

·综述·

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2018.05.03

酪氨酰蛋白磺基转移酶与植物蛋白质硫酸化修饰

何鑫玺, 钟英丽*, 谢吉勇

(湖南农业大学 生物科学技术学院, 长沙 410000)

摘要 蛋白质硫酸化是一种翻译后修饰,该修饰使分泌蛋白或膜蛋白具有成熟的生物学功能,在植物的生长发育中发挥重要的作用。催化这一修饰的酶是酪氨酰蛋白磺基转移酶(tyrosylprotein sulfotransferase, TPST),它将底物 3'-磷酸腺苷-5'磷酸硫酸(PAPS)的磺基团转移到蛋白质的酪氨酸残基上。近年来,随着植物中 TPST 的克隆,已有 3 个家族的植物多肽被发现存在硫酸化修饰。本文综述了植物 TPST 的生化特性与功能,介绍了植物 TPST 的 3 个底物多肽家族及其参与的分子信号途径。

关键词 翻译后修饰;酪氨酰蛋白磺基转移酶;蛋白质硫酸化;底物
中图分类号 R34

Tyrosylprotein Sulfotransferase and Protein Sulfation in Plants

HE Xin-Xi, ZHONG Ying-Li*, XIE Ji-Yong

(College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410000, China)

Abstract Protein sulfation is a type of post-translational modification (PTM), which confers special functions to secretory peptides and membrane proteins and is involved in plant growth and development. Protein sulfation is mediated by tyrosylprotein sulfotransferase (TPST), which catalyzes the transfer of a sulfonic moiety from the donor 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate (PAPS) to the hydroxyl moiety of tyrosine residues of proteins. In recent years, upon the cloning of the *TPST* gene in plants, three peptide substrate families are discovered. Here we review the biochemical characteristics and functions of *TPST* in plants, and summarize the TPST substrate peptides and the related molecular signal pathways.

Key words post-translational modification (PTM); tyrosylprotein sulfotransferase (TPST); protein sulfation; substrate

蛋白质酪氨酸残基磺酸化是一种翻译后修饰,发生在大部分真核生物分泌蛋白或膜蛋白的途径中,使分泌蛋白和膜蛋白发挥正常的生理功能。催化这一反应的酶位于高尔基体,被命名为酪氨酰蛋白磺基转移酶(tyrosylprotein sulfotransferase, TPST),它将 3'-磷酸腺苷-5'磷酸硫酸(3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate, PAPS)的磺基团转移到被修饰蛋白质的酪氨酸残基上^[1]。1954 年, Bettelheim 在牛体内的纤维蛋白肽 B 中,首次发现了酪氨酸磺酸化修饰^[2]。Baeuerle 等发现,催化这一修饰酶 TPST 位于高尔基体^[3]。TPST 及硫酸化蛋白质在炎症、止血和免疫等方面均发挥重要的作用。例如,CCR5 经过硫酸化后才能介导艾滋病病毒-1(human immunodeficiency virus type 1, HIV-1)进入 CD4 细胞^[4];P-选择素糖蛋白配体 1(P-

selectin glycoprotein ligand 1, PSGL-1)的 3 个磺酸化的酪氨酸残基,影响其与 P 选择素的结合,从而影响炎症应答中白血球的粘附等^[5]。1990 年, Niehrs 和 Huttner 从牛的肾上腺髓质中纯化获得 TPST 蛋

收稿日期:2017-11-13;修回日期:2017-12-17;接受日期:2018-01-13

湖南省教育厅科学研究开放平台项目(No. 15K059)和湖南省研究生科研创新项目(No. CX2017B387)资助

* 通讯作者 Tel: 13739099325; E-mail: yinglizhong@aliyun.com

Received: November 13, 2017; Revised: December 17, 2017; Accepted: January 13, 2018

Supported by Open Platform Project of Scientific Research in Department of Education of Hunan (No. 15K059) and Project of Science and Innovation for Graduate Student in Hunan Province (No. CX2017B387)

* Corresponding author Tel: 13739099325; E-mail: yinglizhong@aliyun.com

白^[6],1998 年,TPST-1 和 TPST-2 相继被克隆^[7,8]。

植物中最早发现的硫酸化蛋白质植物磺肽素 (phytosulfokines, PSK) 是在 1996 年^[9],在时间上远晚于动物中硫酸化蛋白质的发现。直到 2009 年,才在拟南芥中纯化获得具有蛋白硫酸化活性的 TPST 蛋白,并克隆得到 TPST 基因^[10]。

目前,植物中已经发现的硫酸化修饰的蛋白质有 3 个家族,分别是植物磺肽素、酪氨酸硫酸化植物多肽 (plant peptide containing sulfated tyrosine 1, PSY1) 和根分生组织生长因子 (root meristem growth factors, RGF) 家族。PSK 和 PSY 的功能比较相近,主要是促进细胞的增殖和伸展^[9, 11];而 RGF 主要参与维持根尖分生组织的正常活性^[12]。近年来发现,这 3 个家族与植物免疫和植物激素调节也相关^[13-15]。随着对底物蛋白质功能研究的逐渐深入,酪氨酸硫酸化在植物生长发育过程中的地位将会被进一步阐明。

1 植物酪氨酸蛋白磺基转移酶概述

1.1 TPST 在植物体中的分布及纯化

目前,在水稻、芦笋、胡萝卜、番茄、拟南芥和烟草中都发现有 TPST 的活性^[16]。根据 NCBI 数据库 BLAST 搜索 *AtTPST* 基因同源序列,得到高度相似的 17 种植物 TPST 基因序列。通过 MEGA5 软件,获得 Fig. 1 中的进化树。由 Fig. 1 可见,植物中 TPST 基因存在保守和同源性。与拟南芥 TPST 亲缘关系最近的是亚麻荠 TPST,而亚麻荠与拟南芥同属于十字花科。在拟南芥中,TPST 分布于整个植株,主要分布在根的顶端分生组织、侧根基部和维管组织,这从侧面说明了为什么 *tpst* 在根部表现出多重不正常形态^[10,12]。像 TPST 这样广泛存在于高等植物中的现象说明,蛋白质硫酸化这一翻译后修饰对于植物正常的生长发育是至关重要的。

要进一步研究 TPST,获取高纯度的蛋白质是一个首要问题。虽然 TPST 的活性在众多生物体内和组织中都有发现,但仅有较少的研究提到如何纯化 TPST。这与 TPST 是一种位于高尔基体上的膜蛋白,并且在细胞中的含量非常有限有关。目前,无论是在动物或者植物中,主要是利用亲和层析的方法来纯化 TPST 蛋白;而亲和层析方法中,主要采用化学合成 TPST 的底物多肽,或者以 TPST 蛋白的抗体作为配体。比如,从兔的下颌唾液腺中和人类的唾液中纯化获得 TPST 蛋白,利用的是免疫亲和层析^[17,18];从牛的肾上腺髓质中纯化 TPST 蛋白利用

的是化学合成的底物多肽^[6,19,20],而从植物中纯化 TPST 蛋白,主要是用化学合成的底物多肽^[10]。

1.2 TPST 的序列与结构和催化机制

AtTPST 基因编码 500 个氨基酸,其蛋白质的分子质量为 62 kD,包含 1 个位于 N 端的信号肽和 1 个靠近 C 端的跨膜结构,还有 6 个潜在的 N-糖基化位点,属于 I 型跨膜蛋白。*AtTPST* 蛋白与人类 TPST 蛋白,在 C 端有一段区域与人类 HS6ST2 (human heparan sulfate, 6-O-sulfotransferase-2) 蛋白相似,没有其它蛋白质结构域和结构特征^[10]。动物和人类中存在 2 种 TPST,分别是 TPST-1 和 TPST-2;而植物中只有 1 种 TPST。TPST 蛋白结构也不相同,TPST-1 和 TPST-2 都属于 II 型跨膜蛋白。所以,即便对动物中 TPST 的催化机制已有所了解,比如动物中 TPST 蛋白的结构与胞内硫酸基转移酶的结构非常相似^[21]、已知 TPST-PAP 和 TPST-PAPS 底物复合物晶体结构^[22]、通过质谱分析 TPST-2 的催化机制^[23],但是无法推测出植物 TPST 的催化机制。

在植物中发现,pH 值和金属阳离子会影响 TPST 的催化活性和效率。pH 值在 7.0 ~ 8.5 时,TPST 的活性较高,当 pH 为 7.5 时,催化效率最高。金属离子 Mn^{2+} 和 Mg^{2+} 对 TPST 的催化效率有促进作用,而 Ca^{2+} 和 Zn^{2+} 有抑制作用,其中 Mn^{2+} 对 TPST 的促进作用最明显^[16]。

1.3 TPST 的底物特异性和催化活性

对哺乳动物 TPST 底物特异性的研究发现,被修饰的酪氨酸残基上下游 5 个氨基酸的位置中,一定会存在酸性氨基酸谷氨酸和天冬氨酸。这些酸性氨基酸的存在,对于酪氨酸磺酸化修饰尤为重要。将这些位置的酸性氨基酸替换,会降低 TPST 的催化效率甚至无法识别修饰位点^[24,25]。研究发现,植物 TPST 的底物也具有这一序列特点^[16]。我们通过在线软件 (<http://plogo.uconn.edu>)^[26] 对拟南芥 TPST 的 3 个底物家族被修饰肽链的序列进行模体分析,如 Fig. 2 所示,被修饰的酪氨酸残基-1 位置基本上都是酸性侧链的天冬氨酸,与动物和人类中的情况相似。

1.4 蛋白质硫酸化的检测方法

检测蛋白质硫酸化的方法与磷酸化有许多不同。在过去的 10 年中,有许多检测磷酸化的生物化学方法被建立,但是,检测蛋白质硫酸化的方法却很少。目前,常用于检测蛋白质硫酸化的方法是放射性同位素标记法。这种方法是将被³⁵S 标记的 PAPS 作为 SO_3^- 基团的供体,这样底物蛋白就会被³⁵S 标记

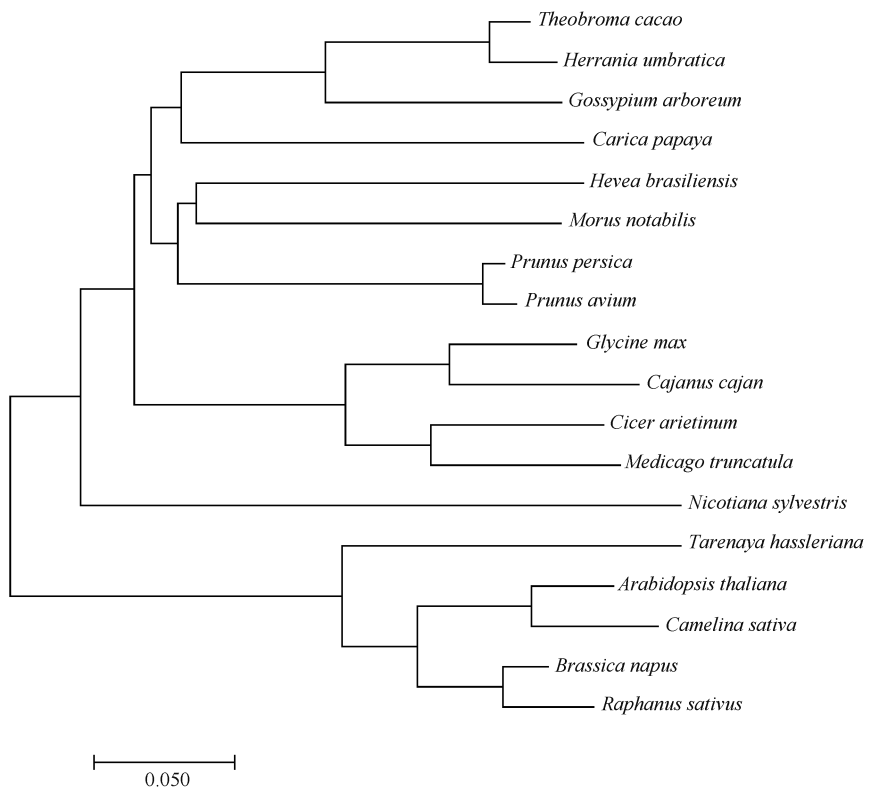


Fig. 1 The phylogenetic tree of the AtTPST protein and their homologous proteins in different species AtTPST amino acid sequences were used to search the NCBI data by BLAST. 17 genes with high similarity were identified in plants. These 17 protein sequences were then submitted to construct a phylogenetic tree by MEGA5. This phylogenetic tree described a close relationship among TPST proteins in plants

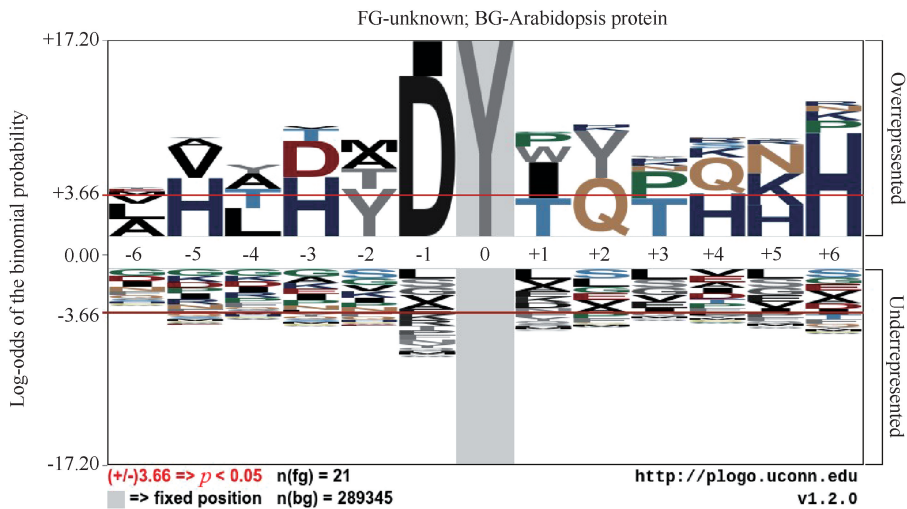


Fig. 2 Motif analysis of tyrosine sulfation modification in Arabidopsis PSK, PSY and RGF peptide sequences were used to summarize the substrate motif of TPST in *Arabidopsis*. The modified tyrosine residue was defined as position zero. And six residues up- and down-stream from it were put as a whole peptide. Then the peptide sequences were submitted to the website (<http://plogo.uconn.edu>)^[26]. And the N-terminal D was the most conserved residue. A simple motif DY was identified

上,再通过检测底物蛋白的放射性,来检测蛋白质硫酸化修饰。这种方法在动植物中均适用,同时也是目前在植物中唯一被报道用来检测蛋白质硫酸化修饰的方法^[16]。动物中,还可利用特异性识别 TPST 的抗体,通过免疫印迹法来检测蛋白质硫酸化修饰^[27,28]。Zhou 等利用酪氨酸磺酸化干扰 π - π 共轭作用产生荧光的原理,发明了荧光法用于检测蛋白质硫酸化修饰,之后还被用于研究 TPST 的酶活力

和寻找抑制蛋白质硫酸化的因子^[29,30]。

1.5 蛋白质硫酸化的预测工具

除了通过上述实验手段进行检测外,蛋白质的硫酸化作用也可以通过生物信息学工具进行预测。目前,3 个最便利的在线生物信息学分析工具是: Sulfinator (<http://web.expasy.org/sulfinator/>)^[31]、 SulfoSite (<http://sulfosite.mbc.nctu.edu.tw/>)^[32] 和 ProSulSite (http://www.bioinfo.ncu.edu.cn/inquiries_PredSulSite.aspx)^[33]。这些工具还结合了其他蛋白质属性,包括二级结构、氨基酸的理化性质和基于硫酸化蛋白的数据集等,以此预测蛋白质硫酸化作用位点的氨基酸残基序列信息^[34]。虽然这些数据库的分析结果并不一定准确,但能给繁复的实验工作提供一些参考,还是非常有意义的。

2 酪氨酰蛋白磺基转移酶的底物及其功能

2.1 PSKs 和 PSYs 的发现与功能研究

PSK 和 PSY 最初都是从悬浮细胞培养基中分离出来的一种生长促进因子。通常,在植物细胞培养中,细胞的增殖会受到低密度细胞浓度的抑制,而添加曾经培养过高密度细胞的培养基,则能够解除这种抑制并促进细胞增殖。推测细胞培养的过程中,单个细胞会分泌一种生长促进信号因子影响其他细胞的增殖^[9]。纯化得到的 PSK 有两种活性形态:一种是由 [Tyr(SO₃H)-Ile-Tyr(SO₃H)-Thr-Glu] 构成的硫酸修饰五肽,称为 PSK- α ; 另一种是在 PSK- α 的基础上去掉了 C 末端的谷氨酸,称为 PSK- β ^[35,36]。因为 PSK- β 被认为是一种降解产物,所以一般提到 PSK 指的都是 PSK- α ^[36]。PSY1 是由 18 个氨基酸构成的携带一个硫酸基团修饰的糖肽^[11]。

成熟并具有功能的 PSK 来源于一条约 80 ~ 120 个氨基酸组成的多肽前体,而 PSY1 来源于一条约 70 个氨基酸组成的多肽前体。在拟南芥中,编码 PSK 的前体多肽的基因家族包括 5 个同源基因,分别是 *AtPSK1* (*At1g13590*)、*AtPSK2* (*At2g22860*)、*AtPSK3* (*At3g44735*)、*AtPSK4* (*At3g49780*) 和 *AtPSK5* (*At5g65870*); 而编码 PSY1 前体多肽的基因存在 2 个同源基因^[11,36,37]。PSK 家族的 5 个基因在植物的生命周期中呈差异性表达,除了 *AtPSK1* 只在根部表达外,其余 4 个基因在根部和幼苗中都有表达^[38,39]。PSK 在花中的表达也有所差异。在花粉中只检测到 *AtPSK2* 的表达,而 *AtPSK3* 存在于花丝中,*AtPSK4* 存在于开花期的雌蕊和受精后的胚珠,*AtPSK5* 位于花丝的维管束^[40]。当植物受到损伤

时,*AtPSK3*、*AtPSK4* 和 *AtPSK5* 的表达上调^[41]。*PSY1* 在拟南芥中同样也广泛分布,尤其在叶子的边缘、顶端分生组织和根部伸长区的表达量较高^[11]。

PSK 和 PSY1 的功能十分相似,PSK 和 PSY1 的受体也极其相似。它们都属于类受体激酶家族,并且均含有 1 个 N 末端信号肽、一段富含亮氨酸重复序列(LRR)、1 个单一的跨膜区和 1 个细胞质激酶区,其中分布在胞外的 21 个富含亮氨酸重复序列(LRR),对蛋白质之间相互作用极其重要,它们在序列上也高度相似^[11,38]。拟南芥中存在 2 个 PSK 受体,分别是 *PSKR1* 和 *PSKR2*。*PSKR1* 较 *PSKR2* 分布更为广泛。*PSKR1* 在拟南芥所有的器官中均有表达,而 *PSKR2* 目前只发现在花中有表达^[38]。拟南芥中 PSY 只发现 1 个受体,称为 *PSY1R*^[11]。

在研究 PSK 和 PSY1 功能时,由于编码 PSK 和 PSY1 的基因较多,要逐一敲除这些基因比较困难,所以,通常利用其受体功能缺失型突变体或者添加人工合成的 PSK 或 PSY1 来作研究。PSK 和 PSY1 最基本的作用是促进细胞增殖和膨大。例如,PSK 和 PSY1 都能够促进低密度下的愈伤组织和悬浮细胞的增殖,但依赖于生长素和细胞分裂素^[9,42]。PSK 和 PSY1 都通过令细胞膨大来促进器官生长。PSK 处理后的野生型植株,其成熟的根部细胞会膨大;*pskr1-3/pskr2/psy1* 在幼苗时期的根短、子叶较小,成年后的植株矮小并伴随着叶子变小。通过共聚焦显微镜的观察发现,是由于细胞的尺寸变小了^[11,39]。过表达 *PSK4* 会导致植物雄性不育,并促进与细胞壁松散相关基因的表达,由此推测 PSK 信号通路是通过调节细胞壁发育,从而控制植物雄性不育的性状^[43]。PSK 信号通路还受到油菜素内酯的调控,抑制油菜素内酯的合成使植物对 PSK 处理不敏感^[44]。2014 年, Mahmood 等发现,对 WT 和 *psy1r* 两种生态型,分别添加或不添加 PSY1,会引起一系列基因差异表达。这些差异表达的基因与细胞发育和响应外界刺激相关。根据差异表达是否依赖于 *PSY1R*, *PSY1* 响应通路分为 2 个平行的路径。这说明,还存在另外感知 *PSY1* 的受体。研究发现,在黑暗条件下, *PSY1R* 下胚轴长度较 WT 短,证明 *PSY1R* 确实参与光照响应的调控^[45]。PSK 和 PSY1 与植物免疫也相关,而且不同病原菌引发的效应存在相互对立的现象。PSK 和 PSY1 介导的信号通路参与抵抗腐生菌,但是却会减弱植物对寄生菌的抗性。*pskr1-3/pskr2/psy1r* 对腐生菌的侵染更加敏感,形成比野生型更加严重的病害状况;但当寄生菌侵

染时,突变体会产生更强的抗性^[13,14]。此外,PSK还能提高烟草花粉的萌发效率,并且花粉管的长度也与PSK信号通路有关。PSK还参与引导花粉管经由花柱到子房进入胚珠,最终完成受精的过程^[41]。PSK- α 还促进植物形态细胞的形成。例如,PSK- α 能促进百日草叶肉细胞的分化,促进从百日草培养细胞中分离出来的叶肉细胞木质部的分化^[46],促进黄瓜胚轴组织不定根的形成^[47],以及促进胡萝卜肉质胚芽的形成^[48],当胡萝卜肉质形成胚胎体系中加入PSK- α 时,则可增加肉质胚形成的数量^[49]。在聚乙二醇存在下,还可强烈地刺激日本雪松肉质胚芽的形成^[49],促进日本柳杉的体细胞胚胎发生^[50]。

2.2 根分生组织生长因子的发现与功能

TPST突变植株具有多重表型。在根部,表现为根分生组织变小及其细胞增殖分化失调。会造成额外的静止中心细胞出现,以及中柱细胞中淀粉的积累,这意味着根的干细胞微环境被破坏。体外添加化学合成的PSK和PSY1发现,只能使分生组织细胞的伸长活性恢复,而另外一种酪氨酸磷酸化多肽能够使其余表型恢复正常。这种酪氨酸磷酸化多肽被称为根分生组织生长因子(root meristem growth factors, RGF)。RGF位于根干细胞和中柱细胞最内层表达^[12]。研究发现,同时体外添加PSK、PSY1和RGF,可使突变的表型恢复到野生型水平^[12]。在对RGF作用机制的研究中发现,RGF是通过调节PLT(PLETHORA)基因的表达来影响根干小生境的^[12]。PLT编码的转录因子具有调节根干细胞小生境的作用^[51],其编码的蛋白质在根干细胞域中为梯度分布,这种分布方式对维持小生境非常重要^[52]。

TPST所介导的RGF硫酸化是植物生长素和干细胞转录因子PLT之间的纽带。在根尖生长点中,生长素的极性运输和局部合成,促成了在干细胞组织中心形成生长素的积累高峰,对于干细胞组织中心的建立和维持起到至关重要的作用^[53]。在生长素信号通路中,控制根干细胞活跃状态的关键分子是PLT蛋白,通常被称为干细胞转录因子^[51,52]。TPST和生长素之间存在非常精细的反馈调控关系:生长素在转录和蛋白质水平上调控TPST的表达,而TPST突变影响了生长素在根尖生长点部位的极性运输、局部合成和局部浓度梯度的形成。研究发现,TPST突变导致了根尖干细胞转录因子PLT在转录和蛋白质水平的降低,而过表达PLT可以有效恢复“活跃静止中心”突变体的干细胞缺陷,证明

TPST所介导的RGF硫酸化,是植物生长素和干细胞转录因子PLT之间的纽带^[54]。在缺磷条件下,RGF也可通过调节根部的发育来维持磷的动态平衡^[55]。

拟南芥中编码RGFs的基因有9个。虽然RGF家族存在9个同源的成员,但是活性却不尽同,比如:RGF7和RGF8的活性较其他成员弱,其中RGF8的活性最弱,因为tpst-1根分生组织的活力能被除RGF8以外的其他成员恢复^[12]。

3 硫酸化底物肽受体及介导的其信号通路

PSKs、PSYs和RGFs均为分泌蛋白质,经过硫酸化修饰变为成熟的蛋白质,与细胞膜上的受体结合,膜上的受体在感知胞外信号后引起胞内信号联级放大。当受体被破坏时,它们将无法感受外界的信号分子,从而无法传导信号。用PSK处理植物可以显著地促进野生型愈伤组织和野生型植株根部的生长,但是受体突变后,愈伤组织和根部对PSK的处理不再敏感。同样地,当PSY和RGF受体被破坏,根部对PSY和RGF的响应也不再敏感^[11,38,56]。综上介绍了PSKs、PSYs和RGFs在植物体内的生物学功能,比如促进细胞膨大,维持根尖分生组织小生境,参与植物免疫反应等,当受体被破坏时,它们的这些生理学功能都不再得以发挥。

PSKs、PSYs和RGFs的受体都属于类受体激酶的蛋白激酶亚家族,包含一段富含亮氨酸重复序列(leucine rich repeat, LRR),分布在根的近端分生组织、伸长区和分生区^[11,56-58]。植物类受体蛋白激酶的LRR通常都具有N端信号肽来识别胞外信号,胞外受体结构域与信号分子结合,跨膜结构域联系胞内外部分和传递信号,以及蛋白激酶接触反应域作为信号级联反应的中心。在对PSK受体的研究中发现,硫酸化后的PSK确实与胞外受体结构域相结合,这段胞外结构域即LRR^[56]。该位点特异性的结合被硫酸化的信号分子,几乎不结合未被硫酸化的信号分子^[46]。因此推测,硫酸化底物肽受体都特异性的只识别硫酸化的底物肽,而不识别未被硫酸化的底物肽。

综合上述提到的硫酸化底物肽与其受体间存在的相互关系,可以推测硫酸化底物肽受体及介导的其信号通路如图3所示,成熟的硫酸化多肽被分泌出细胞,与靶细胞膜上的LRR受体结合并介导信号传递。

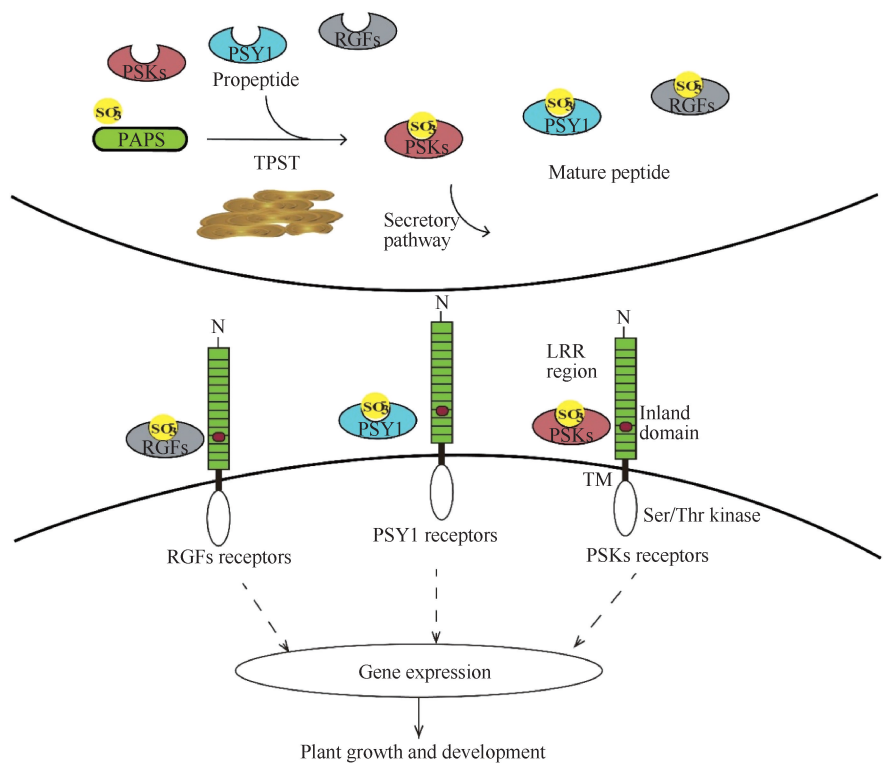


Fig. 3 The signal transduction model for tyrosine sulfation in plants TPST transfers the sulfo-group to PSK. PSY and RGF peptides are from the PAPS donor. Modified peptides are secreted and bound to their receptors on the targeting cell membrane. The identified receptors are all Ser/Thr kinases

4 问题与展望

综上所述,硫酸化蛋白在植物的正常生长发育中发挥着至关重要的作用。TPST 在植物中是单拷贝^[10],所以,当其缺失后植物体内所有硫酸化的蛋白质都应该无法发挥功能。但目前找到的 TPST 底物蛋白质并不能完全解释 *tpst* 的表型,所以植物体内应该仍存有大量未被发现的硫酸化蛋白质。除了 pH 值、金属阳离子和底物特异的识别序列,是否有其它的因素或生理过程对 TPST 的催化效率有影响,也是值得深入研究和探索的方面。虽然已经纯化获得 AtTPST 的蛋白质,但 AtTPST 的三级空间结构和催化部位的结构仍不了解。所以,现在需要寻找到更多硫酸化蛋白质和与 TPST 相互作用的蛋白质,并要解析 AtTPST 蛋白的空间结构。

另外,植物中 TPST 与蛋白质硫酸化修饰研究,与动物和人类 TPST 功能的研究相比较仍然很缓慢。原因在于缺乏针对植物硫酸化蛋白质修饰的通用抗体。常用于蛋白质翻译后修饰的方法仅是通过特异性识别修饰位点的抗体,将修饰的蛋白质通过免疫共沉淀,再经过质谱分析获得目的蛋白质,这是最直接找到特异性修饰的方法之一。但目前能够应

用于植物中硫酸化修饰的抗体未见报道,或者不能像在哺乳动物中的应用那么有效。因此,开发类似于磷酸化组学研究中的动植物样品通用的固定化金属离子亲和色谱法技术 (immobilized metal ion affinity chromatography, IMAC) 与质谱联用高通量鉴定硫酸化蛋白质,也许能同样促进动植物蛋白质硫酸化的研究进程。

参考文献 (References)

[1] Moore K L. The biology and enzymology of protein tyrosine O-sulfation[J]. J Biol Chem, 2003, **278**(27):24243-24246

[2] Bettelheim F R. Tyrosine-O-sulfate in a peptide from fibrinogen [J]. J Am Chem Soc, 1954, **76**(10):2838-2839

[3] Baeuerle P A, Huttner W B. Tyrosine sulfation is a trans-Golgi-specific protein modification[J]. J Cell Biol, 1987, **105**(6 Pt 1):2655-2664

[4] Farzan M, Mirzabekov T, Kolchinsky P, *et al.* Tyrosine sulfation of the amino terminus of CCR5 facilitates HIV-1 entry[J]. Cell, 1999, **96**(5):667-676

[5] Pouyani T, Seed B. PSGL-1 recognition of P-selectin is controlled by a tyrosine sulfation consensus at the PSGL-1 amino terminus[J]. Cell, 1995, **83**(2):333-343

[6] Niehrs C, Huttner W B. Purification and characterization of tyrosylprotein sulfotransferase[J]. EMBO J, 1990, **9**(1):35-42

[7] Ouyang YB, Lane W S, Moore K L. Tyrosylprotein sulfotransferase: purification and molecular cloning of an enzyme that catalyzes tyrosine O-sulfation, a common posttranslational modification of eukaryotic proteins[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, **95**(6):2896-2901

- [8] Ouyang Y B, Moore K L. Molecular cloning and expression of human and mouse tyrosylprotein sulfotransferase-2 and a tyrosylprotein sulfotransferase homologue in *Caenorhabditis elegans* [J]. J Biol Chem, 1998, **273**(38):24770-24774
- [9] Matsubayashi Y, Sakagami Y. Phytosulfokine, sulfated peptides that induce the proliferation of single mesophyll cells of *Asparagus officinalis* L[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996, **93**(15):7623-7627
- [10] Komori R, Amano Y, Ogawa-Ohnishi M, *et al.* Identification of tyrosylprotein sulfotransferase in *Arabidopsis* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, **106**(35):15067-15072
- [11] Amano Y, Tsubouchi H, Shinohara H, *et al.* Tyrosine-sulfated glycopeptide involved in cellular proliferation and expansion in *Arabidopsis*[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, **104**(46):18333-18338
- [12] Matsuzaki Y, Ogawa-Ohnishi M, Mori A, *et al.* Secreted peptide signals required for maintenance of root stem cell niche in *Arabidopsis*[J]. Science, 2010, **329**(5995):1065-1067
- [13] Mosher S, Seybold H, Rodriguez P, *et al.* The tyrosine-sulfated peptide receptors PSKR1 and PSY1R modify the immunity of *Arabidopsis* to biotrophic and necrotrophic pathogens in an antagonistic manner[J]. Plant J, 2013, **73**(3):469-482
- [14] Igarashi D, Tsuda K, Katagiri F. The peptide growth factor, phytosulfokine, attenuates pattern-triggered immunity[J]. Plant J, 2012, **71**(2):194-204
- [15] Wu T, Kamiya T, Yumoto H, *et al.* An *Arabidopsis thaliana* copper-sensitive mutant suggests a role of phytosulfokine in ethylene production [J]. J Exp Bot, 2015, **66**(13):3657-3667
- [16] Hanai H, Nakayama D, Yang H, *et al.* Existence of a plant tyrosylprotein sulfotransferase; novel plant enzyme catalyzing tyrosine O-sulfation of prephytosulfokine variants in vitro [J]. FEBS Lett, 2000, **470**(2):97-101
- [17] William S, Ramaprasad P, Kasinathan C. Purification of tyrosylprotein sulfotransferase from rat submandibular salivary glands[J]. Arch Biochem Biophys, 1997, **338**(1):90-96
- [18] Kasinathan C, Ramaprasad P, Sundaram P. Identification and characterization of tyrosylprotein sulfotransferase from human saliva[J]. Int J Biol Sci, 2005, **1**(4):141-145
- [19] Niehrs C, Huttner W B, R  ther U. In vivo expression and stoichiometric sulfation of the artificial protein sulfophilin, a polymer of tyrosine sulfation sites[J]. J Biol Chem, 1992, **267**(22):15938-15942
- [20] Niehrs C, Stinchcombe J C, Huttner W B. Two membrane-bound forms of tyrosylprotein sulfotransferase as revealed by phase partitioning in Triton X-114 [J]. Eur J Cell Biol, 1992, **58**(1):35-43
- [21] Yang Y S, Wang C C, Chen B H, *et al.* Tyrosine sulfation as a protein post-translational modification[J]. Molecules, 2015, **20**(2):2138-2164
- [22] Teramoto T, Fujikawa Y, Kawaguchi Y, *et al.* Crystal structure of human tyrosylprotein sulfotransferase-2 reveals the mechanism of protein tyrosine sulfation reaction[J]. Nat Commun, 2013, **4**:1572
- [23] Danan L M, Yu Z, Ludden P J, *et al.* Catalytic mechanism of Golgi-resident human tyrosylprotein sulfotransferase-2: a mass spectrometry approach[J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2010, **21**(9):1633-1642
- [24] Niehrs C, Kraft M, Lee R W, *et al.* Analysis of the substrate specificity of tyrosylprotein sulfotransferase using synthetic peptides [J]. J Biol Chem, 1990, **265**(15):8525-8532
- [25] Lin W H, Larsen K, Hortin G L, *et al.* Recognition of substrates by tyrosylprotein sulfotransferase. Determination of affinity by acidic amino acids near the target sites[J]. J Biol Chem, 1992, **267**(5):2876-2879
- [26] O'Shea J P, Chou M F, Quader S A, *et al.* pLogo: a probabilistic approach to visualizing sequence motifs [J]. Nat Methods, 2013, **10**(12):1211-1212
- [27] Hoffhines A J, Damoc E, Bridges K G, *et al.* Detection and purification of tyrosine-sulfated proteins using a novel anti-sulfotyrosine monoclonal antibody[J]. J Biol Chem, 2006, **281**(49):37877-37887
- [28] Lassen KS, Bradbury AR, Rehfeld JF, *et al.* Microscale characterization of the binding specificity and affinity of a monoclonal anti-sulfotyrosyl IgG antibody [J]. Electrophoresis, 2008, **29**(12):2557-2564
- [29] Zhou W, Duckworth B P, Geraghty R J. Fluorescent peptide sensors for tyrosylprotein sulfotransferase activity [J]. Anal Biochem, 2014, **461**:1-6
- [30] Zhou W, Wang Y, Xie J, *et al.* A fluorescence-based high-throughput assay to identify inhibitors of tyrosylprotein sulfotransferase activity [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, **482**(4):1207-1212
- [31] Monigatti F, Gasteiger E, Bairoch A, *et al.* The Sulfinator: predicting tyrosine sulfation sites in protein sequences [J]. Bioinformatics, 2002, **18**(5):769-770
- [32] Chang W C, Lee T Y, Shien D M, *et al.* Incorporating support vector machine for identifying protein tyrosine sulfation sites[J]. J Comput Chem, 2009, **30**(15):2526-2537
- [33] Huang S Y, Shi S P, Qiu J D, *et al.* PredSulSite: prediction of protein tyrosine sulfation sites with multiple features and analysis [J]. Anal Biochem, 2012, **428**(1):16-23
- [34] 潘露露, 翟琳辉, 谭敏佳. 蛋白酪氨酸硫酸化修饰的研究进展[J]. 生命科学 (Pan L L, Zhai L H, Tan M J. Research progress on protein tyrosine sulfation[J]. Chin Bull Life Sci,) 2017, **29**(2):153-159
- [35] Yang H, Matsubayashi Y, Nakamura K, *et al.* *Oryza sativa* PSK gene encodes a precursor of phytosulfokine- α , a sulfated peptide growth factor found in plants [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, **96**(23):13560-13565
- [36] Yang H, Matsubayashi Y, Nakamura K, *et al.* Diversity of *Arabidopsis* genes encoding precursors for phytosulfokine, a peptide growth factor [J]. Plant Physiol, 2001, **127**(3):842-851
- [37] Lorbiecke R, Sauter M. Comparative analysis of PSK peptide growth factor precursor homologs[J]. Plant Sci, 2002, **163**(2):321-332
- [38] Matsubayashi Y, Ogawa M, Kihara H, *et al.* Disruption and overexpression of *Arabidopsis* phytosulfokine receptor gene affects cellular longevity and potential for growth [J]. Plant Physiol, 2006, **142**(1):45-53
- [39] Kutschmar A, Rzewuski G, St  hrwoldt N, *et al.* PSK- α promotes root growth in *Arabidopsis*[J]. New Phytol, 2009, **181**(4):820-831
- [40] St  hrwoldt N, Dahlke R I, Kutschmar A, *et al.* Phytosulfokine peptide signaling controls pollen tube growth and funicular pollen tube guidance in *Arabidopsis thaliana*[J]. Physiol Plant, 2015, **153**(4):643-653
- [41] Loivam  ki M, St  hrwoldt N, Deeken R, *et al.* A role for PSK signaling in wounding and microbial interactions in *Arabidopsis* [J]. Physiol Plant, 2010, **139**(4):348-357
- [42] Matsubayashi Y, Morita A, Matsunaga E, *et al.* Physiological relationships between auxin, cytokinin, and a peptide growth factor, phytosulfokine- α , in stimulation of asparagus cell proliferation[J]. Planta, 1999, **207**(4):559-565
- [43] Yu L, Liu Y, Liu Y, *et al.* Overexpression of phytosulfokine- α induces male sterility and cell growth by regulating cell wall development in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell Rep, 2016, **35**(12):2503-2512
- [44] Hartmann J, St  hrwoldt N, Dahlke R I, *et al.* Phytosulfokine control of growth occurs in the epidermis, is likely to be non-cell autonomous and is dependent on brassinosteroids[J]. Plant J, 2013, **73**(4):579-590
- [45] Mahmood K, Kannangara R, Jorgensen K, *et al.* Analysis of peptide PSY1 responding transcripts in the two *Arabidopsis* plant lines: wild type and psy1r receptor mutant[J]. BMC Genomics, 2014, **15**:441
- [46] Matsubayashi Y, Sakagami Y. Characterization of specific binding sites for a mitogenic sulfated peptide, phytosulfokine-

- alpha, in the plasma-membrane fraction derived from *Oryza sativa* L [J]. *Eur J Biochem*, 1999, **262**(3):666-671
- [47] Yamakawa S, Sakuta C, Matsubayashi Y, *et al.* The promotive effects of a peptidyl plant growth factor, phytosulfokine- α , on the formation of adventitious roots and expression of a gene for a root-specific cystatin in cucumber hypocotyls[J]. *J Plant Res*, 1998, **111**(3):453-458
- [48] Hanai H, Matsuno T, Yamamoto M, *et al.* A secreted peptide growth factor, phytosulfokine, acting as a stimulatory factor of carrot somatic embryo formation[J]. *Plant Cell Physiol*, 2000, **41**(1):27-32
- [49] Kobayashi T, Eun C H, Hanai H, *et al.* Phytosulfokine-a, a peptidyl plant growth factor, stimulates somatic embryogenesis in carrot. *J Exp Bot*[J]. *J Exp Bot*, 1999, **50**(336):1123-1128
- [50] Igasaki T, Akashi N, Ujino-Ihara T, *et al.* Phytosulfokine stimulates somatic embryogenesis in *Cryptomeria japonica*. [J]. *Plant Cell Physiol*, 2003, **44**(12):1412-1416
- [51] Aida M, Beis D, Heidstra R, *et al.* The PLETHORA genes mediate patterning of the *Arabidopsis* root stem cell niche[J]. *Cell*, 2004, **119**(1):109-120
- [52] Galinha C, Hofhuis H, Luijten M, *et al.* PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of *Arabidopsis* root development[J]. *Nature*, 2007, **449**(7165):1053-1057
- [53] Ding Z, Friml J. Auxin regulates distal stem cell differentiation in *Arabidopsis* roots[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, **107**(26):12046-12051
- [54] Zhou W, Wei L, Xu J, *et al.* *Arabidopsis* tyrosylprotein sulfotransferase acts in the auxin/PLETHORA pathway in regulating postembryonic maintenance of the root stem cell niche [J]. *Plant Cell*, 2010, **22**(11):3692-3709
- [55] Cederholm H M, Benfey P N. Distinct sensitivities to phosphate deprivation suggest that RGF peptides play disparate roles in *Arabidopsis thaliana* root development[J]. *New Phytol*, 2015, **207**(3):683-691
- [56] Matsubayashi Y, Ogawa M, Morita A, *et al.* An LRR receptor kinase involved in perception of a peptide plant hormone, phytosulfokine[J]. *Science*, 2002, **296**(5572):1470-1472
- [57] Shinohara H, Mori A, Yasue N, *et al.* Identification of three LRR-RKs involved in perception of root meristem growth factor in *Arabidopsis*[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, **113**(14):3897-3902
- [58] Ou Y, Lu X, Zi Q, *et al.* RGF1 INSENSITIVE 1 to 5, a group of LRR receptor-like kinases, are essential for the perception of root meristem growth factor 1 in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Cell Res*, 2016, **26**(6):686-698