

真菌 Peroxins 蛋白的性质和功能

苏浩 赵勇 杨攀 黄成翔 张克勤 杨金奎*

(云南大学 生物资源保护与利用国家重点实验室培育基地 云南 昆明 650091)

摘要: 过氧化物酶体(Peroxisome)是普遍存在于各种真核细胞中的一类单层膜的细胞器, 其内所含的各种酶在细胞的生理代谢过程中发挥着重要作用。目前, 在真菌中已报道 30 多种参与过氧化物酶体的组装、分化和遗传调控的蛋白, 这些蛋白被称为 Peroxins (编码基因为 *PEX*, 编码的蛋白为 Pexp)。Peroxins 还参与真菌的乙醛酸循环和脂肪酸代谢, 并与真菌的致病性密切相关。近年来, 随着基因组测序技术的发展和新技术手段的应用, Peroxins 的功能在日益增多的真菌中被鉴定。本文对真菌中已报道 Peroxins 的种类及它们在不同真菌中的分布进行总结, 对 Peroxins 的性质和功能进行评述。

关键词: 真菌, 过氧化物酶体, Peroxins, 性质, 功能

Charastics of fungal peroxins

SU Hao ZHAO Yong YANG Pan HUANG Cheng-Xiang ZHANG Ke-Qin YANG Jin-Kui*

(Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China)

Abstract: Peroxisome is an organelle with single membrane in various eukaryotic cells, and contains various enzymes essential for multiple physiological and metabolic processes in organisms. At present, more than 30 proteins that control peroxisome assembly, division, and inheritance are identified from fungi, named peroxins (encoded by *PEX* genes). Peroxins are also involved in glyoxylate cycle and in fatty acid metabolism, and related closely with the pathogenicity of fungi. Recently, peroxins have been identified from increasing number of fungi with the development of genome sequencing technology, as well as the application of novel experimental technology. In this review, we summarized the category and distribution of peroxins, and discussed the properties and functions of peroxins in fungi.

Keywords: Fungi, Peroxisome, Peroxins, Properties, Functions

过氧化物酶体(Peroxisome)是微体的一种, 是一类由单层膜包裹的细胞器, 普遍存在于各种真核细胞中。Rhodin 于 1954 年首次发现过氧化物酶体, Duve 于 1966 年首次报道了它的生物化学特征^[1]。

过氧化物酶体至少含有 50 多种酶类, 参与生物体多种生物化学途径, 如脂肪酸 β -氧化、乙醛酸循环、活性氧的调节、以及甲醇代谢和青霉素的合成等。完全或者部分缺失过氧化物酶体会导致人体发

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30960229, 31272093); 中国科学院西部之光人才培养计划项目; 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(No. 2009CI052)

*通讯作者: Tel: 86-871-5032538; 信箱: jinkui960@ynu.edu.cn

收稿日期: 2013-05-15; 接受日期: 2013-07-08; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2013-07-09

生严重的疾病^[2-3], 过氧化物酶体和病原真菌的致病性也密切相关^[3]。目前, 在真菌中已经报道了 30 多种蛋白参与过氧化物酶体的组装、分化和遗传调控, 这些蛋白称为 Peroxins, 对应的编码基因为 *PEX* (蛋白产物为 Pexp), 阐明这些 Peroxins 的性质和功能是了解过氧化物酶体形成和发育的关键, 同时也为防治病原真菌的新药研发奠定基础。结合本课题组对捕食线虫真菌寡孢节丛孢 *Arthrobotrys oligospora* 基因组中 Peroxins 的分析和功能研究, 本文对真菌中报道的 Peroxins 的性质和功能进行评述。

1 Peroxins 的种类和性质

过氧化物酶体的研究最初集中在少数酵母种类、拟南芥和一些哺乳动物, 近年随着基因组测序技术的发展和新的实验技术手段的应用, 研究范围和深度也进一步扩大。目前, 随着被测序的真菌基因组日益增多, Peroxins 的功能也在不同的真菌中被报道, 已报道参与真菌过氧化物酶体形成和发育的 Peroxins 达 30 多种^[1](表 1)。

真菌中已报道的 30 多种参与过氧化物酶体发育调控的 Peroxins 大多数与过氧化物酶体的增殖和基质蛋白的输入相关(表 1), 只有 Pex3p、Pex16p 和 Pex19p 与过氧化物酶体膜蛋白的定位相关。最近, 我们测定了捕食线虫真菌寡孢节丛孢的基因组序列^[4], 寡孢节丛孢的基因组中有 37 个 *PEXs*, 编码 37 种 Peroxins, 其中 Pex3p 有 13 种, 与其它已经测序的真菌相比(表 2), 寡孢节丛孢基因组中 Pex3p 的数量显著增多。

2 Peroxins 在不同真菌中的分布和功能

对酵母类群(如酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*、多形汉逊酵母 *Hansenula polymorpha*、毕赤酵母 *Pichia pastoris* 和解脂假丝酵母 *Yarrowia lipolytica* 等)的研究发现, *PEX* 基因突变体通常显示的表型特征是缺乏正常的过氧化物酶体, 或者过氧化物酶体基质蛋白错误定位, 导致无法完成特定的生物化学反应。例如: 脂肪酸或甲醇的新陈代谢。

在酿酒酵母中, 脂肪酸 β -氧化的所有步骤均发生在过氧化物酶体^[5], *PEX* 突变体由于不能利用油酸等脂肪酸, 而在以油酸作为唯一碳源的培养基上不能生长^[6]; 在毕赤酵母中, 参与甲醇代谢的 3 个关键酶: 醇氧化酶(Alcohol oxidase)、二羟基丙酮合成酶(Dihydroxyacetone synthase)和过氧化氢酶(Catalase)均位于过氧化物酶体, *PEX* 突变体由于不能进行甲醇代谢, 而在以甲醇为唯一碳源的培养基上不能生长^[7]。某些 *PEX* 基因的突变, 如 *PEX11*、*PEX25* 和 *PEX27*, 特异性的影响过氧化物酶体的增殖^[8]。在丝状真菌中, 过氧化物酶体同样扮演着重要角色(表 2)。此外, 很多丝状真菌中存在一类由过氧化物酶体衍生的致密核心小泡——伏鲁宁体(Woronin bodies), 它可以在菌丝受到损害时, 阻塞隔膜小孔以防止胞质流失^[9-10]。一些丝状真菌的 *PEX* 突变体出现了酵母类群中没有报道过的新表型。如柄孢霉 *Podospira anserina* 的 *pex2* 突变影响同性配子之间的融合, 而这一过程对有性孢子的发育是必需的^[11]。植物病原真菌瓜类炭疽病菌 *Colletotrichum lagenarium* *pex6* 的突变导致该菌不能侵染宿主^[12-13], 而产黄青霉 *Penicillium chrysogenum* *pex5* 的突变影响无性孢子的形成^[14]。

在已报道的真菌 Peroxins 中, 有 12 种 Peroxins (Pex1p、Pex2p、Pex3p、Pex5p、Pex6p、Pex7p、Pex10p、Pex11p、Pex12p、Pex13p、Pex14p 和 Pex19p)从酵母到其它丝状真菌都是保守的(表 2), 说明它们在过氧化物酶体形成和发育过程中具有非常重要的作用。其中 Pex5p 是过氧化物酶体靶向信号 1 (Peroxisome targeting signal, PTS1)的受体, Pex7p 是 PTS2 的受体, 它们分别识别含有 PTS1 和 PTS2 的过氧化物酶体基质蛋白。Pex13p 和 Pex14p 参与对接复合体(Docking complex)的形成, 而 Pex2p、Pex10p 和 Pex12p 参与环指复合体(Ring finger complexes)的形成。通过这两种复合体, 可以将基质蛋白运输到过氧化物酶体。Pex1p 和 Pex6p 作为 Pex5p 输出时的马达蛋白(Motor proteins), 参与受体的循环。此外, 在酿酒酵母和光滑假丝酵母 *Candida*

glabrata 中含有与某些 Peroxins 相似的蛋白质，它们都包含一个与 Pex5p (如光滑假丝酵母的 Pex5Bp 和酿酒酵母的 Pex5Cp)、Pex21p (如光滑假丝酵母的 Pex21Bp 和酿酒酵母的 Pex18p)和 Pex23p (如光滑假丝酵母的 Pex23Bp 和酿酒酵母的 Pex31p)相似的蛋白，这些蛋白在其它真菌中不存在。酿酒酵母的基因组还编码了一个与 Pex25p 同源的蛋白(Pex27p)，该蛋白在其它真菌中也不存在(表 2)。

表 1 真菌中参与过氧化物酶体合成的蛋白分类、性质和功能 Table 1 Properties and functions of peroxins involved in the biogenesis of peroxisomes in fungi			
基因 Gene	特征 Characteristics	在生物合成中的功能 Funtion in biogenesis	分子功能 Molecular function
PEX1	AAA 型 ATP 酶	基质蛋白输入	Pex5p 的 ATP 依赖的易位
PEX2	环指结构	基质蛋白输入	环指复合体成员
PEX3		PMP-靶蛋白；从头合成	Pex19p 的膜锚定蛋白
PEX4	泛素结合酶	基质蛋白输入	Pex5p 的单泛素化
PEX5	WxxxF-motifs，TPR 结构域，泛素化修饰	基质蛋白输入	PTS1 受体
PEX6	AAA 型 ATP 酶	基质蛋白输入	Pex5p 的 ATP 依赖的易位
PEX7	WD40 motif	基质蛋白输入	PTS2 受体
PEX8	螺旋结构域，亮氨酸拉链	基质蛋白输入	结合对接复合体和环状复合体；释放货物蛋白
PEX9		基质蛋白输入	
PEX10	环指结构	基质蛋白输入	环指复合体成员
PEX11		增殖	过氧化物酶体的延长
PEX12	环指结构	基质蛋白输入	环指复合体成员
PEX13	SH3 结构	基质蛋白输入	对接复合体成员
PEX14	PXXP-motif，磷酸化修饰	基质蛋白输入	对接复合体成员
PEX15	磷酸化修饰	基质蛋白输入	Pex6p 的膜锚定蛋白
PEX16		PMP-定位，增殖，从头合成	
PEX17		基质蛋白输入	对接复合体成员
PEX18	WxxxF-motifs，泛素化修饰	基质蛋白输入	PTS2 的共受体(酿酒酵母，SC)
PEX19	CAAX-box，法尼基化修饰	PMP-定位；重新形成	PMP 类型 1 受体和分子伴侣
PEX20	WxxxF-motifs，泛素化修饰	基质蛋白输入	PTS2 的共受体(大多数真菌)
PEX21	WxxxF-motifs，泛素化修饰 (具体功能有待进一步研究)	基质蛋白输入	PTS2 的共受体 (SC)
PEX22		基质蛋白输入	Pex4p 的膜锚定蛋白
PEX23	DysF	增殖	生长调节(解脂假丝酵母，YI)
PEX24		增殖	过氧化物酶体的分离(YI)
PEX25		增殖	过氧化物酶体的延伸
PEX26		基质蛋白输入	Pex6p 的膜锚定蛋白(人)
PEX27		增殖	过氧化物酶体的延伸
PEX28		增殖	过氧化物酶体的分离(SC)
PEX29		增殖	过氧化物酶体的分离(SC)
PEX30	DysF	增殖	生长调节(SC)
PEX31	DysF	增殖	生长调节(SC)
PEX32	DysF	增殖	生长调节(SC)

注：PMP：过氧化物酶体膜蛋白；PTS：过氧化物酶体靶向信号；AAA 型 ATP 酶：与多种细胞活动相关的 ATP 酶；TPR 结构域：肽重复序列结构域；WD40：含有保守色氨酸-天冬氨酸的 40 个氨基酸长度的结构域；SH3 结构域：是 Pex13p C 端的一种结构域，它可分别与 Pex5p 和 Pex14p 结合；DysF：即 Dysferlin 结构域，是 Pex23p 家族蛋白中一种未知功能的结构。

Note: PMP: Peroxisomal membrane protein; PTS: Peroxisome targeting signal; AAA-type ATPase: ATPase associated with diverse cellular activities; TPR region: Tetratricopeptide repeat; WD40: 40 amino acid long domain containing conserved Trp-Asp; SH3-domain: Containing a structure of Pex13p C-terminus, can be respectively combined with Pex5p and Pex14p; DysF: Scilicet Dysferlin domain, Pex23p family proteins contain a structure with an unknown function.

表 2 不同真菌中 Peroxins 的分布
Table 2 Distribution of peroxins in different fungi

Peroxins		酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	光滑假丝酵母 <i>Candida glabrata</i>	解脂假丝酵母 <i>Yarrowia lipolytica</i>	粗糙脉孢霉 <i>Neurospora crassa</i>	烟曲霉 <i>Aspergillus fumigatus</i>	构巢曲霉 <i>Aspergillus nidulans</i>	产黄青霉 <i>Penicillium chrysogenum</i>	稻瘟病菌 <i>Magnaporthe grisea</i>	玉米赤霉菌 <i>Gibberella zeae</i>	玉米黑粉菌 <i>Ustilago maydis</i>
与过氧化物酶体膜的 形成和基质蛋白的输入相关的 Peroxisomal membrane formation and matrix proteins enter	Pex1p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex2p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex3p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex3Bp			+							
	Pex4p	+	+	+		+	+	+	+	+	+
	Pex5p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex5Bp		+								
	Pex5Cp	+									
	Pex5/20p										+
	Pex5Rp										
	Pex6p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex7p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex8p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex9p			+							
	Pex10p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex12p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex13p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex14p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex15p	+	+								
	Pex16p			+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex17p	+	+	+		+		+	+		
	Pex14/17p					+	+	+	+	+	+
与过氧化物酶体增殖相关的 Peroxisome proliferator-related Peroxins	Pex18p	+						+	+	+	+
	Pex19p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex20p			+		+	+	+	+	+	
	Pex21p	+	+								
	Pex21Bp		+								
	Pex22p	+	+	+							
	Pex22p-like					+	+	+	+	+	
	Pex26p			+	+	+	+	+	+	+	
	Pex11p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex11-2p									+	
	Pex11Bp				+	+	+	+	+	+	
	Pex11Cp			+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex11C2p									+	
	Pex11/25p			+							
	Pex25p	+	+								
	Pex27p	+									
	Pex23p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex23Bp		+								
	Pex31p	+									
	Pex32p	+	+								
	Pex23p-like	+		+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex24p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pex29p	+	+	+							

2.1 Pex3p、Pex16p 和 Pex19p

目前,与过氧化物酶体膜形成相关的 3 个 *PEX* 基因已经被鉴定(*PEX3*, *PEX16* 和 *PEX19*),对应的蛋白分别为 Pex3p、Pex16p 和 Pex19p。在酵母细胞和人类成纤维细胞中,缺失这些 *PEX* 基因中的任何一个,都可能导致过氧化物酶体膜结构的缺陷^[15]。Pex3p 是 Pex19p 的膜招募因子(Membrane recruitment factor),参与过氧化物酶体膜蛋白的定位和插入。Pex3p 还与过氧化物酶体的大吞噬(Macropexography)相关。作为一个可溶性的分子伴侣, Pex19p 的功能是 I 类过氧化物酶体膜蛋白的输入受体^[16-17],穿梭于细胞溶质和膜腔之间运送新合成的具有稳定构象的膜蛋白到过氧化物酶体膜上^[18]。Pex16p 是 Pex3p 的束缚因子(Tethering factor),目前对其功能了解较少^[19]。在缺乏 Pex3p、Pex16p 和 Pex19p 的哺乳动物细胞内,过氧化物酶体膜蛋白无法正确定位,滞留在胞质中并很快被降解。因此, Pex3p、Pex16p 和 Pex19p 可能是过氧化物酶体膜蛋白输入系统的重要组成成分,与过氧化物酶体膜的形成密切相关^[2]。

Pex3p 和 Pex19p 相互作用,主要功能是分拣新合成的过氧化物酶体膜蛋白到过氧化物酶体膜上^[15]。*PEX3* 和 *PEX19* 对性母细胞的形成也是必需的,柄孢霉 *PEX3* 和 *PEX19* 的突变体不能进行核融合和减数分裂,从而不能形成子囊孢子^[20]。此外,在解脂假丝酵母中存在 Pex3p 的同源蛋白(Pex3Bp), *PEX3* 突变体的过氧化物酶体缺陷^[21]。在哺乳动物细胞中, Pex16p 与过氧化物酶体膜的形成密切相关^[22]。Pex16p 存在于所有的丝状真菌中,而在大多数酵母类群中是不存在的(除了解脂假丝酵母)。Pex16p 与酵母过氧化物酶体的增殖调节相关,而不是与过氧化物酶体膜的形成相关^[23]。目前,对 Pex16p 在真菌中的确切功能尚不清楚。

2.2 PTS1 和 PTS2 受体

大多数 Peroxins 与从细胞溶质向过氧化物酶体内腔运输基质蛋白相关,这些基质蛋白包含特殊的 PTSs,即 PTS1 和 PTS2,他们被特殊的受体所

识别^[24]。Pex5p 是 PTS1 的受体,由结构和功能上独立的两部分构成,为少见的球状蛋白结构^[25]。Pex5p 参与 PTS1 靶蛋白向过氧化物酶体的输送过程,包括靶蛋白识别(Target recognition)、靶蛋白转运(Target translocation)、靶蛋白释放(Target release)和受体循环(Recycling of the receptor)等步骤。Pex5p 的 N-末端是一个天然展开的预熔球样结构域(Natively unfolded pre-molten globule-like domain),由 7 个重复五肽组成^[25],使 Pex5p 结合到对接复合体的两个组分蛋白 Pex13p 和 Pex14p 上。在 Pex5p 的 N-末端还含有与其它 Peroxins 相互作用的位点,在基质蛋白转运期间, Pex5p 的 N-末端还能与某些 Peroxins 相互作用形成不同的蛋白复合体。与 N-末端相比, Pex5p 的 C-末端是一个稳定的可溶性区域,主要功能是识别含有 PTS1 的靶蛋白,包含 6 个 TPR 结构域,该结构域对于结合 PTS1 是必不可少的^[26]。一些 *PEX5* 的缺失突变体,在识别 PTS1 靶蛋白时存在缺陷。受体与基质蛋白的结合,并不仅仅取决于受体的结构, PTS1 的 3 个 C-末端残基对于与 Pex5p 的结合也是非常重要的。PTS1 还含有一个辅助识别位点,对于一些含有 PTS1 的靶蛋白, Pex5p 的识别是通过激活辅助蛋白或伴侣分子控制的^[25]。

Pex7p 最初被认为是 PTS2 的唯一受体^[27]。然而,在真菌中,一些辅助蛋白对于 PTS2 蛋白的识别是必需的。在酿酒酵母和相关的酵母类群中,该蛋白是 Pex21p,而在其它酵母类群和丝状真菌中是 Pex20p。因此,大部分真菌的 PTS2 受体是一个由 Pex7p 和 Pex20p 组成的复合体, Pex20p 的 C-末端含有一个 Pex7p 的结合位点,其 N-末端与 PTS1 受体 Pex5p 的 N-末端相似性较高。在这些真菌中还存在一个 Pex5p/Pex20p 的融合蛋白,该蛋白的 N-末端与 Pex20p 和 Pex5p 的 N-末端具有较高的相似性^[8]。稻瘟病菌 *Magnaporthe oryzae* 中由 Pex7p 介导的过氧化物酶体基质蛋白输送系统对于真菌的发育和致病性是必需的,在以短链脂肪酸为唯一碳源的培养基上,稻瘟病菌 *PEX7* 突变体的

菌丝生长变慢,分生孢子数目显著减少,分生孢子能形成附着胞但不能侵染植物细胞^[28]。

研究发现,在哺乳动物细胞中 *PEX5* 通过不同的剪切方式编码两种蛋白(*Pex5pL* 和 *Pex5pS*)。其中 *Pex5pL* 的 N-末端保守性比较低,而 C-末端的 TPR 结构域高度保守^[25]。*Pex5pL* 不仅参与 PTS1 的转运,还与 *Pex7p* 互作,影响 PTS2 的转运^[2]。植物细胞中仅含有一个单一的 *Pex5p*,类似于哺乳动物的 *Pex5pL*^[29],因此,在哺乳动物和植物中 PTS1 和 PTS2 靶蛋白的输入需要 *Pex5p* 参与。而在真菌中,*Pex20p* 的存在使 PTS1 和 PTS2 更加独立,这使得真菌能更好地适应迅速变化的环境条件^[8]。与 *PEX7* 的突变体类似,稻瘟病菌 *PEX5* 突变体的分生孢子活力和孢子萌发率下降,并影响附着胞的形成、黑化以及细胞壁和细胞膜的完整性^[30]。

Pex5p 和 *Pex7p* 之间并不是孤立的,在识别 PTS1 和 PTS2 将基质蛋白输入过氧化物酶体的过程中两者相互依赖。在多数多细胞生物中,*Pex7p* 和 PTS2 靶蛋白的输入依赖于 PTS1 受体 *Pex5p*。在酵母中,*PEX7* 的突变同时破坏 *Pex7p* 与基质蛋白的结合以及 *Pex7p*-*Pex5p* 的相互作用。反之,*Pex5p* 和 PTS1 靶蛋白的输入也依赖于 *Pex7p*。如拟南芥 *PEX7* 突变不仅影响 *Pex7p* 的积累和 PTS2 靶蛋白的输入,而且也影响 *Pex5p* 的积累和 PTS1 靶蛋白的输入^[31]。事实上,并不是所有的生物都同时含有 PTS1 和 PTS2 运输途径,例如秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 缺乏 *Pex7p* 和相应的 PTS2 运输途径^[31],完全经由 PTS1 途径运输基质蛋白。在柄孢霉突变体中,过氧化物酶体蛋白的输送还能以 *Pex20p* 作为输入受体,参与性母细胞的分化^[20]。

2.3 对接复合体和环指复合体

过氧化物酶体基质蛋白通常导入过氧化物酶体内腔折叠,形成寡聚体。在过氧化物酶体中存在一个大的膜定位复合体,帮助受体-货物蛋白的对接和转运,以及受体的循环利用^[8]。而要完成以上过程,需要两个重要的复合体,即对接复合体和环

指复合体^[32-33]。对接复合体由 *Pex13p* 和 *Pex14p* 组成,*Pex13p* 两端均暴露在胞质中,C 端含有 SH3 (Src-homology 3)结构域,可分别与 *Pex5p* 和 *Pex14p* 结合。*Pex14p* 也参与过氧化物酶体的大吞噬。基质蛋白与受体结合后,首先与过氧化物酶体膜上的对接复合体互作。对接复合体的主要作用是提供 PTS 受体与膜结合的位点,同时还参与受体向膜内的输入^[2]。复合体中的任何一种蛋白缺失都会影响到整个复合体的功能,导致蛋白转运无法完成。环指复合体是由 *Pex2p*、*Pex10p* 和 *Pex12p* 三种蛋白质组成的。*Pex10p* 和 *Pex12p* 可以与 *Pex5p* 结合,通过三者的相互作用,将蛋白输送到膜内。*Pex2p* 和 *Pex12p* 可能参与形成 PTS 靶蛋白输入和受体返回胞质的通道^[2]。此外还需要 *Pex8p* 的存在。*Pex8p* 存在于过氧化物酶体基质中,不仅参与对接复合体和环指复合体的互作,而且还参与从受体中释放 PTS1 靶蛋白^[33-34]。缺失 *Pex8p* 的酿酒酵母细胞缺少过氧化物酶体前体,基质蛋白无法定位^[2]。*Pex17p* 主要存在于酵母类群,在丝状真菌中较少,然而在这些丝状真菌中含有一个新的蛋白质(*Pex14/17p*)。这个蛋白质的 N-末端与 *Pex14p* 的 N-末端具有较高相似性,而 C-末端与 *Pex17p* 的 C-末端具有低相似性。目前,关于 *Pex17p* 在过氧化物酶体形成过程中的精确功能未见报道。

2.4 与 PTS 受体循环相关的 Peroxins

与 PTS 受体循环相关的 Peroxins 包括泛素结合酶(Ubc) *Pex4p* (*Ubc10p*)、膜锚定蛋白 *Pex22p*、一个与多种细胞活动相关的 ATP 酶(AAA ATPases) 复合体(*Pex1p* 和 *Pex6p*)及膜锚定蛋白 *Pex15p* (酿酒酵母)或 *Pex26p* (哺乳动物)^[35-37]。PTS1 靶信号受体 *Pex5p* 的泛素化在受体循环中起着重要作用。*Pex5p* 通过单泛素化和多泛素化来控制受体的循环和降解。*Pex4p* 通过 *Pex22p* 锚定到过氧化物酶体膜上,催化受体的单泛素化,将受体从膜上释放返回到细胞溶质。PTS1 靶信号受体 *Pex5p* 的多泛素化主要由 *Ubc4p* 催化,这个过程仅发生于过氧化物酶体膜上,它是蛋白降解的信号,导致 *Pex5p*

的降解。

Pex1p 和 Pex6p 互动维持 PTS1 受体的稳定性^[2,8], ATP 酶复合体是 Pex5p 从过氧化物酶体输出返回到细胞溶质时的马达蛋白, 为受体的循环提供能量^[38-39]。在丝状真菌中 Pex4p 的锚定蛋白是 Pex22p 的同源蛋白 Pex22p-类似蛋白。ATP 酶复合体的膜锚定蛋白 Pex26p 存在于多数丝状真菌中, 然而在解脂假丝酵母中 *PEX9* 还编码了一个与 Pex26p 同源的蛋白 Pex9p。

2.5 Pex11p 和 Pex23p 家族

根据与 Pex11p 或 Pex23p 的相似性将真菌中参与过氧化物酶体增殖的 Peroxins 分成两个家族, 即 Pex11p 家族和 Pex23p 家族^[8]。

2.5.1 Pex11p 家族: 真核生物中都存在 Pex11p 的同源蛋白。到目前为止, 在已研究的生物体(包括人类)中, Pex11p 的过表达会引起过氧化物酶体的大量增殖。相反地, 在酿酒酵母中如果缺失 *PEX11*, 会导致过氧化物酶体的数量大大减少^[40]。酿酒酵母含有 1 个单一的 Pex11p 蛋白, 而丝状真菌中含有 3 种 Pex11p 亚型(Pex11p、Pex11Bp 和 Pex11Cp), 解脂假丝酵母中也含有 Pex11Cp, 但该蛋白在酿酒酵母及其近源种中不存在。高等真核生物中的情况与丝状真菌类似, 它们同样包含 Pex11p 的多种亚型。人类细胞中也有 3 个 Pex11p 相关蛋白: Pex11 α 、Pex11 β 和 Pex11 γ ^[41]。其中, Pex11 α 是响应外界刺激并参与过氧化物酶体的增殖, 而 Pex11 β 也是过氧化物酶体增殖所必需的。丝状真菌中的 Pex11p 与哺乳动物 Pex11p 亚型 α 和 β 相似性较高, 而与 Pex11Bp 的相似性较低。同样, 真菌的 Pex11Cp 和哺乳类动物的 Pex11 γ 都与其它两个哺乳动物 Pex11p 亚型的相似性较低^[8]。

除了 Pex11p 之外, 大多数酵母类群包含了一个与 Pex11p 相似性较低的蛋白 Pex25p。在解脂假丝酵母中没有发现 Pex25p 的同源物, 然而它含有一个与 Pex11p 和 Pex25p 相似性较低的蛋白, 该蛋白的功能可能与 Pex25p 相关。丝状真菌和人类细胞同样缺少 Pex25p 的同源物, 但是这些生物中包

含了多种 Pex11p 的亚型, 可能执行相似的功能。在酿酒酵母中发现了一种与 Pex25p 相关的蛋白质 Pex27p, 该蛋白在其它酵母类群中不存在。类似于 Pex11p 的过表达, 在酿酒酵母中, *PEX25* 或 *PEX27* 的过表达也会引起过氧化物酶体的增殖。相反地, 缺失了这些基因的突变体中过氧化物酶体的数量显著下降^[42]。

2.5.2 Pex23p 家族: 与过氧化物酶体增殖相关的第二个蛋白家族包含两个组。第一组是由 Pex23p 及相关蛋白组成的。大多数真菌中都存在 Pex23p 的同源物。光滑假丝酵母的 Pex23Bp 和酿酒酵母的 Pex31p 是 Pex23p 的同源蛋白, 这在其它酵母类群和丝状真菌中是没有的。Pex23p 组的第二个成员是 Pex32p, 这个 Peroxin 的同源蛋白仅存在于酵母中。Pex23p、Pex31p 和 Pex32p 在过氧化物酶体中所起的作用目前还不清楚。解脂假丝酵母的 *PEX23* 突变体在含油酸的培养基上不能生长, 且部分过氧化物酶体蛋白错误定位^[43]。与之相反, 酿酒酵母的 Pex23p、Pex31p 和 Pex32p 对于过氧化物酶体的增殖是必需的。酿酒酵母 Pex23p 对过氧化物酶体的大小起正调控的作用, 而 Pex31p 和 Pex32p 在这个过程中起负调控的作用。人类细胞中没有 Pex23p、Pex31p 或 Pex32p 的同源蛋白^[8]。

Pex23p 家族的第二组是由 Pex24p 和 Pex29p 的相关蛋白组成的。然而, Pex24p 和 Pex29p 在过氧化物酶体中所起的作用仍然不清楚。在酿酒酵母中, 缺失 *PEX24* 或 *PEX29* (或者同时缺失)的细胞出现的表型与这些 *PEX* 基因在控制过氧化物酶体分裂和增殖的作用一致^[44]。但在解脂假丝酵母中, 缺失 *PEX24* 的突变体在过氧化物酶体蛋白转运中存在缺陷^[45]。

3 展望

过氧化物酶体是真核细胞中重要的细胞器, 所含的各种酶在细胞的多种代谢过程中发挥着重要作用。近年来, 日益增多的研究表明过氧化物酶体与病原真菌的致病性密切相关。随着基因组测序技

术的更新和新的实验技术手段的应用,人们对过氧化物酶体的研究也日益深入,参与过氧化物酶体发生、分化和遗传调控的 Peroxins 的功能也在多种重要的模式真菌中被报道。阐明这些 Peroxins 的性质和功能是了解过氧化物酶体形成和发育的关键,同时也为防治病原真菌的新药研发奠定基础。以本课题组的工作为例,植物寄生线虫病是一类世界范围内普遍发生的植物病害,全球每年因线虫造成的损失高达 1 570 多亿美元^[46]。捕食线虫真菌是线虫的天敌,它们能够产生捕捉线虫的特殊工具——捕食器官。前期的研究发现,捕食器官中特征性结构——电子致密体的生化本质是过氧化物酶体蛋白^[47-48]。本课题组通过同源重组技术对寡孢节丛孢中多个 Peroxins (Pex11p、Pex5p 和 Pex7p 等)的功能进行了研究(结果待发表),PEX 突变株的捕食器官数量显著下降,有些突变株甚至不能产生捕食器官,同时突变株侵染线虫的能力也显著下降。研究结果可能有助于进一步诠释捕食线虫真菌侵染线虫的分子机制以及植物寄生线虫的生物防治研究。然而,目前我们对真菌 Peroxins 的功能了解还不够深入,部分 Peroxins 的功能仍然是未知的,有关过氧化物酶体发生的机制还不完全清楚,为我们今后的研究带来了挑战和新的机遇。

参 考 文 献

- [1] Platta HW, Erdmann R. Peroxisomal dynamics[J]. Trends in Cell Biology, 2007, 17(10): 474-484.
- [2] 王教瑜, 吴小燕, 杜新法, 等. 植物病原真菌过氧化物酶体的发生机制及功能[J]. 微生物学报, 2008, 48(12): 1681-1686.
- [3] 李荔, 张克勤, 杨金奎. 过氧化物酶体与病原真菌的致病性[J]. 微生物学通报, 2011, 38(6): 934-941.
- [4] Yang JK, Wang L, Ji XL, et al. Genomic and proteomic analyses of the fungus *Arthrobotrys oligospora* provide insights into nematode-trap formation[J]. PLoS Pathogens, 2011, 7: e1002179.
- [5] Hynes MJ, Murray SL, Khew GS, et al. Genetic analysis of the role of peroxisomes in the utilization of acetate and fatty acids in *Aspergillus nidulans*[J]. Genetics, 2008, 178(3): 1355-1369.
- [6] Erdmann R, Veenhuis M, Mertens D, et al. Isolation of peroxisome-deficient mutants of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1989, 86(14): 5419-5423.
- [7] van der Klei IJ, Veenhuis M. Yeast and filamentous fungi as model organisms in microbody research[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2006, 1763(12): 1364-1373.
- [8] Kiel JAKW, Veenhuis M, van der Klei IJ. PEX genes in fungal genomes: common, rare or redundant[J]. Traffic, 2006, 7(10): 1291-1303.
- [9] Sundararajan S, Jedd G, Li XL, et al. Woronin body function in *Magnaporthe grisea* is essential for efficient pathogenesis and for survival during nitrogen starvation stress[J]. The Plant Cell, 2004, 16(6): 1564-1574.
- [10] Tenney K, Hunt L, Sweigard J, et al. *Hex-1*, a gene unique to filamentous fungi, encodes the major protein of the Moronic body and functions as a plug for septal pores[J]. Fungal Genetics and Biology, 2000, 31(3): 205-217.
- [11] Berteaux-Lecellier V, Picard M, Thompson-coffe C, et al. A nonmammalian homolog of the *PAF1* gene (Zellweger syndrome) discovered as a gene involved in caryogamy in the fungus *Podospora anserina*[J]. Cell, 1995, 81(7): 1043-1051.
- [12] Kimura A, Takano Y, Furusawa I, et al. Peroxisomal metabolic function is required for appressorium-mediated plant infection by *Colletotrichum lagenarium*[J]. The Plant Cell, 2001, 13(8): 1945-1957.
- [13] Ramos-pamplona M, Naqvi NI. Host invasion during rice-blast disease requires carnitine-dependent transport of peroxisomal acetyl-CoA[J]. Molecular Microbiology, 2006, 61(1): 61-75.
- [14] Kiel JAKW, van den Berg M, Bovenberg RAL, et al. *Penicillium chrysogenum* Pex5p mediates differential sorting of PTS1 proteins to microbodies of the methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2004, 41(7): 708-720.
- [15] Schliebs W, Kunau WH. Peroxisome membrane biogenesis: the stage is set[J]. Current Biology, 2004, 14: R397-R399.
- [16] Fang Y, Morrell JC, Jones JM, et al. PEX3 functions as a PEX19 docking factor in the import of class I peroxisomal membrane proteins[J]. The Journal of Cell Biology, 2004, 164(6): 863-875.
- [17] Jones JM, Morrell JC, Gould SJ. PEX19 is a predominantly cytosolic chaperone and import receptor for class I peroxisomal membrane proteins[J]. The Journal of Cell Biology, 2004, 164(1): 57-67.
- [18] Shibata H, Kashiwayama Y, Imanaka T, et al. Domain architecture and activity of human Pex19p, a chaperone-like protein for intracellular trafficking of peroxisomal membrane proteins[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(37): 38486-38494.
- [19] Kim PK, Mullen RT, Schumann U, et al. The origin and maintenance of mammalian peroxisomes involves a *de novo* PEX16 dependent pathway from the ER[J]. The Journal of Cell Biology, 2006, 173(4): 521-532.
- [20] Peraza-Reyes L, Arnaise S, Zickler D, et al. The importomer peroxins are differentially required for peroxisome assembly and meiotic development in *Podospora anserina*: insights into a new peroxisome import pathway[J]. Molecular Microbiology, 2011, 82(2): 365-377.
- [21] Bascom RA, Chan H, Rachubinski RA. Peroxisome

- biogenesis occurs in an unsynchronized manner in close association with the endoplasmic reticulum in temperature sensitive *Yarrowia lipolytica* Pex3p mutants[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2003, 14(3): 939-957.
- [22] South ST, Gould SJ. Peroxisome synthesis in the absence of preexisting peroxisomes[J]. *The Journal of Cell Biology*, 1999, 144(2): 255-266.
- [23] Guo T, Kit YY, Nicaud JM, et al. Peroxisome division in the yeast *Yarrowia lipolytica* is regulated by a signal from inside the peroxisome[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2003, 162(7): 1255-1266.
- [24] Parsons M, Furuya T, Pal S, et al. Biogenesis and function of peroxisomes and glycosomes[J]. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 2001, 115(1): 19-28.
- [25] Stanley WA, Wilmanns M. Dynamic architecture of the peroxisomal import receptor Pex5p[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, 1763: 1592-1598.
- [26] Gatto GJ Jr, Geisbrecht BV, Gould SJ, et al. Peroxisomal targeting signal-1 recognition by the TPR domains of human PEX5[J]. *Nature Structural Biology*, 2000, 7(12): 1091-1095.
- [27] Motley AM, Hettema EH, Ketting R, et al. *Caenorhabditis elegans* has a single pathway to target matrix proteins to peroxisomes[J]. *EMBO Reports*, 2000, 1(1): 40-46.
- [28] Goh J, Jeon J, Kim KS, et al. The PEX7-mediated peroxisomal import system is required for fungal development and pathogenicity in *Magnaporthe oryzae*[J]. *PLoS One*, 2011, 6: e28220.
- [29] Baker A, Sparkes IA. Peroxisome protein import: some answers, more questions[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(6): 640-647.
- [30] Wang JY, Zhang Z, Wang YL, et al. PTS1 peroxisomal import pathway plays shared and distinct roles to PTS2 pathway in development and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae*[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55554.
- [31] Ramon NM, Bartel B. Interdependence of the peroxisome-targeting receptors in *Arabidopsis thaliana*: PEX7 facilitates PEX5 accumulation and import of PTS1 cargo into peroxisomes[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2010, 21: 1263-1271.
- [32] Holroyd C, Erdmann R. Protein translocation machineries of peroxisomes[J]. *The FEBS Letters*, 2001, 501(1): 6-10.
- [33] Agne B, Meindl NM, Niederhoff K, et al. Pex8p: an intraperoxisomal organizer of the peroxisomal import machinery[J]. *Molecular Cell*, 2003, 11(3): 635-646.
- [34] Wang DY, Visser NV, Veenhuis M, et al. Physical interactions of the peroxisomal targeting signal 1 receptor Pex5, studied by fluorescence correlation spectroscopy[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(44): 43340-43345.
- [35] Yahraus T, Braverman N, Dodt G, et al. The peroxisome biogenesis disorder group 4 gene, *PXAAAI*, encodes a cytoplasmic ATPase required for stability of the PTS1 receptor[J]. *EMBO Journal*, 1996, 15(12): 2914-2923.
- [36] Birschmann I, Stroobants AK, Berg M, et al. Pex15p of *Saccharomyces cerevisiae* provides a molecular basis for recruitment of the AAA peroxin Pex6p to peroxisomal membranes[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2003, 14: 2226-2236.
- [37] Matsumoto N, Tamura S, Fujiki Y. The pathogenic peroxin Pex26p recruits the Pex1p-Pex6p AAA ATPase complexes to peroxisomes[J]. *Nature Cell Biology*, 2003, 5(5): 454-460.
- [38] Miyata N, Fujiki Y. Shuttling mechanism of peroxisome targeting signal type 1 receptor Pex5: ATP-independent import and ATP-dependent export[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2005, 25(24): 10822-10832.
- [39] Platta HW, Grunau S, Rosenkranz K, et al. Functional role of the AAA peroxins in dislocation of the cycling PTS1 receptor back to the cytosol[J]. *Nature Cell Biology*, 2005, 7(8): 817-822.
- [40] Schrader M, Reuber BE, Morrell JC, et al. Expression of PEX11 β mediates peroxisome proliferation in the absence of extracellular stimuli[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(45): 29607-29614.
- [41] Thoms S, Erdmann R. Dynamin-related proteins and Pex11 proteins in peroxisome division and proliferation[J]. *The FEBS Journal*, 2005, 272(20): 5169-5181.
- [42] Tam YYC, Torres-Guzman JC, Vizeacoumar FJ, et al. Pex11-related proteins in peroxisome dynamics: a role for the novel peroxin Pex27p in controlling peroxisome size and number in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2003, 14(10): 4089-4102.
- [43] Brown TW, Titorenko VI, Rachubinski RA. Mutants of the *Yarrowia lipolytica* PEX23 gene encoding an integral peroxisomal membrane peroxin mislocalize matrix proteins and accumulate vesicles containing peroxisomal matrix and membrane proteins[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2000, 11(1): 141-152.
- [44] Vizeacoumar FJ, Torres-Guzman JC, Tam YYC, et al. YHR150w and YDR479c encode peroxisomal integral membrane proteins involved in the regulation of peroxisome number, size, and distribution in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2003, 161(2): 321-332.
- [45] Tam YYC, Rachubinski RA. *Yarrowia lipolytica* cells mutant for the PEX24 gene encoding a peroxisomal membrane peroxin mislocalize peroxisomal proteins and accumulate membrane structures containing both peroxisomal matrix and membrane proteins [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2002, 13(8): 2681-2691.
- [46] Abad P, Gouzy J, Aury JM, et al. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*[J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(8): 909-915.
- [47] Veenhuis M, Van Wijk C, Wyss U, et al. Significance of electron dense microbodies in trap cells of the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1989, 56(3): 251-261.
- [48] Ahrén D, Tholander M, Fekete C, et al. Comparison of gene expression in trap cells and vegetative hyphae of the nematophagous fungus *Monacrosporium haptotylum*[J]. *Microbiology*, 2005, 151(Pt3): 789-803.