

黄晓, 邓桂玲, 李发强. 基于细胞自噬的靶向降解技术及在植物研究中的应用前景 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(6): 97-106.
HUANG Xiao, DENG Guiling, LI Faqiang. Targeting autophagic degradation techniques and potential applications in plant science[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(6): 97-106.

特约综述

基于细胞自噬的靶向降解技术及在植物研究中的应用前景

黄 晓¹, 邓桂玲¹, 李发强^{1,2}

(1 华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642; 2 广东省农业生物

蛋白质功能与调控重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要: 靶向降解技术是一类利用真核细胞内天然存在的降解机制对胞内有害物质进行特异降解、以维持和改善细胞稳态的重要技术。该技术主要通过泛素-蛋白酶体系统 (Ubiquitin-proteasome system, UPS) 和自噬-溶酶体途径 (Autophagy-lysosome pathway), 特异性清除细胞内错误折叠或聚集的蛋白质、大分子复合物、受损或老化的细胞器及一些非蛋白类物质。其中基于细胞自噬的靶向降解技术具有专一性强、底物种类广泛等诸多特征, 使其成为一备受期待的技术, 有望应用于神经退行性疾病、代谢性疾病等多种疾病的治疗。目前这一技术的应用潜能还远未被完全开发, 特别是在植物研究领域。本综述首先详细介绍了各类基于自噬-溶酶体途径的靶向降解技术的作用机制、特点以及优势; 并且结合华南农业大学李发强教授课题组的研究工作, 着重介绍了设计和改造植物选择性自噬衔接蛋白方面的研究和设想, 以期达到将对植物生长发育不利的因子经由细胞自噬转运并区室化隔离于液泡的目的, 进而开发能够抵御病毒侵染或抵抗有害物质的农作物新品种; 最后展望了靶向自噬的降解技术在植物科学研究和农业生产中的潜在应用前景和所面临的挑战。

关键词: 靶向降解技术; 自噬; 选择性自噬; 自噬衔接蛋白; 液泡

中图分类号: Q-31; Q942

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2022)06-0097-10

Targeting autophagic degradation techniques and potential applications in plant science

HUANG Xiao¹, DENG Guiling¹, LI Faqiang^{1,2}

(1 College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 Guangdong Provincial Key Laboratory of Protein Function and Regulation

in Agricultural Organisms, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Targeted degradation techniques use the naturally existing degradation mechanism(s) in eukaryotic cells to specifically degrade harmful substances to maintain and improve cellular homeostasis. The techniques specifically remove misfolded or aggregated proteins, macromolecular complexes, damaged or aged organelles, and some non-protein substances via the ubiquitin-proteasome system (UPS) and the autophagy-lysosome pathway. Among these techniques, the targeting autophagic degradation techniques have many characteristics

收稿日期: 2022-08-26 网络首发时间: 2022-10-10 11:05:30

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20221008.1554.002.html>

作者简介: 黄 晓, 讲师, 博士, 主要从事植物细胞生物学研究, E-mail: xiaohuang@scau.edu.cn; 通信作者: 李发强, 教授, 博士, 主要从事植物细胞生物学研究, E-mail: fqli@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (32070195, 31970307)

such as high target selectivity and wide substrate scope, making them promising techniques for the treatment of neurodegenerative diseases, metabolic diseases, and other diseases. At present, the application potential of these techniques is far from being fully developed, especially in the field of plant science. This review details the mechanisms, characteristics, and advantages of targeted degradation techniques based on the autophagy-lysosomal pathway. Moreover, combined with the recent research work of Professor Li Faqiang group in South China Agricultural University, this review focuses on the research of designing and modifying the autophagy adaptors to transport those factors unfavorable to plant growth and development via selective autophagy to the vacuole for compartmentation, so as to develop new crop varieties that can resist viral infection or toxic abiotic components. This review ends with a discussion of the potential applications and challenges of targeted autophagic degradation techniques in plant science and agricultural production.

Key words: Targeting degradation technique; Autophagy; Selective autophagy; Autophagy adaptor; Vacuole

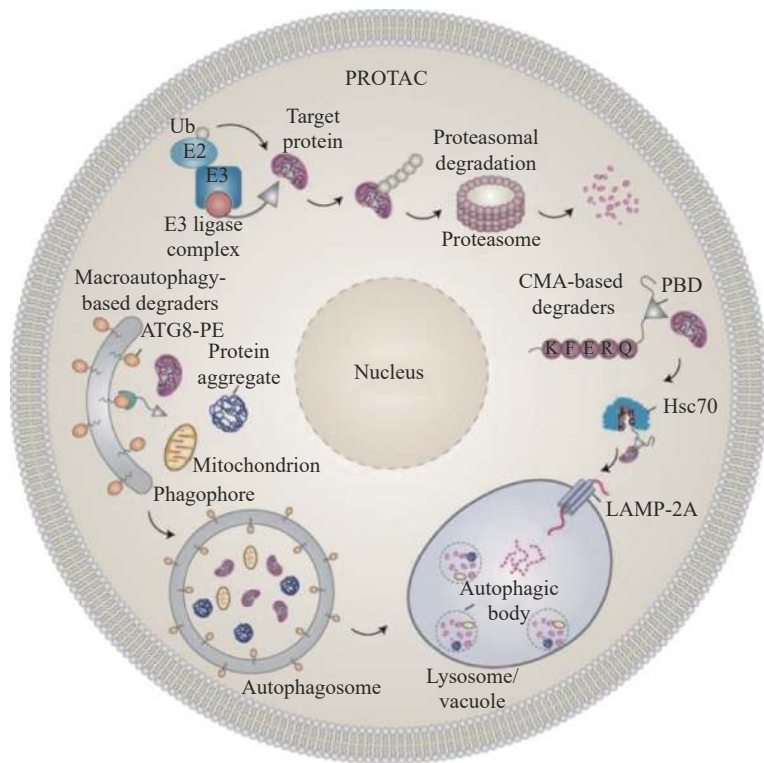
靶向降解技术是一类利用真核细胞内天然存在的降解机制对胞内有害物质进行特异、高效降解的重要技术。该技术主要是通过泛素-蛋白酶体系统 (Ubiquitin-proteasome system, UPS) 和自噬-溶酶体途径 (Autophagy-lysosome pathway), 清除细胞内错误折叠或聚集的蛋白、大分子复合物、受损或老化的细胞器及一些非蛋白类物质 (如脂类)^[1]。靶向降解技术的概念可以追溯到 2001 年, Crews 和 Deshaies 等学者针对传统药物研发的诸多局限性提出靶向蛋白降解 (Targeted protein degradation, TPD) 技术^[2]。传统的药物研发主要集中于筛选能结合靶蛋白 (Protein of interest, POI) 的活性位点并改变其活性的小分子, 而 TPD 技术的策略是通过直接诱导靶蛋白的泛素化以促进其降解, 进而达到治疗疾病的目的。TPD 技术的兴起在一定程度上解决了诸多缺乏明显活性位点的、“不可成药”蛋白的药物开发所面临的困境^[3]。这一降解技术的概念最初只是针对降解致病蛋白提出的, 而随着降解技术的突破和降解系统的扩展, 其降解对象已经拓展至蛋白聚集体、细胞器和一些非蛋白类物质^[1, 4]。

靶向降解技术最初主要是利用 UPS 对目标蛋白进行降解。UPS 是负责细胞内源性蛋白降解的主要途径, 许多调控细胞生命活动的关键蛋白如细胞周期调控蛋白和信号转导关键因子, 均受到该系统的精确调控。当细胞通过 UPS 降解蛋白时, 首先经由泛素激活酶 (E1)、泛素偶联酶 (E2) 和泛素连接酶 (E3) 的级联反应将蛋白底物泛素化, 形成多聚泛素链, 进而被 26S 蛋白酶体识别并降解^[5]。基于这种降解机制, Sakamoto 等^[2]研发了蛋白水解靶向嵌合体 (Proteolysis-targeting chimera, PROTAC) 技术。PROTAC 是一类双功能的小分子或多肽化合物, 其中含有靶向目标蛋白的配体、募集 E3 酶的配

体以及连接这 2 个配体的接头。该技术的原理是通过 PROTAC 分子同时与目标蛋白和 E3 酶结合, 形成三元复合物 POI-PROTAC-E3, 使目标蛋白泛素化, 随后被 UPS 降解 (图 1)。自面世以来, PROTAC 技术发展迅速, 为众多“不可成药”的靶标蛋白提供了全新的降解策略^[6]。目前针对 PROTAC 技术存在的问题和缺点, 研究人员不断开发各种新型 PROTACs, 以拓展该技术的应用场景。例如扩展可用于 PROTAC 技术的 E3 酶, 以拓展靶向蛋白降解对象^[1]; 引入细胞穿膜肽以提高多肽类 PROTAC 分子的细胞通透性^[7]; 加入光调控元件, 提高 PROTACs 分子靶向性等^[8]。尽管 PROTAC 技术发展得很快, 但其作用的发挥必须依赖于 UPS, 在降解膜蛋白、不溶性蛋白聚集体、受损的细胞器和非蛋白类物质方面仍然有诸多限制。

近年来, 研究人员开始将目光转向真核细胞内的另一个保守的降解体系——自噬-溶酶体途径, 相继开发了一系列基于自噬途径的新型靶向降解技术, 包括分子伴侣介导的自噬 (Chaperone-mediated autophagy, CMA) 嵌合体技术、自噬体绑定化合物 (Autophagosome-tethering compound, ATTEC) 技术、自噬靶向嵌合体 AUTAC (Autophagy-targeting chimera) 技术和 AUTOTAC (AUTOPhagy-TArgeting Chimera) 技术^[4]。这些靶向降解技术通过自噬-溶酶体途径, 不仅能特异降解细胞内的可溶性蛋白, 还能特异降解不溶性蛋白聚集体、大分子复合物和碎片化的细胞器如线粒体等, 有望应用于神经退行性疾病、代谢性疾病等多种疾病的治疗。

华南农业大学李发强教授课题组 (本课题组) 近年来在植物中也开展了一些基于自噬-液泡途径的靶向降解技术的探索性工作。本综述首先详细介绍了各类基于自噬-溶酶体途径的靶向降解技



依赖于泛素-蛋白酶体系统的蛋白水解靶向嵌合体 (PROTAC) 技术可以通过蛋白酶体降解细胞内的目标蛋白; 利用自噬-溶酶体/液泡降解途径的新技术有可能降解胞内蛋白、蛋白聚集体、受损或老化的细胞器、病毒等物质, 包括基于巨自噬和基于分子伴侣介导的自噬 (CMA) 的靶向降解技术

The proteolysis-targeting chimera (PROTAC) degrades the target proteins via the ubiquitin-proteasome system. Novel techniques based on the autophagy-lysosome/vacuole pathway are anticipated to be applied to remove the target or aggregated proteins, damaged or aged organelles, and viruses, etc. The macroautophagy-based degraders and the chaperone-mediated autophagy (CMA)-based degraders are two of the examples

图 1 基于泛素-蛋白酶体系统和自噬-溶酶体/液泡途径的靶向降解技术

Fig. 1 Targeted degradation techniques based on the ubiquitin-proteasome system and the autophagy-lysosome/vacuole pathway

术的作用机制、特点以及优势; 并且结合本课题组的研究工作, 着重介绍了设计和改造植物选择性自噬衔接蛋白方面的研究和设想, 以期达到将对植物生长发育不利的因子经由细胞自噬转运并区室化隔离于液泡的目的, 进而开发能够抵御病毒侵染或抵抗有害物质的农作物新品种; 最后展望了靶向自噬的降解技术在植物科学研究和农业生产中的潜在应用前景和所面临的挑战。

1 基于细胞自噬的靶向降解技术

细胞自噬 (Autophagy) 是真核生物中一类高度保守的、依赖于溶酶体 (动物) 和液泡 (植物和酵母) 的代谢途径。细胞通过自噬将胞内功能受损的蛋白、细胞器或外源成分降解成生物小分子, 以维持胞内环境稳定和促进营养物质的循环利用。根据形成和作用机理的不同, 自噬分为分子伴侣介导的自噬 (Chaperone-mediated autophagy, CMA)、微自噬 (Microautophagy) 和巨自噬 (Macroautophagy)^[9-10]。CMA 是指在伴侣蛋白的识别和协助下, 目标蛋白去折叠, 经由溶酶体膜上的受体转运入溶酶体腔内降解, 目前该机制的报道仅限于动物细胞。与

CMA 不同, 微自噬和巨自噬均涉及囊泡形成。微自噬是指溶酶体或液泡直接通过膜内陷的方式包裹待降解的胞内物质, 然后吞噬入液泡腔内进行降解的过程。巨自噬的发生则需要一系列的自噬相关 (AuTophagy-related, ATG) 蛋白相互协调, 按照一定的步骤发挥功能, 首先在胞质中利用内膜系统形成双层膜结构的自噬体 (Autophagosome), 然后将胞内物质包裹并运送到溶酶体或液泡中降解。这 3 种自噬类型中, 巨自噬是最主要的、也是研究最多的一种自噬降解途径^[9-10]。下文提及的自噬均为巨自噬的简称。

自噬在研究早期仅被认为是一种非选择性的、适应饥饿的代谢机制, 但近年来的深入研究发现细胞还能通过该途径特异性靶向各种蛋白、蛋白聚集体、细胞器甚至病原体, 从而维持细胞的稳态和功能。因此, 自噬途径的失调与人类的神经系统退行性疾病、心血管疾病、肿瘤及白血病等一系列的疾病密切相关^[11]。在植物的生长、发育和衰老过程中, 自噬同样行使着重要的调节作用, 参与植物营养物质的循环利用、非生物胁迫响应和免疫应答等多个生物学过程^[9]。

1.1 基于 CMA 的靶向降解技术

当 CMA 发生时, 分子伴侣热休克蛋白 HSC70 (Heat shock cognate protein 70) 首先会识别目标底物的 KFERQ 基序, 与之形成蛋白复合物。在其他辅助分子伴侣的协助下, 该复合物与溶酶体跨膜蛋白 LAMP2A (Lysosomal-associated membrane protein 2A) 结合, 驱动 LAMP2A 的寡聚, 进而介导 HSC70 复合物的跨膜运输, 进入溶酶体腔内降解 (图 2A)^[12]。利用 CMA 特异性降解蛋白的原理, Bauer 等^[13]构建了一个通过“劫持”CMA 以降解致病突变亨廷顿蛋白 (Mutant Huntington, mHTT) 的多肽分子 (图 2A)。该多肽分子含有与 HSC70 互作的 CMA 靶向基序 (CMA-targeting motif, CTM) 和特异识别 mHTT 的多聚谷氨酰胺结合肽 1 (Polyglutamine-binding peptide 1, QBP1) 序列, 能够与 mHTT 及 HSC70 形成三元复合物, 促进 mHTT 的溶酶体降解。在小鼠神经母细胞瘤细胞 Neuro2a 中表达该多肽可明显促进 mHTT 的降解, 抑制 mHTT 聚集体的形成。在亨廷顿氏病模型小鼠中的研究结果也清楚地表明, 表达该多肽可有效改善亨廷顿氏病的症状。

同样受 CMA 机制的启发, Fan 等^[14]构建了一系列含有 CTM 和靶蛋白结合结构域的双功能多肽分子, 通过 CMA 途径介导细胞内蛋白的降解; 在此基础上, 进一步在多肽分子的 N-端添加了细胞穿膜肽, 以提高多肽分子通过细胞膜屏障和血脑屏障的效率。结果显示, 这一技术能特异性降解神经元中的多个活性蛋白, 包括被中风激活的死亡相关蛋白激酶 DAPK1 (Death-associated protein kinase 1)、突触可塑性相关蛋白 PSD-95 (Postsynaptic density protein-95)、与帕金森病等神经退行性疾病密切相关的 α -突触核蛋白 (α -synuclein)^[14]。利用该技术, 研究人员进一步实现了对活性形式的 DAPK1 的特异降解。DAPK1 是一类 Ca^{2+} /钙调蛋白 (CaM) 依赖型的丝氨酸/苏氨酸激酶, 在缺血性脑卒时被激活, 可引起一系列的神经元细胞凋亡。研究者利用 N-甲基-D-天冬氨酸受体 NMDAR (N-methyl-D-aspartate receptor) 的 GluN2B 亚基只与活性形式的 DAPK1 特异结合的特性, 以 GluN2B 亚基的 C-端为靶蛋白结合结构域, 设计了靶向活性形式的 DAPK1 的多肽分子。通过静脉注射将这种多肽分子注入大鼠中风模型, 成功地在受损的大脑区域特异性降解了活性形式的 DAPK1 蛋白, 减少了血液供给受阻造成的组织死亡。

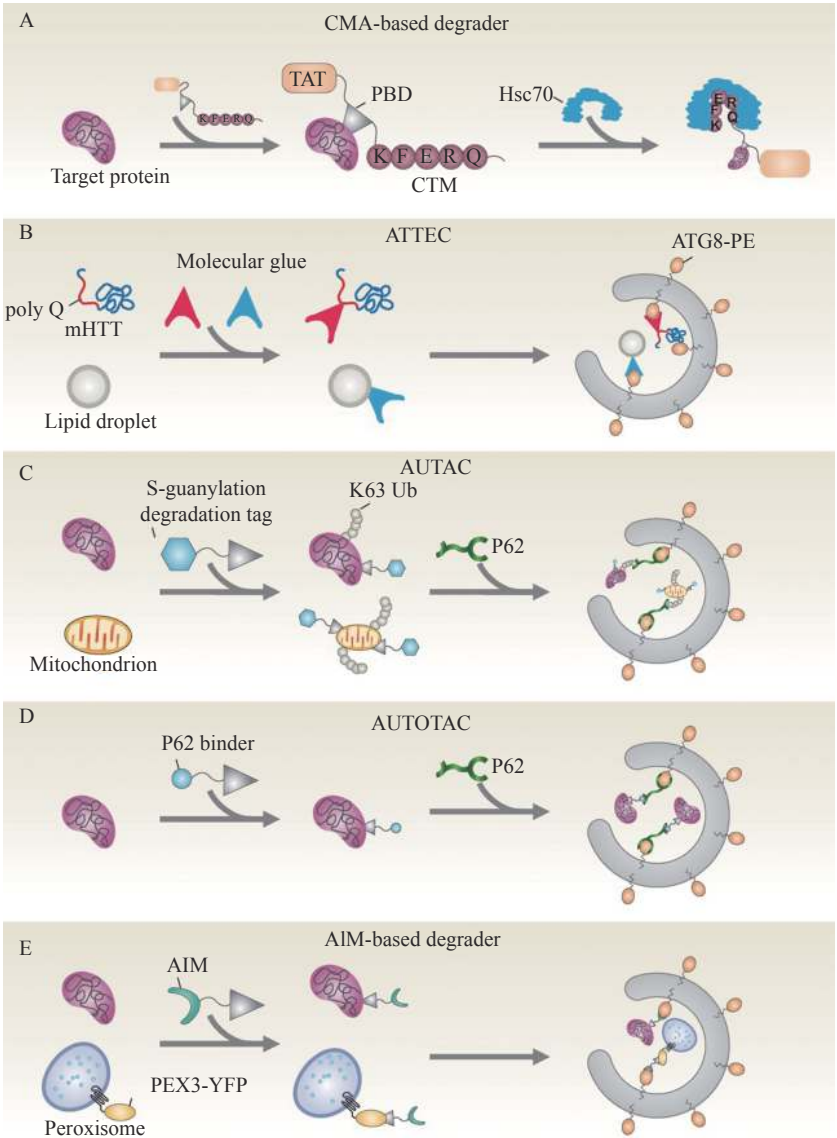
此外, Wang 等^[15]在探究免疫检查点分子 PD-

L1 [Programmed cell death 1 (PD-1) ligand 1] 的溶酶体降解机制时, 发现亨廷顿蛋白互作蛋白 1 相关蛋白 HIP1R (Huntington-interacting protein 1-related) 能与 PD-L1 互作, 并通过其 C-端的“双亮氨酸 (Di-leucine)”溶酶体分选信号把 PD-L1 定向转运至溶酶体降解; 利用 HIP1R 与 PD-L1 互作的特性, 该课题组设计了特异降解 PD-L1 的多肽分子 PD-LYSO, 该多肽包括 CTM 和 PD-L1 结合序列, 能够将 PD-L1 靶向至溶酶体进行降解。同样基于 CMA 机制, Zhou 等^[16]设计了 CMA 靶向多肽分子 Tat-CDK5-CTM, 实现了细胞周期蛋白依赖性激酶 CDK5 (Cyclin-dependent kinase 5) 的特异性自噬降解。

与 RNA 干扰等核酸层面的技术相比, 基于 CMA 的靶向降解技术具有更快的降解速度, 并且可以通过调节多肽分子的浓度和施加时间来控制靶蛋白的降解程度, 显示出更优的可逆性和剂量依赖性; 此外, 该技术具有更强的专一性, 可以特异性降解特定形式的蛋白^[14]。但是, 这项技术仍然有一定的局限性和面临的挑战: 1) 与基于 UPS 的 PROTAC 技术类似, 该技术只能降解一些特定蛋白而不能降解蛋白聚集体、蛋白复合物等大型的胞内物质; 2) 该技术的专一性依赖于高选择性和高亲和力肽段的筛选, 需要通过合理利用一系列技术 (如噬菌体展示、肽阵列、人工智能辅助的虚拟筛选等) 去更高效地获得与靶蛋白特异结合的肽段; 3) 稳定性差和跨膜递送效率低一直是多肽类分子药物亟待解决的瓶颈问题。

1.2 基于选择性自噬的靶向降解技术

细胞利用选择性自噬特异降解各种底物的过程是通过一类自噬衔接蛋白 (Autophagy adaptor) 的介导来完成^[17]。自噬衔接蛋白作为一个双功能分子, 既可以识别并特异结合自噬底物, 也可以通过自身含有的、能与自噬核心蛋白 ATG8 结合的互作基序 (ATG8-interacting motif, AIM) 或泛素相互作用基序 (Ubiquitin-interacting motif, UIM) 锚定在自噬囊泡膜上, 从而将底物导入自噬体中^[9, 18]。在动物中 AIM 基序又被称为 LC3 相互作用区 (LC3-interacting region, LIR), 由一段保守的氨基酸序列组成, 其序列为 [W/F/Y]XX[L/I/V], 其中“X”可为任一种氨基酸^[18-19]。在过去大约 20 年里, 研究者们对酵母 *Saccharomyces cerevisiae*、动物和植物的自噬途径进行了深入研究, 鉴定了将近 100 个不同的自噬衔接蛋白^[17]。Atg19 是酵母中发现的第 1 个自噬衔接蛋白, 负责氨基肽酶 Ape1 (Aminopeptidase



A: 基于 CMA 的降解剂 (CMA-based degrader) 包括 3 个功能域——1 个细胞膜穿透序列 (TAT)、1 个靶向底物的特异配体以及 1 个 CMA 靶向模块 (CTM); 利用 TAT 进入细胞后, 降解剂可以结合底物并诱导伴侣介导的自噬进行特异性降解。B: 自噬体绑定化合物 ATTECs 与 LC3/ATG8 和靶标底物 (mHTT 或脂滴) 相互作用, 将底物连接到自噬体, 以进行随后的自噬降解。C: AUTAC 通过靶向底物的特异配体与底物 (目标蛋白或线粒体) 结合, 并利用模仿鸟嘌呤生物物的降解标签触发靶标底物的 K63 多泛素化 (Ub), 靶标底物随后被自噬受体 SQSTM1/p62 识别, 招募到选择性自噬途径进行降解。D: AUTOTAC 分子与靶标底物和 p62 衔接蛋白相互作用, 进而将靶标底物通过自噬途径转运到溶酶体中进行降解。E: 基于 ATG8 互作基序 (AIM) 的降解剂可以通过与靶标底物和 ATG8 相互作用, 将底物连接到自噬体再进入液泡降解

A: The tripartite CMA-based degrader contains the cell membrane-penetrating sequence (TAT) followed by a target protein binding domain (PBD) and tandem repeats of the CMA-targeting motif (CTM); Aided by the TAT, these chimeric proteins enter the cell and bind to the target protein, resulting in specific degradation via CMA. B: The autophagosome-tethering compound (ATTEC) that interacts with both the LC3/ATG8 and the target substrates (mHTT or lipid droplets) targets the latter for autophagic clearance. C: The autophagy-targeting chimera (AUTAC) consists of a specific binder of an intracellular substrate (target protein or mitochondria) and a degradation tag (guanine derivatives) to induce K63-linked ubiquitination of the substrate; The target substrate later is recognized by the autophagy receptor SQSTM1/p62, resulting in autophagic degradation. D: The AUTOPhagy-TArgeting Chimera (AUTOTAC) interacting with both the target substrate and the autophagy receptor p62, targets the cargo to lysosomes for degradation. E: The AIM (ATG8-interacting motif)-based degrader interacts with both the target substrate and the ATG8, enclosing the substrate into the autophagosome and later to the vacuole for degradation

图 2 基于自噬-溶酶体/液泡途径的靶向降解策略示意图

Fig. 2 Schematic diagram for the targeted degradation technique based on the autophagy-lysosome/vacuole pathway

I)、甘露糖酶 Ams1 (α -mannosidase) 等几种液泡酶前体的转运^[20-21]。哺乳动物中发现的第 1 个自噬衔接蛋白是 SQSTM1/p62, 在清除泛素化蛋白和受损的细胞器中起着重要作用^[22-23]。对植物选择性自噬的研究虽然起步较晚, 但是在近几年发展迅速, 多个相关基因及编码蛋白的功能被一一揭示, 增加了

我们对自噬底物广泛性的认识。植物选择性自噬底物包括单个或聚集状态的蛋白、大分子复合物 (如蛋白酶体和核糖体)、细胞器 (如线粒体、过氧化物酶体和叶绿体), 甚至非蛋白类生物分子 (如叶啉) 等^[24-25]。

受选择性自噬机制的启发, 研究人员通过模拟自噬衔接蛋白开发了几种降解蛋白、脂滴以及细胞

器的新技术^[4]。例如复旦大学鲁伯坝、丁瀨、费义艳团队发明了一种 ATTEC 技术, 应用于 mHTT 的降解; 通过高通量筛选, 该团队找到了一类功能上类似于自噬衔接蛋白的 ATTEC 小分子, 这些 ATTEC 小分子能同时结合 ATG8 和 mHTT, 但不能结合野生型 HTT, 从而实现对 mHTT 的特异性降解 (图 2B)^[26]。此外, 该研究团队近期还开发了降脂化合物 LD-ATTECs (Lipid droplet-ATTEC), 实现了对脂滴的自噬特异性降解, 将靶向降解底物的范围拓展至非蛋白类生物大分子^[27]。

AUTAC 的概念是由 Arimoto 课题组基于细胞清除 A 组链球菌 (Group A *Streptococcus*, GAS) 的自噬机制提出的^[28]。当真核细胞被链球菌入侵时, 会通过鸟嘌呤衍生物 (8-nitro-cGMP) 对链球菌表面相关蛋白进行 S-鸟苷酸化修饰, 诱导这些蛋白的 K63 泛素化修饰, 进而招募自噬体将链球菌包裹, 送入溶酶体中进行降解^[29]。基于该机制设计的 AUTAC 分子主要由靶向底物的特异配体、模仿鸟嘌呤衍生物的降解标签以及连接子 3 部分组成 (图 2C)。AUTAC 可以通过配体与底物特异结合, 同时通过降解标签模拟 S-鸟苷酸化修饰, 诱导靶蛋白的多聚泛素化, 最终导致底物的选择性自噬降解。Arimoto 课题组将 AUTAC 技术应用于多个疾病相关靶蛋白的降解, 成功实现了对甲硫氨酸氨基肽酶 MetAP2 (Methionine aminopeptidase 2)、FK506 结合蛋白 (FK506-binding protein) FKBP12 和 BET (Bromodomain and extra terminal) 家族蛋白的有效降解; 此外, 该课题组还通过设计靶向线粒体转位蛋白 (Translocator protein, TSPO) 的 AUTAC 分子, 实现了碎片化线粒体的自噬降解^[28]。

作为哺乳动物中发现的第 1 个自噬衔接蛋白, SQSTM1/p62 能被特定泛素化的自噬底物激活, 进而介导这些底物的选择性自噬降解。基于对自噬衔接蛋白 p62 的研究, 韩国首尔大学 Yong Tae Kwon 课题组开发了一种双功能的 AUTOTAC 分子; 该分子一端能够与靶标底物结合, 另一端能够与 p62 衔接蛋白结合并诱导自噬, 从而将靶标底物转移到溶酶体中进行降解 (图 2D)^[30]。通过该技术, 成功实现了多种可溶性靶蛋白的降解, 包括 MetAP2、雌激素受体 ER β (Estrogen receptor beta) 和雄激素受体 (Androgen receptor)。此外, 研究者针对能引起阿尔茨海默病的 tau 蛋白突变体 tau^{P301L}, 设计了一种能与之结合并促进其降解的 AUTOTAC 分子, tau^{P301L} 突变体易错误折叠, 聚集形成神经原纤维缠结; 研究结果显示, 不论是在体外, 还是在脑部表达

tau^{P301L} 突变体的小鼠模型中, AUTOTAC 分子均能够有效清除 tau^{P301L} 形成的聚集体, 表明 AUTOTAC 具有一定的靶向错误折叠蛋白的能力^[30]。

同样基于选择性自噬机制, 本课题组设计了一套植物蛋白降解系统^[31]。该系统由 3 部分组成 (图 2E): 来自拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 的自噬衔接蛋白 NBR1 (Next to BRCA1 gene 1) 的 AIM 基序、与靶蛋白特异结合的短肽或结构域、以及用于示踪的荧光蛋白。该系统通过靶蛋白结合结构域和 AIM 分别与靶蛋白和 ATG8 结合, 招募自噬体将靶蛋白转运至液泡中降解。我们通过更换不同的靶蛋白结合短肽或结构域对这套系统进行了测试。首先利用对绿色荧光蛋白 (Green fluorescent protein, GFP) 具高度亲和力的纳米抗体 (GFP-binding protein, GBP) 为 Binder, 构建了介导 GFP 融合蛋白降解的自噬衔接蛋白 AIM-GBP-mCherry。在烟草中瞬时共表达的结果显示, AIM-GBP-mCherry 能介导多种 GFP 标记的蛋白和细胞器转运至液泡, 包括定位于细胞核的 bZIP 转录因子 TGA5、锚定于质膜的油菜素甾体受体 BRI1 (Brassinosteroid-insensitive 1) 以及过氧化物酶体。我们进一步利用能与油菜素内酯信号转导途径核心调控激酶 BIN2 (Brassinosteroid-insensitive 2) 特异互作的短肽为 Binder, 构建了自噬衔接蛋白 AIM-BZR1C82-mCherry, 并在拟南芥中稳定表达, 发现该衔接蛋白能选择性自噬降解内源的 BIN2。以上研究结果证明了这套基于植物细胞自噬的蛋白降解系统的特异性、广泛的应用范围和发展潜力。

2 靶向自噬的降解技术在植物研究中的应用前景

2.1 细胞自噬在植物抗病毒中的潜在应用前景
由于细胞自噬在植物生长发育及逆境应答等过程中具有重要作用, 研究人员近年来在提高细胞自噬活性以培育高产、抗逆作物新品种方面开展了一些探索性的工作。例如, ATG5 和 ATG7 作为 ATG8 脂化修饰中的限速因子, 它们的突变均会导致自噬途径的阻断, 而在拟南芥中过表达 ATG5 和 ATG7 可显著增强转基因植物的自噬活性, 提高其氮利用效率、产量和种子的含油率^[32]。在拟南芥或水稻 *Oryza sativa* 中表达不同的 ATG8 拷贝也获得了类似的效果^[33-37]。过表达自噬关键基因还能显著提高植物对干旱、高盐及氧化胁迫等多种非生物逆境的耐受性和对一系列病原菌的抗性^[38]。以上对自噬基因过表达的研究表明, 提高细胞自噬活性对设

计和培育高产高抗作物新品种具有理论意义和潜在的应用价值^[38]。

众多研究表明, 细胞自噬在植物抵御病毒感染中发挥重要的作用^[39]。当病毒感染时, 植物细胞通过自噬蛋白与病毒蛋白互作, 介导病毒蛋白的降解来消除和抑制病毒。例如自噬衔接蛋白 NBR1 与来自花椰菜花叶病毒 (Cauliflower mosaic virus, CaMV) 的衣壳蛋白 P4 和来自芜菁花叶病毒 (Turnip mosaic virus, TuMV) 的 HCpro 抑制子^[40], ATG6 与来自 TuMV 的 RNA 依赖性 RNA 聚合酶 Nib^[41], ATG8 与来自木尔坦棉花曲叶病毒 (Cotton leaf curl Multan virus, CLCuMuV) 的毒性因子 β c 和来自水稻条纹病毒 (Rice stripe virus, RSV) 的衣壳蛋白 P3 等^[42-43]。此外, 研究还发现了 1 个新的介导病毒蛋白降解的选择性自噬受体 rgs-CaM。rgs-CaM 是 1 个钙调素样蛋白, 可以识别和降解来自 TuMV 的 HCpro 抑制子和来自黄瓜花叶病毒 (Cucumber mosaic virus, CMV) 和番茄不孕病毒 (Tomato aspermy virus, TAV) 的 2b 蛋白^[44]。反之, 病毒可以干扰、操纵、甚至劫持宿主的自噬途径来促进其侵染。例如马铃薯叶卷病毒 (Potato leafroll virus) 的 P0 蛋白可以触发植物 RNA 沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 组分蛋白 AGO1 (ARGONAUTE1) 的泛素化, 促进 AGO1 的自噬降解, 从而逃逸宿主的免疫机制^[45]。

上述研究表明, 选择性自噬降解病毒蛋白是一种非常重要的植物抗病毒免疫机制, 也提示了一种新的抗病毒策略: 设计能与病毒蛋白结合的自噬衔接蛋白, 借助细胞自噬途径以实现病毒侵染的抑制。与靶向 CMA 的降解技术类似, 该技术的实现同样需要能与病毒蛋白特异性结合的多肽, 这可以利用如噬菌体展示、肽阵列、人工智能辅助的虚拟筛选等技术来获得。此外, 能与植物病毒特异结合的纳米抗体也将有助于这项技术的实现。Ghannam 等^[46]利用噬菌体展示技术分离出 8 个对蚕豆斑驳病毒 (Broad bean mottle virus, BBMV) 具有高亲和力的特异性纳米抗体, 进一步在体外和在蚕豆叶片中瞬时表达, 发现其中 3 个能中和病毒, 并减弱它的传播。另一项研究同样显示, 在烟草 *Nicotiana benthamiana* 和葡萄砧木中稳定表达一种对葡萄扇叶病毒 (Grapevine fanleaf virus, GFLV) 特异性纳米抗体后, 可显著提高植物对病毒的抗性^[47]。可以预见, 纳米抗体与靶向自噬降解技术的结合将会极大地促进抗病毒作物新品种的培育。

靶向病毒降解的自噬衔接蛋白除了通过转基

因技术在植物体内稳定表达外, 体外表达后作为生物农药直接喷施也是一个值得考虑探究的策略。其开发与创制可以参考以来自病原微生物的免疫激活蛋白研发作物免疫诱抗剂的方法和思路^[48]。另外以纳米载体为媒介, 利用纳米粒子的功能修饰 (如聚阳离子修饰) 以及与穿膜肽融合, 有望克服植物细胞壁和细胞膜屏障的困扰, 提高自噬衔接蛋白导入植物细胞的效率^[49]。

2.2 改造自噬途径以降低重金属对植物毒害的设想

除了能降解吞噬的蛋白和细胞器, 液泡作为植物细胞中的大型降解场所, 还能区室化隔离胞内的有害物质, 从而降低它们对植物的毒害。那么, 细胞自噬作为一条介导胞内物质到液泡的运输途径, 是否可以用来转运和隔离胞内的有害物质呢? 最近 LD-ATTECs 对脂滴的特异性自噬降解表明基于选择性自噬的靶向降解技术能够降解非蛋白类物质^[27], 这也暗示了可以通过设计自噬衔接蛋白, 将一些对植物生长发育不利的非生物胁迫因子 (如重金属离子), 经由细胞自噬转运并隔离于液泡内以降低其毒害。

重金属胁迫作为一种非生物逆境胁迫, 对植物特别是农作物的各个生长阶段均能造成严重的不良影响, 是制约农业发展的一个重要因素。镉 (Cd) 是毒性最强的重金属元素之一, 它在植物中的积累主要包括 3 个过程: 根系吸收、根向地上部分的转运、以及从茎和叶片到种子的重新分配^[50]。镉沿着与必需元素锰和铁相同的途径被吸收进入植物。水稻吸收镉主要是通过其根系的锰转运蛋白 OsNramp5 (Natural resistance-associated protein 5)^[51]。被根系吸收后, 一部分镉会被转运至液泡中区隔起来, 限制其向地上部分转运, 在水稻中是由重金属 ATP 酶 OsHMA3 (Heavy metal ATPase3)^[52-53]负责执行。镉向地上部分的转运主要是通过 HMA3 的同源蛋白 HMA2/4 来介导 Cd 的木质部装载^[54-55]。在镉的长距离转运和再分配过程中, 转运蛋白 OsLCT1 (Low-affinity cation transporter 1)^[56]和 OsHMA2^[55]介导了 Cd 从水稻节向籽粒的转移。另外, 一个在根部表达的植物防御素类蛋白 CAL1 (Cd accumulation in leaf 1) 螯合镉后可以通过跨膜运输进入木质部, 再经长距离转运到叶片^[57]; 但此螯合态的镉不易被重新分配, 因而积累在叶片等营养器官中。

在以上对植物镉吸收、转运和积累分子机制的研究基础上, 研究者们一方面可以通过敲除或敲降 *OsNramp5*、*OsHMA2* 或 *OsLCT1* 等基因以减少水稻

对镉的吸收、转运和重新分配;另一方面可通过过表达 *OsHMA3* 增强根细胞对镉的液泡区室化,或者过表达 *CAL1* 定向调控镉在叶片等器官的积累,以培育秸秆镉高积累而籽粒镉含量安全的水稻品种,同时移除土壤中的镉。但是上述这些基因也参与了水稻必需金属元素如锰、铁、锌的吸收与转运,它们的缺失或过表达或多或少会影响必需营养元素的吸收、转运和在籽粒中的积累。针对这一问题,本课题组提出了利用细胞自噬这条与液泡运输相关的途径来转运和隔离镉的设想。本课题组以能强烈螯合镉的金属硫蛋白为接头设计自噬衔接蛋白,例如来自超积累植物伴矿景天 *Sedum plumbizincicola* 的金属硫蛋白 SpMTL (Metallothionein-like)^[58],利用自噬途径将镉导入并隔离在液泡内。此外,通过更换不同的结合蛋白,人工改造的自噬衔接蛋白将能特异性结合不同的重金属离子或其他非生物胁迫因子,从而扩展待自噬降解的目标底物种类。

3 总结与展望

靶向降解技术是一类利用真核细胞内天然存在的降解机制对有害物质进行特异降解、以维持和改善细胞稳态的重要技术。近年来发展迅速、目前应用最广泛的是 PROTAC 技术。该技术通过“劫持”UPS 以改善细胞内的蛋白稳态,从而干预和治疗疾病。除此之外,近几年兴起的一系列基于自噬途径的降解技术,如 CMA 嵌合体、ATTEC、AUTAC 和 AUTOTAC 等扩展了靶点底物范围,能够靶向错误折叠或聚集的蛋白、受损或老化的细胞器,甚至脂类等一些非蛋白类物质,为治疗神经退行性疾病和代谢性疾病提供了全新的思路。

自噬作为细胞新陈代谢的一种主要方式,广泛参与植物的生长发育和逆境胁迫响应。目前主要是通过自噬途径关键基因的过表达以提高植物的抗逆性和产量,而基于自噬的靶向降解技术在植物中的研究还处于起步阶段。本课题组利用自噬衔接蛋白 NBR1 的 AIM 基序设计了一套植物蛋白降解系统,初步证明了靶向自噬的降解技术在植物研究中的可行性和发展潜力。但是,利用和改造细胞自噬这一降解途径并应用于农业生产还有很长的路要走,有如下诸多挑战亟待解决。1) 鉴定新的植物自噬衔接蛋白和阐明其工作机制。基于 AIM 的降解剂的设计和优化离不开对自噬衔接蛋白工作机制的阐明,但目前这方面的相关研究仍比较匮乏,可用于 AIM 降解剂设计的植物自噬衔接蛋白寥寥无几。如何鉴定更多的、可用于 AIM 降解剂的衔接蛋

白是该技术面临的挑战之一。2) 如何更深入理解靶向自噬降解剂的选择性和特异性,和如何理性设计降解剂并有效评估其降解效率,是目前尚不明确且亟待解决的问题。其中快速有效筛选具有高选择性和高亲和力的配体将是基于自噬的靶向降解技术能否成功的关键。此外,引入组织特异性或时空特异性的调控元件也将有效提高靶向自噬降解剂的特异性表达。3) 蛋白靶向降解技术作为一种蛋白水平层面的调控方式,能否与基因层面调节蛋白水平的技术,如 CRISPR/Cas9 和 RNAi 有效结合起来,以实现农艺性状关键因子的多层次调控?

虽然基于自噬的靶向降解技术在植物中的应用潜能还远未被开发,存在诸多问题,但随着研究的不断深入,它们将极大地拓展靶向降解技术的潜在应用领域,为植物研究提供强有力的工具,并有助于培育高产高抗作物新品种。

参考文献:

[1] VERMA R, MOHL D, DESHAIES R J. Harnessing the power of proteolysis for targeted protein inactivation[J]. *Molecular Cell*, 2020, 77(3): 446-460.

[2] SAKAMOTO K M, KIM K B, KUMAGAI A, et al. Protacs: Chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(15): 8554-8559.

[3] DANG C V, REDDY E P, SHOKAT K M, et al. Drug-ging the ‘undruggable’ cancer targets[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2017, 17(8): 502-508.

[4] DING Y, FEI Y, LU B. Emerging new concepts of degrader technologies[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2020, 41(7): 464-474.

[5] BARD J A M, GOODALL E A, GREENE E R, et al. Structure and function of the 26S proteasome[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2018, 87: 697-724.

[6] BURSLEM G M, CREWS C M. Proteolysis-targeting chimeras as therapeutics and tools for biological discovery[J]. *Cell*, 2020, 181(1): 102-114.

[7] HINES J, GOUGH J D, CORSON T W, et al. Posttranslational protein knockdown coupled to receptor tyrosine kinase activation with phosphoPROTACs[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(22): 8942-8947.

[8] REYNDERS M, MATSUURA B S, BEROUTI M, et al. PHOTACs enable optical control of protein degradation[J]. *Science Advances*, 2020, 6(8): eaay5064.

[9] MARSHALL R S, VIERSTRA R D. Autophagy: The master of bulk and selective recycling[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2018, 29(69): 173-208.

[10] GALLUZZI L, BAEHRECKE E H, BALLABIO A, et al. Molecular definitions of autophagy and related pro-

- cesses[J]. *EMBO Journal*, 2017, 36(13): 1811-1836.
- [11] LEVINE B, KROEMER G. Biological functions of autophagy genes: A disease perspective[J]. *Cell*, 2019, 176(1/2): 11-42.
- [12] KAUSHIK S, CUERVO A M. Chaperone-mediated autophagy: A unique way to enter the lysosome world[J]. *Trends in Cell Biology*, 2012, 22(8): 407-417.
- [13] BAUER P O, GOSWAMI A, WONG H K, et al. Harnessing chaperone-mediated autophagy for the selective degradation of mutant huntingtin protein[J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28(3): 256-263.
- [14] FAN X, JIN W Y, LU J, et al. Rapid and reversible knockdown of endogenous proteins by peptide-directed lysosomal degradation[J]. *Nature Neuroscience*, 2014, 17(3): 471-480.
- [15] WANG H, YAO H, LI C, et al. HIP1R targets PD-L1 to lysosomal degradation to alter T cell-mediated cytotoxicity[J]. *Nature Chemical Biology*, 2019, 15(1): 42-50.
- [16] ZHOU Y F, WANG J, DENG M F, et al. The peptide-directed lysosomal degradation of CDK5 exerts therapeutic effects against stroke[J]. *Aging and Disease*, 2019, 10(5): 1140-1145.
- [17] LAMARK T, JOHANSEN T. Mechanisms of selective autophagy[J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2021, 37: 143-169.
- [18] JOHANSEN T, LAMARK T. Selective autophagy: ATG8 family proteins, LIR motifs and cargo receptors[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2020, 432(1): 80-103.
- [19] BIRGISDOTTIR A B, LAMARK T, JOHANSEN T. The LIR motif: Crucial for selective autophagy[J]. *Journal of Cell Science*, 2013, 126(15): 3237-3247.
- [20] LEBER R, SILLES E, SANDOVAL I V, et al. Yol082p, a novel CVT protein involved in the selective targeting of aminopeptidase I to the yeast vacuole[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(31): 29210-29217.
- [21] SCOTT S V, GUAN J, HUTCHINS M U, et al. Cvt19 is a receptor for the cytoplasm-to-vacuole targeting pathway[J]. *Molecular Cell*, 2001, 7(6): 1131-1141.
- [22] BJORKOY G, LAMARK T, BRECH A, et al. p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death[J]. *Journal of Cell Biology*, 2005, 171(4): 603-614.
- [23] PANKIV S, CLAUSEN T H, LAMARK T, et al. p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(33): 24131-24145.
- [24] LUO S, LI X, ZHANG Y, et al. Cargo recognition and function of selective autophagy receptors in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(3): 1013. doi: 10.3390/ijms22031013.
- [25] STEPHANI M, DAGDAS Y. Plant selective autophagy: Still an uncharted territory with a lot of hidden gems[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2020, 432(1): 63-79.
- [26] LI Z, WANG C, WANG Z, et al. Allele-selective lowering of mutant HTT protein by HTT-LC3 linker compounds[J]. *Nature*, 2019, 575(7781): 203-209.
- [27] FU Y, CHEN N, WANG Z, et al. Degradation of lipid droplets by chimeric autophagy-tethering compounds[J]. *Cell Research*, 2021, 31(9): 965-979.
- [28] TAKAHASHI D, MORIYAMA J, NAKAMURA T, et al. AUTACs: Cargo-specific degraders using selective autophagy[J]. *Molecular Cell*, 2019, 76(5): 797-810.
- [29] ITO C, SAITO Y, NOZAWA T, et al. Endogenous nitrated nucleotide is a key mediator of autophagy and innate defense against bacteria[J]. *Molecular Cell*, 2013, 52(6): 794-804.
- [30] JI C H, KIM H Y, LEE M J, et al. The AUTOTAC chemical biology platform for targeted protein degradation via the autophagy-lysosome system[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 904. doi: 10.1038/s41467-022-28520-4.
- [31] LUO N, SHANG D, TANG Z, et al. Engineered AIM-based selective autophagy to degrade proteins and organelles[EB/OL]. *BioRxiv*: 2021.06.11.448008 (2021-06-11) [2022-08-26]. <https://doi.org/10.1101/2021.06.11.448008>.
- [32] MININA E A, MOSCHOU P N, VETUKURI R R, et al. Transcriptional stimulation of rate-limiting components of the autophagic pathway improves plant fitness[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(6): 1415-1432.
- [33] ZHEN X, ZHENG N, YU J, et al. Autophagy mediates grain yield and nitrogen stress resistance by modulating nitrogen remobilization in rice[J]. *PLoS One*, 2021, 16(1): e0244996.
- [34] ZHEN X, XU F, ZHANG W, et al. Overexpression of rice gene *OsATG8b* confers tolerance to nitrogen starvation and increases yield and nitrogen use efficiency (NUE) in *Arabidopsis*[J]. *PLoS One*, 2019, 14(9): e0223011.
- [35] ZHEN X, LI X, YU J, et al. *OsATG8c*-mediated increased autophagy regulates the yield and nitrogen use efficiency in rice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(19): 4956. doi: 10.3390/ijms20194956.
- [36] YU J, ZHEN X, LI X, et al. Increased autophagy of rice can increase yield and nitrogen use efficiency (NUE)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 584. doi: 10.3389/fpls.2019.00584.
- [37] CHEN Q, SOULAY F, SAUDEMONT B, et al. Overexpression of ATG8 in *Arabidopsis* stimulates autophagic activity and increases nitrogen remobilization efficiency and grain filling[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2019, 60(2): 343-352.
- [38] AVIN-WITTENBERG T, BALUSKA F, BOZHKO V, et al. Autophagy-related approaches for improving nutrient use efficiency and crop yield protection[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(6): 1335-1353.
- [39] YANG M, ISMAYIL A, LIU Y. Autophagy in plant-virus interactions[J]. *Annual Review of Virology*, 2020, 7: 403-419.
- [40] HAFREN A, USTUN S, HOCHMUTH A, et al. Turnip mosaic virus counteracts selective autophagy of the viral

- silencing suppressor HCpro[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(1): 649-662.
- [41] LI F, ZHANG C, LI Y, et al. Beclin1 restricts RNA virus infection in plants through suppression and degradation of the viral polymerase[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 1268. doi: 10.1038/s41467-018-03658-2.
- [42] HAXIM Y, ISMAYIL A, JIA Q, et al. Autophagy functions as an antiviral mechanism against geminiviruses in plants[J]. *eLife*, 2017, 6: e23897.
- [43] JIANG L, LU Y, ZHENG X, et al. The plant protein NbP3IP directs degradation of rice stripe virus p3 silencing suppressor protein to limit virus infection through interaction with the autophagy-related protein NbATG8[J]. *New Phytologist*, 2021, 229(2): 1036-1051.
- [44] NAKAHARA K S, MASUTA C, YAMADA S, et al. Tobacco calmodulin-like protein provides secondary defense by binding to and directing degradation of virus RNA silencing suppressors[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(25): 10113-10118.
- [45] MICHAELI S, CLAVEL M, LECHNER E, et al. The viral F-box protein P0 induces an ER-derived autophagy degradation pathway for the clearance of membrane-bound AGO1[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(45): 22872-22883.
- [46] GHANNAM A, KUMARI S, MUYLDERMANS S, et al. Camelid nanobodies with high affinity for broad bean mottle virus: A possible promising tool to immunomodulate plant resistance against viruses[J]. *Plant Molecular Biology*, 2015, 87(4/5): 355-369.
- [47] HEMMER C, DJENNANE S, ACKERER L, et al. Nanobody-mediated resistance to Grapevine fanleaf virus in plants[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16(2): 660-671.
- [48] YANG B, YANG S, ZHENG W, et al. Plant immunity inducers: From discovery to agricultural application [J/OL]. *Stress Biology*, 2022, 2: 5. (2022-01-10) [2022-09-24]. <https://doi.org/10.1007/s44154-021-00028-9>.
- [49] WANG J W, GRANDIO E G, NEWKIRK G M, et al. Nanoparticle-mediated genetic engineering of plants[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(8): 1037-1040.
- [50] CLEMENS S, MA J F. Toxic heavy metal and metalloid accumulation in crop plants and foods[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2016, 67: 489-512.
- [51] SASAKI A, YAMAJI N, YOKOSHO K, et al. Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(5): 2155-2167.
- [52] UENO D, KONO I, YOKOSHO K, et al. A major quantitative trait locus controlling cadmium translocation in rice (*Oryza sativa*)[J]. *New Phytologist*, 2009, 182(3): 644-653.
- [53] MIYADATE H, ADACHI S, HIRAIZUMI A, et al. OsHMA3, a PIB-type of ATPase affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles[J]. *New Phytologist*, 2011, 189(1): 190-199.
- [54] SATOH-NAGASAWA N, MORI M, NAKAZAWA N, et al. Mutations in rice (*Oryza sativa*) heavy metal ATPase 2 (OsHMA2) restrict the translocation of zinc and cadmium[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2012, 53(1): 213-224.
- [55] TAKAHASHI R, ISHIMARU Y, SHIMO H, et al. The OsHMA2 transporter is involved in root-to-shoot translocation of Zn and Cd in rice[J]. *Plant Cell and Environment*, 2012, 35(11): 1948-1957.
- [56] URAGUCHI S, KAMIYA T, SAKAMOTO T, et al. Low-affinity cation transporter (OsLCT1) regulates cadmium transport into rice grains[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(52): 20959-20964.
- [57] LUO J S, HUANG J, ZENG D L, et al. A defensin-like protein drives cadmium efflux and allocation in rice[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 645. doi: 10.1038/s41467-018-03088-0.
- [58] PENG J S, DING G, MENG S, et al. Enhanced metal tolerance correlates with heterotypic variation in SpMTL, a metallothionein-like protein from the hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2017, 40(8): 1368-1378.



李发强, 教授, 博士生导师。

主要以拟南芥为材料, 通过遗传学、细胞生物学及多维组学解析植物细胞自噬的功能和调控机制; 以玉米为材料, 重点研究细胞自噬在产量、品质和逆境适应性等重要农艺性状形成中的生物学功能; 改造细胞自噬衔接蛋白, 研发适用于植物细胞的靶向降解技术。目前已经发表相关研究论文 30 余篇, 其中以第一作者或通信作者在《The Plant Cell》《Plant Physiology》《Autophagy》《Trends in Plant Science》等相关领域主流杂志发表论文 20 多篇, 总影响因子超过 300, 论文总引用超过 10 000 余次, 单篇引用超过 300 次。1 项近期成果被《Faculty Opinions》推荐, 并被评为植物细胞自噬领域必读的研究论文。主持国家自然科学基金面上项目、广东省基础与应用基础研究基金项目等省部级项目 3 项。

【责任编辑 李庆玲】