

# 植物可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子连接物复合体(SNAREs)及其生物学功能研究进展

封华<sup>1,3</sup>, 陈晨<sup>2,3</sup>, 王义琴<sup>3</sup>, 邱金龙<sup>4</sup>, 储成才<sup>3</sup>, 杜希华<sup>1</sup>

1. 山东师范大学生命科学学院, 济南 250014;

2. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083;

3. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101;

4. Carlsberg 实验室, 丹麦 Valby 2500

**摘要:** 在真核生物细胞中, 各细胞器间物质和信息的交流是细胞生命活动的基本保证, 而囊泡转运是细胞器之间物质和信息交流的主要方式。大多数的囊泡融合过程是由可溶性的 N-乙基马来酰亚胺敏感因子连接物复合体 (Soluble N-ethyl-maleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptors, SNAREs) 介导的, 物种间的 SNAREs 具有高度保守的特性。与其他真核生物相比, 植物的基因组编码更多的 SNAREs。研究证明, 植物的 SNAREs 是一个多功能的蛋白家族, 在植物的许多生理过程中都有着重要的作用。本文对植物 SNAREs 作用的分子机理及生物学功能的最新研究进展做一概述。

**关键词:** 植物 SNAREs; 囊泡转运; 生物学功能

## Plant SNAREs and their biological functions

FENG Hua<sup>1,3</sup>, CHEN Chen<sup>2,3</sup>, WANG Yi-Qin<sup>2</sup>, QIU Jin-Long<sup>4</sup>, CHU Cheng-Cai<sup>3</sup>, DU Xi-Hua<sup>1</sup>

1. College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China;

2. College of Biological Science and biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

3. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

4. Carlsberg Laboratory, Valby 2500, Denmark

**Abstract:** The signal communication between various organelles is essential for cells of eukaryotic organisms. Vesicle trafficking is an important pathway for this kind of communication. Most of the membrane fusion is mediated by SNAREs (Soluble N-ethyl-maleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptors), which are highly conserved from various species. Compared with genomes of other eukaryotes, plants encode an even higher number of SNAREs. Accumulating evidences support that plant SNAREs is a multifunctional protein family, which are involved in variety of biological processes. Current paper reviews the recent advances on molecular mechanism and biological functions of plant SNAREs.

**Keywords:** plant SNAREs; vesicle trafficking; biological functions

与原核生物相比, 真核生物的最大特点就是出现了核膜包被的细胞核及以生物膜系统为基础形成的细胞器。这些细胞器之间只有不断进行物质和信息的交流, 才能保持细胞的完整性, 进而执行一定的功能。研究证明, 囊泡转运 (Vesicle trafficking) 是细胞内各细胞器间物质和信息交流的主要方式<sup>[1]</sup>。大量研究表明, 囊泡转运中的膜融合过程都是由可溶性的 N-乙基马来酰亚胺敏感因子连接物复合体 (Soluble N-ethyl-maleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptor SNARE) 介导的。分析表明, 植物基因组中的 SNAREs 明显多于其

收稿日期: 2008-11-27; 修回日期: 2009-03-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30600407)资助

作者简介: 封华(1982-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物生理与分子生物学。Tel: 13581769547; E-mail: hfeng@genetics.ac.cn

通讯作者: 杜希华(1965-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 植物生理与分子生物学。Tel: 0531-86180745; E-mail: duxihua@163.com

他真核生物，揭示囊泡转运对植物可能具有更为重要的作用<sup>[2]</sup>。

近年来，利用遗传学、细胞生物学和生物化学等研究工作证明：植物 SNAREs 是一个多功能的蛋白家族，它在植物的许多生理过程中都起着非常重要的作用，它不仅介导囊泡的融合过程，而且还与许多信号途径有着密切的联系。本文在介绍 SNAREs 的基础上，重点就在植物 SNAREs 生物学功能方面取得的最新研究进展做一综述。

## 1 SNAREs 简介

### 1.1 SNAREs 的结构及分类

SNAREs是含量丰富的跨膜蛋白。尽管不同的SNAREs大小差别很大，但它们在结构上都含有一个共同的SNARE结构域：即由 60~70 个氨基酸组成的，含有 7 个重复序列的卷曲螺旋结构。此结构域决定了SNAREs的所有特征，并且介导SNAREs复合体的形成，因此在功能上非常重要。除此之外，SNAREs还含有另外两个结构域：(1)位于C-端的跨膜结构域，负责将SNAREs锚定在目标膜或囊泡膜上；(2)位于N-端的调节结构域，负责调节SNARE结构域的活性<sup>[3]</sup>。

SNAREs的分类方法有两种：第一种是根据亚细胞定位的不同，分为来自囊泡膜的v-SNAREs (vesicle membrane SNAREs)和来自目标膜的t-SNAREs (target membrane SNAREs)<sup>[4]</sup>；第二种是根据位于SNARE结构域中心的氨基酸是精氨酸还是谷氨酰胺，将SNAREs分为R-SNAREs和Q-SNAREs<sup>[5]</sup>。一般情况下，t-SNAREs多为Q-SNAREs而v-SNAREs多为R-SNAREs。另外Q-SNAREs又可以进一步分为Qa-SNAREs (syntaxin)、Qb-SNAREs和Qc-SNAREs。

### 1.2 SNAREs介导膜融合的过程

SNAREs复合体形成之前，Sec1/Munc18 (SM)蛋白与Qa-SNARE结合，使其空间呈闭合状态。膜融合开始时，SM蛋白与Qa-SNARE的N-端结合，使它的SNARE结构域暴露出来。Qa-SNARE先与Qb-, Qc-SNARE形成三元复合物，当囊泡膜停靠在目标膜上以后，三元的SNAREs复合体再与R-SNARE形成特异的四元复合体(松散型复合体)。随后SNAREs核心复合体装配，迫使相对的两层膜靠近、弯曲，近端结合，此时的SNAREs是反式SNAREs (因R-SNARE与Qa-SNARE在相对的两个膜上)。接下来R-SNARE和Qa-SNARE的跨膜结构域重排形成顺式SNAREs，促使膜远端结合，进而形成融合孔，融合孔扩张，使囊泡内的物质释放。此时，胞质中的 $\alpha$ -SNAP ( $\alpha$ -synaptosomal associated protein)和NSF (N-ethylmaleimide sensitive fusion protein)募集至此，NSF通过 $\alpha$ -SNAP与SNAREs核心复合体结合，发挥ATP水解酶的作用，使SNAREs复合体解聚，SNAREs又呈游离状态，经再循环到达合适的位置后加入下一个循环<sup>[6]</sup> (图1)。

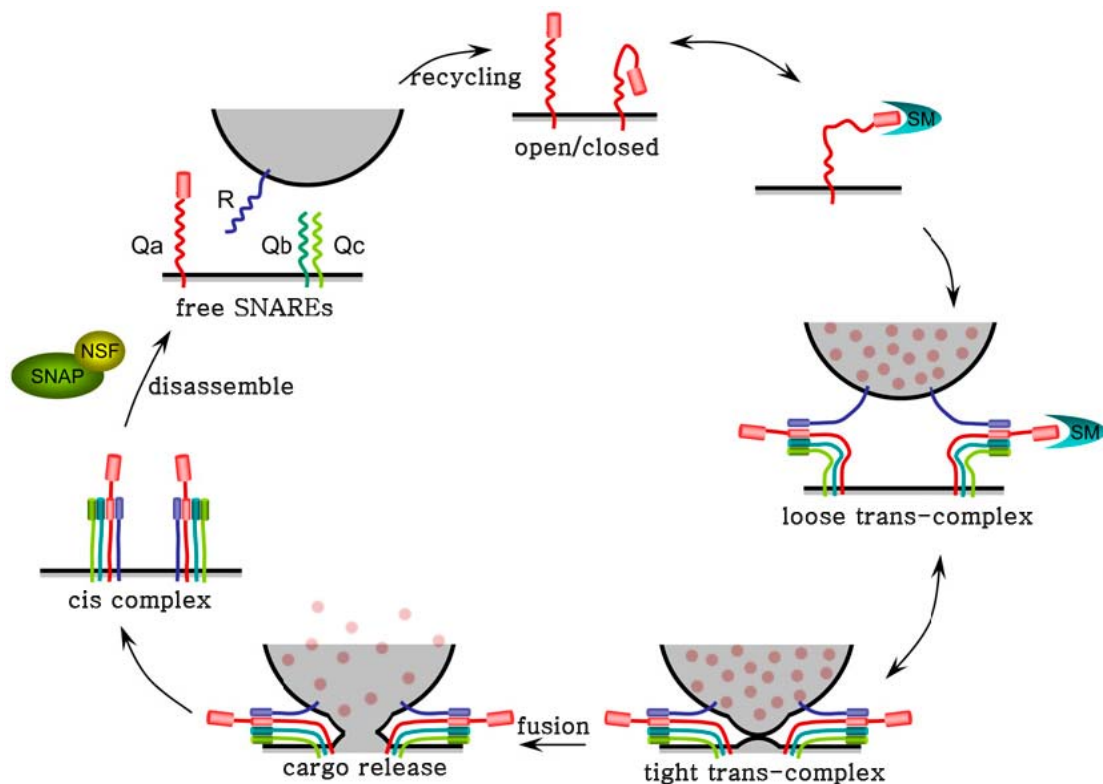


图1 囊泡融合过程中SNAREs的作用机理(参照Bassham<sup>[7]</sup> 略作修改)

### 1.3 SNAREs作用的调节因子

SNAREs虽然也能独自地驱动膜融合的发生，但是膜融合的特异性却依赖其他因子的参与。SM蛋白是一类与囊泡转运相关的、60~70 kDa的亲水性蛋白，没有亚结构域<sup>[8]</sup>。它可以多种方式与Qa-SNARE结合，也能与SNAREs复合体结合，进而调节囊泡转运。SM蛋白可能主要在囊泡的锚定过程中起作用，同时也可能对锚定后的启动、融合等步骤进行调控<sup>[9]</sup>。拟南芥的基因组中含有6个SM蛋白的编码基因，其中已知KEULE在胞质分裂中有重要的作用。

对于真核生物来说，蛋白质及脂质的循环利用对于维持细胞结构的稳定和囊泡转运的持续进行非常关键。而这个循环过程需要可溶性的辅助蛋白- $\alpha$ -SNAP和ATPase-NSF的参与：NSF通过 $\alpha$ -SNAP与SNAREs复合体相互作用，利用ATP水解释放的能量使SNAREs复合体解体，从而使各个SNAREs成员参与下一轮的囊泡融合过程<sup>[10]</sup>。虽然拟南芥基因组中也存在两个 $\alpha$ -SNAP的编码基因，一个 $\gamma$ -SNAP的编码基因和一个NSF的编码基因，但是至今还没有它们生物学功能的相关报道。

## 2 植物的 SNAREs 家族

植物的许多生理过程都与囊泡的极性转运密切相关，所以植物中有相当数目的SNAREs。基因组分析表明模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的基因组中含有64个SNAREs，水稻(*Oryza sativa* L.)和黑杨(*Populus trichocarpa* L.)的基因组中分别有60和74个SNAREs<sup>[11]</sup>。但是在这些SNAREs中，只有两个蛋白质亚家族是植物所特有的，它们是NPSN (Novel plant-specific SNARE) Qb-SNAREs和SYP7 (Syntaxin 7) Qc-SNAREs。SNAREs在植物中的高丰度说明这个蛋白家族在植物的生长发育中具有非常重要的生物学功能<sup>[12]</sup>。

### 2.1 Q-SNAREs

在植物的基因组中，Q-SNAREs的3种形式：Qa-SNAREs、Qb-SNAREs和Qc-SNAREs都有相应的编码基因。其中Qa-SNAREs的含量最丰富，这与酵母及动物中的研究结果是一

致的。在植物中，几乎所有的Qa-SNAREs都含有典型的3个结构域：N-端的调节结构域，SNARE结构域和C-端的跨膜结构域。但是有趣的是，由于遗传的多样性，拟南芥Col-0生态型的AtSYP22却缺少C-端的跨膜域<sup>[13]</sup>。现代遗传学的研究表明，Qa-SNAREs在植物的胞质分裂、抗病与ABA信号转导中起作用，Qb-SNAREs参与植物的胞质分裂、根的向重力性及自噬作用，而至今还没有筛选到与Qc-SNAREs功能相关的突变体。

## 2.2 R-SNAREs

植物的R-SNAREs可以分为3个亚家族，即VAMPs (Vesicle-associated membrane proteins)、YKT6s (Yeast killer toxins 6)和SEC22s (Secretor 22)。大多数的R-SNAREs通过其C-端的跨膜域锚定在目标膜上，少数成员，如AtYKT61和AtYKT62通过翻译后修饰所加的脂链定位在膜上<sup>[14]</sup>。由于植物中所有的R-SNAREs的N-端都比较大，所以在植物中R-SNAREs也叫longins<sup>[15]</sup>。与Q-SNAREs不同的是，迄今为止对R-SNAREs的功能还知之甚少。

## 3 植物 SNAREs 的生物学功能

### 3.1 促进植物的胞质分裂

植物细胞在进行有丝分裂的过程中，需要通过胞质分裂将细胞质及各种细胞器平均地分配到两个子细胞中去。研究发现，处于分裂期细胞中部的细胞板的形成决定着这一过程的起始<sup>[16]</sup>。在细胞分裂过程中，新合成的物质及细胞表面的物质如：质膜蛋白、细胞壁成分等，都需通过囊泡转运迅速地运送到细胞板处，参与细胞板的形成<sup>[17]</sup>。

Lukowitz等<sup>[18]</sup>在拟南芥中首次发现SNAREs参与细胞板的形成。他们筛选到胞质分裂的突变体-*kn* (knolle)，由于不完全及杂乱的胞质分裂，*kn*出现了多核及细胞体积增大的现象。分析表明，*KN*编码的34 kDa的蛋白为AtSYP111，属于Qa-SNARE。免疫荧光实验进一步发现*KN*在有丝分裂时特异表达，并定位在细胞板上。*kn*中囊泡能在细胞板处积累，但却不能正常的融合<sup>[19]</sup>。由此可以看出，囊泡的融合对细胞板的形成是至关重要的：AtSYP111功能的缺失虽然并没有影响囊泡的转运过程，但是却影响了囊泡的融合，使细胞板形成所需的物质不能有效的释放，最终阻碍了胞质分裂的正常进行。进一步的研究发现，与*KN*一起形成SNAREs复合体的Qb+Qc-SNAREs为SNAP33 (synaptosomal-associated protein of 33 kDa)，R-SNARE为NPSN11<sup>[20,21]</sup>。Assaad等<sup>[22]</sup>证明属于SM蛋白的KEU能够与*KN*相互作用，促进细胞板处囊泡的融合。综上所述，在植物胞质分裂的过程中，SNAREs及调节因子都起着重要的作用，它们都能够促进细胞板形成过程中囊泡的融合。

### 3.2 与植物的抗病性有关

SNAREs参与植物的抗病过程，是在研究拟南芥对大麦白粉病(*Blumeria graminis* f. sp. *Hordei*)的非寄主抗性时被发现。大麦白粉病可以侵染其寄主植物大麦(*Hordeum vulgare* L.)并引起发病，但是对于它的非寄主拟南芥来说，大麦白粉病并不能穿透其细胞壁而引起发病。这种非寄主抗性的获得主要是由于侵染点下方乳突的形成。在抵御病原菌侵染的过程中，乳突不仅是一种物理屏障，而且所含的抗菌物质可以直接杀死病原菌。因此，乳突是植物抗病过程的重要组成部分<sup>[7]</sup>。

Collins等<sup>[23]</sup>通过筛选拟南芥对大麦白粉病非寄主抗性缺失突变体的方法得到了*pen1* (Penetration1)，*pen1*并没有任何可见的形态表型，但是当用非寄主病原真菌-大麦白粉病侵染*pen1*时，其穿透率可达70% (而野生型只有10%左右)。所以，*PEN1*是与拟南芥对白粉病的非寄主抗性相关的基因。*PEN1*编码AtSYP121属于Qa-SNARE，定位在细胞膜上，在受到白粉病侵染时会在侵染点下方(即乳突形成处)聚集。另外，在受到病原菌侵染时*pen1*乳突形成的时间比野生型晚2 h，也可能是引起非寄主抗性降低的另一原因<sup>[24]</sup>。AtSYP121如何参与拟南芥非寄主抗性的分子机理还不清楚，此基因缺失后可能造成乳突形成的延迟，从而使植物对病原菌的抗穿透能力下降。已证明大麦中，AtSYP121的同源基因ROR2，在基础抗性中起作用。因此，基础抗性与非寄主抗性之间可能存在着密切的联系。Zhang等<sup>[25]</sup>发现，*pen1*中PR-1

(Pathogenesis-related protein 1)的表达水平大大的上升, SA (Salicylic acid)的含量也明显提高, 证明PEN1是SA介导的抗病途径的负调节子。这表明SNAREs参与非寄主抗性的机制是十分复杂的, 在不同的抗病途径中, SNAREs可能有着完全不同甚至相反的功能。

*SYPI22*是与*SYPI21*亲缘关系最近的同源基因, 双突变体*atsyp121 / syp122*表现出极度的矮化和坏死病斑, 并且PR-1和SA水平的升高也更为明显, 说明*AtSYPI21*与*AtSYPI22*存在功能上的冗余<sup>[24,25]</sup>。但是它们也存在功能上差异: 细菌、真菌和病毒的侵染都能诱导*SYPI22*的表达, 并且当用细菌的激发子flg22接种拟南芥后, *SYPI22*能被迅速地磷酸化<sup>[26]</sup>, 说明*SYPI22*对病原物可能具有普遍的抗性。与*SYPI22*不同的是, *SYPI21*受到小种特异激发子Avr9激发时, 能够被迅速地磷酸化, 而对flg22并无响应<sup>[27]</sup>。Kalde等<sup>[28]</sup>发现, *SYPI32*在受到激发子激发时也能被快速地磷酸化, *SYPI32*负责PR-1向侵染点的运输, 参与植物的基础抗性和寄主抗性。Pajonk等<sup>[29]</sup>指出, *SYPI21* N-端调节结构域的磷酸化并不影响SNAREs复合体的形成, 但是这种修饰却是植物维持抗病性所必需的。由此我们可以看出, SNAREs可以参与多种抗病反应。推测磷酸化可能是SNAREs参与抗病过程的一种普遍的调节机制, 这种修饰可能影响SNAREs的稳定性或直接调节囊泡的融合过程。

Kwon等<sup>[30]</sup>在拟南芥的基因组中鉴定出与*AtPEN1*共同形成复合体的SNAREs家族的其它成员, 分别是属于Qa+Qb-SNAREs的SNAP33和属于R-SNARE的VAMP722。更加肯定了*AtPEN1*可以通过参与囊泡转运参与植物的抗病反应。*snap33*除表现出与*atsyp121 / syp122*类似的极度矮化和坏死病斑的表型外, 还表现出胞质分裂的缺陷, 表明SNAP33在植物中也具有功能的多样性。

SNAREs不仅参与植物的抗病性, 还与植物与微生物共生关系的维持密切相关。根瘤是植物与其共生菌相互作用的主要器官, Mai等<sup>[31]</sup>在豆科植物百脉根(*Lotus japonicus*)中发现了*AtSYPI32*的同源基因-*LjSYPI32-1*, 它定位在根瘤上, 在根瘤的形成过程中起着重要的作用。Catalano等<sup>[32]</sup>在苜蓿(*Medicago truncatula*)中发现了同样定位在根瘤上的拟南芥*AtSYPI32*的同源基因*MtSYPI32*。这些证据说明, SNAREs在植物-微生物共生关系的建立中起着重要的作用。推测SNAREs可能负责运输特殊的物质到根瘤细胞, 以保证两者之间物质和信息有效的交流。

综上所述, 参与囊泡转运的SNAREs是多功能的蛋白家族, 在正常情况下它可以调节植物的生长发育, 而在受到病原物侵染时则负责将抗病蛋白或细胞壁组分运送到侵染点处, 抵御病原物的侵染。同时, SNAREs还介导植物与微生物之间物质和信息的交流。

### 3.3 参与ABA信号传导及生长素的极性运输

脱落酸(Absciscic acid, ABA)作为植物体内一种重要的植物激素参与多种信号传导途径, 尤其在植物抵御外界不良环境, 如干旱、低温等胁迫时起着尤为重要的作用。越来越多的研究表明, SNAREs与ABA信号途径有着密切的联系。Leyman等<sup>[33]</sup>在筛选与ABA相关的信号元件时克隆到*NtSYR1* (拟南芥*SYPI21/SYPI22*的同源基因), 它编码Qa-SNARE, 该基因功能的缺失会导致叶片保卫细胞中ABA对K<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>通道的调节受阻。Sutter等<sup>[34]</sup>指出*NtSYR1*可以介导K<sup>+</sup>通道蛋白的胞内运输, 并且保证它在质膜微区域上的正确定位。进一步研究中发现: ABA能够激发叶表皮保卫细胞中K<sup>+</sup>通道蛋白的内吞, 而其他的通道蛋白却不受ABA的影响<sup>[35]</sup>, 说明ABA对K<sup>+</sup>通道的作用具有特异性, *NtSYR1*功能的缺失使K<sup>+</sup>通道不能在质膜上正确的分布, 从而使ABA失去了作用的元件。

Sokolovski等<sup>[36]</sup>再次对*NtSYR1*进行研究时发现, *NtSYR1*对K<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>通道的作用也可以通过调节Ca<sup>2+</sup>通道实现。*NtSYR1*功能的缺失, 首先抑制Ca<sup>2+</sup>离子通道的门控作用, 外源Ca<sup>2+</sup>通过质膜进入胞内, 进而激发内源钙库中Ca<sup>2+</sup>的释放, 胞质内Ca<sup>2+</sup>浓度的显著提高使得保卫细胞中K<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>通道对ABA的感应受到抑制。因此, 植物的SNAREs可能通过调节Ca<sup>2+</sup>信号途径, 间接地影响ABA信号对K<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>通道的调控作用。由于胞质中的Ca<sup>2+</sup>在植物的信号通路中有

着广泛的作用,推测SNAREs也可能通过Ca<sup>2+</sup>通道参与植物的其他信号传导过程。

除介导ABA信号传导外,SNAREs还可能参与生长素的极性运输。生长素是植物中唯一具有极性运输特性的激素,它的极性运输取决于在细胞内呈极性分布的输入载体AUX1 (AUXIN1)和输出载体PIN (PIN-formed)<sup>[37]</sup>。Ishiki等<sup>[38]</sup>指出,葡萄糖运输载体GLUT-4是通过SNAREs介导的囊泡转运完成与质膜的融合的。AUX1和PIN的转运机制还有待研究,由于它们的亚细胞定位与哺乳动物的转运系统极为相似,所以猜测它们的极性分布也与SANREs介导的囊泡转运有一定的联系。Kleine等<sup>[39]</sup>发现AUX1在细胞器间的运输可能依赖细胞骨架。Schlicht等<sup>[40]</sup>则指出PIN的极性运输可能与神经传递过程中囊泡的运输一样,也要依赖SNAREs的参与。SNAREs如何调节生长素运输载体(特别是PIN)在质膜上的极性分布还不清楚,对此机理的揭示将有助于我们更好地理解植物生长发育的调节机制。

### 3.4 参与植物对非生物胁迫的响应

NPSN是植物特有的SNAREs成员,它在植物应对各种非生物胁迫的过程中扮演着重要的角色。拟南芥的NPSN可与KNOLLE相互作用,参与植物的胞质分裂<sup>[21]</sup>。Bao等<sup>[41]</sup>却发现水稻NPSN11的表达受非生物胁迫的影响:在受到H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化胁迫时其表达水平大大提高;而在受到盐胁迫和渗透胁迫时,其表达量却会大大的减少。拟南芥和水稻的NPSN是否具有不同的功能还不清楚,OsNPSN11在抵御非生物胁迫中的作用和机理也有待于更加深入的研究。

另外在植物耐受盐胁迫的过程中,液泡方向的囊泡转运起着关键的作用,其中属于R-SNAREs的AtVAMP71家族介导转运囊泡与液泡的融合。Leshem等<sup>[42]</sup>指出AtVAMP71功能的缺失能够提高植物的抗盐性。进一步地分析证明,野生型植株在受到盐胁迫时,含有H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的囊泡与液泡的融合会对植物造成毒害,而AtVAMP71功能的缺失使这种融合受阻,从而减少了高盐对植物的毒害作用。另有研究证明,囊泡运输的调节基因也参与了植物对非生物胁迫的响应<sup>[43]</sup>。囊泡融合在植物抵御非生物胁迫中的分子机制还有待于进一步的研究,与之相关的SNAREs家族其他成员的鉴定将为此机理的揭示提供强有力的论据。

### 3.5 与脂质筏的重要联系

脂质筏是位于质膜上的富集胆固醇和鞘磷脂的微结构域(Microdomain),这些区域能够富集特异的质膜蛋白,从而产生信号传导分子,在蛋白质的分选、信号转导及感受病原体感染等方面起着重要的作用<sup>[44]</sup>。Mongrand等<sup>[45]</sup>在烟草叶中分离到了微结构域,此区域富集鞘磷脂,并且有甾醇、谷甾醇和胆固醇的存在,由此证明了植物细胞膜上脂质筏的存在。Assaad等<sup>[24]</sup>用GFP标记的方法发现AtSYP121 (PEN1)和NtROR2 (植物穿透抗性的重要组成部分)在病原菌的侵染位点处富集,而Filipin染色分析表明侵染点处也是胆固醇富集的区域。这就证明病原物的入侵能诱导脂质筏的形成。猜测脂质筏的存在可以使质膜蛋白(包括SNAREs)区域化,用以确保胞外分泌正确有序地进行。

### 3.6 在植物向重力性中的作用

向重力性是植物在重力影响下,保持一定生长方向的特性。内胚层中,含有10~20个淀粉粒的造粉体细胞是植物感受重力作用的重要传感器。Yano等<sup>[46]</sup>在筛选重力感知缺陷突变体时得到了sgr3 (Shoot gravitropism 3)和zig (Zigzag)。分析表明,SGR3编码的AtVAM3为Qa-SNARE,定位在液泡前体及液泡膜上;ZIG编码AtVTI11,定位在高尔基体反面管网区及液泡前体上。VAM3、VTI11与SYP5形成的SNAREs复合体分布在内皮层的造粉体细胞中,AtVAM3突变后造成SNAREs复合体的形成能力明显降低,从而导致突变体向重力性的丧失。由此可以看出,SNAREs介导的囊泡融合参与了植物对重力的响应,但其机制还不清楚。Saito等<sup>[47]</sup>指出,由于SNAREs功能的丧失而导致的造粉体细胞中淀粉粒的沉淀异常是植物失去向重力性的重要原因。sgr3和zig中,细胞内的空泡不能正常融合,这就可能使细胞内积累大量的小泡,这些小泡的存在限制了淀粉体的正常移动,最终使植物的向重力性受到影响。

#### 4 植物SNAREs研究前景展望

近年的研究成果显示：SNAREs是一个多功能的蛋白家族，在植物中有非常广泛的生物学功能：它不仅通过介导囊泡融合参与植物正常的生长发育及对外界环境的响应，而且还可能与离子通道相互作用，参与植物的信号传导，但是具体的分子机制还有待于更深入的研究。目前许多真核生物的全基因组测序已经完成，这为研究SNAREs家族在不同真核生物基因组范围内的分布和推测其功能提供了大量的信息，也有利于发现更多新的SNAREs。随着研究的进一步深入，我们对SNAREs的了解也会逐渐深入到新的层次，从而更全面地了解这个蛋白家族在植物生长发育中的重要作用。

#### 参考文献(References):

- [1] Jurgens G. Membrane trafficking in plant. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20:481-504.
- [2] Bassham DC, Sanderfoot AA, Kovaleva V, Zheng H, Raikhel NV. AtVPS45 complex formation at the trans-Golgi network. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(7):2251-2265.
- [3] Jahn R, Scheller RH. SNAREs: engines for membrane fusion. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(9):631-43.
- [4] Söllner T, Whiteheart SW, Brunner M, Erdjument-Bromage H, Geromanos S, Tempst P, Rothman JE. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion. *Nature*, 1993, 362(6418):318-324.
- [5] Fasshauer D, Sutton RB, Brunger AT, Jahn R. Conserved structural features of the synaptic fusion complex: SNARE proteins reclassified as Q- and R-SNAREs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(26):15781-15786.
- [6] Scales SJ, Finley MF, Scheller RH. Cell biology. Fusion without SNAREs? *Science*, 2001, 294(5544):1015-1016.
- [7] Bassham DC, Blatt MR. SNAREs: Cogs and Coordinators in Signaling and Development. *Plant Physiol*, 2008, 147(4):1504-1515.
- [8] Jahn R, Südhof TC. Membrane fusion and exocytosis. *Annu Rev Biochem*, 1999, 68:863-911.
- [9] Yang B, Steegmaier M, Gonzalez LC Jr, Scheller RH. nSec1 binds a closed conformation of syntaxin1A. *J Cell Biol*, 2000, 148(2):247-252.
- [10] May AP, Whiteheart SW, Weis WI. Unraveling the mechanism of the vesicle transport ATPase NSF, the N-ethylmaleimide-sensitive factor. *J Biol Chem*, 2001, 276(25):21991-21994.
- [11] Lipka V, Kwon C, Panstruga R. SNARE-ware: The role of SNARE-domain proteins in plant biology. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2007, 23:147-174.
- [12] Sanderfoot AA, Assaad FF, Raikhel NV. The *Arabidopsis* genome. An abundance of soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor adaptor protein receptors. *Plant Physiol*, 2000, 124(4):1558-1569.
- [13] Ohtomo I, Ueda H, Shimada T, Nishiyama C, Komoto Y, Hara-Nishimura I, Takahashi T. Identification of an allele of VAM3/SYP22 that confers a semi-dwarf phenotype in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(8):1358-1365.
- [14] McNew JA, Sogaard M, Lampen NM, Machida S, Ye RR, Lacomis L, Tempst P, Rothman JE, Söllner TH. Ykt6p, a prenylated SNARE essential for endoplasmic reticulum-Golgi transport. *J Biol Chem*, 1997, 272(28):17776-17783.
- [15] Uemura T, Sato MH, Takeyasu K. The longin domain regulates subcellular targeting of VAMP7 in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 2005, 579(13):2842-2846.
- [16] Mayer U, Jürgens G. Cytokinesis: lines of division taking shape. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7(5):599-604.
- [17] Dhonukshe P, Baluska F, Schlicht M, Hlavacka A, Samaj J, Friml J, Gadella TW Jr. Endocytosis of cell

- surface material mediates cell plate formation during plant cytokinesis. *Dev Cell*, 2006, 10(1):137-150.
- [18] Lukowitz W, Mayer U, Jürgens G. Cytokinesis in the *Arabidopsis* embryo involves the syntaxin-related *KNOLLE* gene product. *Cell*, 1996, 84(1):61-71.
  - [19] Lauber MH, Waizenegger I, Steinmann T, Schwarz H, Mayer U, Hwang I, Lukowitz W, Jürgens G. The *Arabidopsis* *KNOLLE* protein is a cytokinesis-specific syntaxin. *J Cell Biol*, 1997, 139(6):1485-1493.
  - [20] Heese M, Gansel X, Sticher L, Wick P, Grebe M, Granier F, Jürgens G. Functional characterization of the *KNOLLE*-interacting t-SNARE *AtSNAP33* and its role in plant cytokinesis. *J Cell Biol*, 2001, 155(2):239-250.
  - [21] Zheng H, Bednarek SY, Sanderfoot AA, Alonso J, Ecker JR, Raikhel NV. NPSN11 is a cell plate-associated SNARE protein that interacts with the syntaxin *KNOLLE*. *Plant Physiol*, 2002, 129(2):530-539.
  - [22] Assaad FF, Huet Y, Mayer U, Jürgens G. The cytokinesis gene *KEULE* encodes a Sec1 protein that binds the syntaxin *KNOLLE*. *J Cell Biol*, 2001, 152(3):531-544.
  - [23] Collins NC, Thordal-Christensen H, Lipka V, Bau S, Kombrink E, Qiu JL, Hükelhoven R, Stein M, Freialdenhoven A, Somerville SC, Schulze-Lefert P. SNARE-protein-mediated disease resistance at the plant cell wall. *Nature*, 2003, 425(6961):973-977.
  - [24] Assaad FF, Qiu JL, Youngs H, Ehrhardt D, Zimmerli L, Kalde M, Wanner G, Peck SC, Edwards H, Ramonell K, Somerville CR, Thordal-Christensen H. The *PEN1* syntaxin defines a novel cellular compartment upon fungal attack and is required for the timely assembly of papillae. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(11):5118-5129.
  - [25] Zhang Z, Feechan A, Pedersen C, Newman MA, Qiu JL, Olesen KL, Thordal-Christensen H. A SNARE-protein has opposing functions in penetration resistance and defence signalling pathways. *Plant J*, 2007, 49(2):302-312.
  - [26] Nühse TS, Boller T, Peck SC. A plasma membrane syntaxin is phosphorylated in response to the bacterial elicitor flagellin. *J Biol Chem*, 2003, 278(46):45248-45254.
  - [27] Heese A, Ludwig AA, Jones JD. Rapid phosphorylation of a syntaxin during the *Avr9/Cf-9*-race-specific signaling pathway. *Plant Physiol*, 2005, 138(4):2406-2416.
  - [28] Kalde M, Nühse TS, Findlay K, Peck SC. The syntaxin *SYP132* contributes to plant resistance against bacteria and secretion of pathogenesis-related protein 1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(28):11850-11855.
  - [29] Pajonk S, Kwon C, Clemens N, Panstruga R, Schulze-Lefert P. Activity determinants and functional specialization of *Arabidopsis* *PEN1* syntaxin in innate immunity. *J Biol Chem*, 2008, 283(40):26974-26984.
  - [30] Kwon C, Neu C, Pajonk S, Yun HS, Lipka U, Humphry M, Bau S, Straus M, Kwaaitaal M, Rampelt H, El Kasmi F, Jürgens G, Parker J, Panstruga R, Lipka V, Schulze-Lefert P. Co-option of a default secretory pathway for plant immune responses. *Nature*, 2008, 451(7180):835-840.
  - [31] Mai HT, Nomura M, Takegawa K, Asamizu E, Sato S, Kato T, Tabata S, Tajima S. Identification of a Sed5-like SNARE gene *LjSYP32-1* that contributes to nodule tissue formation of *Lotus japonicus*. *Plant Cell Physiol*, 2006, 47(7):829-838.
  - [32] Catalano CM, Czymbek KJ, Gann JG, Sherrier DJ. *Medicago truncatula* syntaxin *SYP132* defines the symbiosome membrane and infection droplet membrane in root nodules. *Planta*, 2007, 225(3):541-550.
  - [33] Leyman B, Geelen D, Quintero FJ, Blatt MR. A tobacco syntaxin with a role in hormonal control of guard cell ion channels. *Science*, 1999, 283(5401):537-540.

- [34] Sutter JU, Campanoni P, Tyrrell M, Blatt MR. Selective mobility and sensitivity to SNAREs is exhibited by the *Arabidopsis* KAT1 K<sup>+</sup> channel at the plasma membrane. *Plant Cell*, 2006, 18(4):935–954.
- [35] Sutter JU, Sieben C, Hartel A, Eisenach C, Thiel G, Blatt MR. Absciscic acid triggers the endocytosis of the *Arabidopsis* KAT1 K<sup>+</sup> channel and its recycling to the plasma membrane. *Curr Biol*, 2007, 17(16):1396–1402.
- [36] Sokolovski S, Hills A, Gay R, Blatt MR. Functional interaction of the SNARE protein NtSyp121 in Ca<sup>2+</sup> channel gating, Ca<sup>2+</sup> transients and ABA signalling of stomatal guard cells. *Mol Plant*, 2008, 1:347–358.
- [37] Vieten A, Sauer M, Brewer PB, Friml J. Molecular and cellular aspects of auxin-transport-mediated development. *Trends Plant Sci*, 2007, 12(4):160–168.
- [38] Ishiki M, Klip A. Minireview: recent developments in the regulation of glucose transporter-4 traffic: new signals, locations, and partners. *Endocrinology*, 2005, 146(12):5071–5078.
- [39] Kleine-Vehn J, Dhonukshe P, Swarup R, Bennett M, Friml J. Subcellular trafficking of the *Arabidopsis* auxin influx carrier AUX1 uses a novel pathway distinct from PIN1. *Plant Cell*, 2006, 18(11):3171–3181.
- [40] Schlicht M, Strnad M, Scanlon M, Mancuso S, Hochholdinger F, Palme K, Volkmann D, Menzel D, Baluska F. Auxin immunolocalization implicates vesicular neurotransmitter-like mode of polar auxin transport in root apices. *Plant Signal & Behav*, 2006, 1:122–133.
- [41] Bao YM, Wang JF, Huang J, Zhang HS. Cloning and characterization of three genes encoding Qb-SNARE proteins in rice. *Mol Genet Genomics*, 2008, 279(3):291–301.
- [42] Leshem Y, Melamed-Book N, Cagnac O, Ronen G, Nishri Y, Solomon M, Cohen G, Levine A. Suppression of *Arabidopsis* vesicle-SNARE expression inhibited fusion of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-containing vesicles with tonoplast and increased salt tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(47):18008–18013.
- [43] Mazel A, Leshem Y, Tiwari BS, Levine A. Induction of salt and osmotic stress tolerance by overexpression of an intracellular vesicle trafficking protein AtRab7 (AtRabG3e). *Plant Physiol*, 2004, 134(1):118–128.
- [44] Pike LJ. Rafts defined: a report on the keystone symposium on lipid rafts and cell function. *J Lipid Res*, 2006, 47(7):1597–1598.
- [45] Mongrand S, Morel J, Laroche J, Claverol S, Carde JP, Hartmann MA, Bonneau M, Simon-Plas F, Lessire R, Bessoule JJ. Lipid rafts in higher plant cells: purification and characterization of Triton x-100-insoluble microdomains from tobacco plasma membrane. *J Biol Chem*, 2004, 279(35):36277–36286.
- [46] Yano D, Sato M, Saito C, Sato MH, Morita MT, Tasaka M. A SNARE complex containing SGR3/AtVAM3 and ZIG/VTI1 in gravity-sensing cells is important for *Arabidopsis* shoot gravitropism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(14):8589–8594.
- [47] Saito C, Morita MT, Kato T, Tasaka M. Amyloplasts and vacuolar membrane dynamics in the living graviperceptive cell of the *Arabidopsis* inflorescence stem. *Plant Cell*, 2005, 17(2):548–558.