3个羟基。LCBs可以在C-1

位发生磷酸化, 形成鞘氨醇-1-磷酸(long chain base-1-phosphate, LCB-P)。LCB及LCB-P在植物细胞中的含量很低(Markham和Jaworski 2007)。

大多数LCBs与脂肪酸通过酰胺键缩合形成神经酰胺(ceramides)。植物中神经酰胺的脂肪酸链长为16到28个碳原子, 大部分在其C-2位进行羟基修饰, 形成羟基化神经酰胺(hydroxylceramide, hCer), 也可以在 $\Delta 9$ 位上脱氢形成双键(Imai等2000; Konig等2012)。含C16~C18脂肪酸链的鞘脂被称为长链鞘脂(sphingolipid long chain fatty acids, sphingolipid LCFAs), 而C20~C26脂肪酸链的鞘脂被称为极长链鞘脂(sphingolipid very long chain fatty acids, sphingolipid VLCFAs)。神经酰胺可以在LCB链的C-1位发生磷酸化形成神经酰胺-1-磷酸(ceramide-1-phosphate, C1P), C1P在植物中含量极低, 很难被检测到。神经酰胺的C-1位也可以进行糖基化修饰, 形成鞘糖脂(Lynch和Dunn 2004)。植物中最简单的鞘糖脂是一分子葡萄糖基团构成的葡萄糖神经酰胺(glucosylceramide, GlcCer), 约占拟南芥叶片鞘糖脂含量的三分之一(Markham等2006; Markham和Jaworski 2007)。植物中最丰富的鞘糖脂是糖基磷脂酰肌醇神经酰胺(glycosyl inositolphosphoceramide, GIPC), 约占拟南芥叶片鞘糖脂含量的三分之二(Markham等2006; Markham和Jaworski 2007), 它由磷脂酰肌醇与神经酰胺结合, 并在磷脂酰肌醇上增加己糖或戊糖基团而成(Cacas等2013)。综上所述,

收稿 2018-10-24 修定 2018-11-20

资助 国家自然科学基金(31570255和31771357)、广东省自然科学基金(2017A030311005)。

* 通讯作者(yaonan@mail.sysu.edu.cn)。

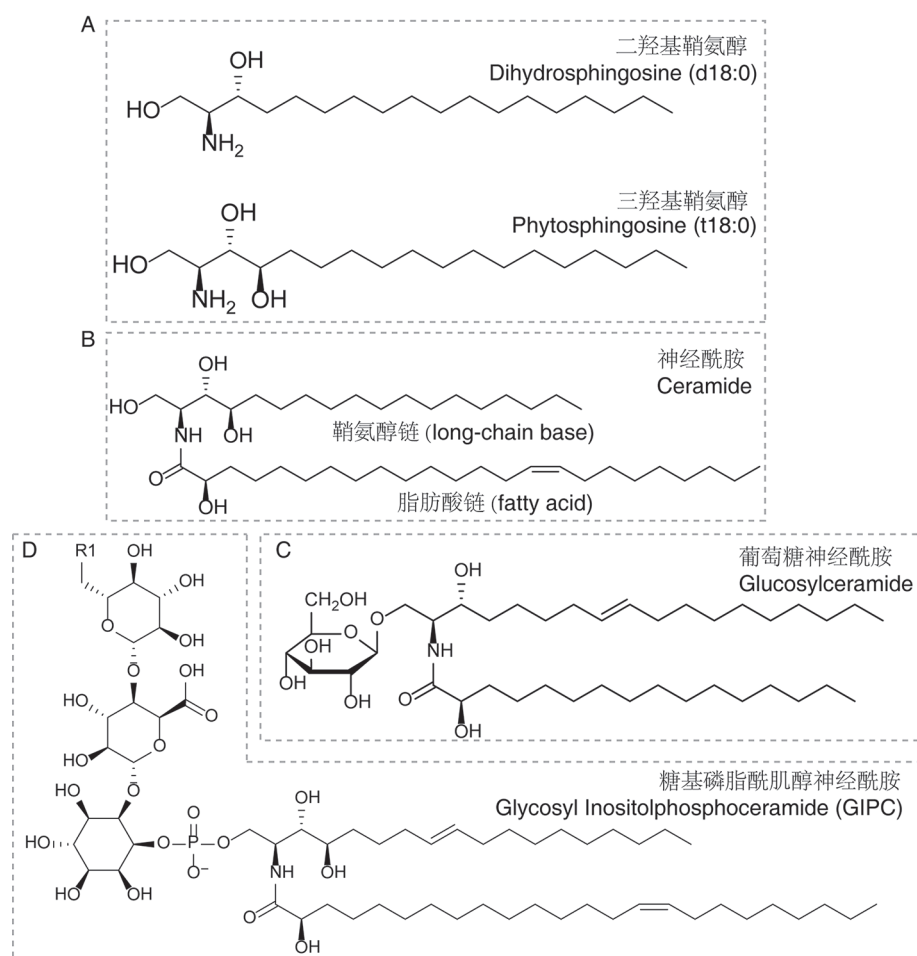


图1 植物鞘脂的典型结构

Fig.1 Typical sphingolipid structure in plants

A: 最简单的二羟基鞘氨醇d18:0和三羟基鞘氨醇t18:0。B: 羟基神经酰胺t18:1 h24:1。“t18:1”表示鞘氨醇链是含3个羟基和1个双键;“h24:1”中的“h”表示羟基化,“24:1”表示24个碳原子并含有1个双键的脂肪酸。C: 葡萄糖神经酰胺Glc-d18:1 h16:0。“Glc”表示葡萄糖基化的羟基神经酰胺“d18:1 h16:0”。D: 糖基磷脂酰肌醇神经酰胺。“R1”基团可以是甘露糖、葡萄糖胺、N-乙酰葡萄糖胺、半乳糖、阿拉伯糖或这些己糖的组合。

鞘氨醇种类、脂肪酸的链长、羟基化、不饱和度以及头部基团修饰,构成了丰富多样的鞘脂结构。

2 植物鞘脂的代谢

2.1 鞘氨醇的合成

LCBs的生物合成是通过丝氨酸棕榈酰转移酶 (serine palmitoyltransferase, SPT)催化丝氨酸和棕榈酰辅酶A聚合,再由3-酮基鞘氨醇还原酶(3-ketosphinganine reductase, KSR)还原成鞘氨醇(Chen等2006; Teng等2008; Chao等2011)。d18:0 LCB是植物中最简单的鞘氨醇。拟南芥SPT是由LCB1和LCB2亚基组成的异二聚体(图2),是鞘脂合成的限速酶(Tamura等2001)。通常SPT酶活性较低,当小

亚基ssSPT (small subunit of SPT)与LCB1/LCB2亚基互动时, SPT的酶活性指数级提高(Kimberlin等2013)。研究发现类黏膜蛋白ORMs (orosomucoid proteins)与ssSPT互动来负调控SPT活性,在维持鞘脂稳态中具有极其重要的作用(Li等2016; Kimberlin等2016)。拟南芥LCB1基因功能缺失突变体*fbr11-1*和*fbr11-2*对伏马毒素(fumonisin B1, FB1)不敏感,其中*fbr11-2*的雄配子体致死。LCB2有2个功能冗余基因LCB2a和LCB2b,其双突变体雄配子体致死(Chen等2006; Teng等2008)。类黏膜蛋白功能缺失突变体*orm*导致鞘脂从头合成增加,植株积累鞘脂,并有早衰表型,伴随过氧化氢积累(Li等2016)。拟南芥KSR基因突变体*ksr-1*的还原酶活性降低,但植

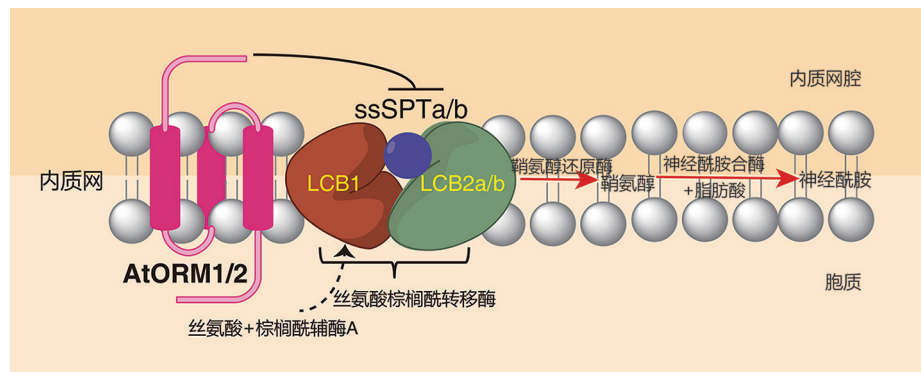


图2 丝氨酸棕榈酰转移酶SPT复合体示意图

Fig.2 Schematic representation of SPT complex

植物SPT复合体是由LCB1和LCB2组成的异二聚体,受多种因子调控。SPT小亚基ssSPT结合到异二聚体上显著增强SPT酶的活性。ORM蛋白负调控ssSPT蛋白从而负调控鞘脂从头合成。

株可以存活,其叶片离子含量异常,根的铁稳态发生了改变(Chao等2011)。

d18:0 LCB可直接合成神经酰胺,也可经羟基化或不饱和修饰后再合成神经酰胺(图3)。在拟南芥叶片中,90%的LCBs含有三羟基和 $\Delta 8$ 不饱和键。LCBs的第3个羟基由LCB C-4羟化酶(sphingoid base hydroxylase, SBH)引入,形成t18:0 LCB (Sperling等2001; Chen等2008)。拟南芥LCBs的 $\Delta 8$ 位不饱和键由 $\Delta 8$ 去饱和酶(sphingoid LCB $\Delta 8$ desaturase, SLD)引入,并存在顺式或反式构象(Chen等2012)。许多植物存在 $\Delta 4$ 位不饱和LCBs,但不会单独存在,总会与 $\Delta 8$ 双键修饰一起形成d18:2 LCB。拟南芥LCB $\Delta 4$ 去饱和酶基因在叶片中几乎不表达,但在花粉中表达,因此d18:2 LCB在花中含量很高(Ternes等2002; Luttgeharm等2015)。SBH基因突变体积累鞘脂,特别是主要由长链脂肪酸LCFAs和d18:0 LCBs组成的鞘脂(Sperling等2001; Chen等2008)。拟南芥SLDs基因功能缺失双突变体植株中GlcCer含量减少了一半(Chen等2012)。LCB $\Delta 4$ 去饱和酶功能缺失突变体花粉的GlcCer含量也减少了一半(Ternes等2002)。这说明LCB链上的修饰,可以影响复杂鞘脂的合成。

水稻*OsLCB2a1*基因编码SPT的一个亚基。在褐飞虱侵染过程中,其基因表达在4 h内升高,8~24 h内下降,表明鞘脂在提高植物对害虫的抗性中扮演重要角色(Begum等2016)。水稻有5个C-4羟化酶同源基因*OsDSH1~OsDSH5* (*dihydro sphingosine C4 hydroxylase, DSH*), *OsDSH1*和*OsDSH4*能回补

酵母C-4羟化酶缺陷表型。其中*OsDSH1*基因沉默将导致植株育性显著降低(Imamura等2007)。水稻有3个类ORM (*orosomucoid-like, ORMDL*)同源基因,*ORMDL*基因沉默导致水稻花粉形态异常(Chueasiri等2014)。有研究发现向日葵中的C-4羟化酶和 $\Delta 8$ 去饱和酶也能回补酵母相应基因的缺陷表型(Morenoperez等2011)。

2.2 神经酰胺的合成

神经酰胺是鞘氨醇和脂酰辅酶A在神经酰胺合酶催化下发生酰基转移反应而来。拟南芥有3个与酵母神经酰胺合酶(*longevity assurance gene1, LAG1*)同源的基因,被命名为*LOH (LAG one homolog, LOH)-1, -2, -3*。酶活性分析显示,LOH1和LOH3偏好极长链脂肪酸为底物,而LOH2偏好长链脂肪酸为底物(Markham等2011; Ternes等2011; Luttgeharm等2016)。LOH2基因功能缺失突变体缺少C16脂肪酸链和d18:0 LCB组成的神经酰胺。LOH1和LOH3基因功能缺失突变体VLCFAs和t18:0 LCB组成的神经酰胺含量降低(Markham等2011)。

2.3 葡萄糖神经酰胺的合成

神经酰胺被糖基化修饰,形成葡萄糖神经酰胺GlcCer或糖基磷脂酰肌醇神经酰胺GIPCs。GlcCer是最简单的鞘糖脂,在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)以外的真核生物中普遍存在。GlcCer由葡萄糖神经酰胺合酶催化神经酰胺和UDP-葡萄糖聚合而成。GlcCer合酶能被抑制剂_{D,L}-threo-1-phenyl-2-decanoyl amino-3-morpholino-1-propanol (PDMP)有效抑制。PDMP处理拟南芥根部导致高

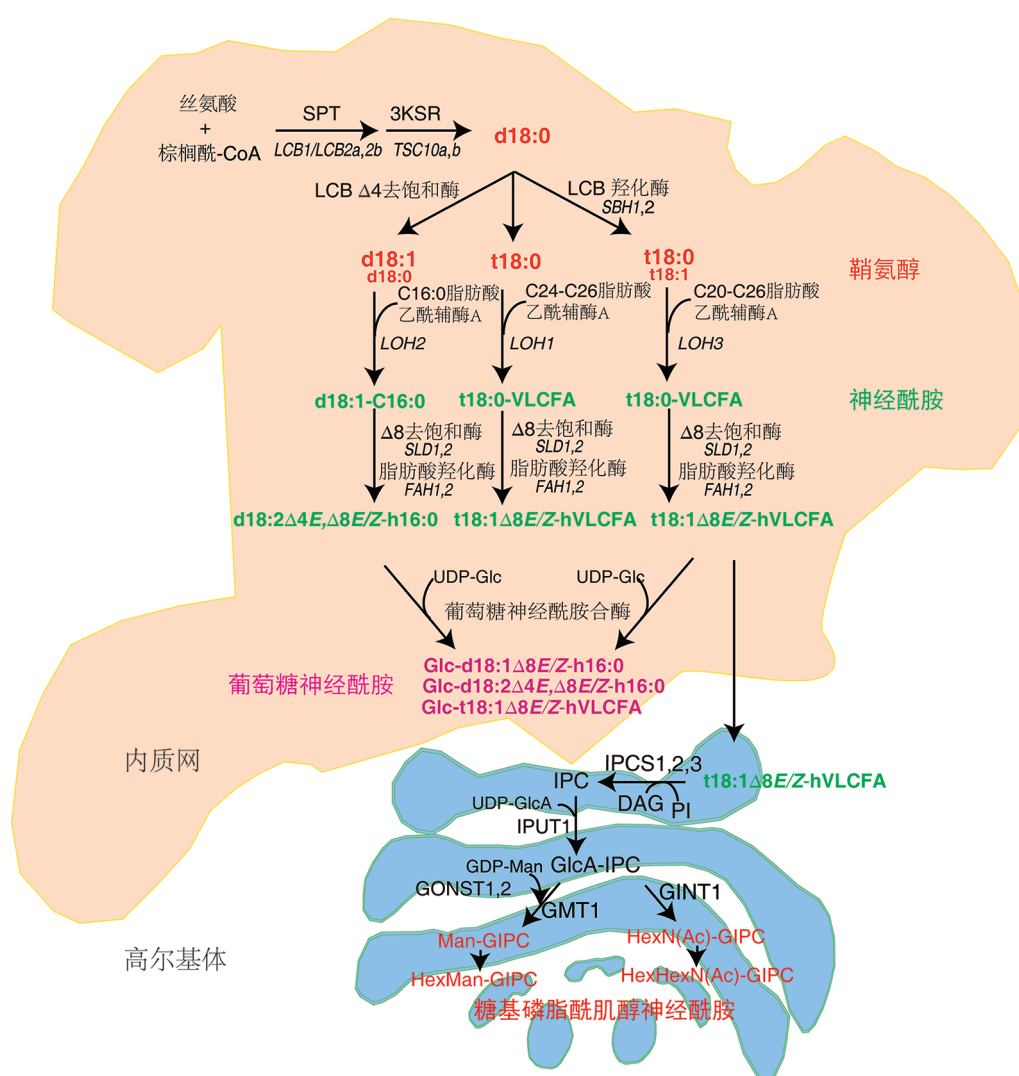


图3 拟南芥鞘脂代谢途径

Fig.3 Sphingolipid metabolic pathway in plants

每步反应的酶和对应的基因都已用文字标识,同类鞘脂组分以颜色区分,鞘氨醇d18:0在神经酰胺合酶LOH2的作用下,与C16链长的脂肪酸(16:0-CoA)优先结合,用于GlcCer的合成。t18:0在神经酰胺合酶LOH1/LOH3的作用下,与极长链脂肪酸VLCFAs(脂肪酸 ≥ 20)优先结合,用于GlcCer和GIPC的合成。SPT: 丝氨酸棕榈酰转移酶; 3KSR: 3-酮基鞘氨醇还原酶; LOH: 神经酰胺合成酶; IPCS: 磷脂酰肌醇神经酰胺合成酶; IPUT1: 磷脂酰肌醇神经酰胺葡萄糖醛基转移酶1; GONST: 高尔基体定位的GDP-甘露糖转运蛋白; GMT: GIPC甘露糖基转移酶; GINT1: 葡萄糖胺磷脂酰肌醇神经酰胺转移酶; GIPC: 糖基磷脂酰肌醇神经酰胺; PI: 磷脂酰肌醇; DAG: 二酰甘油; IPC: 磷脂酰肌醇神经酰胺; UDP-GlcA: 尿苷二磷酸-葡萄糖醛酸; GlcA-IPC: 葡萄糖醛酸-磷脂酰肌醇神经酰胺; Man: 甘露糖; HexN: 氨基己糖; HexNAc: N-乙酰氨基己糖。

尔基体形态发生改变,同时也会引起液泡的快速融合和形态变化(Melser等2010; Kruger等2013)。拟南芥缺乏GlcCer合酶的突变体无法进行细胞分化,但外源添加糖基化的鞘氨醇能够恢复突变体细胞分化(Msanne等2015)。

2.4 糖基磷脂酰肌醇神经酰胺的合成

GIPCs合成的第一步是磷脂酰肌醇神经酰胺合酶(IPC synthases, IPCS)催化磷脂酰肌醇转移到

神经酰胺上。拟南芥有3个IPCS基因,全都可以挽救酵母IPCS基因缺失引起的致死表型(Wang等2008; Mina等2010)。IPC的磷脂酰肌醇基团可以继续添加糖基,形成结构丰富多样的GIPCs(Cacas等2013)。葡萄糖醛酸是第1个加到IPC的基团,由糖基转移酶(inositol phosphorylceramide glucuronosyltransferase 1, IPUT1)催化完成(Rennie等2014; Tartaglio等2017)。高尔基体定位的GDP-甘露糖转

运蛋白1 (Golgi-localized nucleotide sugar transporter 1, GONST1)及其同源蛋白GONST2转运GDP-甘露糖到高尔基体用于GIPCs的合成(Mortimer等2013; Jing等2018)。GIPC甘露糖基转移酶(GIPC mannosyltransferase 1, GMT1)负责将GDP-甘露糖继续添加到含葡萄糖醛酸的GIPCs上(Fang等2016)。葡萄糖胺磷脂酰肌醇神经酰胺转移酶(glucosamine inositol-phosphorylceramide transferase 1, GINT1)负责将氨基己糖添加到含葡萄糖醛酸的GIPCs上,形成HexN-GIPC或者HexNAc-GIPC [合称为HexN(Ac)-GIPC], HexMan-GIPC主要存在于拟南芥营养器官中,而HexHexN(Ac)-GIPC主要存在于拟南芥的种子和花粉中(Ishikawa等2018)。水稻和烟草中以HexHexN(Ac)-GIPC为主(Ishikawa等2018)。拟南芥IPCS2功能缺失突变体*erh1*积累神经酰胺和水杨酸(salicylic acid, SA),并伴随植物抗病超敏反应(hypersensitive response, HR)的发生(Wang等2008; Mina等2010)。*iput1*纯合突变体积累神经酰胺, GIPC含量低,植株矮小,花粉管传输缺陷,并且持续激活SA介导的抗性反应(Tartaglio等2017)。高尔基定位的GDP-甘露糖转运蛋白1功能缺失植株*gonst1*矮小, SA含量升高,伴随HR的发生(Mortimer等2013)。*gonst2*功能缺失植株在正常生长条件下没有明显缺陷表型,但提高了植物对白粉菌(*Golovinomyces orontii*)的抗性,而对灰霉菌(*Botrytis cinerea*)抗性没有差异(Jing等2018)。GIPC甘露糖基转移酶功能缺失突变体*gmt1*缺乏其他糖基化的GIPCs而只含有葡萄糖醛酸的GIPCs,其植株矮小, SA升高并伴随HR的发生(Fang等2016)。这些表明GIPC的合成与病原菌防御反应联系十分紧密。*Atgint1*功能缺失突变体在正常生长条件下没有明显缺陷表型,但是水稻*Osgint1*植株致死(Ishikawa等2018)。水稻也存在3个IPCS基因,其基因表达受干旱、低温和盐渍诱导,并具有不同的组织表达模式(Liao等2017)。

2.5 鞘脂脂肪酸链的修饰

植物中脂肪酸链长范围为16~28个碳原子,其中包括少量奇数链长脂肪酸如C21、C23和C25。拟南芥叶片中脂肪酸链长主要是C16、C22、C24和C26 (Markham和Jaworski 2007)。

鞘脂中极长链脂肪酸VLCFAs通常以饱和形式存在,但单不饱和VLCFAs鞘脂也存在于十字花科和一些禾本科植物中(Markham等2006)。鞘脂

中的脂肪酸链可以由脂肪酸C-2羟化酶(fatty acid alpha-hydroxylase, FAH)催化发生羟基化。FAH1主要与VLCFAs的羟基化有关,而FAH2主要与C16脂肪酸的羟基化有关(Nagano等2012; Konig等2012)。大部分鞘糖脂含有羟基化的脂肪酸。AtFAH1和AtFAH2功能缺失双突变体中神经酰胺含量上升, GlcCer水平降低(Konig等2012)。拟南芥Bax inhibitor-1 (BI-1)蛋白抑制程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)是依赖C-2羟基化的脂肪酸。过表达*AtBI-1*增加羟基化脂肪酸的神经酰胺含量(Nagano等2009, 2012)。

2.6 鞘氨醇和神经酰胺的磷酸化修饰

LCB除了合成神经酰胺,还可以磷酸化成LCB-P, LCB-P可以触发细胞生理反应,如ABA依赖的保卫细胞闭合(Ng等2001; Coursol等2003)。LCB激酶催化LCB的磷酸化。拟南芥存在3个LCB激酶,分别是SPHK1、SPHK2和LCBK1 (Imai和Nishiura 2005; Worrall等2008; Guo等2012; Huang等2017)。LCB-P的去磷酸化由LCB-P磷酸酶催化。拟南芥中有2个LCB-P磷酸酶,分别是SPP1和LPP γ (Worrall等2008; Nakagawa等2012)。LCB激酶和LCB-P磷酸酶的调控,对植物信号转导具有重要作用。

神经酰胺可以由神经酰胺激酶(ceramide kinase, 也称作ACD5)磷酸化成神经酰胺-1-磷酸(Ceramide-1-phosphate, C1P) (Greenberg等2000; Liang等2003)。神经酰胺激酶突变体*acd5*在发育后期表现出自发程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD),并伴随神经酰胺积累(Bi等2014)。神经酰胺的积累会诱发PCD,伴随线粒体过氧化氢爆发(Bi等2014)。C1P磷酸酶还没有鉴定到。

2.7 鞘脂的转运和分解代谢

植物鞘脂的转运和分解代谢对生物膜的影响以及对环境的适应性变化的研究还非常少。拟南芥ACD11 (accelerated cell death 11)是一个C1P转运蛋白, *acd11*功能缺失突变体中C1P含量升高,植物神经酰胺(phytoceramide, phyto-Cer)即含t18:0 LCBs的神经酰胺,也急剧上升(Simanshu等2014)。拟南芥有4个鞘糖脂转运蛋白(glycolipid transfer protein, GLTP),其中只有GLTP1能专一性转运GlcCer。GLTP2能结合GlcCer,但不能发生转运(West等2008)。

神经酰胺酶分解神经酰胺形成鞘氨醇和脂肪酸。根据酶活性最适宜pH将神经酰胺酶分为3种

类型: 酸性、中性和碱性。碱性神经酰胺酶(alkaline ceramidase, ACER)功能缺失突变体的神经酰胺升高, 并对盐胁迫和病原菌感染敏感(Wu等2015)。另外一个*TOD1*基因也具有碱性神经酰胺酶活性(Chen等2015)。TOD1控制花粉管和果荚保卫细胞的膨压(Chen等2015)。拟南芥中性神经酰胺酶(neutral ceramidase, NCER)突变体对氧化胁迫敏感(Li等2015)。水稻和魔芋中也有中性神经酰胺酶被鉴定(Pata等2008; Zhong等2018)。拟南芥中没有发现酸性神经酰胺酶。

LCB-P可以被LCB-P裂解酶(dihydrosphingosine-1-phosphate lyase1, DPL1)分解, 产生C16脂肪醛和磷酸乙醇胺(Nishikawa等2008)。拟南芥只有1个*DPL1*基因, 可被衰老诱导表达。DPL1功能缺失突变体少量积累 LCB-P, 但是没有明显的生长缺陷表型(Tsegaye等2007; Nishikawa等2008)。水稻LCB-P裂解酶*OsSPL1*过表达植株对脱落酸(abscisic acid, ABA)敏感, 并对盐渍和氧化胁迫更加敏感(Zhang等2012)。目前, 鞘糖脂的分解酶还没有被鉴定到。

3 鞘脂的生物学功能

3.1 鞘脂是生物膜的重要组成部分

鞘脂在膜中的分布是不对称的, 约占质膜脂质含量的40% (Sperling等2005; Tjellstrom等2010)。鞘脂在内膜系统中含量也很丰富, 例如内质网、高尔基体和液泡(Mongrand等2004)。GlcCer大约占质膜和液泡膜脂质的7%~30%, 含量取决于植物种类(Uemura和Steponkus 1994; Sperling等2005)。GIPC是植物中最丰富的鞘糖脂, 占质膜40%的脂质含量并在脂膜微区和胞间连丝中富集(Cacas等2013, 2016; Grison等2015)。鞘脂对植物适应非生物胁迫例如冷冻、干旱和盐渍至关重要。大麦和拟南芥在冷适应中, 质膜的GlcCer含量降低了一半(Uemura和Steponkus 1994)。冷冻胁迫中GIPC含量升高而GlcCer含量降低, 但具体调整机制还不清楚(Nagano等2014)。

鞘脂的神经酰胺骨架具有疏水性, 所以相变温度很高。鞘糖脂是一种双亲性分子, 既可作氢键供体也可作氢键受体, 从而形成氢键网络(Hoekstra等2003)。这种性质导致鞘糖脂发生自联(self-association), 形成局部有序的膜结构(Ramstedt和Slotte 2006)。鞘脂和类固醇一起富集在脂膜微区, 是细

胞信号转导的平台(Mongrand等2004; Borner等2005; Cacas等2016)。

鞘脂在内质网和高尔基体介导的蛋白分泌系统中发挥重要功能。拟南芥花粉鞘脂异常直接导致内质网囊泡化和高尔基体减少(Dietrich等2008)。抑制GlcCer合成造成高尔基体形态改变, 高尔基体到质膜的蛋白运输受阻(Melser等2010)。此外神经酰胺合酶活性降低, 导致PIN1和AUX1蛋白极性转运受阻(Markham等2011)。

3.2 鞘脂调控程序性细胞死亡

鞘糖脂GlcCer和GIPC对细胞膜的结构和功能至关重要, 其他含量较低的代谢物LCB、LCB-P、神经酰胺和C1P对植物生理功能的发挥具有重要意义。神经酰胺和LCB在介导PCD过程中发挥关键作用。神经酰胺激酶功能缺失突变体*acd5*积累神经酰胺, 引起PCD (Liang等2003), 并导致线粒体活性氧爆发(Bi等2014)。C1P转移蛋白缺失突变体*acd11*同样也能积累神经酰胺并诱导PCD发生(Simanshu等2014)。C2-神经酰胺处理拟南芥细胞导致胞内Ca²⁺浓度瞬间升高, 过氧化氢产生和细胞死亡; 抑制Ca²⁺释放可以减轻细胞死亡, 表明钙离子在神经酰胺诱导的PCD过程中发挥重要作用(Townley等2005)。将d18:1、d18:0、t18:0等LCBs注射拟南芥叶片也能诱导PCD, 但能被LCB-P抑制(Shi等2007; Alden等2011)。这表明LCB与LCB-P的平衡对PCD具有重要的调节作用。LCB诱导的PCD依赖于CPK3和14-3-3蛋白磷酸化(Saucedo-Garcia等2011; Lachaud等2013)。

真菌毒素FB1和AAL可以诱导植物发生PCD。这些毒素具有类似鞘氨醇的结构, 可以竞争性抑制神经酰胺合酶, 导致LCB含量升高诱发PCD (Abbas等1994)。通过使用SPT抑制剂Myriocin可以阻止LCB的产生从而提高植物对这些真菌毒素的抗性(Spassieva等2002)。FB1处理不仅使LCB和LCB-P上升, 同时诱导长链神经酰胺升高(Markham等2011; Ternes等2011; Yanagawa等2017), 表明FB1能有效抑制LOH1/LOH3神经酰胺合酶。这些结果都表明FB1诱导的PCD是由于LCB和神经酰胺积累, 导致LCB/LCB-P和Cer/C1P稳态失衡引起的(Yanagawa等2017)。过表达LCB激酶基因*SPHK1*的植株对FB1更敏感, 伴随SA和ROS积累, 而SPHK1功能缺失突变体对FB1表现出较强的抗性(Qin等2017)。

有研究报道在橄榄成熟过程中, 离层区的t18:1 (8E) LCB含量会上升, 表明鞘脂在调控果实脱落过程中扮演重要角色(Parra-Lobato等2017)。

3.3 鞘脂参与响应生物胁迫

鞘脂突变体*acd5*、*acd11*、*erh1*中积累神经酰胺并伴随水杨酸SA依赖的超敏反应和PR基因上调表达。*erh1*突变体相较于野生型对白粉病抗性显著(Wang等2008)。*acd5*突变体相较于野生型对丁香假单胞菌和灰霉菌易感, 而对白粉菌的抗性增强Greenberg等2000; Wang等2008; Bi等2014)。拟南芥*fah*突变体引起LCB和神经酰胺上升, 同时SA和糖基化SA含量升高, *PR1*等基因持续表达, 并对白粉菌有抗性(Konig等2012)。拟南芥接种丁香假单胞菌导致t18:0升高, 并诱导ROS和细胞死亡(Peer等2010)。抑制SPT活性导致LCB合成减少也可以提高对假单胞菌的抗性(Takahashi等2009)。类黏膜蛋白突变体*orm*内质网应激和抗性相关基因表达上升, 对氧化胁迫和病原细菌抗性提高(Li等2016)。碱性神经酰胺酶突变体*acer*积累神经酰胺, 抗性基因表达下降, 对病原细菌更加敏感(Wu等2015)。GDP-甘露糖转运蛋白突变体*gonst2*对白粉菌抗性提高(Jing等2018)。这些结果表明, 神经酰胺的积累改变了植物对病原菌的抗性。

类坏死和乙烯诱导多肽(necrosis and ethylene-inducing peptide 1-like protein, NLP)是一种由细菌、真菌和卵菌分泌的植物毒素, 许多NLP只对双子叶植物有毒性作用。最近研究表明双子叶植物的GIPC是NLP作用的受体。NLP可与GIPC末端的己糖单体结合, 引起构象改变; 而单子叶植物GIPC较长的头部己糖基团阻止了NLP与膜表面相互作用, 从而具有NLP抗性, 表明GIPC在病原菌识别过程中发挥重要作用(Lenarčič等2017)。

3.4 鞘脂参与响应非生物胁迫

鞘脂是质膜和液泡膜的主要成分, 对于植物适应冷冻、冷害和干旱至关重要。拟南芥 $\Delta 8$ 去饱和酶突变体*sld*对低温敏感(Chen等2012), 番茄中 $\Delta 8$ 去饱和酶*SISLD*基因诱导沉默植株也会对冷害敏感(Zhou等2016)。除了作为膜结构成分, 鞘脂也可以作为信号分子参与响应低温胁迫(Cantrel等2011; Dutilleul等2015; Huang等2017)。将拟南芥置于4°C, LCB-P和C1P在5 min内就会迅速上升将近50%, 而这种上升可以被一氧化氮(NO)负调控

(Cantrel等2011)。用NO抑制剂处理植株会造成NO积累, 同时会降低LCB-P和C1P的积累, 推测NO可以调控LCB和神经酰胺的磷酸化和去磷酸化水平, 部分参与低温胁迫的响应(Cantrel等2011)。鞘氨醇激酶突变体*lcbk1*对低温胁迫敏感, 而过表达LCBK1可提高植株对冷冻胁迫的抵抗力(Huang等2017)。神经酰胺激酶突变体*acd5*在种子萌发阶段对低温超敏感, 表明C1P对植物适应低温胁迫也非常重要(Dutilleul等2015)。

LCB-P参与ABA介导的气孔开关信号转导。通过诱导胞内钙离子浓度上升, 激活保卫细胞膜上的离子通道, 导致钾离子外流而失去细胞膨压从而引起气孔关闭(Ng等2001)。干旱处理植物后, 叶片中LCB-P含量上升, 外源添加LCB-P导致钙离子瞬间上升, 气孔关闭(Ng等2001)。t18:1 LCB-P也可以激发同样的反应。用ABA处理拟南芥可激活LCB激酶。和动物类似, LCB-P的靶标可能是G蛋白偶联受体, 拟南芥缺失G蛋白 α 亚基对外源添加的LCB-P没有反应(Coursol等2003)。此外, *acer-1*突变体和*AtACER* RNAi株系积累神经酰胺, 对盐更加敏感, 而过表达*AtACER*增加植株对盐的抗性(Wu等2015)。

4 总结与展望

鞘脂代谢途径突变体的鉴定以及鞘脂代谢组学分析表明, 鞘脂直接参与了植物生长发育的许多方面, 同时也在生物和非生物胁迫中发挥着重要作用(表1)。鞘脂可以作为质膜和内膜系统的重要结构成分, 参与脂膜微区的形成和生物膜的动态变化; 同样也可以作为重要的信号分子, 参与程序性细胞死亡、病原菌互作以及ABA介导的气孔关闭, 等等。近十年来, 鞘脂的研究取得了很多成果, 包括鞘脂结构的鉴定、鞘脂代谢途径的明确、鞘脂生理功能的解析。然而, 对鞘脂代谢相关酶调控的分子机理和生化机制仍有大量研究需要进一步完善。鞘脂在细胞内的转运和转换, 实时动态示踪鞘脂的探针开发, 极微量鞘脂组分的质谱检测技术改进, 以及鞘脂作为信号分子参与PCD和抗病反应的具体机制还有待深入挖掘。只有认识到每种鞘脂组分和它们在不同生理过程中的变化, 才能使我们更清楚地理解这一代谢途径的特定功能和作用, 并进一步认识它们是如何适应更广泛的细胞调控和生理功能。

表1 鞘脂代谢途径基因突变体

基因名称	基因号	编码蛋白	亚细胞定位	表达模式	生长发育过程中的表型	鞘脂含量变化	参与的非生物胁迫	参与的生物胁迫	参考文献
<i>AtLCB1/AtFBR11</i>	At4g36840	丝氨酸棕榈酰转移酶亚基1	ER	在所有组织中表达, 其中在花中表达水平最高	<i>lcb1-1</i> 功能缺失突变体胚胎发育致死, RNAi 植株矮小, 叶片出现死亡病斑; <i>fbr11-1</i> 无明显缺陷表型; <i>fbr11-2</i> 突变体雌性配子体致死	RNAi 植株中 LCB 含量无显著变化	—	<i>fbr11-1</i> 对真菌伏马毒素 FBI 抗性增强	Chen 等2006; Shi 等2007; Teng 等2008
<i>AtLCB2a</i>	At5g23670	丝氨酸棕榈酰转移酶亚基2a	ER	在所有器官中表达, 其中在花中表达水平最高	<i>lcb2a</i> 无明显缺陷表型; <i>lcb2a</i> 和 <i>lcb2b</i> 双突变体配子体致死; 在 <i>lcb2a</i> 突变体中诱导 <i>LCB2b</i> 沉默导致死亡病斑出现	<i>lcb2a</i> 中 LCB 含量无显著变化	—	<i>lcb2a-1</i> 纯合突变抑制 FBI 诱导的 DNA 降解	Tamura 等2001; Teng 等2008; Dietrich 等2008; Saucedo-Garcia 等2011
<i>AtLCB2b</i>	At5g48780	丝氨酸棕榈酰转移酶亚基2b	ER	在所有器官中表达, 其中在花中表达水平最高	<i>lcb2b</i> 无明显缺陷表型; <i>lcb2a</i> 和 <i>lcb2b</i> 双突变体配子体致死; 在 <i>lcb2a</i> 突变体中诱导 <i>LCB2b</i> 沉默导致死亡病斑出现	<i>lcb2b</i> 中 LCB 含量无显著变化	—	—	Dietrich 等2008; Teng 等2008
<i>AtssSP7a</i>	At1g06515	丝氨酸棕榈酰转移酶小亚基a	ER	在所有器官中表达, 特别是在花粉中	<i>sssp7a-1</i> 功能缺失突变体雄配子体致死	<i>ssSP7a</i> M19V (19位甲氨酸突变为缬氨酸) 会导致 C20-LCBs 含量的上升	—	<i>ssSP7a</i> 过表达对 FBI 更敏感, 沉默株系则对 FBI 抗性增强	Kimberlin 等2013
<i>AtssSP7b</i>	At2g30942	丝氨酸棕榈酰转移酶小亚基b	ER	在所有器官中表达, 但表达水平相对于 <i>ssSP7a</i> 低	<i>sssp7b-1</i> 、 <i>sssp7b-2</i> 功能缺失突变体无明显缺陷表型	<i>ssSP7a</i> M19V (19位甲氨酸突变为缬氨酸) 会导致 C20-LCBs 含量的上升	—	—	Kimberlin 等2013
<i>AtORM1</i>	At1g01230	类黏膜蛋白1	ER	在所有器官中表达, 除在花粉外表达水平均高于 <i>ORM2</i>	<i>orm1</i> 功能缺失植株无明显缺陷表型; <i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 双突变体早衰; 过表达 <i>ORM1-2</i> 植株矮化	<i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 双突变体植株鞘脂的从头合成增加; <i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 中 LCBs 约增加15倍, <i>Cers</i> 约增加8倍	<i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 对甲基紫精(MV)诱导的氧化胁迫敏感	ORM1 过表达植株对 FBI 抗性增强; <i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 对 FBI 更敏感, 对细菌 <i>Psm</i> DG3 易感	Li 等2016; Kimberlin 等2016
<i>AtORM2</i>	At5g42000	类黏膜蛋白2	ER	在所有器官中表达, 在花粉有高中表达	<i>orm2</i> 功能缺失植株无明显缺陷表型; <i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 双突变体早衰; 过表达 <i>ORM2-2</i> 植株矮化	<i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 双突变体植株鞘脂的从头合成增加; <i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 中 LCBs 约增加15倍, <i>Cers</i> 约增加8倍	<i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 对 MV 诱导的氧化胁迫敏感	ORM2 过表达植株对 FBI 抗性增强; <i>orm1</i> <i>amiR-ORM2</i> 对 FBI 更敏感, 对细菌 <i>Psm</i> DG3 易感	Li 等2016; Kimberlin 等2016
<i>AtKSR1/AtTHC104</i>	At5g06060	3-酮基鞘氨醇还原酶1	ER	在所有组织中表达	<i>tac10a-1</i> 、 <i>tac10a-2</i> 三片子叶频率增加; 花型存在异常; <i>tac10a</i> <i>tac10b</i> 纯合突变体雄配子体致死	<i>tac10a-2</i> 在含糖培养基中根伸长受阻	—	—	Chao 等2011

表1 (续1)

基因名称	基因号	编码蛋白	亚细胞定位	表达模式	生长发育过程中的表型	鞘脂含量变化	参与的非生物胁迫	参与的生物胁迫	参考文献
<i>AtKSR2/</i> <i>AtTAC10B</i>	At5g19200	3-酮基鞘氨醇还原酶2	ER	在所有组织器官中表达	<i>tac10b-1</i> 无显著缺陷表型, <i>tac10a tac10b</i> 纯合突变体雌配子体致死	<i>tac10b-2</i> 鞘脂含量无明显变化	—	—	Chao等2011
<i>AtSBH1</i>	At1g69640	LCB C-4羟化酶1	ER	在所有器官中表达,且均高于SBH2,在花和根中表达水平最高	<i>sbh1-1</i> 无显著缺陷表型, <i>sbh1-1 sbh2-1</i> 纯合突变体严重矮小,不能结实	<i>sbh1-1</i> 、 <i>sbh1-2</i> 中总LCBs含量上升,各器官phyto-LCB含量降低20%~40%	—	<i>sbh1-1 sbh2-1</i> 纯合突变体PCD和HR相关基因表达上升	Chen等2008
<i>AtSBH2</i>	At1g14290	LCB C-4羟化酶2	ER	在所有器官中表达,且均低于SBH1,在花和根中表达水平最高	<i>sbh2-1</i> 无显著缺陷表型, <i>sbh1-1 sbh2-1</i> 纯合突变体严重矮小,不能结实	<i>sbh2</i> 中phyto-LCB含量降低20%~40%, <i>sbh1-1 sbh2-1</i> 纯合突变体中检测不到tl8:0,大量积累dl8:0、dl8:1 LCBs、Cl6:0鞘脂及VLCFAs鞘脂	—	<i>sbh1-1 sbh2-1</i> 纯合突变体PCD和HR相关基因表达上升	Chen等2008
<i>AtSLD1</i>	At5g61580	LCB Δ 8去饱和酶1	ER	在所有器官中表达,其中在花中表达水平最高	<i>std1-1</i> 、 <i>std1-2</i> 、 <i>std1-1 std2</i> 、 <i>std1-2 std2</i> 无明显缺陷表型	<i>std1-1</i> 中各器官含 Δ 8非饱和LCBs的鞘脂含量大量减少, <i>std1-1 std1-2</i> 双突变体检测不到 Δ 8非饱和LCB	对低浓度阴离子表面活性剂SDS和低温敏感	—	Chen等2012
<i>AtSLD2</i>	At2g46210	LCB Δ 8去饱和酶2	ER	在花和角果中较高表达,在叶片、茎和根中表达量非常低	<i>std2</i> 、 <i>std1-1 std2</i> 、 <i>std1-2 std2</i> 无明显缺陷表型	<i>std2</i> 中含 Δ 8非饱和LCBs的鞘脂含量无明显变化, <i>std1-1 std2</i> 双突变体检测不到 Δ 8非饱和LCB	对低浓度阴离子表面活性剂SDS和低温敏感	—	Chen等2012
LCB Δ 4 desaturase	At4g04930	LCB Δ 4去饱和酶		仅在花部表达,其中在花粉高表达	突变体无明显缺陷表型	突变体的花部检测不到含 Δ 4非饱和和LCBs的GlcCer,总的GlcCer含量上升, hCer含量下降;叶片中tl8:0-1-P和tl8:1 Δ 8-1-P含量下降	突变体中ABA诱导的气孔关闭增强	—	Michaelson等(2009)
<i>AtFAH1</i> 羟化酶1	At2g34770	脂肪酸C-2	ER	在幼嫩的组织中表达,开放的花朵中仅在花粉表达	<i>FAH1</i> 功能缺失植株无明显缺陷表型, <i>fah1 fah2</i> 纯合突变体矮小,根生长受抑制	<i>fah1 fah2</i> 纯合突变体Cer含量升高, hCer、GlcCer含量下降	FAH1-Knockdown中还原型谷胱甘肽含量减少,氧化型谷胱甘肽含量增加, γ -氨基丁酸含量增加	<i>fah1</i> 对白粉菌抗性与野生型无明显差异, <i>fah1 fah2</i> 纯合突变体中SA积累,对白粉菌抗性增强,对半活体营养型真菌易感	Nagano等2012; Konig等2012

表1 (续2)

基因名称	基因号	编码蛋白	亚细胞定位	表达模式	生长发育过程中的表型	鞘脂含量变化	参与的非生物胁迫	参与的生物胁迫	参考文献
<i>AtFAH2</i>	At4g20870	脂肪酸C-2羟化酶2	ER	在幼嫩的组织中表达, 开放的花朵中仅在花粉表达	<i>fah1</i> 无明显缺陷表型, <i>FAH1-Knockdown</i> , <i>fah2</i> , <i>fah1</i> <i>fah2</i> 纯合突变体矮小, 根生长受抑制	<i>fah1</i> <i>fah2</i> 纯合突变体Cer含量升高, hCer, GlcCer含量下降	<i>fah2</i> 中还还原型、氧化型谷胱甘肽、 γ -氨基丁酸含量相对野生型无明显差异	<i>fah2</i> 对白粉菌抗性与野生型无明显差异	Nagano等2009; Konig等2012
<i>AtLOH1</i>	AT3g25540	神经酰胺合酶1	ER	表达水平高于 <i>LOH2</i> 、 <i>LOH3</i>	<i>loh1-1</i> 、 <i>loh1-2</i> 无明显缺陷表型, <i>loh1 loh2</i> 和 <i>loh2 loh3</i> 也无表型, <i>loh1-2 loh3-2</i> 致死	<i>loh1-2</i> 中长链Cer和GlcCer增加, t18:0 LCB升高5倍, <i>loh1-2 loh3-2</i> 双突变体中长链鞘脂大量积累	—	在短日照条件下, <i>loh1</i> 在生长发育晚期出现自发性死亡, 且伴随抗性基因 <i>PR-1</i> 的表达上升	Markham等2011; Termes等2011
<i>AtLOH2</i>	At5g19260	神经酰胺合酶2	ER	表达水平低于 <i>LOH1</i> , 高于 <i>LOH3</i>	<i>loh2-1</i> 、 <i>loh2-2</i> 无明显缺陷表型, <i>loh1 loh2</i> 和 <i>loh2 loh3</i> 也无表型	<i>loh2-2</i> 中长链Cer和GlcCer降低, C20和C22脂肪酸的Cer和GlcCer增加, phyto-LCB升高5倍	—	—	Markham等2011; Termes等2011
<i>AtLOH3</i>	At1g13580	神经酰胺合酶3	ER	表达水平高于 <i>LOH1</i> 、 <i>LOH2</i>	<i>loh3-1</i> 、 <i>loh3-2</i> 无明显缺陷表型, <i>loh1 loh2</i> 和 <i>loh2 loh3</i> 也无表型, <i>loh1-2 loh3-2</i> 致死	<i>loh3-2</i> 中长链Cer和GlcCer含量无明显变化, <i>loh1 loh3</i> 双突变体中长链鞘脂大量积累	—	—	Markham等2011; Termes等2011
<i>AtACER</i>	At4g22330	碱性神经酰胺酶	ER; Golgi complex	在根、茎分生组织和花粉中高表达, 在成熟叶片中表达较低	<i>acer-1</i> 植株矮小	<i>acer-1</i> 中Cer积累, LCBs (特别是t18:0) 含量降低	<i>acer-1</i> 对盐渍敏感	<i>acer-1</i> 对细菌易感	Wu等2015
<i>AtNCER1</i>	At1g07380	中性神经酰胺酶	ER	在所有器官中表达	<i>ncer1</i> 无明显缺陷表型	<i>ncer1</i> 中hCer积累, 其他鞘脂组分含量无明显差异	<i>ncer-1</i> 对MV敏感, 过表达植株更抗	—	Li等2015
<i>AtTOD1</i>	At5g46220	碱性神经酰胺酶	Golgi apparatus	在根、茎、叶几乎不表达, 主要在花和果菜中表达	<i>tod-1</i> 角果较短, 果荚内结籽率较低, 花粉管生长受损	—	<i>tod-1</i> 保卫细胞对ABA介导的气孔闭合不敏感	—	Chen等2015
<i>AtIPCS2</i>	At2g37940	磷脂酰肌醇神经酰胺合酶	trans-Golgi network	在所有器官中表达	<i>erh1</i> 无明显缺陷表型, 在过表达RPW8背景下植株矮小, 叶片自发性死亡病斑	<i>erh1</i> 在过表达RPW8蛋白背景下积累Cer和hCer, 而在野生型背景下没有差异	—	<i>erh1</i> 的SA积累, 增强抗性基因 <i>RPW8</i> 的过表达, 引起抗性相关的PCD	Wang等2008; Mina等2010
<i>AtIGCS</i>	At2g19880	葡萄糖神经酰胺合酶	ER	在所有器官中表达	<i>gcs-1</i> 幼苗异常小, 幼苗期后就不能继续生长, 最终死亡, 且雄配子体花粉管生长受损	<i>gcs</i> 中GlcCer几乎完全缺失, GIPC含量提高, 特别是dl8:1 h16:0和t18:1 h24:1 GIPC	—	—	Msame等2015

表1 (续3)

基因名称	基因号	编码蛋白	亚细胞定位	表达模式	生长发育过程中的表型	鞘脂含量变化	参与的非生物胁迫	参与的生物胁迫	参考文献
<i>AtIPUT1</i>	At5g18480	磷脂酰肌醇神经酰胺糖基转移酶	Golgi apparatus	—	<i>iput1-1</i> 、 <i>iput1-2</i> 因为花粉管生长受损,无法收获纯合突变体;在花粉中特异回补IPUT1的植株矮小,对生长条件非常敏感	<i>iput1</i> 杂合突变体Cer含量升高, GIPC含量降低	—	<i>iput1</i> 功能缺失植株持续激活SA介导的抗性反应	Rennie等2012, 2014; Tartaglio等2017
<i>AtACD5</i>	At5g21630	神经酰胺激酶	ER、PM、Golgi、mitochondria	—	<i>acd5</i> 生长发育晚期出现自发性死亡	<i>acd5</i> 中Cer和hCer上升2~6倍; LCB和GlcCer不变	—	<i>acd5</i> 中SA积累,对细菌和真菌更敏感,对白粉菌抗性增强	Greenberg等2000; Bi等2014
<i>AtACD11</i>	At2g34690	神经酰胺-1-磷酸转移酶	ER	—	<i>acd11</i> 生长早期就出现依赖于SA的自发性死亡	<i>acd11</i> 中Cer上升7倍; hCer上升3倍; GIPC和GlcCer上升2倍; LCB和LCB-P上升2倍	—	<i>acd11</i> 中PCD和抗性基因上调	Brodersen等2002; Sim-anshu等2014
<i>AtSPHK1</i>	At4g21540	LCB激酶	—	保卫细胞	<i>sphk1</i> 无明显缺陷表型	<i>sphk1</i> 中LCBs/LCB-Ps的比例提高	SPHK1过表达植株ABA介导的气孔闭合更敏感,种子萌发率更低,功能缺失植株不敏感	—	Worrall等2008
<i>AtDPL1</i>	At1g27980	LCB-1-P裂解酶	ER	—	<i>dpl1</i> 无明显缺陷表型	<i>dpl1</i> 中t18:1-P积累	沉默株系对ABA不敏感	<i>dpl1</i> 对FBI敏感	Tsegaye等2007
<i>AtGONST1</i>	At2g13650	GDP-D-甘露糖转运蛋白1 transporter	Golgi apparatus	在所有器官中表达	<i>gonst1-1</i> 植株严重矮小,结籽少,有自发性死亡病斑	<i>gonst1-1</i> 、 <i>gonst1-2</i> 的hCer, GlcCer和GIPC含量升高, Cer和LCB没有差异, 75% GIPC缺少已糖化	—	<i>gonst1</i> 功能缺失植株SA含量升高,伴随HR的发生	Handford等2004; Mortimer等2013
<i>AtGONST2</i>	At1g07290	GDP-D-甘露糖转运蛋白2	Golgi apparatus	在除根以外的组织器官表达	<i>gonst2-1</i> 无明显缺陷表型, <i>gonst1-1 gonst2-1</i> 表型比 <i>gonst1-1</i> 更严重	<i>gonst2-1</i> 积累Hex-GlcA-IPC, Hex-Hex-GlcA-IPC减少	—	对白粉菌的抗性提高	Jing等2018
<i>AtGMT1</i>	At3g55830	GIPC甘露糖基转移酶1	Golgi apparatus	—	<i>gmt1-1</i> 、 <i>gmt1-2</i> 、 <i>gmt1-3</i> 严重矮化,结籽少,下胚轴生长缺陷	<i>gmt1</i> 只含葡萄糖醛酸的GIPCs; 其他鞘脂组分不变	—	<i>gmt1-1</i> 、 <i>gmt1-3</i> 积累SA、ROS	Fang等2016

“—”表示未报导。

参考文献(References)

- Abbas HK, Tanaka T, Duke SO, et al (1994). Fumonisin- and AAL-toxin-induced disruption of sphingolipid metabolism with accumulation of free sphingoid bases. *Plant Physiol*, 106: 1085–1093
- Alden KP, Dhondt-Cordelier S, McDonald KL, et al (2011). Sphingolipid long chain base phosphates can regulate apoptotic-like programmed cell death in plants. *Biochem Biophys Res Commun*, 410: 574–580
- Begum MA, Shi XX, Tan Y, et al (2016). Molecular characterization of rice *OsLCB2a1* gene and functional analysis of its role in insect resistance. *Front Plant Sci*, 7: 1789
- Bi FC, Liu Z, Wu JX, et al (2014). Loss of ceramide kinase in *Arabidopsis* impairs defenses and promotes ceramide accumulation and mitochondrial H₂O₂ bursts. *Plant Cell*, 26: 3449–3467
- Borner GH, Sherrier DJ, Weimar T, et al (2005). Analysis of detergent-resistant membranes in *Arabidopsis*. Evidence for plasma membrane lipid rafts. *Plant Physiol*, 137: 104–116
- Brodersen P, Petersen M, Pike HM, et al (2002). Knockout of *Arabidopsis ACCELERATED-CELL-DEATH1* encoding a sphingosine transfer protein causes activation of programmed cell death and defense. *Genes Dev*, 16: 490–502
- Cacas JL, Bure C, Furt F, et al (2013). Biochemical survey of the polar head of plant glycosylinositolphosphoceramide unravels broad diversity. *Phytochem*, 96: 191–200
- Cacas JL, Buré C, Grosjean K, et al (2016). Revisiting plant plasma membrane lipids in tobacco: A focus on sphingolipids. *Plant Physiol*, 170: 367–384
- Cantrel C, Vazquez T, Puyaubert J, et al (2011). Nitric oxide participates in cold-responsive phosphosphingolipid formation and gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 189: 415–427
- Chao DY, Gable K, Chen M, et al (2011). Sphingolipids in the root play an important role in regulating the leaf ionome in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 23: 1061–1081
- Chen LY, Shi DQ, Zhang WJ, et al (2015). The *Arabidopsis* alkaline ceramidase TOD1 is a key turgor pressure regulator in plant cells. *Nat Commun*, 6: 6030
- Chen M, Han G, Dietrich CR, et al (2006). The essential nature of sphingolipids in plants as revealed by the functional identification and characterization of the *Arabidopsis* LCB1 subunit of serine palmitoyltransferase. *Plant Cell*, 18: 3576–3593
- Chen M, Markham JE, Dietrich CR, et al (2008). Sphingolipid long-chain base hydroxylation is important for growth and regulation of sphingolipid content and composition in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20: 1862–1878
- Chen M, Markham JE, Cahoon EB (2012). Sphingolipid $\Delta 8$ unsaturation is important for glucosylceramide biosynthesis and low-temperature performance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 69: 769–781
- Chueasiri C, Chunthong K, Pitnjam K, et al (2014). Rice ORMDL controls sphingolipid homeostasis affecting fertility resulting from abnormal pollen development. *PLoS One*, 9: e106386
- Coursol S, Fan LM, Le Stunff H, et al (2003). Sphingolipid signalling in *Arabidopsis* guard cells involves heterotrimeric G proteins. *Nature*, 423: 651–654
- Dietrich CR, Han G, Chen M, et al (2008). Loss-of-function mutations and inducible RNAi suppression of *Arabidopsis* LCB2 genes reveal the critical role of sphingolipids in gametophytic and sporophytic cell viability. *Plant J*, 54: 284–298
- Dutilleul C, Chavarria H, Rézé N, et al (2015). Evidence for ACD5 ceramide kinase activity involvement in *Arabidopsis* response to cold stress. *Plant Cell Environ*, 38: 2688–2697
- Fang L, Ishikawa T, Rennie EA, et al (2016). Loss of inositol phosphorylceramide sphingolipid mannosylation induces plant immune responses and reduces cellulose content in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 28: 2991–3004
- Guo L, Mishra G, Markham JE, et al (2012). Connections between sphingosine kinase and phospholipase D in the abscisic acid signaling pathway in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 287: 8286–8296
- Greenberg JT, Silverman FP, Liang H (2000). Uncoupling salicylic acid-dependent cell death and defense-related responses from disease resistance in the *Arabidopsis* mutant *acd5*. *Genetics*, 156: 341–350
- Grison MS, Brocard L, Fouillen L, et al (2015). Specific membrane lipid composition is important for plasmodesmata function in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 27: 1228–1250
- Handford MG, Sicilia F, Brandizzi F, et al (2004). *Arabidopsis thaliana* expresses multiple Golgi-localised nucleotide-sugar transporters related to GONST1. *Mol Genet Genomics*, 272: 397–410
- Heaver SL, Johnson EL, Ley RE (2018). Sphingolipids in host-microbial interactions. *Curr Opin Microbiol*, 43: 92–99
- Hoekstra D, Maier O, van der Wouden JM, et al (2003). Membrane dynamics and cell polarity: the role of sphingolipids. *J Lipid Res*, 44: 869–877
- Huang X, Zhang Y, Zhang X, et al (2017). Long-chain base kinase1 affects freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*, 259: 94–103
- Imai H, Yamamoto K, Shibahara A, et al (2000). Determining double bond positions in monoenoic 2-hydroxy fatty acids of glucosylceramides by gas chromatography mass spectrometry. *Lipids*, 35: 233–236
- Imai H, Nishiura H (2005). Phosphorylation of sphingoid long-chain bases in *Arabidopsis*: functional characteriza-

- tion and expression of the first sphingoid long-chain base kinase gene in plants. *Plant Cell Physiol*, 46: 375–380
- Imamura T, Kusano H, Kajigaya Y, et al (2007). A rice dihydrosphingosine C4 hydroxylase (*DSH1*) gene, which is abundantly expressed in the stigmas, vascular cells and apical meristem, may be involved in fertility. *Plant Cell Physiol*, 48: 1108–1120
- Ishikawa T, Fang L, Rennie E, et al (2018). Glucosamine inositolphosphorylceramide transferase1 (*GINT1*) is a GlcNAc-containing glycosylinositol phosphorylceramide glycosyltransferase. *Plant Physiol*, 177: 938–952
- Jing B, Ishikawa T, Soltis N, et al (2018). *GONST2* transports GDP-Mannose for sphingolipid glycosylation in the Golgi apparatus of *Arabidopsis*. *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/346775>
- Kimberlin AN, Majumder S, Han G, et al (2013). *Arabidopsis* 56-amino acid serine palmitoyltransferase-interacting proteins stimulate sphingolipid synthesis, are essential, and affect mycotoxin sensitivity. *Plant Cell*, 25: 4627–4639
- Kimberlin AN, Han G, Luttgeharm KD, et al (2016). *ORM* expression alters sphingolipid homeostasis and differentially affects ceramide synthase activity. *Plant Physiol*, 172: 889–900
- Konig S, Feussner K, Schwarz M, et al (2012). *Arabidopsis* mutants of sphingolipid fatty acid alpha-hydroxylases accumulate ceramides and salicylates. *New Phytol*, 196: 1086–1097
- Kruger F, Krebs M, Viotti C, et al (2013). *PDMP* induces rapid changes in vacuole morphology in *Arabidopsis* root cells. *J Exp Bot*, 64: 529–540
- Lachaud C, Prigent E, Thuleau P, et al (2013). 14-3-3-regulated Ca^{2+} -dependent protein kinase *CPK3* is required for sphingolipid-induced cell death in *Arabidopsis*. *Cell Death Differ*, 20: 209–217
- Lenarčič T, Albert I, Böhm H, et al (2017). Eudicot plant-specific sphingolipids determine host selectivity of microbial NLP cytolysins. *Science*, 358: 1431–1434
- Li J, Bi FC, Yin J, et al (2015). An *Arabidopsis* neutral ceramidase mutant *ncer1* accumulates hydroxyceramides and is sensitive to oxidative stress. *Front Plant Sci*, 6: 460
- Li J, Yin J, Rong C, et al (2016). Orosomucoid proteins interact with the small subunit of serine palmitoyltransferase and contribute to sphingolipid homeostasis and stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 28: 3038–3051
- Liang H, Yao N, Song JT, et al (2003). Ceramides modulate programmed cell death in plants. *Genes Dev*, 17: 2636–2641
- Liao PF, Huang JQ, Tong PG, et al (2017). Characterization and expression analysis of inositolphosphorylceramide synthase family genes in rice (*Oryza sativa* L.). *Genes Genom*, 39: 485–492
- Luttgeharm KD, Cahoon EB, Markham RE (2016). Substrate specificity, kinetic properties and inhibition by fumonisin B1 of ceramide synthase isoforms from *Arabidopsis*. *Biochem J*, 473: 593–603
- Luttgeharm KD, Kimberlin AN, Cahoon RE, et al (2015). Sphingolipid metabolism is strikingly different between pollen and leaf in *Arabidopsis* as revealed by compositional and gene expression profiling. *Phytochem*, 115: 121–129
- Lynch DV, Dunn TM (2004). An introduction to plant sphingolipids and a review of recent advances in understanding their metabolism and function. *New Phytol*, 161: 677–702
- Markham JE, Li J, Cahoon EB, et al (2006). Separation and identification of major plant sphingolipid classes from leaves. *J Biol Chem*, 281: 22684–22694
- Markham JE, Jaworski JG (2007). Rapid measurement of sphingolipids from *Arabidopsis thaliana* by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 21: 1304–1314
- Markham JE, Molino D, Gissot L, et al (2011). Sphingolipids containing very-long-chain fatty acids define a secretory pathway for specific polar plasma membrane protein targeting in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 23: 2362–2378
- Melser S, Batailler B, Peypelut M, et al (2010). Glucosylceramide biosynthesis is involved in Golgi morphology and protein secretion in plant cells. *Traffic*, 11: 479–490
- Mina JG, Okada Y, Wansadhipathi-Kannangara NK, et al (2010). Functional analyses of differentially expressed isoforms of the *Arabidopsis* inositol phosphorylceramide synthase. *Plant Mol Biol*, 73: 399–407
- Michaelson LV, Zauner S, Markham JE, et al (2009). Functional characterization of a higher plant sphingolipid $\Delta 4$ -desaturase: defining the role of sphingosine and sphingosine-1-phosphate in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 149: 487–498
- Mongrand S, Morel J, Laroche J, et al (2004). Lipid rafts in higher plant cells: purification and characterization of Triton X-100-insoluble microdomains from tobacco plasma membrane. *J Biol Chem*, 279: 36277–36286
- Morenoperez AJ, Martinezforce E, Garcés R, et al (2011). Sphingolipid base modifying enzymes in sunflower (*Helianthus annuus*): cloning and characterization of a C4-hydroxylase gene and a new paralogous $\Delta 8$ -desaturase gene. *J Plant Physiol*, 168: 831–839
- Mortimer JC, Yu X, Albrecht S, et al (2013). Abnormal glycosphingolipid mannosylation triggers salicylic acid-mediated responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25: 1881–1894
- Msanne J, Chen M, Luttgeharm KD, et al (2015). Glucosylceramide is critical for cell-type differentiation and organogenesis, but not for cell viability in *Arabidopsis*. *Plant J*,

- 84: 188–201
- Nagano M, Ihara-Ohori Y, Imai H, et al (2009). Functional association of cell death suppressor, Arabidopsis Bax inhibitor-1, with fatty acid 2-hydroxylation through cytochrome b₅. *Plant J*, 58: 122–134
- Nagano M, Takahara K, Fujimoto M, et al (2012). Arabidopsis sphingolipid fatty acid 2-hydroxylases (AtFAH1 and AtFAH2) are functionally differentiated in fatty acid 2-hydroxylation and stress responses. *Plant Physiol*, 159: 1138–1148
- Nagano M, Ishikawa T, Ogawa Y, et al (2014). Arabidopsis Bax inhibitor-1 promotes sphingolipid synthesis during cold stress by interacting with ceramide-modifying enzymes. *Planta*, 240: 77–89
- Nakagawa N, Kato M, Takahashi Y, et al (2012). Degradation of long-chain base 1-phosphate (LCBP) in Arabidopsis: functional characterization of LCBP phosphatase involved in the dehydration stress response. *J Plant Res*, 125: 439–449
- Ng CK, Carr K, McAinsh MR, et al (2001). Drought-induced guard cell signal transduction involves sphingosine-1-phosphate. *Nature*, 410: 596–599
- Nishikawa M, Hosokawa K, Ishiguro M, et al (2008). Degradation of sphingoid long-chain base 1-phosphates (LCB-1Ps): functional characterization and expression of AtD-PL1 encoding LCB-1P lyase involved in the dehydration stress response in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol*, 49: 1758–1763
- Parra-Lobato MC, Paredes MA, Labrador J, et al (2017). Localization of sphingolipid enriched plasma membrane regions and long-chain base composition during mature-fruit abscission in olive. *Front Plant Sci*, 8: 1138
- Pata MO, Wu BX, Bielawski J, et al (2008). Molecular cloning and characterization of OsCDase, a ceramidase enzyme from rice. *Plant J*, 55: 1000–1009
- Peer M, Stegmann M, Mueller MJ, et al (2010). *Pseudomonas syringae* infection triggers de novo synthesis of phyto-sphinganine from sphinganine in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 584: 4053–4056
- Qin X, Zhang R, Ge S, et al (2017). Sphingosine kinase AtSPHK1 functions in fumonisin B1-triggered cell death in Arabidopsis. *Plant Physiol Biochem*, 119: 70–80
- Ramstedt B, Slotte JP (2006). Sphingolipids and the formation of sterol-enriched ordered membrane domains. *Biochim Biophys Acta*, 1758: 1945–1956
- Rennie EA, Hansen SF, Baidoo EEK, et al (2012). Three members of the Arabidopsis glycosyltransferase family 8 are xylan glucuronosyltransferases. *Plant Physiol*, 159: 1408–1417
- Rennie EA, Ebert B, Miles GP, et al (2014). Identification of a sphingolipid alpha-glucuronosyltransferase that is essential for pollen function in Arabidopsis. *Plant Cell*, 26: 3314–3325
- Saucedo-Garcia M, Guevara-Garcia A, Gonzalez-Solis A, et al (2011). MPK6, sphinganine and the LCB2a gene from serine palmitoyltransferase are required in the signaling pathway that mediates cell death induced by long chain bases in Arabidopsis. *New Phytol*, 191: 943–957
- Shi L, Bielawski J, Mu J, et al (2007). Involvement of sphingoid bases in mediating reactive oxygen intermediate production and programmed cell death in Arabidopsis. *Cell Res*, 17: 1030–1040
- Simanshu DK, Zhai X, Munch D, et al (2014). Arabidopsis accelerated cell death 11, ACD11, is a ceramide-1-phosphate transfer protein and intermediary regulator of phytoceramide levels. *Cell Rep*, 6: 388–399
- Spassieva SD, Markham JE, Hille J (2002). The plant disease resistance gene Asc-1 prevents disruption of sphingolipid metabolism during AAL-toxin-induced programmed cell death. *Plant J*, 32: 561–572
- Sperling P, Franke S, Luthje S, et al (2005). Are glucocerebrosides the predominant sphingolipids in plant plasma membranes? *Plant Physiol Biochem*, 43: 1031–1038
- Sperling P, Ternes P, Moll H, et al (2001). Functional characterization of sphingolipid C4-hydroxylase genes from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 494: 90–94
- Takahashi Y, Berberich T, Kanzaki H, et al (2009). Serine palmitoyltransferase, the first step enzyme in sphingolipid biosynthesis, is involved in nonhost resistance. *Mol Plant Microbe Interact*, 22: 31–38
- Tamura K, Mitsuhashi N, Hara-Nishimura I, et al (2001). Characterization of an Arabidopsis cDNA encoding a subunit of serine palmitoyltransferase, the initial enzyme in sphingolipid biosynthesis. *Plant Cell Physiol*, 42: 1274–1281
- Tartaglio V, Rennie EA, Cahoon R, et al (2017). Glycosylation of inositol phosphorylceramide sphingolipids is required for normal growth and reproduction in Arabidopsis. *Plant J*, 89: 278–290
- Teng C, Dong H, Shi L, et al (2008). Serine palmitoyltransferase, a key enzyme for de novo synthesis of sphingolipids, is essential for male gametophyte development in Arabidopsis. *Plant Physiol*, 146: 1322–1332
- Ternes P, Franke S, Zahringer U, et al (2002). Identification and characterization of a sphingolipid $\Delta 4$ -desaturase family. *J Biol Chem*, 277: 25512–25518
- Ternes P, Feussner K, Werner S, et al (2011). Disruption of the ceramide synthase LOH1 causes spontaneous cell death in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 192: 841–854
- Tjellstrom H, Hellgren LI, Wieslander A, et al (2010). Lipid asymmetry in plant plasma membranes: phosphate deficiency-induced phospholipid replacement is restricted to the cytosolic leaflet. *FASEB J*, 24: 1128–1138
- Townley HE, McDonald K, Jenkins GI, et al (2005). Cer-

- amides induce programmed cell death in Arabidopsis cells in a calcium-dependent manner. *Biol Chem*, 386: 161–166
- Tsegaye Y, Richardson CG, Bravo JE, et al (2007). Arabidopsis mutants lacking long chain base phosphate lyase are fumonisin-sensitive and accumulate trihydroxy-18:1 long chain base phosphate. *J Biol Chem*, 282: 28195–28206
- Uemura M, Steponkus PL (1994). A contrast of the plasma membrane lipid composition of oat and rye leaves in relation to freezing tolerance. *Plant Physiol*, 104: 479–496
- Wang W, Yang X, Tangchaiburana S, et al (2008). An inositol-phosphorylceramide synthase is involved in regulation of plant programmed cell death associated with defense in Arabidopsis. *Plant Cell*, 20: 3163–3179
- West G, Viitanen L, Alm C, et al (2008). Identification of a glycosphingolipid transfer protein GLTP1 in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS J*, 275: 3421–3437
- Worrall D, Liang YK, Alvarez S, et al (2008). Involvement of sphingosine kinase in plant cell signalling. *Plant J*, 56: 64–72
- Wu JX, Li J, Liu Z, et al (2015). The Arabidopsis ceramidase AtACER functions in disease resistance and salt tolerance. *Plant J*, 81: 767–780
- Yanagawa D, Ishikawa T, Imai H (2017). Synthesis and degradation of long-chain base phosphates affect fumonisin B1-induced cell death in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res*, 130: 571–585
- Zhang H, Zhai J, Mo J, et al (2012). Overexpression of rice sphingosine-1-phosphate lyase gene *OsSPL1* in transgenic tobacco reduces salt and oxidative stress tolerance. *J Integr Plant Bio*, 54: 652–662
- Zheng P, Wu JX, Sahu SK, et al (2018). Loss of alkaline ceramidase inhibits autophagy in Arabidopsis and plays an important role during environmental stress response. *Plant Cell Environ*, 41: 837–849
- Zhong L, Liu E, Yang C, et al (2018). Gene cloning of a neutral ceramidase from the sphingolipid metabolic pathway based on transcriptome analysis of *Amorphophallus muelleri*. *PLoS One*, 13: e0194863
- Zhou Y, Zeng L, Fu X, et al (2016). The sphingolipid biosynthetic enzyme sphingolipid $\Delta 8$ desaturase is important for chilling resistance of tomato. *Sci Rep*, 6: 38742

Research advances in plant sphingolipid structures, metabolisms and functions

DAI Guang-Yi, WANG Ling-Yan, HUANG Li-Qun, ZHENG Ping, YAO Nan*

State Key Laboratory of Biocontrol, Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Resources, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract: Sphingolipids are major structural components of plasma membrane and endomembrane system, and also as important bioactive molecules participated in many signaling transduction. It has been shown that sphingolipids play important roles in many plant developmental processes, such as programmed cell death, autophagy, plant-pathogen interaction and various abiotic stress responses. Recently, many sphingolipid biosynthetic and catabolic enzymes have been characterized in Arabidopsis and rice. In this review, we summarized recent research advances in the regulation of sphingolipid metabolism and sphingolipid related gene functions during plant development and stress responses.

Key words: plant sphingolipid; sphingosine; ceramide; stress

Received 2018-10-24 Accepted 2018-11-20

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31570255 and 31771357) and Natural Science Foundation of Guangdong Province, China (2017A030311005).

*Corresponding author (yaonan@mail.sysu.edu.cn).