

·特邀综述·

## 植物细胞自噬研究进展

刘洋, 张静, 王秋玲, 侯岁稳\*

兰州大学生命科学学院, 细胞活动与逆境适应教育部重点实验室, 兰州 730000

**摘要** 细胞自噬是一类依赖于溶酶体和液泡的蛋白质降解途径。在动物细胞中, 靶物质通过自噬体包裹被运送到溶酶体中, 由特定的水解酶降解; 而植物和酵母细胞中该过程在液泡内进行。近年来, 在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中鉴定到多个关键ATG基因, 它们对植物细胞自噬体的形成及自噬调控起到关键作用。该文全面综述了植物细胞自噬的调控及其在植物逆境胁迫中的生理功能。

**关键词** 植物细胞自噬, ATG基因, 自噬调控机制, 逆境胁迫

刘洋, 张静, 王秋玲, 侯岁稳 (2018). 植物细胞自噬研究进展. 植物学报 53, 5–16.

细胞自噬(autophagy)是一类依赖于溶酶体和液泡的蛋白质降解途径, 在真核生物中高度保守。在植物和酵母细胞中, 自噬发生时胞内物质被包裹到双层膜的自噬小泡中, 通过运输进入液泡进行降解, 产生新的小分子以供细胞重新利用。植物在营养物质缺乏、干旱、高盐或过氧化物等多种逆境胁迫下, 通过这种非常精细复杂的蛋白降解机制回收细胞内损坏或标记的物质以维持自身的生长、发育和生存。在动物细胞中, 靶物质被运送到溶酶体, 通过特定的水解酶进行降解(Thompson et al., 2005; He and Klionsky, 2009; Liu et al., 2009)。细胞自噬这一概念最早由de Duve于1963年提出, 他在1955年发现溶酶体的基础上通过电镜观察进一步揭示细胞自噬是胞内物质到溶酶体降解的一种主要途径(Duve et al., 1955; Deter and Duve, 1967)。尽管细胞自噬最初是在动物细胞中被揭示的, 然而在分子水平上扩大并促进对其理解主要是通过酵母的遗传学研究。日本的Ohsumi、德国的Thumm以及美国的Klionsky实验室利用酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)进行了自噬缺陷突变体的筛选和鉴定, 不久之后, 第1个自噬特异性基因APG1 (植物中为ATG1)被鉴定, 同时发现一些相关的基因产物(Tsukada and Ohsumi, 1993; Thumm et al., 1994; Klionsky et al., 2003)。随后有30多种细胞

自噬相关基因相继被发现, 并在此基础上进一步阐明了酵母细胞的自噬机理, Ohsumi因此荣获2016年诺贝尔生理学或医学奖。

目前已经鉴定到3种具有差异性的自噬类型, 分别为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和选择性自噬(selective autophagy) (He and Klionsky, 2009; Liu et al., 2009)。一般意义上的自噬都指巨自噬, 它是最主要的一种自噬降解途径, 能够封装和运输胞内物质到溶酶体或液泡中进行降解, 通过一系列共同定位于吞噬泡组装位点(phagophore assembly site, PAS)的ATGs蛋白组装形成吞噬泡结构, 进而吞噬胞内物质, 产生具有双层膜结构的封闭隔室, 即自噬体(autophagosomes), 再与液泡或溶酶体融合, 降解运输物并重新利用(Li et al., 2014)。微自噬是通过液泡膜或溶酶体膜内陷将待降解物直接包裹在液泡或溶酶体中进行降解, 这一过程中没有独立双层膜结构的形成(Suttangkakul et al., 2011)。选择性自噬指针对细胞内需要清除的细胞器、大分子蛋白复合体、毒性蛋白质以及入侵的病原菌等, 由特定的分子伴侣蛋白(如HSC70和HSP90)介导的细胞自噬, 形成过程与以上2种自噬类型不同(Johansen and Lamark, 2011)。在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中已经鉴定到多个关键的ATGs, 它们对细

收稿日期: 2017-05-17; 接受日期: 2017-06-30

基金项目: 国家自然科学基金(No.31470372)、农业部转基因专项(No.2016ZX08009-003-002)和中央高校基本科研业务费专项(No.Lzujbky-2015-ot09, No.Lzujbky-2015-297)

\* 通讯作者。E-mail: housw@lzu.edu.cn

胞自噬小体的形成及自噬的调节发挥重要作用。

## 1 植物细胞自噬的分子机制

### 1.1 植物关键ATG基因及其功能

目前在拟南芥中已鉴定到大约30多种ATGs,除了ATG14/29/31以外,其它ATG都与酵母同源,如表1所示(Yoshimoto et al., 2010)。根据蛋白间的互作关系以及它们在自噬不同阶段所行使的不同功能,可分为4大类: (1) ATG1/ATG13蛋白激酶复合体,响应营养物质的需求起始自噬小体的形成; (2) ATG9/2/18跨膜复合体,通过膜的穿梭促进吞噬泡的扩展; (3) 磷脂酰肌醇激酶复合体(phosphatidylinositol 3-kinase, PI-3K),介导囊泡成核; (4) 泛素化折叠蛋白ATG8和ATG12与PE (phosphatidylethanolamine)和ATG5之间分别耦联形成结合物,有助于囊泡的扩展和融合,也为穿梭蛋白提供停泊位点,有利于选择性自噬的进行(Xie and Klionsky, 2007; Behrends et al., 2010; Suzuki and Ohsumi, 2010)。此外,在拟南芥中还鉴定到缺乏WD40重复序列的ATG16-like基因以及8个ATG18-like基因。拟南芥T-DNA插入突变体*atg9-1*表现出早衰等自噬缺陷的表型,*atg2-1*和*RNAi-ATG18a*在自噬小体的形成方面均存在缺陷(Hanaoka et al., 2002; Xiong et al., 2005; Inoue et al., 2006),但拟南芥中ATG9是否与酵母中一样,通过形成低聚物与ATG2-ATG18a复合体相互作用来参与植物细胞自噬过程还需进一步证明。最新研究表明,植物中ATG9对于内质网(ER)衍生的自噬体的形成十分重要,拟南芥中ATG9缺失将导致自噬诱导后自噬体相关管装结构在内质网膜急剧积累。动力学分析证明,自噬过程中ATG9囊泡与自噬体膜之间存在着一种瞬态的膜连接。此外,在*atg9*突变体中,通过一种磷脂酰肌醇3-磷酸依赖的方式形成延长的小管,使ATG18a的转运受到损坏。研究结果为ATG9在调节拟南芥内质网膜的自噬体形成中发挥重要作用提供了强有力的证据(Zhuang et al., 2017)。近年来,在农作物如水稻(*Oryza sativa*)和玉米(*Zea mays*)中也鉴定到多个关键的ATG基因(Su et al., 2006; Shin et al., 2009; Chung et al., 2010)。

在营养物质缺乏条件下,玉米*atg12*突变体表现出子叶衰老加速、抽穗发育延迟及早熟等生长发育缺

陷表型。氮分区研究表明,*atg12*突变体中N源的再活化受到损伤,导致农作物产量降低及高氮指标显著下降,表明细胞自噬在N缺乏环境下调控氮源回收利用以增加农作物产量方面起到关键作用(Li et al., 2015)。细胞自噬在营养物质回收及营养缺乏条件下改善作物生长状况方面发挥重要作用,然而自噬相关基因在经济作物苹果(*Malus sp.*)中的功能研究相对较少。研究表明,在氮源缺乏、干旱、高盐及氧化胁迫等逆境条件下,苹果中自噬基因*MdATG8i*、*MDATG3a*及*MDATG3b*被诱导表达上调且具有相似的表达模式;在拟南芥中异位表达*MdATG8i*、*MDATG3a*和*MDATG3b*能够增强植株的营养生长、延缓叶的衰老以及增强植株对营养缺乏、盐胁迫及渗透胁迫的耐受性;超表达*MDATG8i*、*MDATG3a*和*MDATG3b*于Orin苹果愈伤组织系,能够显著增强其对营养缺乏的耐受性。作为苹果中非常重要的自噬基因,它们的超表达能够增强果树对多种逆境的耐受性(Wang et al., 2016, 2017)。

拟南芥中ATG1/ATG13蛋白激酶复合体是自噬调控的关键组分,对自噬小体到液泡的转运十分重要。在*atg13a/atg13b*中,ATG12-ATG5和ATG8-PE能正常形成,但ATG8修饰的自噬体到液泡的沉积被抑制,因此*atg13a/atg13b*对营养物质的缺乏极度敏感并表现出早衰(Suttangkakul et al., 2011)。拟南芥中支架蛋白ATG11和ATG101能够帮助ATG1/ATG13复合体连接到自噬体膜,促进自噬囊泡到液泡的转运,但它们对于自噬囊泡组装所必需的2种加合物ATG8-PE和ATG12-ATG5的合成并非必需(图1)。与其它*atg*突变体类似,*atg11-1*对营养物质的缺乏极度敏感并且早衰,减少了自噬体在液泡的沉积,饥饿诱导下影响了ATG1的磷酸化状态及ATG1和ATG13蛋白水平的转运,暗示ATG11对自噬体的形成和ATG1/ATG13蛋白激酶复合体的组装及其活性具有重要作用。此外,拟南芥中的ATG11与酵母中的ATG11一样,也参与线粒体自噬。在拟南芥*atg11-1*突变体中,线粒体自噬蛋白的运转及其自噬过程中自噬小体向液泡的转运减弱(Li et al., 2014)。

ATG12-ATG5和ATG8-PE耦联物的形成对植物细胞自噬是必需的,这2种物质有助于吞噬泡的延伸和自噬体到液泡的降解(Suzuki et al., 2005; Thompson et al., 2005) (图1)。拟南芥ATG12缺失突变体

表1 拟南芥中的ATG同源基因

Table 1 Arabidopsis ATG homologs

酿酒酵母 ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	拟南芥( <i>Arabidopsis thaliana</i> )
<i>Atg1</i>	<i>AtATG1a</i> 、 <i>AtATG1b</i> 、 <i>AtATG1c</i>
<i>Atg2</i>	<i>AtATG2<sup>a</sup></i>
<i>Atg3</i>	<i>AtATG3</i>
<i>Atg4</i>	<i>AtATG4a<sup>a</sup></i> 、 <i>AtATG4b<sup>a</sup></i>
<i>Atg5</i>	<i>AtATG5<sup>a</sup></i>
<i>Atg6</i>	<i>AtATG6<sup>a</sup></i>
<i>Atg7</i>	<i>AtATG7<sup>a</sup></i>
<i>Atg8</i>	<i>AtATG8a</i> 、 <i>AtATG8b</i> 、 <i>AtATG8c</i> 、 <i>AtATG8d</i> 、 <i>AtATG8e</i> 、 <i>AtATG8f</i> 、 <i>AtATG8g</i> 、 <i>AtATG8h<sup>b</sup></i> 、 <i>AtATG8i<sup>b</sup></i>
<i>Atg9</i>	<i>AtATG9<sup>a</sup></i>
<i>Atg10</i>	<i>AtATG10<sup>a</sup></i>
<i>Atg101</i>	<i>AtATG101</i>
<i>Atg11</i>	<i>AtATG11<sup>a</sup></i>
<i>Atg12</i>	<i>AtATG12a</i> 、 <i>AtATG12b</i>
<i>Atg13</i>	<i>AtATG13a</i> 、 <i>AtATG13b</i>
<i>Atg14</i>	未鉴定
<i>Atg16</i>	<i>AtATG16L<sup>c</sup></i>
<i>Atg17</i>	<i>AtATG11-like</i>
<i>Atg18</i>	<i>AtATG18a<sup>a</sup></i> 、 <i>AtATG18b</i> 、 <i>AtATG18c</i> 、 <i>AtATG18d</i> 、 <i>AtATG18e</i> 、 <i>AtATG18f</i> 、 <i>AtATG18g</i> 、 <i>AtATG18h</i>
<i>Atg29</i>	未鉴定
<i>Atg31</i>	未鉴定

<sup>a</sup> 表示已发表基因(均具有T-DNA插入突变体株系); <sup>b</sup> 表示拟南芥中ATG8的同源基因; <sup>c</sup> 表示尚未发表基因。  
<sup>a</sup> indicate T-DNA insertion knockout mutants of these genes which have been published; <sup>b</sup> indicate these *AtATG8* homologs are plant-specific molecules; <sup>c</sup> indicates unpublished gene.

*atg12a/atg12b*表现出过早衰老表型,对营养物质的缺乏极度敏感,且突变体中自噬体不能在液泡沉积。与ATG8作为自噬体标记物不同,ATG12在自噬过程中主要在自噬囊泡进入液泡之前发挥作用。*ATG12a*和*ATG12b*具有不同的功能,在基因表达水平上,*ATG12a*在衰老的幼苗中表达较多,而*ATG12b*主要在发育早期的幼苗中表达;在蛋白水平上ATG12b在维持本底自噬中发挥作用,而ATG12a在自噬诱导之后发挥作用(Chung et al., 2010)。ATG12发挥功能依赖于泛素化修饰过程,在*atg7-1*和*atg10-1*突变体中缺乏类E1-泛素连接酶ATG7或类E2-泛素连接酶ATG10,导致ATG12不能与底物结合,同时也检测不到ATG12-ATG5复合物的形成(Phillips et al., 2008)。

ATG8-PE是一种可用于示踪自噬体系形成过程的生化标志物。在拟南芥中鉴定到9个ATG8的同源基因,这些基因编码蛋白C-端的LC3结合域(light-chain 3 interacting region, LIR),其C-末端以一种依赖ATG4的方式发生裂解,随后与PE形成ATG8-PE复

合体。蛋白酶体ATG4使ATG8/LC3-PE去结合,这一过程对自噬体的形成十分重要。而当ATG8蛋白C-末端的甘氨酸残基被替换为丙氨酸残基时,ATG8蛋白不能被ATG4识别剪切,影响了自噬体的形成(Yoshimoto et al., 2004)。酵母中最新研究表明,ATG4通过与ATG8中2个进化上高度保守的识别位点直接与ATG8结合,其中一个位点为位于ATG8 C端的LC3结合域(LIR),另一个为新鉴定到的N端结构域。这2个位点对于ATG4-ATG8的结合是必需的,但仅新发现的N端结构域对ATG4招募到自噬体膜及与ATG8的去结合起到关键作用。ATG4在自噬体膜上活性的维持依赖于ATG4中2个位点的协同作用,其中1个位点在功能上作为ATG8的结合伴侣,而另一个位点特异性地作用于ATG8-PE的结合(Abreu et al., 2017)。在拟南芥突变体*atg5-1*、*atg10-1*和*atg12a/atg12b*中能够检测到ATG8-PE耦联物的存在,且对磷脂酶PLD敏感;而在*atg7-2*和*atg4a/atg4b*中ATG8-PE的脂化作用缺失或减弱,ATG12-ATG5的结合有助于促进

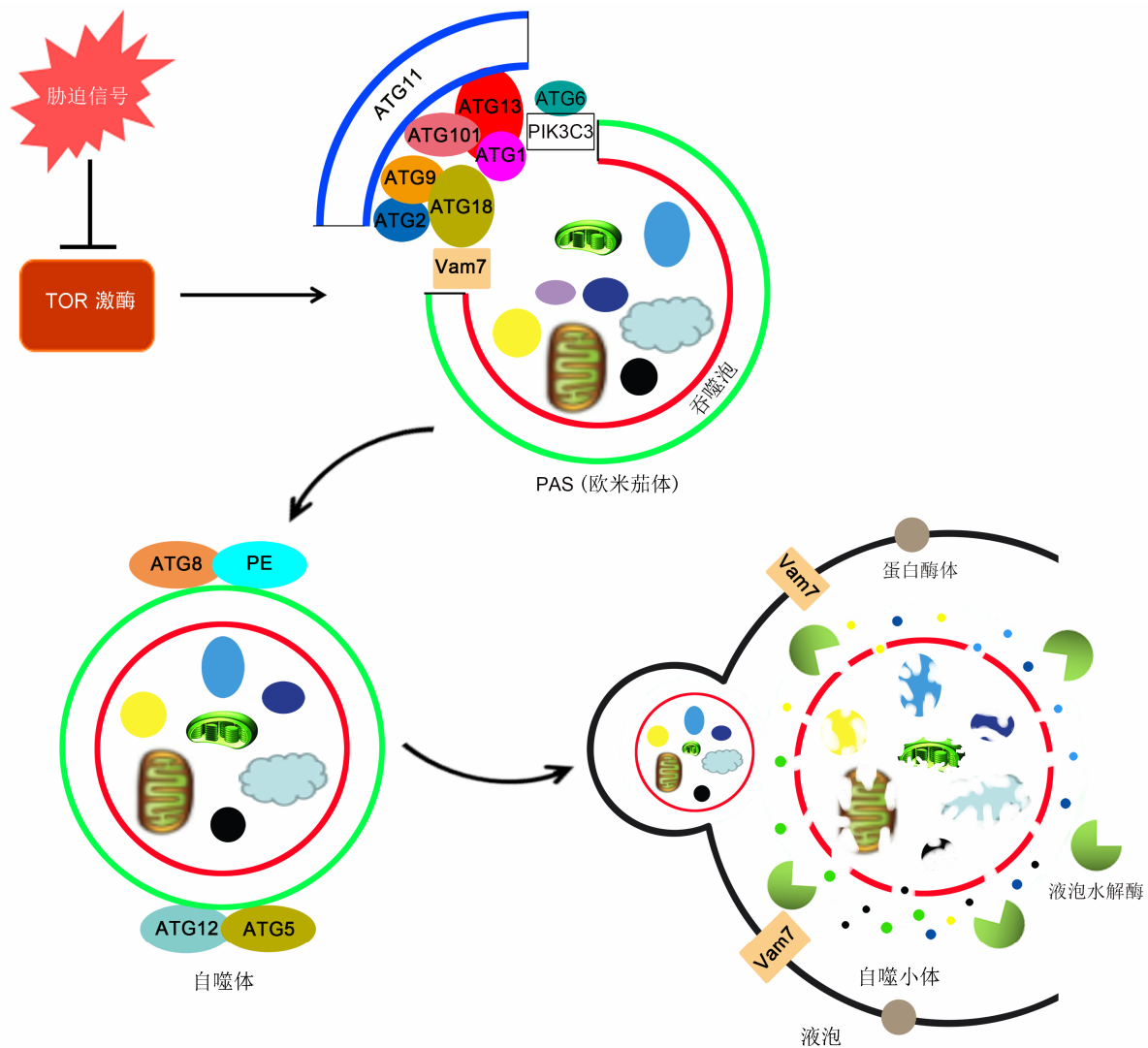


图1 植物细胞自噬体形成过程(改自Liu et al., 2016)

Figure 1 Autophagosome formation process in plants (modified from Liu et al., 2016)

ATG8-PE的脂化作用(Chung et al., 2010)。ATG8-PE的形成需要ATG7、ATG10和ATP, 而去结合时需要ATG4a和ATG4b; 类似地, ATG12和ATG5的耦联同样需要ATG7、ATG10和ATP, 表明拟南芥中这2种ATG结合体系与酵母和哺乳动物中非常相似(Yoshimoto et al., 2010)。

迄今为止, 还没有鉴定到ATG17、ATG29和ATG31在植物中的同源基因。在酵母中, 它们是构成ATG1激酶复合体的主要成员(Hosokawa et al., 2009)。研究表明, ATG17-ATG31-ATG29复合体主要在自噬的早期和后期发挥作用, 在自噬早期阶段, 此复合体转移到PAS, 在诱导自噬的发生时发挥关键作

用; 当自噬被诱导时, ATG17-ATG31-ATG29复合体和ATG11协同发挥作用, 招募SNARE蛋白Vam7到PAS结构, 当Vam7的招募受到损伤时, 自噬体到液泡的融合发生缺陷, 导致自噬的流动减弱, 表明存在一种新的分子机制调节自噬体到液泡的融合(Liu et al., 2016) (图1)。在植物中继续分离鉴定新的自噬蛋白, 将有助于更加清晰地阐明植物细胞自噬发生的分子机制。

## 1.2 植物细胞自噬调控的分子机制

真菌和后生动物中存在错综复杂的激酶信号, 通过响应营养物质的需求来调节自噬产生, 主要包括TOR

(Target of Rapamycin)激酶和蛋白激酶A (AMPK)等 (Reggiori and Klionsky, 2013; Wong et al., 2013; Xiong et al., 2013)。这些激酶信号聚集在蛋白激酶复合体ATG1/ATG13上, 通过感知环境的变化来改变复合体的磷酸化状态, 最后通过下游的效应蛋白来控制自噬的流出 (Mizushima, 2010; Suttangkakul et al., 2011)。ATG1/ATG13蛋白激酶复合体核心组分为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶ATG1以及其它一些附件蛋白, 包括ATG11、ATG101、ATG13、ATG17、ATG29和ATG31等。ATG13的结合能够提高ATG1蛋白激酶的活性, 同时ATG17和ATG11起支架蛋白的作用, 它们能够帮助ATG1/ATG13蛋白激酶复合体进入PAS发挥作用 (Suzuki et al., 2007; Suzuki and Ohsumi, 2010) (图1)。

近年来, 对植物细胞自噬的研究主要致力于鉴定新的信号通路组分、组装元件及分子机制解析等方面。拟南芥中ATG1/ATG13蛋白激酶复合体为自噬的核心组分, 其活性受到很多上游激酶信号的调节, 如TOR激酶, 其信号能够影响ATG1与ATG13之间的结合, 以及对ATG1的激酶活性产生影响。在营养物质丰富的环境下, TOR激酶复合体使ATG13处于高度磷酸化状态, 磷酸化状态的ATG13与ATG1的结合能力减弱, 抑制了自噬的产生; 而在饥饿或其它外界压力的刺激下, TOR激酶失活, ATG13发生去磷酸化并与ATG1结合, 激活ATG1的激酶活性, 使ATG1自身发生磷酸化作用, 然后与ATG17-ATG31-ATG29复合体结合, 共同组成PAS, 招募其它自噬蛋白产生自噬小体 (Mizushima, 2010; Suttangkakul et al., 2011) (图1)。最新的研究表明, ATG蛋白的泛素化修饰对自噬小体的形成十分重要。拟南芥TRAF蛋白TRAF1a和TRAF1b通过E3泛素连接酶SINAT1、SINAT2和SINAT6, 对ATG6进行泛素化修饰, 调节其稳定性, 促进自噬小体的形成 (Qi et al., 2017)。

ATG5在早期自噬体结构决定中发挥关键作用。ATG5主要定位在内质网外表面, 招募ATG8到已形成的吞噬泡。随着吞噬泡的扩展和延伸, 定位在自噬体膜边缘的ATG5形成一个环状结构。当吞噬泡的膜封闭起来时, ATG5离开新形成的自噬小体, 并且脱离内质网 (Le Bars et al., 2014)。此外, 在拟南芥中存在一种非ATG蛋白SH3P2, 该蛋白有助于调节自噬小体的形成。在自噬诱导之前, SH3P2被招募到吞噬

泡组装位点(PAS)并与PIP、PI3K复合体及ATG8结合, 促进自噬小体的形成 (Zhuang et al., 2013)。

细胞自噬和胞内转运机制之间存在着密切联系。尽管还具有其它转运功能, 但Exocyst复合体主要介导内质网产生的囊泡到质膜的定位和融合 (Heider and Munson, 2012)。EXO70B1是拟南芥中EXO70胞外复合体的一个亚基, 在拟南芥中能够调节自噬, 突变体*exo70B1*对N源的缺乏极度敏感, 与野生型相比, 突变体液泡中自噬小体的数目减少 (Kulich et al., 2013)。另外, 拟南芥中内含体复合体(ESCRT)对调节自噬小体的转运及降解是必需的, 这一复合体能够分选泛素化蛋白到内含体, 并且将它们投放到管腔内的囊泡, 分选的蛋白最终被运送至液泡中进行降解 (Katsiarimpa et al., 2013; Fan et al., 2015; Gao et al., 2015)。

ESCRT各种突变体的表型并不完全相同。RS-CRT第三亚基VPS2.1融合GFP标签超表达于野生型后, 植株表现出内吞作用及自噬体的降解受阻, 原因是自噬体到液泡的转运受阻而非自噬体的形成受到损伤, ATG8和NBR (Neighbor of BRCA1 Gene1)蛋白的积累证明了这一现象。另外, 单丹磺酰尸胺(MDC)染色结果显示, 与野生型相比, 35S::VPS2.1-GFP植株液泡中MDC标记的自噬体相关结构减少 (Katsiarimpa et al., 2013)。与之类似, 当植物缺失去泛素化酶AMH1时, 植株表现出相似的表型 (Katsiarimpa et al., 2011)。另一种ESCRT组分FREE1能够通过促进自噬体与液泡的融合而使自噬体降解。拟南芥突变体*free1*在中央液泡的形成方面发生缺陷, 但存在许多小液泡。此外, FREE1也能够直接与SH3P2相互作用 (Gao et al., 2015; Kolb et al., 2015)。ESCRT蛋白CHMP1能够通过装载叶绿体蛋白到吞噬泡进行降解从而参与调控细胞自噬, 拟南芥突变体*chmp1*能够产生自噬体并且转运至液泡中进行降解, 但这些自噬体中并不能装载叶绿体蛋白进行降解, 导致突变体中叶绿体蛋白的积累。*chmp1*中叶绿体不能正确分布, 导致其在形态学上存在缺陷 (Spitzer et al., 2015)。

叶绿体蛋白主要的降解途径包括2种, 第一种为细胞自噬, 第二种在衰老相关的液泡中进行。研究表明, 衰老和非生物胁迫能够诱导拟南芥中CV (chloroplast vesiculation)降解通路的激活。超表达CV导致叶绿体降解及叶的早衰; 当CV被沉默之后, 表现出叶绿体的转运受阻及非生物胁迫诱导的衰老发生延

滞, CV沉默的转基因株系表现出对干旱、高盐和过氧化物胁迫的耐受性增强。此外, CV能够与光系统II亚基-PsbO1在体内直接互作。总之, CV在非生物胁迫诱导的叶绿体破坏中起关键作用, 介导了第三条叶绿体降解通路。从生物技术的角度而言, 产生CV沉默的转基因作物是增强农作物对非生物胁迫抵抗能力的非常有效的方法(Wang and Blumwald, 2014)。研究表明, 拟南芥中细胞自噬对消除日光损伤及叶绿体破坏起关键作用, 叶绿体蛋白转运至液泡中进行降解的过程称为叶绿体自噬(chlorophagy), UV-B能够诱导叶绿体器官的损伤。在拟南芥*atg*突变体中这一转运过程缺失, 并且表现出对UV-B敏感的表型, 同时积累了更多损伤的叶绿体。在叶绿体自噬过程中, 一些基质蛋白能够通过RCB (Rubisco-containing body) 通路进行转运, 表明细胞自噬在消除光诱导下叶绿体的损伤中发挥关键作用(Izumi et al., 2017)。

甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)是糖代谢信号通路中一种十分关键的酶。近年来的研究表明, GAPDH是一种多功能蛋白, 参与许多亚细胞水平活动, 如RNA的修复以及膜的融合与转运(Plaxton, 1996; Tristhan et al., 2011)。代谢酶和细胞自噬之间存在着紧密联系, 拟南芥GAPDH敲除突变体中活性氧(ROS)水平上升且对病原菌的抗性增强, 表现出持续的自噬效应, 表明GADPH能够负调控细胞自噬(Henry et al., 2015)。烟草(*Nicotiana tabacum*)中的GADPH可以直接与ATG3相互作用并且负调其活性, 当NbGAPDH1和NbGADPH2被沉默后, 细胞自噬被诱导, 它们超表达则抑制细胞自噬。显而易见, ROS的产生阻断了GADPH与ATG3的结合, 从而使自噬增加(Han et al., 2015)。综上, 通过代谢组分来直接调节自噬可能是建立在TOR激酶信号通路上层的另外一种具有代表性的调节机制(Xiong and Sheen, 2014)。

## 2 植物细胞自噬的生理功能

### 2.1 细胞自噬在植物C、N营养循环中的作用

在营养物质缺乏的条件下, 植物自噬被诱导, 以重新回收利用体内的N源和C源来维持植物体持续的生物合成与能量代谢, 以及发育进程中的程序性死亡和衰老所诱导的营养物质的再活化(Doelling et al., 2002; Thompson et al., 2005; Thompson and Vierstra,

2005; Bassham, 2009; Reyes et al., 2011)。

在黑暗条件下细胞自噬被激活, 通过显微观察发现, 在拟南芥和烟草叶片中积累了大量的淀粉粒, 一些非常小的淀粉颗粒相似性结构(SSGLs)与自噬体共定位, 表明细胞自噬在功能上可能参与淀粉的降解(Wang et al., 2013)。拟南芥*atg*突变体与淀粉合成缺陷突变体构建的多突变体表现出严重的生长缺陷表型, 但持续的光照能部分恢复其表型, 表明细胞自噬在C源的利用中发挥一定的作用。代谢分析揭示, 在黑暗条件下, 细胞自噬主要负责自由氨基酸的供应, 自由氨基酸可能作为一种替代性的C源(Izumi et al., 2013b)。研究表明, 尽管*atg*突变体与野生型之间存在明显差异, 但它们当中的自由氨基酸并没有减少, 可能是由于糖源并没有完全耗尽。此外还观察到一些脂质降解物增加, 因此脂类物质也可能被用作一种替代性的C源(Izumi et al., 2013a)。生长在糖饥饿条件下黄化的*atg*幼苗, 其自由氨基酸减少, 进一步表明在C饥饿情况下, 细胞自噬能够通过降解蛋白质等生物大分子产生氨基酸, 以供植物体重新利用(Avin-Wittenberg et al., 2015)。

N饥饿条件下, *atg*突变体非常弱小并且表现出早衰表型(Doelling et al., 2002; Hanaoka et al., 2002; Guiboileau et al., 2013)。代谢组学分析显示, 与野生型相比, *atg*突变体积累了较多的自由氨基酸。该结果与C饥饿条件下黄化*atg*突变体中自由氨基酸减少相矛盾, 这可能与植物的生长阶段相关, 如在播种后生长60天的植株中能够观察到自由氨基酸的积累, 然而在播种后生长40天的植株中则观察到自由氨基酸的减少(Izumi et al., 2013b; Masclaux-Daubresse and Yoshimoto, 2014; Avin-Wittenberg et al., 2015)。自由氨基酸的积累源于对氧化胁迫的调节, 尤其是当植物受到环境胁迫时, 与幼年野生型植株相比, *atg*突变体中积累了更多的自由氨基酸(Shibata et al., 2013)。

### 2.2 细胞自噬在植物非生物胁迫中的作用

水涝会限制植物细胞内外之间的气体交换, 导致缺氧和过氧化物积累等危害(Bailey-Serres and Voesenek, 2008; Baileyserres et al., 2012; Voesenek and Sasidharan, 2013)。水淹环境能够诱导拟南芥ATG基因在转录水平显著上调并且诱导自噬小体的形成。与野生型相比, 自噬缺陷的拟南芥*atg*突变体对

水淹处理更加敏感;类似地, *atg* 突变体对乙醇的处理也更敏感,同时积累了更多的活性氧和水杨酸(salicylic acid, SA)。SA信号转导的突变体 *npr1* 和水杨酸合成的拟南芥突变体 *sid2* 能够完全或部分恢复 *atg* 突变体对水淹敏感的表型,表明在水淹环境下细胞自噬通过调节SA胞内平衡来保护植物;同时,水淹环境下细胞自噬在SA信号通路中发挥反馈抑制作用(Chen et al., 2015)。

高盐造成离子胁迫,干旱和寒冷等则对细胞造成氧化损伤以及活性氧和过氧化蛋白的积累(Tsugane et al., 1999; Zhu, 2001)。OsATG10b在调节水稻细胞抵抗氧化胁迫方面发挥重要作用。OsATG10主要在幼叶的叶肉细胞及微管组织中强烈表达,而在老叶中表达较少。*osatg10b* 对高盐和甲基紫精(MV)的处理极度敏感,单丹磺酰尸胺染色显示,突变体自噬小体的数目显著减少;此外, MV处理后突变体幼苗中积累了更多的过氧化蛋白(Slavikova et al., 2008; Shin et al., 2009)。高盐和渗透胁迫也能诱导细胞自噬的发生, ATG18a基因的表达上调,以及自噬缺陷的ATG-18a RNAi株系表现出对盐和干旱环境更加敏感,自噬小体的形成发生缺陷,并且对活性氧极度敏感。蛋白氧化结果显示,细胞自噬发生后,野生型中被氧化的蛋白转运至液泡中进行降解,但在RNAi-AtATG-18a株系中这种降解被阻断,与野生型相比积累了更多的氧化蛋白,表明细胞自噬能够将胁迫造成的氧化蛋白和损伤的胞内物质转运到液泡中降解,从而减轻有毒物质在细胞质中的积累(Xiong et al., 2007; Shin et al., 2009)。

### 2.3 细胞自噬在植物免疫反应中的作用

当植物受到病原菌侵染时,能够在侵染位点诱导超敏反应(hypersensitive response, HR),通过迅速杀死侵染位点周围的细胞将病原菌限制在入侵部位,从而减少细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)(Lam, 2004)。细胞自噬在植物免疫中的研究最早由刘玉乐等(2005)报道。通过NN烟草-烟草花叶病毒(TMV)侵染系统研究,发现烟草对TMV的抗病反应可激活自噬,并且这种细胞自噬依赖于ATG6/Beclin1;而在 *atg6/Beclin1* 植株中不能产生自噬小泡,HR-PCD也不能有效限制在TMV侵染位点,表明细胞自噬能够限制抗病反应中HR引起的细胞死亡(Liu et al.,

2005)。拟南芥ATG6沉默植株ATG6-AS以及 *atg2* 和 *atg5* 突变体中HR-PCD不受限制,导致细胞大量死亡(Patel and Dineshkumar, 2008)。对玉米自噬突变体接种活体营养寄生菌黑粉菌和死体营养寄生菌核盘菌,发现突变体对病原菌的抗性明显改变(Kabbage et al., 2013)。

自噬调控植物免疫的机制尚不清楚,尤其是细胞自噬如何负调控HR-PCD。研究表明,拟南芥 *atg* 突变体早衰及病原菌入侵迅速死亡的表型能够被SA合成的突变体 *sid2* 和SA信号转导的突变体 *npr1* 所恢复,表明过多的SA积累是导致早期细胞死亡的主要因素之一。SA不仅能够诱导自噬,而且其自身也可能作为自噬小体装载的靶标物质被运输到液泡进行降解(Feys et al., 2001; Hofius et al., 2009; Kulich and Žárský, 2014)。

细胞自噬在植物免疫中扮演起始者和执行者双重角色,位于R蛋白下游。R蛋白被激活后引起胞内SA水平升高,SA可通过诱导胞内ROS水平升高和NDR1信号传递介导细胞死亡,自噬能够负调控ROS和SA,限制细胞死亡,使得HR-PCD只限定在侵染点附近(Minina et al., 2014)。不同R蛋白所介导的细胞死亡对细胞自噬具有选择性。例如,在ATG7和ATG9被敲除的株系中,TIR-NB-LRR类R蛋白介导的EDS1依赖的细胞死亡被抑制,而CC-NB-LRR类R蛋白介导的NDR1依赖的细胞死亡是自噬非依赖性的,因此,ATG7和ATG9能够通过特定R蛋白的介导来调节细胞死亡(Hofius et al., 2009)。有研究表明,细胞自噬在调节细胞死亡的过程中具有正调控或负调控作用,这种调节依赖于植株叶片的年龄及光周期(Yoshimoto et al., 2009)。此外,细胞自噬所依赖的细胞死亡能够被ROS和过氧化氢酶调节(Hackenberg et al., 2013)。未来的研究中,在分子水平上解释植物-微生物互作中以及细胞自噬在PCD中的调节机制将是非常值得探索的领域(Wu et al., 2014)。

## 3 植物细胞自噬的研究方法

通过对拟南芥和酵母中相应的ATG蛋白进行同源比对,发现酵母中部分ATG蛋白的必需氨基酸残基在拟南芥中十分保守,表明自噬调控的关键机制在拟南芥和酵母中同等重要。类泛素蛋白ATG8是一种示踪植物细胞自噬的分子标记(Yoshimoto et al., 2004;



Contento et al., 2005; Thompson et al., 2005)。它是一种固有的膜蛋白,能够与脂化的PE结合,参与自噬体的形成过程,结合态的ATG8-PE主要定位在自噬体和一些中间物,最终它们被转移至液泡中降解(Kirisako et al., 1999)。

为了从细胞水平示踪植物自噬体系,通过构建GFP-ATG8载体转化拟南芥植株获得转基因株系。利用激光共聚焦显微镜进行观察,结果显示,营养物质丰富的条件下,在野生型(WT)根中能够观察到许多GFP标记的环状和点状结构,分别是自噬体及其中间物;而在 *atg5-1*、*atg7-1*、*atg4a-1/atg4b-1* 和 *atg13a-1/atg13b-2* 等表达GFP-ATG8的突变体中则观察不到这些结构。营养物质缺乏时,在野生型根中能够检测到GFP-ATG8蛋白到液泡的运转,而在 *atg4a-1/atg4b-1* 中则检测不到,只有游离GFP信号的释放,进一步表明ATG8非常适用于示踪植物自噬过程(Yoshimoto et al., 2004)。通过化学抑制剂处理可以观察到植物自噬小体。当用V-ATPase的抑制剂刀豆素(ConA)处理野生型拟南芥根,能够在液泡中观察到许多球形小体的聚集,而在 *atg4a-1/atg4b-1* 中则观察不到。电镜分析揭示这些球状结构是植物中的自噬小体。将ConA添加到植物细胞,能够增加液泡腔的pH值,较高的pH值条件下液泡水解酶将不能发挥作用,导致自噬小体在液泡聚集(Yoshimoto et al., 2010)。近年来,蛋白免疫印迹、胶体金标记技术、电镜观察以及双色荧光标记自噬体标记蛋白ATG8等技术已成为观察和示踪植物自噬过程的主要方法。半胱氨酸蛋白酶抑制剂E-64d也可以用于示踪植物细胞自噬过程。E-64d是一种可透膜的半胱氨酸蛋白酶抑制剂,用E-64d处理拟南芥的根,能够在野生型根细胞液泡腔观察到许多聚集体结构(不是球状结构),这些结构在 *atg* 突变体中则观察不到(Inoue et al., 2006; Yoshimoto et al., 2009)。与哺乳动物中的研究一致,植物(包括拟南芥、烟草和大麦(*Hordeum vulgare*))自噬体系也可以通过溶酶体红色荧光探针和MDC染色的方法进行示踪(Moriyasu et al., 2003; Liu et al., 2005; Patel and Dinesh-Kumar, 2008)。

## 4 总结与展望

细胞自噬除了在营养物质缺乏的条件下对调节植物

的生存十分重要外,在植物叶片衰老延缓、免疫反应以及对干旱、水涝、高盐和活性氧等多种逆境胁迫响应方面也具有非常重要的调节作用。随着研究技术的进步,尤其是自噬相关基因的鉴定,以及分子标记和超微形态结构观察等技术的应用,植物细胞自噬研究取得了许多重要进展。但该领域仍有很多亟待解决的问题。例如,自噬核心组分需要继续深入解析,自噬核心组分在不同物种及不同逆境胁迫下的自噬过程中发挥哪些不同的功能?哪些信号负责选择性地招募自噬组分到运输物并对运输物进行特异性降解?蛋白质修饰(如磷酸化)如何调节植物细胞自噬,细胞自噬与细胞凋亡之间的关系及其机理,植物细胞自噬响应各种逆境的机理及其在生产上的应用等。要解决这些问题,需要深入研究ATG基因的功能,进一步阐明植物细胞自噬核心组分及其作用机制。

## 参考文献

- Abreu S, Kriegenburg F, Gómez-Sánchez R, Mari M, Sanchez-Wandelmer J, Skytte Rasmussen M, Soares Guimarães R, Zens B, Schuschnig M, Hardenberg R, Peter M, Johansen T, Kraft C, Martens S, Reggiori F (2017). Conserved Atg8 recognition sites mediate Atg4 association with autophagosomal membranes and Atg8 deconjugation. *EMBO Rep* 18, 765–780.
- Avin-Wittenberg T, Bajdzienko K, Wittenberg G, Alseekh S, Tohge T, Bock R, Giavalisco P, Fernie AR (2015). Global analysis of the role of autophagy in cellular metabolism and energy homeostasis in Arabidopsis seedlings under carbon starvation. *Plant Cell* 27, 306–322.
- Bailey-Serres J, Fukao T, Gibbs DJ, Holdsworth MJ, Lee SC, Licausi F, Perata P, Voeselek LACJ, van Dongen JT (2012). Making sense of low oxygen sensing. *Trends Plant Sci* 17, 129–138.
- Bailey-Serres J, Voeselek LACJ (2008). Flooding stress: acclimations and genetic diversity. *Annu Rev Plant Biol* 59, 313–339.
- Bassham DC (2009). Function and regulation of macroautophagy in plants. *Biochim Biophys Acta* 1793, 1397–1403.
- Behrends C, Sowa ME, Gygi SP, Harper JW (2010). Network organization of the human autophagy system. *Nature* 466, 68–76.
- Chen L, Liao B, Qi H, Xie LJ, Huang L, Tan WJ, Zhai N, Yuan LB, Zhou Y, Yu LJ, Chen QF, Shu WS, Xiao S



- (2015). Autophagy contributes to regulation of the hypoxia response during submergence in *Arabidopsis thaliana*. *Autophagy* **11**, 2233–2246.
- Chung T, Phillips AR, Vierstra RD** (2010). ATG8 lipidation and ATG8-mediated autophagy in *Arabidopsis* require ATG12 expressed from the differentially controlled *ATG-12A* AND *ATG12B* loci. *Plant J* **62**, 483–493.
- Contento AL, Xiong Y, Bassham DC** (2005). Visualization of autophagy in *Arabidopsis* using the fluorescent dye monodansylcadaverine and a GFP-AtATG8e fusion protein. *Plant J* **42**, 598–608.
- Deter RL, Duve DC** (1967). Influence of glucagon, an inducer of cellular autophagy, on some physical properties of rat liver lysosomes. *J Cell Biol* **33**, 437–449.
- Doelling JH, Walker JM, Friedman EM, Thompson AR, Vierstra RD** (2002). The APG8/12-activating enzyme APG7 is required for proper nutrient recycling and senescence in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* **277**, 33105–33114.
- Duve CD, Pressman BC, Gianetto R, Wattiaux R, Appelmanns F** (1955). Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J* **60**, 604–617.
- Fan LS, Li RL, Pan JW, Ding ZJ, Lin JX** (2015). Endocytosis and its regulation in plants. *Plant Sci* **20**, 388–397.
- Feys BJ, Moisan LJ, Newman MA, Parker JE** (2001). Direct interaction between the *Arabidopsis* disease resistance signaling proteins, EDS1 and PAD4. *EMBO J* **20**, 5400–5411.
- Gao CJ, Zhuang XH, Cui Y, Fu X, He YL, Zhao Q, Zeng YL, Shen JB, Luo M, Jiang LW** (2015). Dual roles of an *Arabidopsis* ESCRT component FREE1 in regulating vacuolar protein transport and autophagic degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, 1886–1891.
- Guiboileau A, Avila-Ospina L, Yoshimoto K, Soulay F, Azzopardi M, Marmagne A, Lothier J, Masclaux-Daubresse C** (2013). Physiological and metabolic consequences of autophagy deficiency for the management of nitrogen and protein resources in *Arabidopsis* leaves depending on nitrate availability. *New Phytol* **199**, 683–694.
- Hackenberg T, Juul T, Auzina A, Gwiżdż S, Małolepszy A, Van Der Kelen K, Dam S, Bressendorff S, Lorentzen A, Roepstorff P, Nielsen KL, Jørgensen JE, Hofius D, Van Breusegem F, Petersen M, Andersen SU** (2013). Catalase and *NO CATALASE ACTIVITY1* promote autophagy-dependent cell death in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **25**, 4616–4626.
- Han SJ, Wang Y, Zheng XY, Jia Q, Zhao JP, Bai F, Hong YG, Liu YL** (2015). Cytoplasmic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases interact with ATG3 to negatively regulate autophagy and immunity in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell* **27**, 1316–1331.
- Hanaoka H, Noda T, Shirano Y, Kato T, Hayashi H, Shibata D, Tabata S, Ohsumi Y** (2002). Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an *Arabidopsis* autophagy gene. *Plant Physiol* **129**, 1181–1191.
- He CC, Klionsky DJ** (2009). Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet* **43**, 67–93.
- Heider MR, Munson M** (2012). Exorcising the exocyst complex. *Traffic* **13**, 898–907.
- Henry E, Fung N, Liu J, Drakakaki G, Coaker G** (2015). Beyond glycolysis: GAPDHs are multi-functional enzymes involved in regulation of ROS, autophagy, and plant immune responses. *PLoS Genet* **11**, e1005199.
- Hof A, Zechmann B, Schwammbach D, Hückelhoven R, Doeblemann G** (2014). Alternative cell death mechanisms determine epidermal resistance in incompatible barley-*Ustilago* interactions. *Molecular plant-microbe interactions*. *Mol Plant Microbe Interact* **27**, 403–414.
- Hofius D, Schultz-Larsen T, Joensen J, Tsitsigiannis DI, Petersen NHT, Mattsson O, Jørgensen LB, Jones JDG, Mundy J, Petersen M** (2009). Autophagic components contribute to hypersensitive cell death in *Arabidopsis*. *Cell* **137**, 773–783.
- Hosokawa N, Hara T, Kaizuka T, Kishi C, Takamura A, Miura Y, Iemura SI, Natsume T, Takehana K, Yamada N, Guan JL, Oshiro N, Mizushima N** (2009). Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol Biol Cell* **20**, 1981–1991.
- Inoue Y, Suzuki T, Hattori M, Yoshimoto K, Ohsumi Y, Moriyasu Y** (2006). *AtATG* genes, homologs of yeast autophagy genes, are involved in constitutive autophagy in *Arabidopsis* root tip cells. *Plant Cell Physiol* **47**, 1641–1652.
- Izumi M, Hidema J, Ishida H** (2013a). Deficiency of autophagy leads to significant changes of metabolic profiles in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav* **8**, e25023.
- Izumi M, Hidema J, Makino A, Ishida H** (2013b). Autophagy contributes to nighttime energy availability for growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **161**, 1682–1693.

- Izumi M, Ishida H, Nakamura S, Hidema J (2017). Entire photodamaged chloroplasts are transported to the central vacuole by autophagy. *Plant Cell* **29**, 377–394.
- Johansen T, Lamark T (2011). Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy* **7**, 279–296.
- Kabbage M, Williams B, Dickman MB (2013). Cell death control: the interplay of apoptosis and autophagy in the pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum*. *PLoS Pathog* **9**, e1003287.
- Katsiarimpa A, Anzenberger F, Schlager N, Neubert S, Hauser MT, Schwechheimer C, Isono E (2011). The Arabidopsis deubiquitinating enzyme AMSH3 interacts with ESCRT-III subunits and regulates their localization. *Plant Cell* **23**, 3026–3040.
- Katsiarimpa A, Kalinowska K, Anzenberger F, Weis C, Ostertag M, Tsutsumi C, Schwechheimer C, Brunner F, Hückelhoven R, Isono E (2013). The deubiquitinating enzyme AMSH1 and the ESCRT-III subunit VPS2.1 are required for autophagic degradation in Arabidopsis. *Plant Cell* **25**, 2236–2252.
- Kirisako T, Baba M, Ishihara BN, Miyazawa AK, Ohsumi CM, Yoshimori T, Noda T, Ohsumi Y (1999). Formation process of autophagosome is traced with Apg8/Aut7p in yeast. *J Cell Biol* **147**, 435–446.
- Klionsky DJ, Cregg JM, Dunn WA Jr, Emr SD, Sakai Y, Sandoval IV, Sibirny A, Subramani S, Thumm M, Veenhuis M, Ohsumi Y (2003). A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev Cell* **5**, 539–545.
- Kolb C, Nagel MK, Kalinowska K, Hagmann J, Ichikawa M, Anzenberger F, Alkofer A, Sato MH, Braun P, Isono E (2015). FYVE1 is essential for vacuole biogenesis and intracellular trafficking in Arabidopsis. *Plant Physiol* **167**, 1361–1373.
- Kulich I, Pečenková T, Sekereš J, Smetana O, Fendrych M, Foissner I, Höftberger M, Žárský V (2013). Arabidopsis exocyst subcomplex containing subunit EXO70B1 is involved in autophagy-related transport to the vacuole. *Traffic* **14**, 1155–1165.
- Kulich I, Žárský V (2014). Autophagy-related direct membrane import from ER/cytoplasm into the vacuole or apoplast: a hidden gateway also for secondary metabolites and phytohormones? *Int J Mol Sci* **15**, 7462–7474.
- Lam E (2004). Controlled cell death, plant survival and development. *Nat Rev Mol Cell Biol* **5**, 305–315.
- Le Bars R, Marion J, Le Borgne R, Satiat-Jeunemaitre B, Bianchi MW (2014). ATG5 defines a phagophore domain connected to the endoplasmic reticulum during autophagosome formation in plants. *Nat Commun* **5**, 4121.
- Li FQ, Chung T, Pennington JG, Federico ML, Kaeppler HF, Kaeppler SM, Otegui MS, Vierstra RD (2015). Autophagic recycling plays a central role in maize nitrogen remobilization. *Plant Cell* **27**, 1389–1408.
- Li FQ, Chung T, Vierstra RD (2014). AUTOPHAGY-RELATED11 plays a critical role in general autophagy- and senescence-induced mitophagy in Arabidopsis. *Plant Cell* **26**, 788–807.
- Liu X, Mao K, Yu AYH, Omaili-Nasser A, Austin II J, Glick BS, Yip CK, Klionsky DJ (2016). The Atg17-Atg31-Atg29 complex coordinates with Atg11 to recruit the Vam7 SNARE and mediate autophagosome-vacuole fusion. *Curr Biol* **26**, 150–160.
- Liu YL, Schiff M, Czymmek K, Tallóczy Z, Levine B, Dinesh-Kumar SP (2005). Autophagy regulates programmed cell death during the plant innate immune response. *Cell* **121**, 567–577.
- Liu YM, Xiong Y, Bassham DC (2009). Autophagy is required for tolerance of drought and salt stress in plants. *Autophagy* **5**, 954–963.
- Masclaux-Daubresse C, Clément G, Anne P, Routaboul JM, Guiboileau A, Soulay F, Shirasu K, Yoshimoto K (2014). Stitching together the multiple dimensions of autophagy using metabolomics and transcriptomics reveals impacts on metabolism, development, and plant responses to the environment in Arabidopsis. *Plant Cell* **26**, 1857–1877.
- Minina EA, Bozhkov PV, Hofius D (2014). Autophagy as initiator or executioner of cell death. *Trends Plant Sci* **19**, 692–697.
- Mizushima N (2010). The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Curr Opin Cell Biol* **22**, 132–139.
- Moriyasu Y, Hattori M, Jauh GY, Rogers JC (2003). Alpha tonoplast intrinsic protein is specifically associated with vacuole membrane involved in an autophagic process. *Plant Cell Physiol* **44**, 795–802.
- Patel S, Dinesh-Kumar SP (2008). Arabidopsis ATG6 is required to limit the pathogen-associated cell death response. *Autophagy* **4**, 20–27.
- Phillips AR, Suttangkakul A, Vierstra RD (2008). The ATG12-conjugating enzyme ATG10 is essential for autophagic vesicle formation in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* **178**, 1339–1353.
- Plaxton WC (1996). The organization and regulation of plant glycolysis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **47**, 185–

214.

- Qi H, Xia FN, Xie LJ, Yu LJ, Chen QF, Zhuang XH, Wang Q, Li FQ, Jiang LW, Xie Q (2017). TRAF family proteins regulate autophagy dynamics by modulating AUTOPHAGY PROTEIN6 stability in Arabidopsis. *Plant Cell* **29**, 890–911.
- Reggiori F, Klionsky DJ (2013). Autophagic processes in yeast: mechanism, machinery and regulation. *Genetics* **194**, 341–361.
- Reyes FC, Chung T, Holding D, Jung R, Vierstra R, Otegui MS (2011). Delivery of prolamins to the protein storage vacuole in maize aleurone cells. *Plant Cell* **23**, 769–784.
- Shibata M, Oikawa K, Yoshimoto K, Kondo M, Mano S, Yamada K, Hayashi M, Sakamoto W, Ohsumi Y, Nishimura M (2013). Highly oxidized peroxisomes are selectively degraded via autophagy in Arabidopsis. *Plant Cell* **25**, 4967–4983.
- Shin JH, Yoshimoto K, Ohsumi Y, Jeon JS, An G (2009). OsATG10b, an autophagosome component, is needed for cell survival against oxidative stresses in rice. *Mol Cells* **27**, 67–74.
- Slavikova S, Ufaz S, Avin-Wittenberg T, Levanony H, Galili G (2008). An autophagy-associated Atg8 protein is involved in the responses of Arabidopsis seedlings to hormonal controls and abiotic stresses. *J Exp Bot* **59**, 4029–4043.
- Spitzer C, Li FQ, Buono R, Roschttardt H, Chung T, Zhang M, Osteryoung KW, Vierstra RD, Otegui MS (2015). The endosomal protein CHARGED MULTIVESICULAR BODY PROTEIN1 regulates the autophagic turnover of plastids in Arabidopsis. *Plant Cell* **27**, 391–402.
- Su W, Ma HJ, Liu C, Wu J, Yang J (2006). Identification and characterization of two rice autophagy associated genes, OsAtg8 and OsAtg4. *Mol Biol Rep* **33**, 273–278.
- Suttangkakul A, Li FQ, Chung T, Vierstra RD (2011). The ATG1/ATG13 protein kinase complex is both a regulator and a target of autophagic recycling in Arabidopsis. *Plant Cell* **23**, 3761–3779.
- Suzuki K, Kubota Y, Sekito T, Ohsumi Y (2007). Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal structure organization. *Genes Cells* **12**, 209–218.
- Suzuki K, Ohsumi Y (2010). Current knowledge of the pre-autophagosomal structure (PAS). *FEBS Lett* **584**, 1280–1286.
- Suzuki NN, Yoshimoto K, Fujioka Y, Ohsumi Y, Inagaki F (2005). The crystal structure of plant ATG12 and its biological implication in autophagy. *Autophagy* **1**, 119–126.
- Thompson AR, Doelling JH, Suttangkakul A, Vierstra RD (2005). Autophagic nutrient recycling in Arabidopsis directed by the ATG8 and ATG12 conjugation pathways. *Plant Physiol* **138**, 2097–2110.
- Thompson AR, Vierstra RD (2005). Autophagic recycling: lessons from yeast help define the process in plants. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 165–173.
- Thumm M, Egner R, Koch B, Schlumpberger M, Straub M, Veenhuis M, Wolf DH (1994). Isolation of autophagocytosis mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* **349**, 275–280.
- Tristan C, Shahani N, Sedlak TW, Sawa A (2011). The diverse functions of GAPDH: views from different sub-cellular compartments. *Cell Signal* **23**, 317–323.
- Tsugane K, Kobayashi K, Niwa Y, Ohba Y, Wada K, Kobayashi H (1999). A recessive Arabidopsis mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *Plant Cell* **11**, 1195–1206.
- Tsukada M, Ohsumi Y (1993). Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* **333**, 169–174.
- Voesenek LACJ, Sasidharan R (2013). Ethylene- and oxygen signaling-drive plant survival during flooding. *Plant Biol* **15**, 426–435.
- Wang P, Sun X, Jia X, Ma FW (2017). Apple autophagy-related protein MdATG3s afford tolerance to multiple abiotic stresses. *Plant Sci* **256**, 53–64.
- Wang P, Sun X, Jia X, Wang N, Gong XQ, Ma FW (2016). Characterization of an autophagy-related gene MdATG8i from apple. *Front Plant Sci* **7**, 720.
- Wang SH, Blumwald E (2014). Stress-induced chloroplast degradation in Arabidopsis is regulated via a process independent of autophagy and senescence-associated vacuoles. *Plant Cell* **26**, 4875–4888.
- Wang Y, Yu BJ, Zhao JP, Guo JB, Li Y, Han SJ, Huang L, Du YM, Hong YG, Tang DZ, Liu YL (2013). Autophagy contributes to leaf starch degradation. *Plant Cell* **25**, 1383–1399.
- Wong PM, Puente C, Ganley IG, Jiang XJ (2013). The ULK1 complex: sensing nutrient signals for autophagy activation. *Autophagy* **9**, 124–137.
- Wu L, Chen H, Curtis C, Fu ZQ (2014). Go in for the kill: how plants deploy effector-triggered immunity to combat pathogens. *Virulence* **5**, 710–721.
- Xie ZP, Klionsky DJ (2007). Autophagosome formation: core machinery and adaptations. *Nat Cell Biol* **9**, 1102–1109.
- Xiong Y, Contento AL, Bassham DC (2005). AtATG18a is

- required for the formation of autophagosomes during nutrient stress and senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **42**, 535–546.
- Xiong Y, Contento AL, Nguyen PQ, Bassham DC** (2007). Degradation of oxidized proteins by autophagy during oxidative stress in Arabidopsis. *Plant Physiol* **143**, 291–299.
- Xiong Y, McCormack M, Li L, Hall Q, Xiang CB, Sheen J** (2013). Glucose-TOR signaling reprograms the transcriptome and activates meristems. *Nature* **496**, 181–186.
- Xiong Y, Sheen J** (2014). The role of target of rapamycin signaling networks in plant growth and metabolism. *Plant Physiol* **164**, 499–512.
- Yoshimoto K, Hanaoka H, Sato S, Kato T, Tabata S, Noda T, Ohsumi Y** (2004). Processing of ATG8s, ubiquitin-like proteins, and their deconjugation by ATG4s are essential for plant autophagy. *Plant Cell* **16**, 2967–2983.
- Yoshimoto K, Jikumar Y, Kamiya Y, Kusano M, Consonni C, Panstruga R, Ohsumi Y, Shirasu K** (2009). Autophagy negatively regulates cell death by controlling NPR1-dependent salicylic acid signaling during senescence and the innate immune response in Arabidopsis. *Plant Cell* **21**, 2914–2927.
- Yoshimoto K, Takano Y, Sakai Y** (2010). Autophagy in plants and phytopathogens. *FEBS Lett* **584**, 1350–1358.
- Zhu JK** (2001). Cell signaling under salt, water and cold stresses. *Curr Opin Plant Biol* **4**, 401–406.
- Zhuang XH, Chung KP, Cui Y, Lin WL, Gao CJ, Kang BH, Jiang LW** (2017). ATG9 regulates autophagosome progression from the endoplasmic reticulum in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**, E426–E435.
- Zhuang XH, Wang H, Lam SK, Gao CJ, Wang XF, Cai Y, Jiang LW** (2013). A BAR-domain protein SH3P2, which binds to phosphatidylinositol 3-phosphate and ATG8, regulates autophagosome formation in Arabidopsis. *Plant Cell* **25**, 4596–4615.

## Research Progress in Plant Autophagy

Yang Liu, Jing Zhang, Qiuling Wang, Suiwen Hou\*

Key Laboratory of Cell Activities and Stress Adaptations, Ministry of Education, School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

**Abstract** Autophagy is a protein degradation pathway in which target cellular materials are delivered to the lysosome and degraded by specific hydrolytic enzymes in animals; this process is carried out within vacuoles in plants and yeast. Recently, several autophagy-related (ATG) genes have been successfully identified in Arabidopsis. Those genes are essential for autophagosome formation and the regulation of autophagy. Here we summarize the regulation of plant autophagy and its function in the plant adversity response.

**Key words** plant autophagy, ATG gene, autophagy regulation mechanism, stress response

**Liu Y, Zhang J, Wang QL, Hou SW** (2018). Research progress in plant autophagy. *Chin Bull Bot* **53**, 5–16.

\* Author for correspondence. E-mail: housw@lzu.edu.cn

(责任编辑: 朱亚娜)