

· 专题论坛 ·

活性氧调控植物细胞自噬的研究进展

马丹颖, 季东超, 徐勇, 陈彤*, 田世平

中国科学院植物研究所, 中国科学院北方资源植物重点实验室, 北京 100093

摘要 真核生物通过双层膜结构包裹细胞内受损的蛋白、细胞器或外源物质, 经溶酶体(或液泡)将内含物降解并进行循环利用, 这种高度保守的生物学过程称为自噬。活性氧是细胞有氧代谢的副产物, 作为一种信号分子广泛参与不同生物学过程的调控。研究表明, 真核生物中自噬与活性氧之间存在密切联系。该文结合近年的研究进展, 对植物细胞中活性氧的种类及作用和自噬的分子机制等进行概述, 旨在探讨活性氧对自噬的调控作用。

关键词 自噬, 活性氧, 调控

马丹颖, 季东超, 徐勇, 陈彤, 田世平 (2019). 活性氧调控植物细胞自噬的研究进展. 植物学报 54, 81–92.

自噬是真核生物中普遍存在的高度保守的胞内物质降解过程, 是生物体清除异常蛋白或受损细胞器, 以维持蛋白质代谢平衡及细胞内环境稳定的有效机制(王燕和刘玉乐, 2010; 杨小龙等, 2017)。营养缺陷能够诱导酵母细胞中自噬的发生, 以实现物质循环利用。研究表明, 自噬参与植物细胞中营养物质循环、生长发育、生物及非生物胁迫响应等过程(黄晓和李发强, 2016; Qi et al., 2017)。活性氧(reactive oxygen species, ROS)是生物进行有氧代谢的毒性副产物。正常条件下, ROS的产生与清除处于动态平衡, 而当植物衰老或受到胁迫时, ROS会在植物体内积累, 形成氧化胁迫。研究表明, ROS参与自噬的调控, 两者之间关系密切。本文结合最新的研究进展, 简要概括了植物中ROS产生和细胞自噬的机制, 阐述了ROS对自噬的调控及两者间复杂的相互作用。

1 活性氧的种类和作用

1.1 活性氧的种类及其性质

ROS是生物有氧代谢过程中产生的一类化学性质活泼且具有较高氧化活性的分子或离子的总称(Rahal et al., 2014), 主要包括超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟基自由基($\cdot OH$)、过氧化氢(H_2O_2)和单线态氧(1O_2)等(Dewaele et al., 2010)。其中, H_2O_2 具有中度反应活性, 其半衰

期相对较长, 是最稳定的ROS分子(景红娟等, 2012)。 H_2O_2 不带净电荷, 因此容易透过生物膜, 在细胞中进行远距离传输, 引发远距离氧化损伤(Bienert and Chaumont, 2014)。

1.2 活性氧的产生和清除机制

正常或胁迫条件下, 植物细胞中质膜、叶绿体、线粒体、过氧化物酶体、内质网以及质外体等许多部位都能产生ROS (Finkel, 2011)。研究表明, 光照条件下, 绿色植物中ROS产生的主要部位是叶绿体和过氧化物酶体, 而在非绿色植物中或黑暗条件下, 线粒体和NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOX)是ROS的主要来源(Møller, 2001; Foyer and Noctor, 2003)。除此之外, 定位于不同细胞区室的代谢途径(如脂肪酸 β -氧化)也会产生ROS (Buchanan and Balmer, 2005)。

经过长期进化, 植物已形成了酶促和非酶促两类有效的ROS清除机制(Ahmad et al., 2010)。酶促脱毒系统主要包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)以及抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)等(Blagosklonny, 2008)。非酶促保护机制则主要包括一些直接参与ROS清除的抗氧化物, 如抗坏血酸、类胡萝卜素以及类黄酮(Apel and Hirt, 2004)。此外, 维生素等小分子物质也参与氧自由基的清除(Schafer et al.,

收稿日期: 2018-01-12; 接受日期: 2018-03-13

基金项目: 国家科技支撑计划(No.2015BAD16B01-3)和国家自然科学基金(No.31530057, No.31672210, No.31670183)

* 通讯作者。E-mail: chentong@ibcas.ac.cn

2002)。

1.3 活性氧在植物细胞中的作用

传统观念认为, ROS是一类只会造成细胞损伤的毒性物质。但近年的研究表明, ROS作为一种信号分子还参与细胞增殖、分化及凋亡等多个生理过程, 在植物生长发育、胁迫适应和细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)过程中具有重要调节作用(Gechev et al., 2006)。高浓度ROS对有机体极其有害, 当ROS水平超出防御机制范围, 细胞处于氧化胁迫状态, 引发脂质过氧化、蛋白质氧化、核酸损伤和酶失活, 并激活信号通路, 最终导致PCD (van Dongen and Licausi, 2015)。但低浓度ROS能在植物细胞信号转导途径中作为第二信使, 介导植物对激素或环境胁迫的多种应答反应(Scheler et al., 2013)。例如, 高等植物和藻类中, $^1\text{O}_2$ 和 $\cdot\text{OH}$ 在光合作用过程中产生并引起氧化损伤; 同时, $^1\text{O}_2$ 还可通过调节特定基因的表达引发不同的信号级联反应, 从而对特定的氧化胁迫环境产生生理适应(Ledford et al., 2007)。

2 植物细胞自噬

2.1 自噬的发现与分类

Ashford和Porter (1962)用电子显微镜在小鼠肝细胞中首次观察到细胞自食(self-eating)现象, 自噬(auto-phagy)这一概念则是由溶酶体的发现者De Duve在1963年提出(蔡霞等, 2016; 刘洋等, 2018)。随后, Ohsumi发现酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中存在自噬现象, 并通过遗传分析方法鉴定了自噬相关基因(auto-phagy-related gene, ATG), 阐明了其分子机制, 且因此荣获2016年诺贝尔生理学或医学奖(Levine and Klionsky, 2017)。目前, 研究者对自噬过程采取了不同的分类方式, 其中最经典的分类方法是基于作用机理的不同, 将自噬分为巨自噬(macro autophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy) (Reumann et al., 2010; Mizushima et al., 2011)。巨自噬是最为常见和研究最多的自噬类型, 其主要特征是双层膜结构的自噬小泡(auto-phagosome)的形成(Hofius et al., 2011); 在真核生物中, 自噬小泡包裹细胞内受损的蛋白、细胞器或外源成分, 其外膜与溶酶体

或液泡融合, 释放内膜包裹的自噬小体(auto-phagic body)。随后内含物降解, 产物得以循环利用(Liu and Bassham, 2012; 任晨霞和龚清秋, 2014)。下文以巨自噬(简称自噬)为主, 对自噬的分子机制进行介绍。

2.2 植物细胞自噬的分子机制

2.2.1 参与自噬过程的关键组分和过程

自噬过程的关键基因ATGs最早在酿酒酵母中被发现(Hofius et al., 2017)。随后, 在低等真核生物、植物和动物细胞中均发现了ATGs的同源基因(Díaz-Troya et al., 2011)。迄今, 酵母细胞中已有32个ATGs被鉴定(Okamoto et al., 2009); 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)和烟草(*Nicotiana benthamiana*)中也分别鉴定了34、33和30个同源基因(Xia et al., 2011; Zhou et al., 2015)。ATGs的多拷贝现象在植物细胞中广泛存在, 然而具体原因尚不清楚。目前, 研究者对此主要有2种猜测, 一是ATGs存在功能冗余; 二是植物在恶劣的环境条件下采用的生存进化策略, 这些基因的功能随着时间的推移有所差别(Yoshimoto et al., 2010; Han et al., 2011)。

2.2.2 自噬发生过程

自噬的发生过程可划分为5个阶段, 即自噬诱导、自噬小泡成核、自噬小泡的扩展和闭合、自噬小泡与液泡融合、胞内成分降解及循环利用(Thompson and Vierstra, 2005)。以下我们以植物和酵母为主, 对各个步骤中所涉及的自噬组分和分子机制进行介绍。

自噬诱导: ATG1与ATG13互作在细胞自噬诱导中起关键作用。拟南芥*atg13a/atg13b*双突变体中不能形成自噬小泡, 说明ATG13是植物细胞自噬的必需组分(Suttangkakul et al., 2011)。ATG1激酶是自噬过程中重要的调节蛋白, 为自噬小泡前体结构形成和自噬起始所必需(Mizushima, 2010)。在植物以及酵母中, ATG1的功能主要通过雷帕霉素靶标(target of rapamycin, TOR)的磷酸化调控(Kamada et al., 2000)。当营养元素缺乏时, TOR通过形成TOR复合物作用于ATG1/ATG13复合体, 从而诱导自噬(He and Klionsky, 2009)。有研究表明, ATG9复合体也参与自噬的诱导过程(Yoshimoto et al., 2004)。

自噬小泡成核: 酵母细胞中自噬小泡的成核反应与PI3K复合体密切相关。PI3K复合体包括ATG6/

VPS30、ATG14、UVRAG、VPS15和VPS34 (Kihara et al., 2001), 其中只有ATG14尚未在植物细胞中找到同源物。VPS15和VPS34是具有催化功能的关键蛋白, ATG6则是酵母细胞自噬发生水平的关键控制因子, 为成核阶段所必需。

自噬小泡的扩展与闭合: ATG8酯化系统和ATG12蛋白连接系统的最终产物ATG8-PE及ATG12-ATG5-ATG16对自噬小泡膜的扩展与囊泡内物质降解具有重要作用。该步骤可分为2个阶段。第1阶段为ATG12与ATG5共价结合(Üstün et al., 2017)。ATG12被具有E1酶活性的ATG7活化, 首先转移到ATG10上, 然后转移到靶蛋白ATG5, 形成复合物ATG12-ATG5。研究表明, ATG12-ATG5复合物作为一种E3酶参与ATG8的酯化作用(Chung et al., 2010)。第2阶段是ATG8-PE的共价结合反应。半胱氨酸蛋白酶ATG4切割新合成的ATG8的C末端, 使其暴露出甘氨酸残基; 之后, ATG7识别含有甘氨酸残基的ATG8, 并通过硫酯键与其结合; 活化的ATG8通过硫酯键转移到具有E2酶活性的ATG3上; 最后, ATG8通过其C末端的甘氨酸与磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)之间形成酰胺键, 进而完成ATG8-PE的共价连接(Hayward and Dinesh-Kumar, 2011)。连接后的ATG8-PE定位在吞噬泡(phagophore)的内外膜上, 伴随细胞自噬发生的全过程(Minina et al., 2018)。

自噬小泡与液泡融合: 自噬小泡形成后会靶向液泡进行融合。酵母细胞中的融合过程涉及SNARE蛋白、Rab GTP酶Ypt7和C类Vps/HOPS复合物等多种因子。Vps复合物和Ypt7参与融合位点复合物的招募和结合(Wang and Klionsky, 2003)。SNARE蛋白形成的复合物是2个细胞器之间的桥梁(Ungermann and Langosch, 2005)。

降解及循环利用: 融合后, 自噬小体释放到液泡腔中进行降解。该过程依赖于液泡的酸化作用及液泡驻留水解酶的活性。自噬的主要作用是降解胞质成分, 并回收利用所产生的大分子来合成必需的组分, 以应对多种胁迫环境。

3 植物细胞中活性氧与自噬相关的实验证据

综上所述, 植物细胞中线粒体和叶绿体等多种细胞器

均能产生ROS, 且胞内ROS的水平受到氧化、营养和内质网胁迫以及病原菌侵染等信号的调节。自噬作为一种大规模的胞质降解路径, 不仅能降解单个长寿蛋白和蛋白质复合体, 还能降解细胞器, 在细胞响应和适应不同胁迫环境中具关键作用。大量的研究表明, 不同来源的ROS对植物细胞自噬均具调控作用(图1)。

外源H₂O₂处理会对拟南芥造成严重的氧化应激, 从而诱导自噬进程(Xiong et al., 2007a)。氧化胁迫条件下, 蛋白质会发生不同类型的不可逆的氧化修饰, 包括羰基化和亚磺酸化等。这些损伤的蛋白需要被迅速有效地降解, 而自噬缺陷突变体对H₂O₂高度敏感, 并积累羰基化蛋白, 表明自噬降解过程为细胞适应氧化应激所必需。此外, 在拟南芥*atg2*以及*atg5*突变体中, 可以观察到H₂O₂的大量积累(Yoshimoto et al., 2009), 与H₂O₂处理结果类似。在ROS诱导剂甲基紫精(methylviologen, MV)作用下, 拟南芥野生型植株中氧化蛋白含量升高并大量积累, 且自噬活性被激活, 自噬小体数量显著增加。MV处理水稻突变体*atg10b*或拟南芥*ATG18a*下调表达的植株后, 突变体细胞内聚集的氧化蛋白显著多于野生型植株, 且对氧化胁迫更加敏感(Xiong et al., 2007b; Shin et al., 2009)。但是, MV诱导ROS产生的分子机制与外源H₂O₂处理不同, 它截获来自叶绿体光系统I (PSI)或植物线粒体呼吸电子传递链中的电子, 与O₂反应产生O₂⁻并快速转化为H₂O₂。因此, MV处理可使植物叶绿体和/或线粒体中产生ROS, 并可能通过在不同细胞器中引起的氧化损伤来诱发自噬。

植物NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOX)也称作呼吸爆发氧化酶同源物(respiratory burst oxidase homologue, Rboh), 位于细胞质膜上, 以NADPH为电子供体, 从质膜胞质侧的NADPH接受电子并传递给O₂, 经单电子还原在质膜的质外侧形成O₂⁻, O₂⁻经细胞壁结合的SOD催化或自然歧化形成H₂O₂, H₂O₂再经Fenton反应或Haber-Weiss反应形成·OH(Asada, 2006; 林植芳和刘楠, 2012)。NOX通过整合ROS与其它信号通路, 在氧化还原网络中发挥核心作用(Suzuki et al., 2011), 参与不同的生物学过程中对植物细胞自噬的调控。

NOX生成的ROS在根毛生长过程中具关键作用(Swanson and Gilroy, 2010)。ATGs的缺失突变导致植株根毛变短和花粉管发育受阻等表型(Kwon et al.,

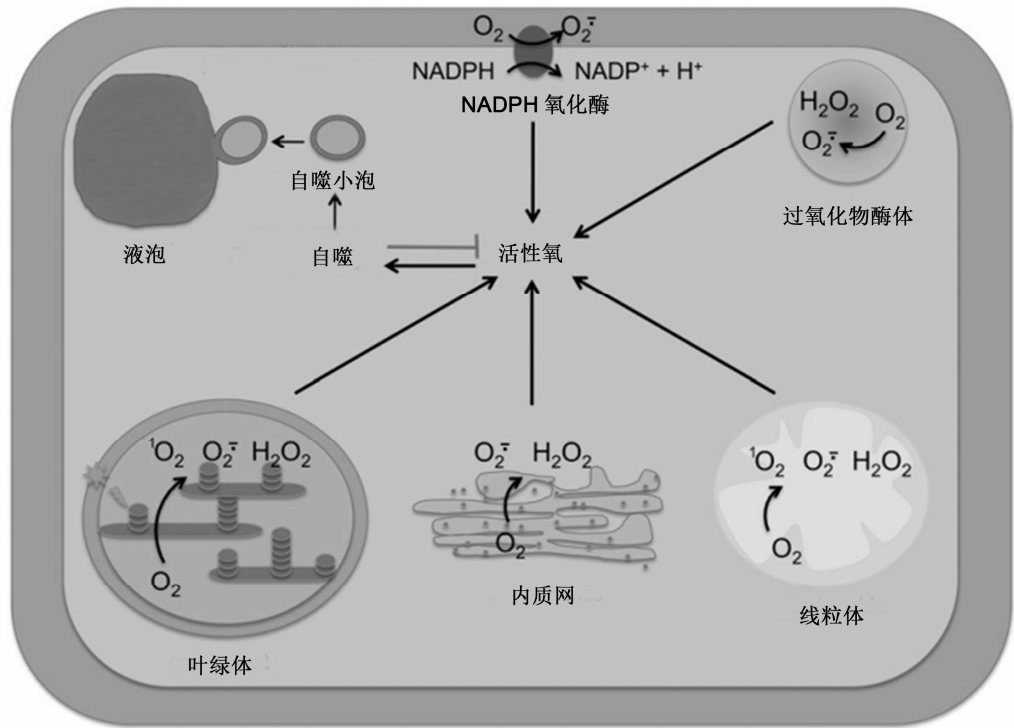


图1 植物细胞中不同来源的活性氧调控自噬(改自Pérez-Pérez et al., 2012b)

定位于质膜的NADPH氧化酶, 以及叶绿体、线粒体、过氧化物酶体和内质网等细胞器均能产生活性氧。过量的活性氧会诱导细胞自噬, 以减少活性氧的产生并清除细胞受损组分。NADPH: 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸; O_2 : 氧分子; O_2^- : 超氧阴离子; H_2O_2 : 过氧化氢; 1O_2 : 单线态氧

Figure 1 Different reactive oxygen species (ROS) sources control autophagy in plant cells (modified from Pérez-Pérez et al., 2012b) ROS can be generated by plasma membrane-localized NOX and different organelles, including chloroplast, mitochondria, peroxisome, and endoplasmic reticulum. Excess ROS then induce autophagy, which contributes to down-regulate ROS production and remove damaged cellular components. NADPH: Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; O_2 : Dioxygen; O_2^- : Superoxide anion; H_2O_2 : Hydrogen peroxide; 1O_2 : Singlet oxygen

2010a, 2010b)。由此可知, ROS和自噬可能参与根毛及花粉管的发育过程。但是, 两者如何共同调控根毛和花粉管发育仍然未知。盐和干旱胁迫会严重影响植物的生长发育, 在胁迫条件下离子压力和渗透胁迫使植物产生氧化损伤, 导致ROS和氧化蛋白积累(Tsugane et al., 1999)。Liu等(2009)研究表明, 在高盐和渗透胁迫条件下, 拟南芥*AtATG18a*的表达水平上调, 自噬活性被激活, 而*AtATG18a-RNAi*植株对上述两种胁迫均很敏感。用NOX抑制剂处理植株后, 发现高盐条件下NOX抑制剂能够抑制细胞自噬的发生, 而在干旱胁迫下细胞自噬不受NOX抑制剂影响, 仍能被诱导。此外, 他们还发现, 抑制植物细胞NOX活性可避免糖或氮饥饿诱导的自噬小泡形成。这些结果暗

示, 营养和高盐胁迫过程中ROS可能作为信号分子诱导自噬; 细胞自噬对营养、高盐及干旱胁迫的响应存在NOX依赖和不依赖两种调节途径。同时, 化学抑制剂二亚苯基碘抑制NOX活性的实验也表明, 饥饿(氮或碳)或盐胁迫诱导自噬依赖于NOX活性(Pérez-Pérez et al., 2012b), 说明NOX产生的ROS为响应营养和盐胁迫的自噬激活所必需。最近有研究者发现, *MdATG18a*过表达显著增强苹果(*Malus domestica*)植株对干旱胁迫的抗性, 而且过表达植株的光合速率和抗氧化能力显著增强, 其作用机理可能是通过产生更大的自噬小体并提高自噬活性, 从而加速聚集蛋白的降解, 缓解细胞的氧化胁迫(Sun et al., 2018)。

病原菌侵染能够有效触发植物细胞自噬(Liu et

al., 2005), 而自噬过程通过超敏反应诱导的细胞程序性死亡, 阻止病原菌进一步侵染(Bassham, 2007; Coll et al., 2014)。Chaouch等(2012)研究表明, 在拟南芥中, NOX (特别是AtRbohF)通过ROS将细胞氧化还原状态与水杨酸信号相关的细胞死亡下游变化相关联。另有研究表明, 在响应甘蓝链格孢菌(*Alternaria brassicicola*)侵染时, 拟南芥 *atg5*、*atg10* 和 *atg18a* 突变体植株ROS水平升高, 坏死组织扩大且感病性增强, 说明自噬对宿主细胞有促活作用; 且上述突变体被活体营养病原菌侵染时, 会通过改变水杨酸相关信号通路来增强免疫(Lenz et al., 2011)。这些结果表明, ROS可能会诱导自噬以应对生物胁迫, 而NOX可能在病原体侵染的初始阶段参与自噬过程的激活, 但该假设仍需进一步实验验证。Henry等(2015)研究了拟南芥三磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)敲除突变体, 发现其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GAPDH负调控细胞自噬。另外, 对烟草的研究表明, ATG3与胞质定位的磷酸甘油醛脱氢酶(GAPCs)互作调节自噬活性。GAPC基因沉默激活了ATG3依赖的自噬活性, 同时增强了烟草中N基因介导的细胞死亡以及植株对烟草花叶病毒和丁香假单胞菌的抗性。正常条件下GPAC的结合抑制了ATG3的功能; 氧化胁迫条件下ROS水平升高则破坏了二者间的互作, 并激活了依赖ATG3的自噬活性(Han et al., 2015)。

4 内质网胁迫中活性氧对自噬活性的调节

研究表明, 细胞自噬参与内质网(endoplasmic reticulum, ER)胁迫导致的内质网降解过程。Liu等(2012b)通过内质网标记蛋白示踪, 发现降解的ER可与自噬小体共定位; 此外, 通过透射电镜观察也发现在自噬小体中存在带有核糖体的ER碎片, 说明细胞自噬通路可响应ER胁迫, 进而参与内质网膜的循环利用。Xu等(2017)对其分子机制进行了深入研究, 发现定位于内质网的BI-1 (Bax Inhibitor-1)可与自噬过程中的关键组分ATG6互作, 从而招募自噬过程的其它重要组分, 起始内质网相关的自噬进程, 且这种互作关系对于BI-1诱导的细胞自噬和细胞死亡均非常重要。Yorimitsu等(2006)对酿酒酵母的研究表明,

ER胁迫是自噬的强诱导信号; 且衣霉素和N-糖基化抑制剂等ER胁迫诱导剂也能有效激活自噬(Pérez-Pérez et al., 2010)。因此, 基于自噬和ER应激反应的高度保守性, 人们推测高等植物细胞中也存在类似的联系。

ER中的蛋白质折叠是高度依赖于氧化还原状态的过程。已有多项研究报道了ER应激与ROS生成之间的关联证据(Malhotra and Kaufman, 2007; Rutkowski and Kaufman, 2007)。Santos等(2009)研究表明, 存在于ER腔中的氧化还原酶、线粒体ROS和NOX与ER应激过程中ROS的产生相关。与酵母细胞类似, 为了响应ER胁迫, 植物细胞可以诱导自噬以消除未折叠的蛋白质和有害分子(包括ROS), 或在恢复期间平衡由未折叠蛋白应答(unfolded protein response, UPR)引起的ER扩张, 从而促进细胞存活(Bernales et al., 2006)。但是, 目前还不清楚ROS产生是否是ER应激诱导自噬的主要调控机制。

5 细胞器的自噬降解

胁迫条件下产生的过量ROS常可造成细胞损伤, 这种情况下细胞必须引入更积极的机制, 方可消除受损组分并保持ROS受到控制。自噬是降解氧化分子的主要防御机制, 且在特定条件下还可能清除产生ROS的细胞器。Tolkovsky (2009)研究表明, 细胞主要通过自噬机制选择性清除受损或不需要的线粒体, 这一过程被称为线粒体自噬。酵母细胞在饥饿条件下或生长平台期会发生典型的线粒体自噬(Kissová et al., 2004; Tal et al., 2007); 而ROS清除剂N-乙酰半胱氨酸能降低酵母细胞中线粒体自噬的活性(Okamoto et al., 2009)。被氧化的过氧化物酶体聚合物同样可通过自噬过程被选择性降解(Shibata et al., 2013)。由于植物细胞中过氧化物酶体是H₂O₂的主要来源, 且能够产生O₂⁻或一氧化氮(nitric oxide, NO) (del Río et al., 2002; Foyer et al., 2009; del Río, 2011)。故过氧化物酶体可能在氧化还原信号转导及其稳态控制中起重要作用, 但是过氧化物酶体降解的生理作用及其对氧化还原信号传递的影响机制尚不明晰。

叶绿体是植物和藻类中ROS的主要来源。在黑暗引起的碳饥饿条件下, 叶绿体组分可通过自噬过程被降解(Izumi et al., 2010; Wang and Liu, 2013; Wang

et al., 2013)。在细胞内可以观察到包含Rubisco蛋白的亚细胞结构以及含叶绿体基质的小球形亚细胞结构(Ishida et al., 2008)。此外, 衰老植物中还可观察到整个叶绿体的降解。然而叶绿体组分存在不同的降解途径, 包括自噬和蛋白水解过程(Wang et al., 2015)。已有实验证明, Rubisco蛋白的降解在自噬缺陷植株中未受到显著影响(Wada et al., 2009)。最近有研究表明, 细胞受UV-B伤害后, 完整叶绿体通过自噬途径被运送到液泡中降解, 而在自噬相关突变体中并未观察到这种现象, 且自噬突变体表现出明显的UV-B敏感表型, 积累较多的被破坏的叶绿体。这些结果说明, 光伤害诱导的叶绿体自噬并非经RCB (Rubisco-containing body)途径降解(Izumi et al., 2017)。Pérez-Pérez等(2012a)研究表明, 衣藻在光氧化损伤下的自噬激活与Rubisco降解之间也未表现出直接的相关性, 暗示自噬可能并非主要途径, 而可能是通过细胞器的特异性降解来调节ROS产生。植物细胞中的这种机制有待进一步研究。

6 自噬氧化还原调节的靶标

综上所述, ROS可能通过一种高度保守的机制来调节自噬, 但是自噬如何感知并接收氧化还原信号仍然未知。迄今为止, 仅有1个靶标(ATG4)被鉴定, ATG4通过整合氧化还原信号来调节自噬, 其它调节组分(如ATG1和TOR激酶)也可能参与氧化还原信号转导。

6.1 ATG4通过氧化还原信号调控自噬过程

现已知, 哺乳动物中ATG4是唯一已被证明的氧化还原调节靶标的ATG蛋白。该半胱氨酸蛋白酶在自噬小泡形成中起双重作用, ATG4通过脂质化系统将新合成的ATG8的C末端与PE结合, 并使ATG8脱脂从自噬小泡膜回收(Kirisako et al., 2000)。然而, 调节ATG4脂化和脱脂活性的分子机制目前尚不清楚。已有实验证明, 哺乳动物中H₂O₂可以通过氧化ATG4分子中的Cys残基使ATG4失活, 以阻止ATG8的加工; 而还原条件则激活ATG4 (Scherz-Shouval et al., 2007)。业已证明, ROS通过调节ATG4的活性来影响饥饿诱导的自噬进程。在拟南芥和玉米(*Zea mays*)基因组中已鉴定了ATG4的2种同源物(Chung et al., 2009), 此2种物质在拟南芥中的缺失突变导致自噬

过程完全阻断(Yoshimoto et al., 2004), 说明ATG4为植物细胞中的自噬过程所必需。鉴于自噬的高度进化保守性, ATG4很可能也是植物细胞中氧化还原信号的感受器和中心整合因子。

6.2 TOR-ATG1路径

TOR-ATG1是自噬的关键组分, 其催化活性为起始阶段所必需(Meijer et al., 2007)。ATG1最初在酵母中被鉴定, 该蛋白在进化过程中高度保守, 通过与ATG13等蛋白互作, 发挥调控功能(Hosokawa et al., 2009)。ATG1/ATG13复合物的活性受磷酸化/去磷酸化修饰调节, 并被TOR复合体1 (target of rapamycin complex 1, TORC1)、蛋白激酶A (protein kinase A, PKA)和腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)等信号通路激活(Alers et al., 2012; Xiong et al., 2013)。这些激酶不同程度地调节ATG1与ATG13间的互作强度以及ATG1的激酶活性。TORC1和PKA对ATG1和/或ATG13的磷酸化会抑制自噬, 但AMPK信号可促进自噬的发生(Nakatogawa et al., 2009; Zhang et al., 2016)。

ATG1/ATG13激酶复合物在进化过程中是保守的(Robaglia et al., 2012)。酵母ATG1和ATG13的直系同源基因也存在于拟南芥基因组中, 其产物可能调节植物细胞自噬(Suttangkakul et al., 2011; Xiong and Sheen, 2014)。然而, 植物细胞中ATG1/ATG13调节的信号通路的具体作用尚未见报道。TOR和SnRK1蛋白激酶(植物细胞中AMPK的同源蛋白)在高等植物及藻类的营养与能量感知过程中具有重要作用。TORC1信号已被证明能调节藻类植物细胞中的自噬。Bassham实验室最近研究表明, 不同环境条件对植物细胞自噬活性的诱导具有特异性, 且对TOR的依赖性也存在差异。其中, 营养、盐和渗透胁迫条件下SnRK1蛋白激酶复合物通过TOR调节自噬活性; 而氧化和内质网胁迫条件下, 自噬活性的激活依赖于SnRK1, 却并非TOR (Pu et al., 2017; Soto-Burgos and Bassham, 2017)。拟南芥中AtTOR转录抑制或衣藻中雷帕霉素处理引起的TOR功能降低均会导致两种系统中的自噬活性显著增加, 与营养饥饿细胞中观察到的现象类似(Pérez-Pérez et al., 2010)。这些结果暗示, TOR在控制光合生物自噬中具有重要作用,

但不排除其它保守途径(如SnRK1信号转导)也可能参与该过程。

越来越多的研究表明, 低等和高等真核生物中, TOR是线粒体功能的关键控制器, 与氧化还原新陈代谢紧密相关(Schieke and Finkel, 2006)。AMPK等TOR的上游调节因子通过p53调节的Sestrins与氧化还原信号相关联(Budanov, 2011)。动物细胞伤害感受器(ataxia-telangiectasia mutated, ATM)能够响应胞质ROS水平的升高, 通过AMPK途径抑制mTORC1并诱导自噬活性, 从而激活TSC/2 (Alexander et al., 2010), 表明ROS主要通过失活TOR激活自噬活性(Blagosklonny, 2008)。相比TOR, TORC1信号在高等植物和藻类细胞中更为保守(Díaz-Troya et al., 2011; Moreau et al., 2012)。但是目前仍未见关于TORC1底物的确切报道, 因而无法特异性监测这种途径的自噬活性的调节。Dames等(2005)对TOR的结构解析表明, TOR的C端FATC结构域(FRAP/ATM/TRRAP C-terminal)的氧化还原状态可能会影响TOR的降解。但Ren等(2011)对拟南芥的研究证实, FATC结构域对TOR的功能并非必需。基于TOR在光合生物自噬过程中的作用, 以及其它系统中报道的氧化还原信号与TOR信号之间的互作, 可以推测在某些胁迫条件下, ROS可能会下调TOR的活性, 导致植物与藻类中的ATG1以及自噬活性激活。目前还未得到关于ROS通过抑制TOR活性进而调控自噬的直接实验证据。

7 展望

酵母和哺乳动物细胞中的自噬过程都已得到深入研究, 但植物细胞中对自噬的研究多集中于自噬相关基因的发现和鉴定, 具体调控机制还不清楚。尽管多种生物或非生物胁迫均能诱导ROS的产生, 但人们对ROS调控自噬过程的分子机制还了解甚少。植物细胞中多种细胞器都具有其特异的自噬过程, 包括过氧化物酶体自噬、线粒体自噬、内质网自噬和核糖体自噬等。而这些细胞器均是产生ROS的主要部位, 暗示ROS在细胞器自噬中起关键调控作用。因此, ROS如何调控细胞器自噬, ROS与自噬在植物生长发育、响应生物及非生物胁迫中的作用需要进一步研究和探讨。

参考文献

- 蔡霞, 方晓艾, 田兰婷, 赵雪艳 (2016). 显微镜技术在植物细胞自噬研究中的应用. *电子显微学报* **35**, 180–185.
- 黄晓, 李发强 (2016). 细胞自噬在植物细胞程序性死亡中的作用. *植物学报* **51**, 859–862.
- 景红娟, 周广舟, 谭晓荣, 平康康, 任雪建 (2012). 活性氧对植物自噬调控的研究进展. *植物学报* **47**, 534–542.
- 林植芳, 刘楠 (2012). 活性氧调控植物生长发育的研究进展. *植物学报* **47**, 74–86.
- 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.
- 任晨霞, 龚清秋 (2014). 细胞自噬在植物碳氮营养中作用的研究进展. *中国细胞生物学学报* **36**, 407–414.
- 王燕, 刘玉乐 (2010). 植物细胞自噬研究进展. *中国细胞生物学学报* **32**, 677–689.
- 杨小龙, 李漾漾, 刘玉凤, 齐明芳, 李天来 (2017). 植物细胞选择性自噬研究进展. *园艺学报* **44**, 2015–2028.
- Ahmad P, Jaleel CA, Salem MA, Nabi G, Sharma S (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Crit Rev Biotechnol* **30**, 161–175.
- Alers S, Löffler AS, Wesselborg S, Stork B (2012). Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the regulation of autophagy: cross talk, shortcuts, and feedbacks. *Mol Cell Biol* **32**, 2–11.
- Alexander A, Cai SL, Kim J, Nanéz A, Sahin M, MacLean KH, Inoki K, Guan KL, Shen JJ, Person MD, Kusewitt D, Mills GB, Kastan MB, Walker CL (2010). ATM signals to TSC2 in the cytoplasm to regulate mTORC1 in response to ROS. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**, 4153–4158.
- Apel K, Hirt H (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* **55**, 373–399.
- Asada K (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiol* **141**, 391–396.
- Ashford TP, Porter KR (1962). Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes. *Cell Biol* **12**, 198–202.
- Bassham DC (2007). Plant autophagy—more than a starvation response. *Curr Opin Plant Biol* **10**, 587–593.
- Bernales S, McDonald KL, Walter P (2006). Autophagy counterbalances endoplasmic reticulum expansion during the unfolded protein response. *PLoS Biol* **4**, e423.
- Bienert GP, Chaumont F (2014). Aquaporin-facilitated transmembrane diffusion of hydrogen peroxide. *Biochim Biophys Acta* **1840**, 1596–1604.

- Blagosklonny MV** (2008). Aging: ROS or TOR. *Cell Cycle* **7**, 3344–3354.
- Buchanan BB, Balmer Y** (2005). Redox regulation: a broadening horizon. *Annu Rev Plant Biol* **56**, 187–220.
- Budanov AV** (2011). Stress-responsive sestrins link p53 with redox regulation and mammalian target of rapamycin signaling. *Antioxid Redox Signal* **15**, 1679–1690.
- Chaouch S, Queval G, Noctor G** (2012). AtRbohF is a crucial modulator of defence-associated metabolism and a key actor in the interplay between intracellular oxidative stress and pathogenesis responses in Arabidopsis. *Plant J* **69**, 613–627.
- Chung T, Phillips AR, Vierstra RD** (2010). ATG8 lipidation and ATG8-mediated autophagy in Arabidopsis require ATG12 expressed from the differentially controlled ATG12A and ATG12B loci. *Plant J* **62**, 483–493.
- Chung T, Suttangkakul A, Vierstra RD** (2009). The ATG autophagic conjugation system in maize: ATG transcripts and abundance of the ATG8-lipid adduct are regulated by development and nutrient availability. *Plant Physiol* **149**, 220–234.
- Coll NS, Smidler A, Puigvert M, Popa C, Valls M, Dangi JL** (2014). The plant metacaspase AtMC1 in pathogen-triggered programmed cell death and aging: functional linkage with autophagy. *Cell Death Differ* **21**, 1399–1408.
- Dames SA, Mulet JM, Rathgeb-Szabo K, Hall MN, Grzesiek S** (2005). The solution structure of the FATC domain of the protein kinase target of rapamycin suggests a role for redox-dependent structural and cellular stability. *J Biol Chem* **280**, 20558–20564.
- del Río LA** (2011). Peroxisomes as a cellular source of reactive nitrogen species signal molecules. *Arch Biochem Biophys* **506**, 1–11.
- del Río LA, Corpas FJ, Sandalio LM, Palma JM, Gómez M, Barroso JB** (2002). Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *J Exp Bot* **53**, 1255–1272.
- Dewaele M, Maes H, Agostinis P** (2010). ROS-mediated mechanisms of autophagy stimulation and their relevance in cancer therapy. *Autophagy* **6**, 838–854.
- Díaz-Troya S, Pérez-Pérez ME, Pérez-Martín M, Moes S, Jenó P, Florencio FJ, Crespo JL** (2011). Inhibition of protein synthesis by TOR inactivation revealed a conserved regulatory mechanism of the BiP chaperone in *Chlamydomonas*. *Plant Physiol* **157**, 730–741.
- Finkel T** (2011). Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol* **194**, 7–15.
- Foyer CH, Bloom AJ, Queval G, Noctor G** (2009). Photorespiratory metabolism: genes, mutants, energetics, and redox signaling. *Annu Rev Plant Biol* **60**, 455–484.
- Foyer CH, Noctor G** (2003). Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiol Plant* **119**, 355–364.
- Gechev TS, Van Breusegem F, Stone JM, Denev I, Laloi C** (2006). Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *Bio-Essays* **28**, 1091–1101.
- Han SJ, Wang Y, Zheng XJ, 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.
- Han SJ, Yu BJ, Wang Y, Liu YL** (2011). Role of plant autophagy in stress response. *Protein & Cell* **2**, 784–791.
- Hayward AP, Dinesh-Kumar SP** (2011). What can plant autophagy do for an innate immune response? *Annu Rev Phytopathol* **49**, 557–576.
- He CC, Klionsky DJ** (2009). Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet* **43**, 67–93.
- 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.
- Hofius D, Li L, Hafrén A, Coll NS** (2017). Autophagy as an emerging arena for plant-pathogen interactions. *Curr Opin Plant Biol* **38**, 117–123.
- Hofius D, Munch D, Bressendorff S, Mundy J, Petersen M** (2011). Role of autophagy in disease resistance and hypersensitive response-associated cell death. *Cell Death Differ* **18**, 1257–1262.
- 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.
- Ishida H, Yoshimoto K, Izumi M, Reisen D, Yano Y, Makino A, Ohsumi Y, Hanson MR, Mae T** (2008). Mobilization of Rubisco and stroma-localized fluorescent proteins of chloroplasts to the vacuole by an ATG gene-dependent autophagic process. *Plant Physiol* **148**, 142–155.
- 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.
- Izumi M, Wada S, Makino A, Ishida H (2010). The autophagic degradation of chloroplasts via Rubisco-containing bodies is specifically linked to leaf carbon status but not nitrogen status in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **154**, 1196–1209.
- Kamada Y, Funakoshi T, Shintani T, Nagano K, Ohsumi M, Ohsumi Y (2000). Tor-mediated induction of autophagy via an Apg1 protein kinase complex. *J Cell Biol* **150**, 1507–1513.
- Kihara A, Noda T, Ishihara N, Ohsumi Y (2001). Two distinct Vps34 phosphatidylinositol 3-kinase complexes function in autophagy and carboxypeptidase Y sorting in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol* **152**, 519–530.
- Kirisako T, Ichimura Y, Okada H, Kabeya Y, Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi M, Takao T, Noda T, Ohsumi Y (2000). The reversible modification regulates the membrane-binding state of Apg8/Aut7 essential for autophagy and the cytoplasm to vacuole targeting pathway. *J Cell Biol* **151**, 263–276.
- Kissov I, Deffieu M, Manon S, Camougrand N (2004). Uth1p is involved in the autophagic degradation of mitochondria. *J Biol Chem* **279**, 39068–39074.
- Kwon SI, Cho HJ, Jung JH, Yoshimoto K, Shirasu K, Park OK (2010a). The Rab GTPase RabG3b functions in autophagy and contributes to tracheary element differentiation in *Arabidopsis*. *Plant J* **64**, 151–164.
- Kwon SI, Cho HJ, Park OK (2010b). Role of *Arabidopsis* RabG3b and autophagy in tracheary element differentiation. *Autophagy* **6**, 1187–1189.
- Ledford HK, Chin BL, Niyogi KK (2007). Acclimation to singlet oxygen stress in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eukaryot Cell* **6**, 919–930.
- Lenz HD, Haller E, Melzer E, Kober K, Wurster K, Stahl M, Bassham DC, Vierstra RD, Parker JE, Bautor J, Molina A, Escudero V, Shindo T, van der Hoorn RA, Gust AA, Nurnberger T (2011). Autophagy differentially controls plant basal immunity to biotrophic and necrotrophic pathogens. *Plant J* **66**, 818–830.
- Levine B, Klionsky DJ (2017). Autophagy wins the 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine: breakthroughs in baker's yeast fuel advances in biomedical research. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**, 201–205.
- Liu YL, Schiff M, Czymmek K, Talloczy Z, Levine B, Dinesh-Kumar SP (2005). Autophagy regulates programmed cell death during the plant innate immune response. *Cell* **121**, 567–577.
- Liu YM, Bassham DC (2012). Autophagy: pathways for self-eating in plant cells. *Annu Rev Plant Biol* **63**, 215–237.
- Liu YM, Burgos JS, Deng Y, Srivastava R, Howell SH, Bassham DC (2012). Degradation of the endoplasmic reticulum by autophagy during endoplasmic reticulum stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **24**, 4635–4651.
- Liu YM, Xiong Y, Bassham DC (2009). Autophagy is required for tolerance of drought and salt stress in plants. *Autophagy* **5**, 954–963.
- Malhotra JD, Kaufman RJ (2007). Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxid Redox Signal* **9**, 2277–2293.
- Meijer WH, van der Klei IJ, Veenhuis M, Kiel JAKW (2007). ATG genes involved in non-selective autophagy are conserved from yeast to man, but the selective Cvt and pexophagy pathways also require organism-specific genes. *Autophagy* **3**, 106–116.
- Minina EA, Moschou PN, Vetukuri RR, Sanchez-Vera V, Cardoso C, Liu QS, Elander PH, Dalman K, Beganovic M, Yilmaz JL, Marmon S, Shabala L, Suarez MF, Ljung K, Novak O, Shabala S, Strymne S, Hofius D, Bozhkov PV (2018). Transcriptional stimulation of rate-limiting components of the autophagic pathway improves plant fitness. *J Exp Bot* **69**, 1415–1432.
- Mizushima N (2010). The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Curr Opin Cell Biol* **22**, 132–139.
- Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y (2011). The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol* **27**, 107–132.
- Möller IM (2001). Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover and metabolism of reactive oxygen species. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **52**, 561–591.
- Moreau M, Azzopardi M, Clément G, Dobrenel T, Marchive C, Renne C, Martin-Magniette ML, Taconnat L, Renou JP, Robaglia C, Meyer C (2012). Mutations in the *Arabidopsis* homolog of LST8/GBL, a partner of the target of rapamycin kinase, impair plant growth, flowering, and metabolic adaptation to long days. *Plant Cell* **24**, 463–481.
- Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y, Ohsumi Y (2009). Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nat Rev Mol Cell Biol* **10**, 458–467.
- Okamoto K, Kondo-Okamoto N, Ohsumi Y (2009). Mitochondria-anchored receptor Atg32 mediates degradation of mitochondria via selective autophagy. *Dev Cell* **17**, 87–97.

- Pérez-Pérez ME, Couso I, Crespo JL** (2012a). Carotenoid deficiency triggers autophagy in the model green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Autophagy* **8**, 376–388.
- Pérez-Pérez ME, Florencio FJ, Crespo JL** (2010). Inhibition of target of rapamycin signaling and stress activate autophagy in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol* **152**, 1874–1888.
- Pérez-Pérez ME, Lemaire SD, Crespo JL** (2012b). Reactive oxygen species and autophagy in plants and algae. *Plant Physiol* **160**, 156–164.
- Pu YT, Luo XJ, Bassham DC** (2017). TOR-dependent and -independent pathways regulate autophagy in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci* **8**, 1204.
- Qi H, Xia FN, Xie LJ, Yu LJ, Chen QF, Zhuang XH, Wang Q, Li FQ, Jiang LW, Xie Q, Xiao S** (2017). TRAF family proteins regulate autophagy dynamics by modulating AU-TOPHAGY PROTEIN6 stability in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **29**, 890–911.
- Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K** (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int* **2014**, 761264.
- Ren MZ, Qiu SQ, Venglat P, Xiang DQ, Feng L, Selvaraj G, Datla R** (2011). Target of rapamycin regulates development and ribosomal RNA expression through kinase domain in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **155**, 1367–1382.
- Reumann S, Voitsekhovskaja O, Lillo C** (2010). From signal transduction to autophagy of plant cell organelles: lessons from yeast and mammals and plant-specific features. *Protoplasma* **247**, 233–256.
- Robaglia C, Thomas M, Meyer C** (2012). Sensing nutrient and energy status by SnRK1 and TOR kinases. *Curr Opin Plant Biol* **15**, 301–307.
- Rutkowski DT, Kaufman RJ** (2007). That which does not kill me makes me stronger: adapting to chronic ER stress. *Trends Biochem Sci* **32**, 469–476.
- Santos CX, Tanaka LY, Wosniak J Jr, Laurindo FRM** (2009). Mechanisms and implications of reactive oxygen species generation during the unfolded protein response: roles of endoplasmic reticulum oxidoreductases, mitochondrial electron transport, and NADPH oxidase. *Antioxid Redox Signal* **11**, 2409–2427.
- Schafer FQ, Wang HP, Kelley EE, Cueno KL, Martin SM, Buettner GR** (2002). Comparing beta-carotene, vitamin E and nitric oxide as membrane antioxidants. *Biol Chem* **383**, 671–681.
- Scheler C, Durner J, Astier J** (2013). Nitric oxide and reactive oxygen species in plant biotic interactions. *Curr Opin Plant Biol* **16**, 534–539.
- Scherz-Shouval R, Shvets E, Fass E, Shorer H, Gil L, Elazar Z** (2007). Reactive oxygen species are essential for autophagy and specifically regulate the activity of Atg4. *EMBO J* **26**, 1749–1760.
- Schieke SM, Finkel T** (2006). Mitochondrial signaling, TOR, and life span. *Biol Chem* **387**, 1357–1361.
- 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.
- Soto-Burgos J, Bassham DC** (2017). SnRK1 activates autophagy via the TOR signaling pathway in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* **12**, e0182591.
- Sun X, Wang P, Jia X, Huo LQ, Che RM, Ma FW** (2018). Improvement of drought tolerance by overexpressing *Md-ATG18a* is mediated by modified antioxidant system and activated autophagy in transgenic apple. *Plant Biotechnol J* **16**, 545–557.
- 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 N, Miller G, Morales J, Shulaev V, Torres MA, Mittler R** (2011). Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Curr Opin Plant Biol* **14**, 691–699.
- Swanson S, Gilroy S** (2010). ROS in plant development. *Physiol Plant* **138**, 384–392.
- Tal R, Winter G, Ecker N, Klionsky DJ, Abeliovich H** (2007). Aup1p, a yeast mitochondrial protein phosphatase homolog, is required for efficient stationary phase mitophagy and cell survival. *J Biol Chem* **282**, 5617–5624.
- Thompson AR, Vierstra RD** (2005). Autophagic recycling: lessons from yeast help define the process in plants. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 165–173.
- Tolkovsky AM** (2009). Mitophagy. *Biochim Biophys Acta* **1793**, 1508–1515.
- 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.
- Ungermann C, Langosch D** (2005). Functions of SNAREs in intracellular membrane fusion and lipid bilayer mixing. *J Cell Sci* **118**, 3819–3828.
- Üstün S, Hafrén A, Hofius D** (2017). Autophagy as a mediator of life and death in plants. *Curr Opin Plant Biol* **40**, 122–130.
- van Dongen JT, Licausi F** (2015). Oxygen sensing and signaling. *Annu Rev Plant Biol* **66**, 345–367.
- Wada S, Ishida H, Izumi M, Yoshimoto K, Ohsumi Y, Mae T, Makino A** (2009). Autophagy plays a role in chloroplast degradation during senescence in individually darkened leaves. *Plant Physiol* **149**, 885–893.
- Wang CW, Klionsky DJ** (2003). The molecular mechanism of autophagy. *Mol Med* **9**, 65–76.
- Wang Y, Liu YL** (2013). Autophagic degradation of leaf starch in plants. *Autophagy* **9**, 1247–1248.
- 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.
- Wang Y, Zheng XY, Yu BJ, Han SJ, Guo JB, Tang HP, Yu AYL, Deng HT, Hong YG, Liu YL** (2015). Disruption of microtubules in plants suppresses macroautophagy and triggers starch excess-associated chloroplast autophagy. *Autophagy* **11**, 2259–2274.
- Xia KF, Liu T, Ouyang J, Wang R, Fan T, Zhang MY** (2011). Genome-wide identification, classification, and expression analysis of autophagy-associated gene homologues in rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res* **18**, 363–377.
- Xiong Y, Contento AL, Bassham DC** (2007a). Disruption of autophagy results in constitutive oxidative stress in Arabidopsis. *Autophagy* **3**, 257–258.
- Xiong Y, Contento AL, Nguyen PQ, Bassham DC** (2007b). 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.
- Xu GY, Wang SS, Han SJ, Xie K, Wang Y, Li JL, Liu YL** (2017). Plant Bax Inhibitor-1 interacts with ATG6 to regulate autophagy and programmed cell death. *Autophagy* **13**, 1161–1175.
- Yorimitsu T, Nair U, Yang ZF, Klionsky DJ** (2006). Endoplasmic reticulum stress triggers autophagy. *J Biol Chem* **281**, 30299–30304.
- 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, Jikumaru 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.
- Zhang DY, Wang W, Sun XJ, Xu DQ, Wang CY, Zhang Q, Wang HF, Luo WW, Chen Y, Chen HY, Liu ZX** (2016). AMPK regulates autophagy by phosphorylating BECN1 at threonine 388. *Autophagy* **12**, 1447–1459.
- Zhou XM, Zhao P, Wang W, Zou J, Cheng TH, Peng XB, Sun MX** (2015). A comprehensive, genome-wide analysis of autophagy-related genes identified in tobacco suggests a central role of autophagy in plant response to various environmental cues. *DNA Res* **22**, 245–257.

Advances in the Regulation on Autophagy by Reactive Oxygen Species in Plant Cells

Danying Ma, Dongchao Ji, Yong Xu, Tong Chen*, Shiping Tian

Key Laboratory of Plant Resources, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

Abstract Damaged proteins, organelles or exogenous substances are engulfed in double membrane vesicles and delivered to the lysosome (vacuoles) for degradation and recycled in eukaryotes. This highly conserved biological process is called autophagy. Reactive oxygen species (ROS) are byproducts of cellular aerobic metabolism, which are widely involved in the regulating different biological processes as signaling molecules. Recent evidence suggests a strong link between autophagy and ROS in plants. Here, we summarize the types and roles of ROS and describe the molecular mechanism of autophagy according to the latest research in plants. The effect of ROS on regulation of autophagy is mainly discussed.

Key words autophagy, reactive oxygen species, regulation

Ma DY, Ji DC, Xu Y, Chen T, Tian SP (2019). Advances in the regulation on autophagy by reactive oxygen species in plant cells. *Chin Bull Bot* **54**, 81–92.

* Author for correspondence. E-mail: chentong@ibcas.ac.cn

(责任编辑: 孙冬花)