



植物 ATG8 结合蛋白*

张凤娟 景红娟** 周广舟 秦帅佳 韩楚妍

(河南工业大学生物工程学院, 郑州 450001)

摘要 ATG8 (自噬相关蛋白 8) 结合蛋白通过 ATG8 相互作用基序 (ATG8 interaction motif, AIM) 或泛素相互作用基序 (ubiquitin interaction motif, UIM) 与 ATG8 相互作用, 在自噬、选择性自噬和非自噬过程中起关键作用。ATG8 结合蛋白在酵母和哺乳动物研究中取得了巨大进展, 但在植物领域仍然滞后。本文首先概括了植物 ATG8 蛋白结构及特征, 其次, 重点阐述了作为植物选择性自噬受体的 ATG8 结合蛋白的结构和功能, 最后, 总结了参与自噬小体闭合、转运和人工合成 ATG8 结合蛋白研究状况。本文结合最新研究, 系统总结了目前发现的植物 ATG8 结合蛋白结构和功能, 以为植物选择性自噬和自噬的研究提供新思路。

关键词 ATG8 结合蛋白, 自噬受体, 植物选择性自噬

中图分类号 Q942

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0318

ATG8 (自噬相关蛋白 8) 在细胞巨自噬 (以下简称自噬) 中参与自噬小体 (autophagosome) 生物发生、延伸和闭合, 在选择性自噬 (selective autophagy, SA) 中与特异性底物选择有关。目前, ATG8 结合蛋白主要分为 4 类: a. 自噬蛋白 ATG1、ATG3、ATG4 和 ATG7, 在 ATG8 与磷脂酰乙醇胺 (phosphatidyl ethanolamine, PE) 酯化过程中直接调控 ATG8; b. 含有 BAR (Bin/Amphiphysin/Rvs) 和 Src 同源 3 (Src homology-3, SH3) 结构域蛋白, 参与自噬小体延伸和闭合; c. FYVE 和卷曲螺旋结构域包含 1 (FYVE and coiled-coil domain containing 1, FYCO1) 蛋白, 参与自噬小体至液泡或溶酶体转运; d. 选择自噬受体 (selective autophagy receptors, SARs), 参与招募特异性自噬底物。前 3 种 ATG8 结合蛋白与自噬作用息息相关, 在此不作赘述。本文结合最新研究进展, 系统总结 SARs 结构和功能。

1 植物 ATG8 家族蛋白的结构研究

植物 ATG8 基因与酵母单拷贝不同, 已鉴定出多个同源基因 ATG8 (a~i): 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*, At) 9 个、玉米 (*Zea mays*, Zm) 5 个、水稻 (*Oryza sativa*, Os) 和马铃薯 (*Solanum*

tuberosum, St) 各 7 个、大豆 (*Glycine max*, Gm) 11 个。然而, 莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*, Cr) 只发现 1 个。研究发现, 植物 ATG8 家族通过多次全基因组复制进行大规模扩增^[1], 既是为了适应不利的复杂环境, 也可能是植物选择性自噬多样性原因之一。

ATG8 含有 N 端螺旋结构域和 C 端泛素结合结构域^[2]。保守的 C 端结构域由 $\beta 1 \sim \beta 4$ 、 $\alpha 3$ 和 $\alpha 4$ 组成 β -grasp 折叠结构, 在蛋白质-蛋白质相互作用中发挥关键作用。特有的 N 端结构域由 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 组成, 是 ATG8 相互作用蛋白结合位点。

ATG8 结合蛋白分别通过 ATG8 相互作用基序 (ATG8 interaction motif, AIM) 和微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3) 相互作用区域 (LC3 interaction region, LIR) 与 ATG8/LC3 结合^[3]。核心 AIM/LIR 序列通常为 W/F/Y-XX-L/V/I, 由 1 个芳香族氨基酸、2 个任意氨基酸和 1 个脂肪族氨基酸组成^[4]。ATG8 蛋白

* 河南工业大学创新基金计划 (2021ZKCJ16) 和河南工业大学国际教育学院教学改革研究与实践项目 (GJXY202319) 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 18623718506, E-mail: hjjing@haut.edu.cn

收稿日期: 2023-08-06, 接受日期: 2023-10-30

植物选择性自噬是通过 SARs 特异性识别受损细胞器、错误折叠蛋白质或入侵病原体等，并将其转运至液泡降解的过程^[7-8]。目前，根据底物不同，植物选择性自噬分为蛋白质聚集体自噬 (aggrephagy)、病原体自噬 (xenophagy)、叶绿体自噬 (chlorophagy)、内质网自噬 (reticulophagy)、过氧化物酶体自噬 (pexophagy)、蛋白酶体自噬 (proteaphagy)、线粒体自噬 (mitophagy)、核糖体自噬 (ribophagy) 和脂质自噬 (lipophagy) 等。根据最新研究进展，图 1 系统总结了目前发现的植物 SARs。



FLS2: 鞭毛感应蛋白2 (flagellin sensing 2); BES1: BRI1-EMS抑制因子1 (BRI1-EMS-suppressor 1); GSNOR1: S-亚硝基谷胱甘肽还原酶 (S-nitrosoglutathione reductase 1); ABS3: 异常shoot 3蛋白 (abnormal shoot 3)。

2.1 蛋白质聚集体自噬受体NBR1与Joka2

蛋白质聚集体通过泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin proteasome system, UPS) 和自噬降解以维持细胞稳态^[9]。哺乳动物中自噬受体蛋白p62和BRCA1基因邻居 (neighbor of BRCA1 gene 1, NBR1) 都是靶向泛素和LC3的自噬受体, 二者结构相似, 都包含1个N端PB1 (Phox and Bem1) 结构域、1个LIR基序和1个C端泛素相关 (ubiquitin-associated, UBA) 结构域^[10]。

AtNBR1是植物中报道的第一个SAR, 通过C端UBA结构域与泛素结合, AIM与ATG8结合, 引导泛素化蛋白质聚集体到自噬小体中降解^[11]。烟草 (*Nicotiana tabacum*, Nt) 蛋白NBR1同源蛋白Joka2是AtNBR1同源蛋白, 也可以作为SAR^[12]。拟南芥和番茄 (*Lycopersicon esculentum*, Le) *nbr1* 突变体在热胁迫时, 大量积累泛素化蛋白质聚集体^[13]。因此, NBR1参与植物蛋白质聚集体自噬, 然而具体调控机制尚不清楚。

2.2 植物病原体自噬受体NBR1和ORM蛋白

另外, NBR1还在植物免疫应答中作为病原体SAR起作用^[14]。例如, AtNBR1通过结合花椰菜花叶病毒 (cauliflower mosaic virus, CaMV) 衣壳蛋白和芜菁花叶病毒 (turnip mosaic virus, TuMV) 沉默抑制因子辅助成分-蛋白酶 (helper component-proteinase, HCpro) 促进植物免疫, 介导病原体自噬^[15-16]。病毒感染促进依赖NBR1选择性自噬降解, 从而增强宿主抗菌能力。有趣的是, 植物病原体也可利用宿主自噬机制促进感染, 如疫霉菌效应蛋白PexRD54结合马铃薯ATG8CL, 干扰ATG8CL与Joka2相互作用^[5]。

研究发现, 类黏蛋白 (orosomucoid, ORM) 作为SAR, 介导植物免疫受体鞭毛感应蛋白2 (flagellin sensing 2, FLS2) 降解^[17]。目前, 拟南芥ORM有AtORM1和AtORM2^[18]2个亚型。AtORM1含有1个N端AIM, AtORM2在N端和C端各含有2个AIMs。AtORM蛋白可同时结合ATG8和FLS2来调节植物免疫。缺失突变体*orm*增加FLS2积累并增强信号, ORM过表达则降低了FLS含量并减弱信号^[17]。而且AtORM1/2过表达但不与ATG8结合时, FLS2水平并未降低。因此, ORM通过选择性自噬稳定植物免疫受体。OsORM1是水稻中发现的AtORM1同源蛋白, 且N端也含有AIM, 在病原体自噬中发挥SAR作用^[19]。

2.3 叶绿体自噬受体ATI和NBR1蛋白

ATG8相互作用蛋白 (ATG8-interacting, ATI) 1/2和ATI3a/b/c是拟南芥中发现的5个特异性ATG8结合蛋白^[20-21]。ATI1和ATI2是植物质体 (plastid, PS) 衍生小体和内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 特有跨膜蛋白^[22], 各含有2个AIMs和1个跨膜结构域, 只有N端AIM负责与ATG8结合^[20]。研究表明, ATI1和ATI2参与碳饥饿诱导的叶绿体自噬^[23]。ATI1在碳饥饿后位于ATI1-PS小体上, 目前尚不清楚ATI1如何在正常生长条件下从ER转运到叶绿体。叶绿体外膜蛋白——三半乳糖基甘油二酯 (trigalactosyldiacylglycerol, TGD) 介导ER合成脂质转运至叶绿体^[24], 推测ATI通过ER-叶绿体接触点转移至叶绿体。因此, 脂质交换可调动ATI并帮助启动ATI-PS小体。

另外, 生物信息学方法预测, 拟南芥叶绿体外膜转运子 (translocon of the outer membrane of chloroplasts, TOC) 159、TOC75和TOC33^[25], 通过AIM与ATG8相互作用。而且, 最新研究发现, NBR1作为一种SAR, 靶向并引导TOC蛋白到液泡中降解^[26]。

在生理条件下, 外膜蛋白 (outer envelope protein, OEP) 7和OEP9、热休克蛋白 (heat shock protein, Hsp) 17.8和锚蛋白重复序列蛋白2A (ankyrin repeat-containing protein 2A, AKR2A) 一起将叶绿体膜蛋白靶向自噬小体外膜。为确保自噬小体和液泡有效识别, 上述叶绿体外膜蛋白可能与ATG或非ATG结合充当受体。但是, 上述蛋白质是否通过与ATG8结合参与叶绿体自噬, 仍需进一步验证。

2.4 内质网自噬受体

ATI1和ATI2是首次在植物中报道的ER自噬受体, 通过位于胞质N端AIM和ATG8结合^[20]。碳饥饿将ER网络ATI1和ATI2分离成球形小体, 随后与ATG8结合运输到液泡。最新研究发现, 位于ER的膜类固醇结合蛋白1 (membrane steroid binding protein 1, MSBP1) 作为自噬降解物与ATI1和ATI2的C端相互作用^[22]。ATI独特之处在于既参与叶绿体自噬, 也参与ER自噬。因此, 阐明ATI-ER和ATI-PS之间关系将是今后研究重点。

此外, ATI3是双子叶植物ER自噬受体^[21]。拟南芥3个相关ATI3 (ATI3a/b/c), 都通过C端LIR基序与ATG8结合。此外, ATI3a与ER定位泛素相关蛋白 (ubiquitin associated proteins, UBAC)

2a/b 相互作用, 参与 ER 降解^[21]。ATI3a/b/c 与 ATG8 相互作用还在植物抗逆性和抗病性方面发挥作用。进一步研究表明, ER 小体成分 NAI2 与 *At4g15545* 基因编码未知蛋白质相互作用, 该蛋白质可能与 UBAC2 相互作用^[27]。

ER 膜蛋白 AtSec62 也是植物 ER 自噬受体家族成员^[28-29], 具有 3 个跨膜结构域, 其 C 端面向 ER 腔。缺失突变体 *Atsec62* 营养生长受损、花粉异常和生育力下降, 并且对衣霉素诱导 ER 应激敏感。因此, AtSec62 是植物发育必需的, 且作为 ER 自噬受体起作用^[28]。但是, AtSec62 如何调节 ER 自噬仍然未知。

另外, 可溶性蛋白 AtC53 和类泛素化 (Ufmylation) 系统核心成分泛素折叠修饰物 1 特异性连接酶 1 (ubiquitin-fold modifier1-specific ligase 1, UFL1) 作为 ER 自噬受体, 可与 ATG8 直接结合^[30-31]。C53 蛋白与典型 AIM 不同, 通过固有序区域 AIM (shuffled AIM, sAIM) 与 ATG8 结合, 在 ER 应激期间招募到自噬小体, 且缺失突变体 *c53* 对 ER 应激高度敏感。UFL1 在盐胁迫时与 ATG8 直接结合, 且和泛素折叠修饰物 1 (ubiquitin-fold modifier 1, UFM1)、ATG1、ATG6 相互作用, 在持续盐胁迫时通过 ER 自噬维持 ER 动态平衡^[31]。同时, C53 与 UFL1 以及 ER 定位膜受体 DDRGK 结构域包含蛋白 (DDRGK1) 相互作用, 形成 C53-UFL1-DDRGK1 复合体感知 ER 应激并参与调控^[32]。UFM1 当核糖体停滞在 ER 时, 从 C53 转移到核糖体上, 激活 C53 途径回收停滞合成新生肽。因此, C53 将 ER 自噬与核糖体相关蛋白质质量控制联系起来, 并且在 ER 胁迫时发挥重要功能。但是, ER 自噬如何与其他 ER 质量控制相互作用仍是未知的。

玉米网状蛋白 1 (reticulon 1, Rtn1) 和 ZmRtn2 也是植物 ER 自噬受体家族成员^[33]。ZmRtn1 和 ZmRtn2 在胚乳中表达, 并位于 ER 管状结构。ZmRtn1 和 ZmRtn2 利用位于 C 端、胞质环和跨膜区域的 4 个 AIMs 与 ATG8a 相互作用, 控制 ER 稳态和胚乳糊粉层细胞自噬水平^[33]。ZmRtn2 和 ATG8 结合在 ER 应激时升高, 而且 *Zmrtn2* 突变体表现出自噬增加和 ER 应激反应上调。

2.5 过氧化物酶体自噬受体

过氧化物酶体生物发生因子 (peroxisomal biogenesis factor, PEX) 10 是通过酵母双杂交实验发现的一种 ATG8 结合蛋白^[6]。进一步研究证明,

AtPEX6 和 AtPEX10 通过 AIM 与 ATG8 结合^[34]。因此, AtPEX10 可能作为过氧化物酶体自噬受体发挥作用。AtATG11 是拟南芥中毕赤酵母 (*Pichia pastoris*, Pp) ATG11 和 PpATG17 的同源蛋白质, 在线粒体自噬和非选择性自噬中均发挥作用。但 AtATG11 是否参与植物过氧化物酶体自噬, 依然未知。

另外, 泛素结合蛋白 KAR2 显性抑制因子 (dominant suppressor of KAR2, DSK2), 作为穿梭因子将多聚泛素化底物转运至蛋白酶体, 也可能是植物过氧化物酶体自噬受体^[35]。AtDSK2 与转录因子 BES1 结合, 并通过 AIM 与 ATG8e 结合, 在应激时参与 BES1 自噬降解^[36]。DSK2 还与 PEX2 和 PEX12 的 RING 结构域相互作用^[35]。然而, DSK2 是否参与植物过氧化物酶体自噬尚未得到证实。

LON 蛋白酶 2 (LON protease 2, LON2) 是一种 ATP 水解酶, 可以抑制过氧化物酶体自噬。LON2 缺失导致过氧化物酶体自噬增高, 过氧化物酶体数量减少^[37]。有趣的是, LON2 也含有 AIMs, 可能与 ATG8 相互作用。因此, 自噬可能通过降解 LON2, 从而解除其抑制自噬的功能。拟南芥与水稻 LON2 蛋白相似性超过 80%, 表明其功能在进化上高度保守。

2.6 蛋白酶体自噬受体 RPN10

蛋白质降解的 UPS 和自噬在功能上相互联系^[38]。拟南芥中首次发现 26S 蛋白酶体可通过蛋白酶体自噬选择性降解^[39]。最近在几种模式生物中均证实, 蛋白酶体自噬在营养缺乏或应激积累过多蛋白质时, 有助于细胞存活^[40-41]。调节颗粒非 ATP 酶 10 (regulatory particle non-ATPase 10, RPN10), 作为 26S 蛋白酶体亚基, 在 26S 蛋白酶体失活被充分泛素化时, 介导其选择性自噬降解。RPN10 含有 3 个 UIMs, 其中 C 端 UIM1 和 UIM2 分别结合泛素和 ATG8^[39]。有趣的是, 抑制剂诱导蛋白酶体自噬在 *rpn10* 突变体中受到阻碍, 但饥饿诱导的蛋白酶体自噬却不受影响^[42]。抑制剂诱导蛋白酶体自噬依赖 RPN10 与 ATG8 相互作用, 且在植物中高度保守。但 RPN10 与 ATG8 结合在酵母和动物中却不存在, 可能由于酵母的人类 RPN10 同源蛋白缺乏 ATG8 结合序列。饥饿激活蛋白酶体自噬不依赖 RPN10 或 NBR1 等自噬受体^[39]。因此, 氮饥饿和蛋白酶体抑制剂诱导不同途径的蛋白酶体自噬。

2.7 线粒体自噬受体ATG11和FMT

研究发现, *AtATG11* 是酵母 *ATG11* 或动物 *FIP200* 同源基因, 与氮饥饿诱导线粒体自噬相关^[43]。但植物ATG11蛋白和酵母ATG11序列同源性只有20%。*AtATG11* 可通过AIM直接与ATG8结合, 通过ATG13间接与ATG1相互作用^[44]。ATG11有助于连接ATG1/13激酶复合物并促进自噬小体靶向液泡, 但自噬小体组装并不需要ATG11。此外, ATG11与营养缺乏时ATG1/13复合物动态更新有关^[43-44]。然而, ATG11介导植物线粒体自噬机制尚不清楚。

植物特异线粒体定位蛋白FCS样锌指(FCS-like zinc finger, FLZ)和FMT(friendly), 也可能是线粒体自噬受体。研究发现, FLZ作为ATG8结合蛋白, 通过抑制SNF1相关激酶(SNF1-related kinase1, SnRK1) α 亚基T-loop磷酸化下调SnRK1信号通路, 负向调节自噬^[45]。而且AtFLZ-ATG8通过AIM-LDS界面相互作用, 选择性降解AtFLZ, 从而缓解对SnRK1信号抑制^[45]。此外, ATG8-FLZ-SnRK1调控在种子植物中高度保守, 且已证明, ZmFLZ14可与ATG8e直接结合参与线粒体自噬^[45]。除FLZ以外, FMT在去偶联剂引起线粒体膜电位去极化时, 聚集在受损线粒体周围与ATG8e共定位, 有助于自噬小体形成。同时, FMT也参与去黄化导致的线粒体自噬^[46]。但是, 还缺乏FMT与ATG8相互作用的直接证据。

2.8 核糖体自噬受体NUFIP

植物细胞液泡内发现完整核糖体, 表明植物存在核糖体自噬^[47]。拟南芥核脆性X-智力迟钝相互作用蛋白(nuclear fragile X mental retardation-interacting protein, NUFIP)是哺乳动物核糖体自噬受体NUFIP1同源蛋白^[48]。然而, 植物和哺乳动物NUFIP只有一个短保守序列, 介导与核心C/D snoRNP蛋白相互作用。因此, 尚不清楚AtNUFIP是否可充当核糖体自噬受体。

2.9 高尔基体自噬受体CLC2

网格蛋白轻链2(clathrin light chain 2, CLC2)可能是高尔基体自噬受体。研究表明, ATG8移向短期急性热应激(heat stress, HS)引起的空泡化高尔基体。同时, CLC2通过AIM-LDS对接位点与ATG8结合被其招募到高尔基体膜上自噬降解^[49]。相反, ATG8与CLC2结合丧失, ATG8不能靶向肿胀高尔基体, 导致HS后高尔基体恢复延迟。

2.10 ATG8结合蛋白介导非细胞器组分降解

拟南芥富含色氨酸的感觉蛋白(tryptophan-rich sensory protein, TSPO)是一种维持植物细胞游离血红素和卟啉浓度的膜蛋白, 属于TspO/线粒体外周苯二氮受体(mitochondrial peripheral benzodiazepine receptor, MBR)家族, 通过AIM与ATG8结合^[50]。研究发现, 脱落酸和非生物胁迫诱导AtTSPO升高^[51]。TSPO当应激诱导血红素升高时, 对血红素高度亲和, 并结合ATG8选择性清除血红素^[50]。此外, TSPO在非生物胁迫时, 与质膜内嵌蛋白PIP2;7(plasma membrane intrinsic protein 2;7, PIP2;7)结合, 诱导其自噬降解^[52]。有趣的是, 水稻OsTSPO预测包含AIMs, 但与AtTSPO作用模式不同^[53]。由于OsTSPO和AtTSPO之间同源性不到40%^[53], 推测OsTSPO由于AIM突变, 与OsATG8结合功能丧失, 由其他成分负责水通道、游离血红素和卟啉代谢。

另外, 一氧化氮(nitric oxide, NO)缺氧时诱导S-亚硝基谷胱甘肽还原酶(S-nitrosoglutathione reductase, GSNOR)1选择性自噬^[54]。GSNOR1是NO信号主要调控因子, 在正常情况下是稳定的。然而, GSNOR1缺氧时构象发生变化, 暴露出AIM与ATG8相互作用, 导致GSNOR1选择性降解^[54]。

3 其他ATG8结合蛋白

ATG8在动物体内参与多种胞内运输, LC3分别结合FYCO1和Rab7, 介导自噬小体沿微管向液泡运输^[55]。但是, 拟南芥9个FYCO1同源蛋白是否参与植物自噬小体运输, 仍需进一步验证^[56]。研究表明, 拟南芥多数Exo70亚基都具有AIM序列, Exo70B1和Exo70B2可能参与自噬小体转运^[57]。尽管缺乏Exo70B1与ATG8结合直接证据, 但已有Exo70B1与ATG8f共定位的报道^[58]。此外, Exo70B2已被证明通过AIM与ATG8结合, 且自噬依赖的运输到液泡^[59]。

此外, 植物特有运输所需的内体分选复合体(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)成分内体分选所需的FYVE结构域蛋白(FYVE domain protein required for endosomal sorting 1, FREE1), 参与营养缺乏时自噬小体闭合和过氧化物酶体/糖依赖性1(sugar dependent 1, SDP1)介导脂滴(lipid droplets, LDs)降解^[60]。研究发现, 植物能量传感器SnRK1 α 1磷酸化

FREE1, 并将其招募到自噬小体中促进闭合, 缺失突变体 *free1* 积累大量未闭合自噬小体^[61]。另外, *free1* 萌发时, 过氧化物酶体不能形成小管吞噬 LDs, LDs 降解受损。因此, FREE1 直接与 PEX11e 和 SDP1 相互作用, 调节过氧化物酶体小管延伸和 SDP1 向 LDs 运输。

基因沉默是研究蛋白质功能和发现降解类药物的重要方法。Luo 等^[62]发现, 利用人工制造的 ATG8 结合蛋白作为 SARs, 通过选择性自噬达到精准降解靶蛋白的目的。利用烟草瞬时表达系统, 已成功靶向降解胞质 mCherry、核定位 bZIP 转录因子 TGA5、质膜锚定油菜素类固醇受体 BRI1 以及过氧化物酶体^[62]。此外, 由于含有 AIM 的 SAR 在拟南芥中稳定表达, 基因沉默可成为操纵植物内源蛋白质水平的工具, 并为研究植物细胞质成分降解开辟新途径^[62]。

4 植物中不依赖于自噬的ATG8结合蛋白

ATG8 在控制植物衰老方面具有双重作用。正常条件下 ATG8 酯化并激活自噬延长植物寿命, 而含 2 个 AIMs 的多药及毒素外排 (multidrug and toxin compound extrusion, MATE) 转运蛋白 ABS3 促进拟南芥衰老^[63]。营养缺乏或自噬缺失时, ATG8 与 ABS3 结合, 非自噬依赖地促进 ABS3 降解和植物衰老。值得注意的是, 单子叶植物 ABS3 也含有 2 个高度保守 AIMs, 例如小麦 ABS 能够与 ATG8 结合。

除与自噬受体结合外, ATG8 蛋白还直接与底物结合使其降解。例如, 烟叶 ATG8f 蛋白可以靶向棉花卷曲木尔坦病毒 (cotton leaf curl mosaic virus, CLCuMuV) 毒力蛋白 β C1, 在没有 NBR1/Joka2 等降解物受体帮助下自噬降解^[64]。因此, 通过 ATG8 结合蛋白参与非选择性自噬也能够促进植物免疫。

5 结论与展望

近年来, 关于植物 ATG8 (a~i) 研究较多, 但其功能仍有许多未解之谜, 且植物 ATG8 多样性原因尚不清楚。同样, ATG8 (a~i) 在参与不同选择性自噬时, 如何与 SARs 作用尚不明确。表1系统总结了植物 ATG8 结合蛋白介导的自噬类型、与 ATG8 相互作用的基序及功能。ATG8 结合蛋白通过 AIM/UIM 结合 ATG8, 在植物选择性自噬, 自噬小体形成、转运及与液泡识别, 胞内运输, 植物衰老, 非自噬依赖植物免疫等多种过程中发挥重要作用。因此, 新的 ATG8 结合蛋白发掘和研究显得尤为重要。另外, 进一步研究 ATG8 结合蛋白对研究 ATG8 在自噬、植物选择性自噬和非自噬中的作用具有重要意义。由于自噬能够针对几乎所有细胞器及胞内物质降解, 从而有利于细胞在各种胁迫时质量控制。故发掘新的 ATG8 结合蛋白是一项令人期待和兴奋的研究。随着研究深入和新方法应用, 将更好地为探索 ATG8 结合蛋白结构、功能及其与 ATG8 相互作用界面提供新思路和新途径。

Table 1 The types of selective autophagy, the motifs interacting with ATG8 and the functions of ATG8 binding proteins in plants

表1 植物ATG8结合蛋白介导的自噬类型、与ATG8相互作用的基序及功能

植物ATG8 结合蛋白	自噬类型	与ATG8相互 作用基序	结合蛋白功能
NBR1	蛋白质聚集体自噬 ^[11]	C端AIM	蛋白质聚集体自噬受体, 引导泛素化蛋白质聚集体自噬降解
	病原体自噬 ^[14]	—	病原体自噬受体
	叶绿体自噬 ^[26]	—	参与叶绿体外膜蛋白到液泡中自噬降解
	叶绿体微自噬 ^[65]	UBA2	直接清除光损伤叶绿体
Joka2	蛋白质聚集体自噬 ^[12]	AIM	蛋白质聚集体自噬受体, 参与其降解
ORM1	病原体自噬 ^[17-18]	AIM	病原体自噬受体, 参与植物免疫受体FLS2降解
ATI1/2	叶绿体自噬 ^[23]	N端AIM	叶绿体自噬受体, 将基质蛋白和类囊体膜蛋白自噬降解
	内质网自噬 ^[22]	—	膜类固醇结合蛋白MSBP1受体; 内质网自噬受体
ATI3	内质网自噬 ^[21]	C端LIR	内质网自噬受体, 参与内质网相关降解; 在植物抗逆性和抗病性方面发挥作用
Sec62	内质网自噬 ^[28-29]	—	影响植物发育; 可能是内质网自噬受体

续表1

植物ATG8 结合蛋白	自噬类型	与ATG8相互 作用基序	结合蛋白功能
C53	内质网自噬 ^[30]	sAIM	将内质网自噬与核糖体相关蛋白质质量控制途径联系起来; 可能是内质网自噬受体
Rtn1/2	内质网自噬 ^[33]	AIM	控制ER稳态和胚乳糊粉细胞中的自噬通量; 可能是ER自噬受体
UFL1	内质网自噬 ^[31]	—	在盐胁迫下, 可能是ER自噬受体
AtPEX6/10	过氧化物酶体自噬 ^[34]	AIM	可能是过氧化物酶体自噬受体
DSK2	过氧化物酶体自噬 ^[35]	AIM	可能是过氧化物酶体自噬受体
	选择性自噬	—	转录因子BES1选择性自噬受体
LON2	选择性自噬 ^[37]	可能是AIM	抑制过氧化物酶体自噬
RPN10	蛋白酶体自噬 ^[39]	C端UIM2	蛋白酶体自噬受体, 参与蛋白酶体降解
FMT	线粒体自噬 ^[45]	—	线粒体自噬受体; 在发育过程中回收受损线粒体; 在去黄化过程中诱导线粒体自噬
NUFIP1	核糖体自噬 ^[47]	—	可能是核糖体自噬受体, 靶向降解核糖体
CLC2	高尔基体自噬 ^[49]	AIM	可能是高尔基体自噬受体, 清除肿胀高尔基体
TSPO	选择性自噬 ^[53]	AIM	胁迫期间, 结合和清除卟啉; 血红素自噬受体, 参与血红素降解; 非生物胁迫时, 参与膜水通道蛋白PIP2;7自噬降解
FLZ14	选择性自噬 ^[46]	—	参与调节SnRK1; 可能是线粒体自噬受体
FREE1	选择性自噬 ^[60]	—	参与调控自噬小体闭合
			在过氧化物酶体/SDP1参与脂滴转换中起作用
FYCO1	自噬小体运输 ^[56]	—	可能参与自噬小体靶向液泡
Exo70B1/2	自噬小体运输 ^[57]	AIM	可能参与自噬小体转运
GSNOR1	非选择性自噬 ^[54]	AIM	参与调控NO信号
ABS3	非选择性自噬 ^[63]	AIM	在营养或自噬缺乏条件下, 与ATG8结合, 非自噬依赖的促进ABS3降解和植物衰老

“—”表示未发现与ATG8作用基序。

参 考 文 献

[1]

Kellner R, De La Concepcion J C, Maqbool A, *et al.* ATG8 expansion: a driver of selective autophagy diversification?. Trends Plant Sci, 2017, **22**(3): 204-214

[2]

Liu X M, Yamasaki A, Du X M, *et al.* Lipidation-independent vacuolar functions of Atg8 rely on its noncanonical interaction with a vacuole membrane protein. Elife, 2018, **7**: e41237

[3]

Aniento F, Sánchez De Medina Hernández V, Dagdas Y, *et al.* Molecular mechanisms of endomembrane trafficking in plants. Plant Cell, 2022, **34**(1): 146-173

[4]

Johansen T, Lamark T. Selective autophagy: ATG8 family proteins, LIR motifs and cargo receptors. J Mol Biol, 2020, **432**(1): 80-103

[5]

Maqbool A, Hughes R K, Dagdas Y F, *et al.* Structural basis of host autophagy-related protein 8 (ATG8) binding by the Irish potato famine pathogen effector protein PexRD54. J Biol Chem, 2016, **291**(38): 20270-20282

[6]

Marshall R S, Hua Z, Mali S, *et al.* ATG8-binding UIM proteins define a new class of autophagy adaptors and receptors. Cell, 2019, **177**(3): 766-781

[7]

Marshall R S, Vierstra R D. Autophagy: the master of bulk and selective recycling. Annu Rev Plant Biol, 2018, **69**: 173-208

[8]

Khaminets A, Beh C, Dikic I. Ubiquitin-dependent and independent signals in selective autophagy. Trends Cell Biol, 2016, **26**(1): 6-16

[9]

Prosser S L, Tkach J, Gheiratmand L, *et al.* Aggresome assembly at the centrosome is driven by CP110-CEP97-CEP290 and centriolar satellites. Nat Cell Biol, 2022, **24**(4): 483-496

[10]

Zellner S, Schifferer M, Behrends C. Systematically defining selective autophagy receptor-specific cargo using autophagosome content profiling. Mol Cell, 2021, **81**(6): 1337-1354.e1338

[11]

Zhang Y, Chen Z X. Broad and complex roles of NBR1-mediated selective autophagy in plant stress responses. Cell, 2020, **9**(12): 2562

[12]

Zientara-Rytter K, Lukomska J, Moniuszko G, *et al.* Identification and functional analysis of Joka2, a tobacco member of the family of selective autophagy cargo receptors. Autophagy, 2011, **7**(10): 1145-1158

[13]

Jung H, Lee H N, Marshall R S, *et al.* Arabidopsis cargo receptor NBR1 mediates selective autophagy of defective proteins. J Exp Bot, 2020, **71**(1): 73-89

[14]

Zeng Y, Xu S, Wei Y, *et al.* The PB1 protein of influenza A virus inhibits the innate immune response by targeting MAVS for NBR1-mediated selective autophagic degradation. PLoS Pathog, 2021, **17**(2): e1009300

[15]

Hafrén A, Macia J-L, Love A J, *et al.* Selective autophagy limits cauliflower mosaic virus infection by NBR1-mediated targeting of viral capsid protein and particles. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, **114**(10): E2026-E2035

- [16] Hafrén A, Üstün S, Hochmuth A, *et al.* Turnip mosaic virus counteracts selective autophagy of the viral silencing suppressor HCpro. *Plant Physiol*, 2018, **176**(1): 649-662
- [17] Yang F, Kimberlin A N, Elowsky C G, *et al.* A plant immune receptor degraded by selective autophagy. *Mol Plant*, 2019, **12**(1): 113-123
- [18] Li J, Yin J, Rong C, *et al.* Orosomucoid proteins interact with the small subunit of serine palmitoyltransferase and contribute to sphingolipid homeostasis and stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2016, **28**(12): 3038-3051
- [19] Kimberlin A N, Han G, Luttgeharm K D, *et al.* ORM expression alters sphingolipid homeostasis and differentially affects ceramide synthase activity. *Plant Physiol*, 2016, **172**(2): 889-900
- [20] Sjøgaard I M Z, Bressendorff S, Prestel A, *et al.* The transmembrane autophagy cargo receptors ATI1 and ATI2 interact with ATG8 through intrinsically disordered regions with distinct biophysical properties. *Biochem J*, 2019, **476**: 449-465
- [21] Zhou J, Wang Z, Wang X, *et al.* Dicot-specific ATG8-interacting ATI3 proteins interact with conserved UBAC2 proteins and play critical roles in plant stress responses. *Autophagy*, 2018, **14**(3): 487-504
- [22] Wu J, Michaeli S, Picchianti L, *et al.* ATI1 (ATG8-interacting protein 1) and ATI2 define a plant starvation-induced reticulophagy pathway and serve as MSBP1/MAPR5 cargo receptors. *Autophagy*, 2021, **17**(11): 3375-3388
- [23] Otegui M S. Vacuolar degradation of chloroplast components: autophagy and beyond. *J Exp Bot*, 2018, **69**(4): 741-750
- [24] Fan J, Zhai Z, Yan C, *et al.* *Arabidopsis* TRIGALACTOSYLDIACYLGLYCEROL5 interacts with TGD1, TGD2, and TGD4 to facilitate lipid transfer from the endoplasmic reticulum to plastids. *Plant Cell*, 2015, **27**(10): 2941-2955
- [25] Liu W, Liu Z, Mo Z, *et al.* ATG8-interacting motif: evolution and function in selective autophagy of targeting biological processes. *Front Plant Sci*, 2021, **12**: 783881
- [26] Wan C, Zhang H, Cheng H, *et al.* Selective autophagy regulates chloroplast protein import and promotes plant stress tolerance. *EMBO J*, 2023: e112534
- [27] Wang Z, Li X, Liu N, *et al.* A family of NAI2-interacting proteins in the biogenesis of the ER body and related structures. *Plant Physiol*, 2019, **180**(1): 212-227
- [28] Mitterreiter M J, Bosch F A, Brylok T, *et al.* The ER luminal C-terminus of AtSec62 is critical for male fertility and plant growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2020, **101**(1): 5-17
- [29] Hu S, Ye H, Cui Y, *et al.* AtSec62 is critical for plant development and is involved in ER-phagy in *Arabidopsis thaliana*. *J Integr Plant Biol*, 2020, **62**(2): 181-200
- [30] Stephani M, Picchianti L, Dagdas Y. C53 is a cross-kingdom conserved reticulophagy receptor that bridges the gap between selective autophagy and ribosome stalling at the endoplasmic reticulum. *Autophagy*, 2021, **17**(2): 586-587
- [31] Li B, Niu F, Zeng Y, Tse M K, *et al.* Ufmylation reconciles salt stress-induced unfolded protein responses via ER-phagy in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, **120**(5): e2208351120
- [32] Stephani M, Picchianti L, Gajic A, *et al.* A cross-kingdom conserved ER-phagy receptor maintains endoplasmic reticulum homeostasis during stress. *Elife*, 2020, **9**: e58396
- [33] Zhang X, Ding X, Marshall R S, *et al.* Reticulon proteins modulate autophagy of the endoplasmic reticulum in maize endosperm. *Elife*, 2020, **9**: e51918
- [34] Xie Q, Tzfadia O, Levy M, *et al.* hfAIM: a reliable bioinformatics approach for *in silico* genome-wide identification of autophagy-associated Atg8-interacting motifs in various organisms. *Autophagy*, 2016, **12**(5): 876-887
- [35] Kaur N, Zhao Q, Xie Q, *et al.* Arabidopsis RING peroxins are E3 ubiquitin ligases that interact with two homologous ubiquitin receptor proteins(F). *J Integr Plant Biol*, 2013, **55**(1): 108-120
- [36] Nolan T M, Brennan B, Yang M, *et al.* Selective autophagy of BES1 mediated by DSK2 balances plant growth and survival. *Dev Cell*, 2017, **41**(1): 33-46.e37
- [37] Bartel B, Farmer L M, Rinaldi M A, *et al.* Mutation of the *Arabidopsis* LON2 peroxisomal protease enhances pexophagy. *Autophagy*, 2014, **10**(3): 518-519
- [38] Ji C H, Kwon Y T. Crosstalk and interplay between the ubiquitin-proteasome system and autophagy. *Mol Cells*, 2017, **40**(7): 441-449
- [39] Marshall R S, Li F, Gemperline D C, *et al.* Autophagic degradation of the 26S proteasome is mediated by the dual ATG8/ubiquitin receptor RPN10 in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, 2015, **58**(6): 1053-1066
- [40] Yu P, Hua Z. The ubiquitin-26S proteasome system and autophagy relay proteome homeostasis regulation during silique development. *Plant J*, 2022, **111**(5): 1324-1339
- [41] Waite K A, Burris A, Vontz G, *et al.* Proteaphagy is specifically regulated and requires factors dispensable for general autophagy. *J Biol Chem*, 2022, **298**(1): 101494
- [42] Wen X, Klionsky D J. The proteasome subunit RPN10 functions as a specific receptor for degradation of the 26S proteasome by macroautophagy in *Arabidopsis*. *Autophagy*, 2016, **12**(6): 905-906
- [43] Li F, Chung T, Vierstra R D. AUTOPHAGY-RELATED11 plays a critical role in general autophagy- and senescence-induced mitophagy in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2014, **26**(2): 788-807
- [44] Li F, Vierstra R D. *Arabidopsis* ATG11, a scaffold that links the ATG1-ATG13 kinase complex to general autophagy and selective mitophagy. *Autophagy*, 2014, **10**(8): 1466-1467
- [45] Yang C, Li X, Yang L, Chen S, *et al.* A positive feedback regulation of SnRK1 signaling by autophagy in plants. *Mol Plant*, 2023, **16**(7): 1192-1211
- [46] Ma J, Liang Z, Zhao J, *et al.* Friendly mediates membrane depolarization-induced mitophagy in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2021, **31**: 1931-1944
- [47] Bassham D C, Macintosh G C. Degradation of cytosolic ribosomes by autophagy-related pathways. *Plant Sci*, 2017, **262**: 169-174
- [48] Wyant G A, Abu-Remaileh M, Frenkel E M, *et al.* NUFIP1 is a ribosome receptor for starvation-induced ribophagy. *Science*,

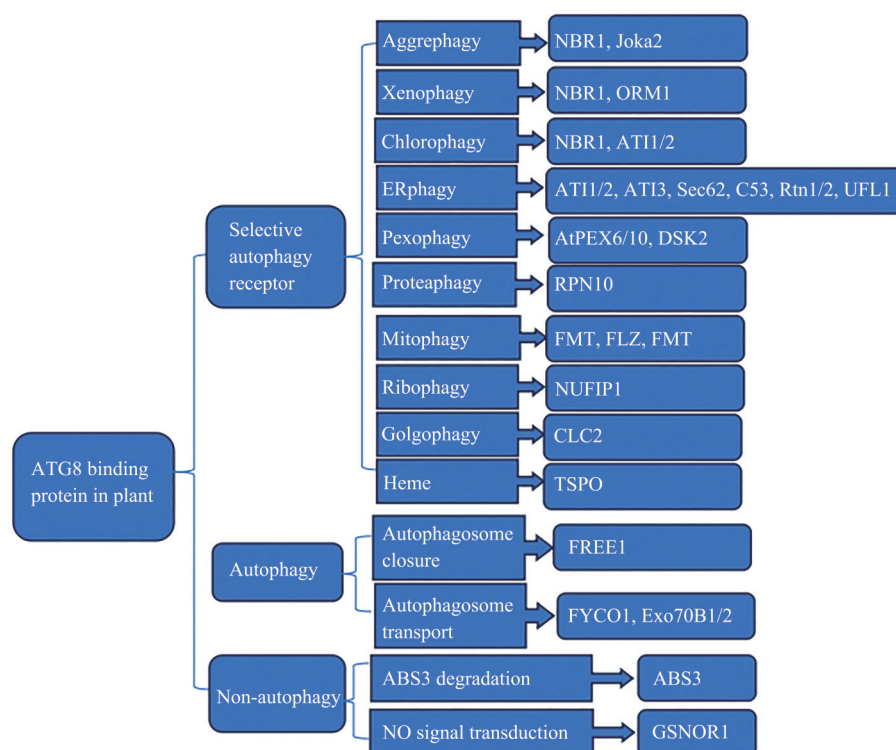
- 2018, **360**(6390): 751-758
- [49] Zhou J, Ma J, Yang C, *et al.* A non-canonical role of ATG8 in Golgi recovery from heat stress in plants. *Nat Plant*, 2023, **9**(5): 749-765
- [50] Vanhee C, Zapotoczny G, Masquelier D, *et al.* The *Arabidopsis* multistress regulator TSPO is a heme binding membrane protein and a potential scavenger of porphyrins *via* an autophagy-dependent degradation mechanism. *Plant Cell*, 2011, **23**(2): 785-805
- [51] Jurkiewicz P, Batoko H. Protein degradation mechanisms modulate abscisic acid signaling and responses during abiotic stress. *Plant Sci*, 2018, **267**: 48-54
- [52] Hachez C, Veljanovski V, Reinhardt H, *et al.* The *Arabidopsis* abiotic stress-induced TSPO-related protein reduces cell-surface expression of the aquaporin PIP2; 7 through protein-protein interactions and autophagic degradation. *Plant Cell*, 2014, **26**(12): 4974-4990
- [53] Jurkiewicz P, Senicourt L, Ayeb H, *et al.* A plant-specific N-terminal extension reveals evolutionary functional divergence within translocator proteins. *Iscience*, 2020, **23**(3): 100889
- [54] Zhan N, Wang C, Chen L, *et al.* S-Nitrosylation targets GSNO reductase for selective autophagy during hypoxia responses in plants. *Mol Cell*, 2018, **71**(1): 142-154
- [55] Saridaki T, Nippold M, Dinter E, *et al.* FYCO1 mediates clearance of α -synuclein aggregates through a Rab7-dependent mechanism. *J Neurochem*, 2018, **146**(4): 474-492
- [56] Wywiał E, Singh S M. Identification and structural characterization of FYVE domain-containing proteins of *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol*, 2010, **10**: 157
- [57] Wang W, Liu N, Gao C, *et al.* The *Arabidopsis* exocyst subunits EXO70B1 and EXO70B2 regulate FLS2 homeostasis at the plasma membrane. *New Phytol*, 2020, **227**(2): 529-544
- [58] Kulich I, Pecenkova T, Sekeres J, *et al.* *Arabidopsis* exocyst subcomplex containing subunit EXO70B1 is involved in autophagy-related transport to the vacuole. *Traffic*, 2013, **14**(11): 1155-1165
- [59] Brillada C, Teh O K, Ditengou F A, *et al.* Exocyst subunit Exo70B2 is linked to immune signaling and autophagy. *Plant Cell*, 2021, **33**(2): 404-419
- [60] Zeng Y, Li B, Huang S, *et al.* The plant unique ESCRT component FREE1 regulates autophagosome closure. *Nat Commun*, 2023, **14**: 1768
- [61] Huang S, Liu Z, Cao W, *et al.* The plant ESCRT component FREE1 regulates peroxisome-mediated turnover of lipid droplets in germinating *Arabidopsis* seedlings. *Plant Cell*, 2022, **34**: 4255-4273
- [62] Luo N, Shang D, Tang Z, *et al.* Engineered ATG8-binding motif-based selective autophagy to degrade proteins and organelles in planta. *New Phytol*, 2023, **237**: 684-697
- [63] Jia M, Liu X, Xue H, *et al.* Noncanonical ATG8-ABS3 interaction controls senescence in plants. *Nat Plants*, 2019, **5**(2): 212-224
- [64] Haxim Y, Ismayil A, Jia Q, *et al.* Autophagy functions as an antiviral mechanism against geminiviruses in plants. *Elife*, 2017, **6**: e23897
- [65] Lee H N, Chacko J V, *et al.* The autophagy receptor NBR1 directs the clearance of photodamaged chloroplasts. *Elife*, 2023, **12**: e86030

The Plant ATG8-binding Proteins*

ZHANG Feng-Juan, JING Hong-Juan**, ZHOU Guang-Zhou, QIN Shuai-Jia, HAN Chu-Yan

(College of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Graphical abstract



Abstract ATG8-binding proteins play a key role in autophagy, selective autophagy or non-autophagy process by interacting between ATG8 and the ATG8-interacting motif (AIM) or the ubiquitin-interacting motif (UIM). There is great progress of ATG8-binding proteins in yeast and mammalian studies. However, the plant domain is still lagging behind. Therefore, the structure characteristics of plant ATG8 binding protein were firstly outlined. Unlike the single copy of *ATG8* gene in yeast, many homologous genes have been identified in plant. The LIR/ AIM-docking site (LDS) of ATG8 protein contains W and L pockets and is responsible for binding to AIM. The ATG8 protein binds to UIM-containing proteins *via* UIM-docking site (UDS) instead of LDS. UDS is in the opposite position to LDS, so the ATG8 can bind both AIM and UIM proteins. Secondly, the structure and function of ATG8-

* This work was supported by grants from The Innovation Found of Henan University of Technology (2021ZKCJ16) and Teaching Reform Research and Practice Project of School of International Education, Henan University of Technology (GJXY202319).

** Corresponding author.

Tel: 86-18623718506, E-mail: hjjing@haut.edu.cn

Received: August 6, 2023 Accepted: October 30, 2023

binding proteins, especially the selective autophagy receptors, were systematically described. The protein NBR1 and Joka2, as proteaphagy receptors, guide ubiquitination protein aggregates to autophagosome for degradation by binding to AIM and ATG8 in *Arabidopsis* and tobacco, respectively. AtNBR1 also promotes plant immunity by binding the capsid protein of cauliflower mosaic virus and silencing suppressor HCpro of turnip mosaic virus, mediating pathogen autophagy. AtNBR1 still degrades chloroplast by microautophagy under photoinjury or chlorophagy during biotic stress. And the protein ORM mediates the degradation of plant immune receptor flagellin sensing 2 (FLS2) through AIM binding to ATG8. Interestingly, ATI1 and ATI2 participate in both chlorophagy and ERphagy. Otherwise, ER membrane protein AtSec62, soluble protein AtC53, and ubiquitin-fold modifier1-specific ligase 1 (UFL1) can be directly bound to ATG8 as ER autophagy receptors. As pexophagy receptor, AtPEX6 and AtPEX10 bind to ATG8 via AIM and participate in pexophagy. RPN10, as a 26S proteasome subunit, whose C-terminal UIM1 and UIM2 bind ubiquitin and ATG8, respectively, mediates the selective autophagy degradation of 26S proteasome inactivation when fully ubiquitinated. Plant-specific mitochondrial localization proteins FCS-like zinc finger (FLZ) and friendly (FMT) may also be mitophagy receptors. CLC2 binds to ATG8 via the AIM-LDS docking site and is recruited to autophagy degradation on the Golgi membrane. The tryptophan-rich sensory protein (TSPO) in *Arabidopsis* was involved in clearing free heme, porphyrin and plasma membrane intrinsic protein 2;7 (PIP2;7) through the combination of AIM and ATG8. The conformation of GSNOR1 changes during anoxia, exposing the interaction between AIM and ATG8, leading to selective degradation of GSNOR1. At last, the ATG8 binding proteins involved in autophagosome closure, transport and synthetic synthesis was summarized. For example, plant-specific FYVE domain protein required for endosomal sorting 1 (FREE1) is involved in the closure of autophagosomes during nutrient deficiency. Therefore, according to the recent research advances, the structure and function of plant ATG8-binding proteins were systematically summarized in this paper, in order to provide new ideas for the study of plant selective autophagy and autophagy.

Key words ATG8-binding protein, autophagy receptor, plant selective autophagy

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0318