

·综述·

# 植物细胞程序性死亡中的类 caspases 蛋白酶

陈宇亮<sup>1</sup>, 张飞雄<sup>1</sup>, 张贵友<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>首都师范大学生命科学学院, 北京 100037; <sup>2</sup>清华大学生物科学与技术系, 北京 100084

**摘要** 细胞程序性死亡对于植物的正常生长发育及病理过程具有十分重要的生物学意义。现有的实验证据表明, 细胞程序性死亡在动物和植物中有许多相似之处, 但也各有特点。在植物中, VPEs、metacaspases和saspases等酶类在细胞程序性死亡过程中发挥了关键性作用。该文详细比较了动、植物细胞程序性死亡的差异, 并阐述了VPEs、metacaspases和saspases三类类caspases蛋白酶在植物程序性细胞死亡中所起的作用。

**关键词** metacaspases, 细胞程序性死亡, saspases, 液泡加工酶

陈宇亮, 张飞雄, 张贵友 (2008). 植物细胞程序性死亡中的类 caspases 蛋白酶. 植物学通报 25, 616–623.

细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)是指细胞在一定的生理或病理条件下, 为了维持内环境稳定并更好地适应生存环境而采取的一种由基因控制的、细胞主动的并且有序的死亡(Wyllie, 1980)。细胞程序性死亡因其在多细胞生物的生长发育、器官形成、癌症成因等方面的关键作用, 已经成为当今生物学研究领域的热点之一。

细胞程序性死亡普遍存在于所有单细胞或多细胞的真核生物中。人们通过对线虫的研究逐步揭示了细胞程序性死亡的分子机制, 进而推动了动物细胞凋亡研究的深入。相比之下植物细胞程序性死亡的研究起步较晚, 但是, 随着研究的深入, 人们发现细胞程序性死亡在植物的生长发育过程中普遍存在, 如在木质部、胚胎和导管的形成以及一些植物的再生、种子发育和叶的老化等过程中都会发生(Pennell and Lamb, 1997), 而且在植物对外部环境刺激(如非生物胁迫或抵抗病原体感染)的响应过程中也具有十分重要的意义(Lam, 2004)。

## 1 动物细胞凋亡和植物细胞程序性死亡的异同

细胞程序性死亡通常采取细胞凋亡(apoptosis)的形式,

但是二者的涵义并非完全一样。通常人们并未加以严格区分而将这两个概念等同使用(Vaux, 1999; Vaux and Korsmeyer, 1999)。由于植物细胞程序性死亡形式的多样性, 以及与动物细胞凋亡存在的明显差异, 在近期有关植物研究的文献中, 人们更多地使用细胞程序性死亡这一更为准确的概念进行表述。

### 1.1 动物细胞凋亡和植物细胞程序性死亡的相似点

在动、植物细胞程序性死亡过程中有许多相似的特点, 因此人们把动物细胞凋亡研究中的许多研究方法和实验手段普遍应用于植物细胞程序性死亡的研究中。

从细胞形态学上来看, 植物细胞程序性死亡过程中出现类似动物细胞凋亡的一些特征(Danon et al., 2000)。而从分子水平上来看, 动物细胞的凋亡通路是由一类具有高度保守性的caspases酶类介导的(Cohen, 1997)。Caspases酶类通过水解天冬氨酸残基C末端的肽键(P1残基), 激活下游的caspases酶或分解细胞内相关的底物蛋白, 导致细胞结构和代谢的改变, 最后引起细胞凋亡(Earnshaw et al., 1999)。因此, caspases酶类也被称为死亡蛋白酶。实验结果表明, 植物在病原体感染处理(del Pozo and Lam, 1998)、化

收稿日期: 2008-01-31; 接受日期: 2008-02-29

基金项目: 863计划(No. 2006AA09Z413)

\* 通讯作者。E-mail: zhang-gy@mail.tsinghua.edu.cn

学处理(de Jong et al., 2000)、NO 处理(Clarke et al., 2000)以及热激处理(Tian et al., 2000)下发生的细胞程序性死亡过程中均可以检测出类 caspases 酶类的活性。同时,常用的 caspases 酶类抑制剂可抑制这类活性。在用 menadione 诱导烟草原生质体细胞程序性死亡的研究中发现, caspases 的抑制剂 Ac-DEVD-CHO 和 Ac-YVAD-CHO 可以阻止 DNA 的断裂和 PARP (poly-(ADP-ribose) polymerase) 的降解(Sun et al., 1999)。

## 1.2 动物细胞凋亡和植物细胞程序性死亡的差别

动、植物细胞在细胞形态及生理功能上存在明显的差异,因而在动物细胞凋亡和植物细胞程序性死亡过程中存在的差异也十分显著。

植物细胞被细胞壁包围,发生程序性死亡的细胞必须自己降解自身物质。van Doorn 和 Woltering(2005)将所有细胞程序性死亡分为3种在形态学上不同的类型,即凋亡、自噬(autophagy)和非溶酶体参与的细胞程序性死亡(non-lysosomal PCD)。植物在发育中或非生物胁迫下的细胞程序性死亡过程中采取自噬的方式(lakimova et al., 2005),而在植物超敏反应中所发生的细胞程序性死亡类似于非溶酶体参与的细胞程序性死亡,也称类-坏死性细胞程序性死亡(necrosis-like PCD)(Greenberg and Yao, 2004)。由于细胞凋亡最为典型的特征是形成凋亡体并被其它细胞吞噬,而植物细胞程序性死亡并不具有这一特点,因此一般认为细胞凋亡仅限于后生动物的细胞程序性死亡。

同时,动、植物死亡蛋白酶的细胞内定位是不同的。在植物中,液泡在程序性死亡中起重要作用,液泡膜的崩解是植物细胞程序性死亡中的关键步骤(Jones, 2001)。

通过广泛的研究,人们发现在分子水平上, VPEs (vacuolar processing enzymes)和 saspases 均显示出类似 caspases 酶类的蛋白活性,但是 VPEs 蛋白序列除活性位点外,其它部分与 caspases 酶类差别巨大;而 saspases 甚至在活性位点上也与 caspases 酶类不同。

## 2 植物细胞程序性死亡中的类caspases蛋白酶

序列分析表明,在拟南芥基因组中,没有编码 caspases 酶类的基因,说明植物细胞程序性死亡过程依靠的是具有 caspases 酶活性的其它种类的蛋白酶。最近的研究表明, VPEs、metacaspases 和 saspases 在植物细胞程序性死亡过程中起到类似 caspases 酶类的关键性调控作用。

VPEs 和 metacaspases 都属于半胱氨酸蛋白内切酶类(Rotari et al., 2005; Sanmartín et al., 2005),在一级、二级结构以及功能上与动物细胞中的 caspases 类似,推测它们可能与 caspases 起源于共同的祖先。Saspase 是最初从燕麦(*Avena sativa*)中鉴定出来的另一种 caspases 酶,它们表现出对 caspases 底物的降解活性。与动物中的 caspases 相比,它们在其活性中心都含有 1 个丝氨酸残基(Coffeen and Wolpert, 2004)。

### 2.1 VPEs

早在 1987 年人们就发现在成熟南瓜种子中存在一种负责蛋白贮存泡中贮存的蛋白前体加工成熟的酶(Hara-Nishimura and Nishimura, 1987)。随后,从蓖麻(*Ricinus communis*)中纯化出这种酶(Hara-Nishimura et al., 1991),并命名为液泡加工酶(vacuolar processing enzyme, VPE)。VPE 的分子特征表明,它是一类独特的半胱氨酸蛋白酶,属于 C13 家族(Hara-Nishimura et al., 1993),负责液泡中蛋白的成熟和激活(Hara-Nishimura et al., 1991, 1993)。

在细胞中, VPEs 以无活性的蛋白前体形式在细胞质中合成, VPEs 蛋白前体由一个短的 N 末端、成熟蛋白酶片段和一个长的 C 末端组成。转移进入液泡后,蛋白前体在酸性环境下通过自我催化的方式转变为成熟形式(Ferri and Kroemer, 2001; Kuroyanagi et al., 2002)。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组中有 4 个编码 VPEs 的基因(*aVPE*、*bVPE*、*gVPE*、*dVPE*),根据其同源性和表达特性可以分为 3 个亚族(Yamada et al.,

2005)。通过 RNA 凝胶印迹和组织化学分析显示 *aVPE* 和 *gVPE* 在植株中表达, 属于植株型, 与植物衰老和抗逆性有关。而 *bVPE* 在种子中表达, 属于种子型, 与植物种子的成熟有关。*dVPE* 在拟南芥种子形成的早期过程中短暂特异地在形成种皮的 2 层细胞中表达, 使这 2 层细胞发生程序性死亡, 形成种皮(Nakaune et al., 2005)。*dVPE* 不属于以上 2 个亚族类型。

VPE 序列中含有可以插入细胞内膜系统的信号肽(Kuroyanagi et al., 2002), 使其可以转运到内质网小体(ER bodies, 也称 PPVs)或液泡中(Rojo et al., 2003)。动物天冬酰胺内切酶(AEP)/legumain 是植物 VPE 的同源蛋白, 在动物细胞中负责组织蛋白酶 B、L 和 H 3 种溶酶体水解酶的加工成熟(Shirahama-Noda et al., 2003)。值得注意的是动物的溶酶体/晚期内涵体与植物液泡在功能上是相似的, 而且在组织蛋白酶从受损的溶酶体中释放出来时, 可以激活细胞质中 caspase 的级联活化, 导致细胞凋亡(Ferri and Kroemer, 2001)。

以杆状病毒为载体在昆虫细胞中表达 *gVPE* 基因, 50 kDa 无活性的  $\gamma$ VPE 前体自我催化经一个 43 kDa 的中间体最终形成 40 kDa 的成熟形式, 这个 C 末端缺失的中间体表现出和成熟  $\gamma$ VPE 相同的酶活性, C 末端重组体可以抑制  $\gamma$ VPE 活性, 表明 C 末端是一个自抑制片段。将蓖麻 VPE 基因转入没有液泡蛋白水解酶活性的酵母(*pep4*)中表达, 发生相似的激活机制(Kuroyanagi et al., 2002)。对蓖麻 VPE 突变株的研究发现, 自催化反应位点的半胱氨酸二聚体被甘氨酸替代后, 蛋白前体不能加工为成熟形式(Hiraiwa et al., 1997)。C 末端的水解发生在一个双天冬氨酸位点, 这种切割方式在植物 VPE 中是相当保守的。而在突变株中, 半胱氨酸二聚体的替代抑制了蓖麻 VPE 的自催化活性(Hiraiwa et al., 1999)。

作为植物的防御机制, 超敏反应(hypersensitive response, HR)是一个具有高度组织性的细胞程序性死亡过程。近期的研究发现 VPEs 在超敏细胞死亡中起决定作用。VPEs 在液泡介导的 TMV(tobacco mosaic virus)感染的烟草(*Nicotiana tabacum*)叶片细胞死亡中表现出类 caspase-1 活性; 而在 VPEs 基因发生沉默的

烟草植株中, 受 TMV 感染的叶片上没有可见的损伤, 并且类 caspase-1 活性的减少量正比于 VPE 的减少量(Hatsugai et al., 2004)。VPEs 在超敏反应开始时迅速出现, 而在可见损伤出现前表达减弱, 说明 VPE 是 HR 早期过程中所必需的。同时, 在拟南芥 VPE 无义突变株中, VPE 和类 caspase-1 都不表现活性(Kuroyanagi et al., 2005)。

此外, 在衰老过程或逆境胁迫下的植物组织中, VPE 表达量也会上调, 而且具有组织特异性。将 GUS 基因与 VPEs 启动子连接, 转入拟南芥或烟草植株, GUS 活性染色显示, 在不同组织中, 有不同类型的植株型 VPE 基因表达(Kinoshita et al., 1999)。*aVPE* 在新生侧根中、紧贴死亡外层细胞的内层细胞中表达, 而 *gVPE* 在花粉发育的末期花粉囊中层衰老的细胞中表达。无论 *aVPE* 还是 *gVPE* 启动子都只在老化的组织中起作用, 在新生的且未受损伤的组织中不能启动下游基因表达。而在干燥的种子中, 只有 *bVPE* 的表达。

VPEs 和 caspases 的大部分蛋白序列差别很大, 在结构上不相关, 但是在形成 caspase-1 天冬氨酸水解活性位点的关键氨基酸上, 二者十分相似, 表现出类 caspase-1 活性, 而且在各种植物的 VPEs 间十分保守(Hatsugai et al., 2006)。

## 2.2 Metacaspase

序列同源分析表明在植物中存在包含 caspases 的保守片段 metacaspases。分子水平的系统进化分析表明, 植物、真菌和原生动物的 metacaspases 在进化上起源于 caspases。

拟南芥中的 metacaspases 分为 2 种类型。I 型 metacaspases 包括一个 C 端类 caspase 蛋白水解酶结构域(该结构域含有保守的组氨酸和半胱氨酸残基)以及一个富含脯氨酸和谷氨酰胺的 N 端, 这个脯氨酸结构域中包含一个锌指结构, 该结构与植物超敏反应的负调控因子 LSD-1 类似, 在真菌和原生动物中可以找到同源序列。II 型 metacaspases 只存在于植物中, 没有脯氨酸结构域, 但在其类似 caspases 的 p20 和 p10 亚基之间含有一段大约 180 bp 的保守插入序列(Uren et al.,

2000)。其中各种不同的 metacaspases 在氨基酸序列上具有从 56% 到 71% 不等的高度同源性(Watanabe and Lam, 2005)。与 caspases 进行序列比对, 不能找出 metacaspases 序列中直接水解天冬氨酸的位点, 因此很难推测其激活下游靶蛋白的机制与 caspases 是否一致(Watanabe and Lam, 2004)。

最新研究发现, metacaspase-9 在细胞内是经信号分子 NO 在其活性半胱氨酸位点, 通过巯基亚硝基化的方式激活, 进而水解下游底物(Belenghi et al., 2007)。而且, 它还具有抑制丝氨酸蛋白酶抑制剂 1 (serpin1) 活性的作用(Vercammen et al., 2006), 这一特点十分类似于动物中的 caspases 酶。

I 型 metacaspases 的 N 端含有导肽序列, 推测其可能定位在线粒体或叶绿体内。II 型 metacaspases 不含信号肽或跨膜结构域, 推测可能定位于胞质溶胶中 (Sanmartin et al., 2005)。

对病原体感染的拟南芥叶片进行 Northern 分析, 结果显示 metacaspases (AtMCP1a-1c、AtMCP2b、AtMCP2d) 的表达迅速上调(Watanabe and Lam, 2005), 证明 metacaspases 与超敏细胞死亡过程的激活有关。

在挪威云杉(*Picea abies*) 的与胚胎发育相关的细胞程序性死亡过程中发现一种 II 型 metacaspase 基因 (*mcII-Pa*) 编码类 VEIDase 酶 (Bozhkov et al., 2005), 而 VEIDase 是 caspases 的底物之一。VEIDase 酶是挪威云杉胚胎发育过程中必需的 (Bozhkov et al., 2004)。McII-Pa 基因的沉默抑制了 VEIDase 的活性和胚胎发育中必要的细胞程序性死亡, 进而阻碍了胚柄分化 (Suarez et al., 2004)。这一结果证明 metacaspase 在植物胚胎发育相关的细胞程序性死亡中起关键作用。

值得注意的是, 番茄在受一种番茄灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*) 诱导的细胞死亡中, LeMCA 1 (一种 II 型 metacaspase) 的转录水平迅速提高, 而悬浮培养的细胞在喜树碱 (camptothecin) 或 fumonisin B1 诱导的死亡过程中, LeMCA 1 转录水平却保持不变 (Hoeberichts et al., 2003), 表明不是所有的细胞死亡过程都伴随着同一种酶的转录增强, 可能是不同的 metacaspase 在不同条件下诱导细胞的程序性死亡。

对 metacaspase 的上游蛋白的研究发现, 在受紫外线或过氧化氢诱导的拟南芥细胞程序性死亡中, *RCD1* 基因起关键的调控作用。在 *r c d 1* 突变株中, metacaspase-8 不能被激活 (He et al., 2007)。

也有报道指出, 在 *E. coli* 中重组表达的 II 型 metacaspases, 其催化水解的不是 P1 天冬氨酸残基, 而是 P1 精氨酸/赖氨酸位点 (Vercammen et al., 2004)。因此 metacaspases 是一类精氨酸/赖氨酸特异的半胱氨酸蛋白酶 (Vercammen et al., 2004; Watanabe and Lam, 2005), 其作用最适位点并非 caspases 特异的底物, 推测 metacaspase 在植物细胞程序性死亡中的作用可能只是直接或间接地激活某些类 caspase 蛋白酶。

尽管 metacaspases 和 caspases 在结构和底物特异性方面有所不同, 但多数证据表明 metacaspases 具有 caspases 活性, 与植物细胞程序性死亡密切相关, metacaspases 的超表达或低表达都会影响植物胚胎发育和超敏反应。

### 2.3 Saspase

Saspases 是一种具有 caspases 酶活性, 并以丝氨酸 (而不是半胱氨酸) 为反应位点的类 caspases 酶类。目前对其的研究较少, 仅局限于有限的几个物种, 最早是在对燕麦的枯萎病研究中发现的。燕麦的枯萎病是由维多利亚旋孢腔菌 (*Cochliobolus victoriae*) 产生毒素 victorin, 然后诱导敏感株发生细胞程序性死亡, 在这个过程中发生 Rubisco 大亚基的降解。研究者在这一信号通路中纯化出 2 种具有 caspases 酶活性的丝氨酸蛋白酶——saspase-1 和 saspase-2 (Coffeen and Wolpert, 2004)。这 2 种丝氨酸蛋白酶在氨基酸序列上与植物类枯草杆菌蛋白酶具有同源性。这 2 种酶在最适反应条件、活性、分子量和 MALDI-TOF 质谱图等方面有高度相似性, 推测可能来自于相同基因翻译产物的不同修饰。这 2 种酶的活性可被 caspases 酶特异性抑制剂 Ac-VAD-CMK 所抑制, 并可以水解多种 caspases 酶的特异性底物。研究发现在正常的燕麦细胞提取物中可以检测出 100% saspases 酶活性, 而在 victorin 诱

导完整细胞的过程中, saspases被释放到细胞外液, 启动细胞程序性死亡。据推测在正常细胞中 saspases可能存在于内质网或高尔基体内, 或者与细胞膜或膜外基质结合, 进而抑制了其水解活性, 而saspases的释放则激活了细胞程序性死亡过程。

P69是一种受病原体诱导产生的丝氨酸蛋白酶, 在番茄受细菌感染诱导的细胞程序性死亡中, 可以水解一种胞外蛋白LRP(Leu-rich repeat containing protein)(Tornerio et al., 1996)。LRPs在很多实验中被证明是一种与植物疾病抗性相关的信号分子, 推测燕麦saspase可能是通过水解LRPs激活植物细胞程序性死亡的信号通路。

### 3 展望

植物细胞程序性死亡与动物细胞凋亡一样, 在发育或病理过程中起着重要的作用, 是植物生长发育的必需组成部分。但是目前对于植物细胞程序性死亡的关键酶类尚无定论, 对几种类caspase酶类的研究也各有不明之处。尽管最新的研究显示, VPEs控制着植物液泡的各种功能, 如液泡相关的超敏细胞死亡和衰老及植物细胞的伤害反应, 可能是植物细胞程序性死亡的关键调控酶类, 但是VPEs作用的下游靶蛋白还不清楚, 仅有推测植株型VPEs的靶蛋白可能包括液泡中的衰老和伤害诱导产生的蛋白。同时, 有关VPEs在序列上与caspases完全不同, 而在活性位点上却十分相似的原因也不清楚。Metacaspases虽然在序列上与caspases有相似性, 是真菌类细胞程序性死亡的调控酶类, 但现有研究表明, 植物中的metacaspases所具有的是精氨酸/赖氨酸特异的蛋白水解活性。因此目前还不清楚植物metacaspases是否控制细胞死亡的激活, 是否在功能上与典型的caspases酶类等价。此外, saspase作为燕麦细胞程序性死亡的关键酶类, 如何发挥作用, 是否在植物体中具有普遍性以及其与半胱氨酸蛋白酶类有何关系等问题也不清楚。

最近 Bosch 等人发现在罂粟科植物虞美人(*Papaver rhoeas*)的花粉自交不亲和诱导的细胞程序性死亡中,

有类caspase-3/DEVDase的表达, 这是在调控细胞程序性死亡中最为关键的酶。同时自交不亲和也激活了VEIDase和LEVDase的活性(Bosch and Franklin-Tong, 2007)。另外, 在热激引起的烟草悬浮细胞程序性死亡过程中, 也发现有类caspase-3的表达(Vacca et al., 2006)。有学者建议将植物体内类caspases酶类根据其底物特异性分为YVADase、DEVADase、VEIDase、TATDase和Saspase几种类型(Woltering, 2004), 这种分类方法目前已得到广泛采用(Boren et al., 2006; Bosch and Franklin-Tong, 2007)。根据这种分类方法, VPE属于YVADase类, metacaspase属于VEIDase类, 并由此可以认为植物细胞程序性死亡过程可能是几种酶共同作用的结果。

另外, 对于生长发育或外部刺激信号如何进入植物细胞程序性死亡级联过程并调控激活类caspases, 以及如何有序地促进细胞死亡的具体过程还不清楚。尽管植物类caspases在功能和进化上与动物caspases相似, 但是动、植物中的caspases不仅调控功能不同, 而且在亚细胞结构中的定位也不相同。因此, 类caspases酶类在植物中的真正功能还是一个悬而未决的问题。总的来说, 有关植物细胞死亡蛋白酶的研究尚处于起始阶段。

但是随着细胞PCD检测手段以及动植物基因组测序研究的进展, 以及将动物细胞凋亡研究中的部分成果和方法应用于植物PCD研究, 人们有望深刻揭示动、植物细胞凋亡调控机制的差异以及植物细胞死亡蛋白酶控制植物在自身及外界死亡诱导信号刺激下, 调控细胞程序性死亡的特殊途径。

### 参考文献

- Bele ng hi B, del Carmen Romero-Puertas M, Vercammen D, Brack enier A, Inze D, Delle donne M, van Breusegem F (2007). Metacaspase activity of *Arabidopsis thaliana* is regulated by s-nitrosylation of a critical cysteine residue. *J Biol Chem* **282**, 1352-1358.
- Boren M, Hög lund AS, Bozhkov P, Jansson C (2006). Developmental regulation of VEIDase caspase-like proteolytic activity in barley caryopsis. *J Exp Bot* **57**, 3747-3753.

- Bosch M, Franklin-Tong VE** (2007). Temporal and spatial activation of caspase-like enzymes induced by self-incompatibility in *Papaver* pollen. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 18327-18332.
- Bozhkov PV, Filonova LH, Suarez MF, Helmersson A, Smertenko AP, Zhivotovsky B, von Arnold S** (2004). VEIDase is a principal caspase-like activity involved in plant programmed cell death and essential for embryonic pattern formation. *Cell Death Differ* **11**, 175-182.
- Bozhkov PV, Suarez MF, Filonova LH, Daniel G, Zamyatnin AA Jr, Rodriguez-Nieto S, Zhivotovsky B, Smertenko A** (2005). Cysteine protease mcll-Pa executes programmed cell death during plant embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**, 14463-14468.
- Clarke A, Desikan R, Hurst RD, Hancock JT, Neill SJ** (2000). NO way back: nitric oxide and programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures. *Plant J* **24**, 667-677.
- Coffeen WC, Wolpert TJ** (2004). Purification and characterization of serine proteases that exhibit caspase-like activity and are associated with programmed cell death in *Avena sativa*. *Plant Cell* **16**, 857-873.
- Cohen GM** (1997). Caspase: the executioners of apoptosis. *Biochem J* **326**, 1-16.
- Danon A, De lorme V, Mailhac N, Gallois P** (2000). Plant programmed cell death: a common way to die. *Plant Physiol Biochem* **38**, 647-655.
- de Jong AJ, Hoeberichts FA, Yakimova ET, Maximova E, Woltering EJ** (2000). Chemical-induced apoptotic cell death in tomato cells: involvement of caspase-like proteases. *Planta* **211**, 656-662.
- del Pozo O, Lam E** (1998). Caspases and programmed cell death in the hypersensitive response of plants to pathogens. *Curr Biol* **8**, 1129-1132.
- Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH** (1999). Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem* **68**, 383-424.
- Ferri KF, Kroemer G** (2001). Organelle-specific initiation of cell death pathways. *Nat Cell Biol* **3**, 255-263.
- Greenberg JT, Yao N** (2004). The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cell Microbiol* **6**, 201-211.
- Hara-Nishimura I, Inoue K, Nishimura M** (1991). A unique vacuolar processing enzyme responsible for conversion of several proprotein precursors into the mature forms. *FEBS Lett* **294**, 89-93.
- Hara-Nishimura I, Nishimura M** (1987). Proglobulin processing enzyme in vacuoles isolated from developing pumpkin cotyledons. *Plant Physiol* **85**, 440-445.
- Hara-Nishimura I, Takeuchi Y, Nishimura M** (1993). Molecular characterization of a vacuolar processing enzyme related to a putative cysteine proteinase of *Schistosoma mansoni*. *Plant Cell* **5**, 1651-1659.
- Hatsugai N, Kuroyanagi M, Nishimura M, Hara-Nishimura I** (2006). A cellular suicide strategy of plants: vacuole-mediated cell death. *Apoptosis* **11**, 905-911.
- Hatsugai N, Kuroyanagi M, Yamada K, Meshi T, Tsuda S, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I** (2004). A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. *Science* **305**, 855-858.
- He R, Drury GE, Rotari VI, Gordon A, Willer M, Tabasum F, Woltering EJ, Gallois P** (2007). Metacaspase-8 modulates programmed cell death induced by UV and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in *Arabidopsis*. *J Biol Chem* **283**, 774-783.
- Hiraiwa N, Nishimura M, Hara-Nishimura I** (1997). Expression and activation of the vacuolar processing enzyme in *Saccharomyces cerevisiae*. *Plant J* **12**, 819-829.
- Hiraiwa N, Nishimura M, Hara-Nishimura I** (1999). Vacuolar processing enzyme is self-catalytically activated by sequential removal of the C-terminal and N-terminal propeptides. *FEBS Lett* **447**, 213-216.
- Hoeberichts FA, ten Have A, Woltering EJ** (2003). A tomato metacaspase gene is upregulated during programmed cell death in *Botrytis cinerea*-infected leaves. *Planta* **217**, 517-522.
- Iakimova E, Atanassov A, Woltering E** (2005). Chemical- and pathogen-induced programmed cell death in plants. *Biotechnol Bioequip* **19**, 124-138.
- Jones AM** (2001). Programmed cell death in development and defense. *Plant Physiol* **125**, 94-97.
- Kinoshita T, Yamada K, Hiraiwa N, Nishimura M, Hara-Nishimura I** (1999). Vacuolar processing enzyme is up-regulated in the lytic vacuoles of vegetative tissues during senescence and under various stressed conditions. *Plant J* **19**, 43-53.
- Kuroyanagi M, Nishimura M, Hara-Nishimura I** (2002). Activation of *Arabidopsis* vacuolar processing enzyme by self-catalytic removal of an auto-inhibitory domain of the C-terminal propeptide. *Plant Cell Physiol* **43**, 143-151.
- Kuroyanagi M, Yamada K, Hatsugai N, Kondo M, Nishimura**

- M, Hara-Nishimura I** (2005). Vacuolar processing enzyme is essential for mycotoxin-induced cell death in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* **280**, 32914-32920.
- Lam E** (2004). Controlled cell death, plant survival and development. *Nat Rev Mol Cell Biol* **5**, 305-315.
- Nakaune S, Yamada K, Kondo M, Kato T, Tabata S, Nishimura M, Hara-Nishimura I** (2005). A vacuolar processing enzyme,  $\delta$ VPE, is involved in seed coat formation at the early stage of seed development. *Plant Cell* **17**, 876-887.
- Pennell RI, Lamb C** (1997). Programmed cell death in plants. *Plant Cell* **9**, 1157-1168.
- Rojo E, Zouhar J, Carter C, Kovaleva V, Raikhel NV** (2003). A unique mechanism for protein processing and degradation in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 7389-7394.
- Rotari VI, He R, Gallois P** (2005). Death by proteases in plants: whodunit. *Physiol Plant* **123**, 376-385.
- Sanmartín M, Jaroszewski L, Raikhel NV, Rojo E** (2005). Caspases regulating death since the origin of life. *Plant Physiol* **137**, 841-847.
- Shirahama-Noda K, Yamamoto A, Sugihara K, Hashimoto N, Asano M, Nishimura M, Hara-Nishimura I** (2003). Biosynthetic processing of cathepsins and lysosomal degradation are abolished in asparaginyl endopeptidase-deficient mice. *J Biol Chem* **278**, 33194-33199.
- Suarez MF, Filonova LH, Smertenko A, Savenkov E, Clapham DH, von Arnold S, Zhivotovsky B, Bozhkov PV** (2004). Metacaspase-dependent programmed cell death is essential for plant embryogenesis. *Curr Biol* **14**, 339-340.
- Sun YL, Zhao Y, Hong X, Zhai ZH** (1999). Cytochrome c release and caspase activation during menadione-induced apoptosis in plants. *FEBS Lett* **462**, 317-321.
- Tian RH, Zhang GY, Yan CH, Dai YR** (2000). Involvement of poly (ADP-ribose) polymerase and activation of caspase-3-like protease in heat shock-induced apoptosis in tobacco suspension cells. *FEBS Lett* **474**, 11-15.
- Tornero P, Conejero V, Vera P** (1996). Primary structure and expression of a pathogen-induced protease (PR-P69) in tomato plants: similarity of functional domains to subtilisin-like endoproteases. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 6332-6337.
- Uren AG, O'Rourke K, Aravind L, Pisabarro MT, Seshagiri S, Koonin EV, Dixit VM** (2000). Identification of paracaspases and metacaspases: two ancient families of caspase-like proteins, one of which plays a key role in MALT lymphoma. *Mol Cell* **6**, 961-967.
- Vacca RA, Valenti D, Bobba A, Merafina RS, Passarella S, Marra E** (2006). Cytochrome c is released in a reactive oxygen species-dependent manner and is degraded via caspase-like proteases in tobacco bright-yellow 2 cells en route to heat shock-induced cell death. *Plant Physiol* **141**, 208-219.
- van Doorn WG, Woltering EJ** (2005). Many ways to exit? Cell death categories in plants. *Trends Plant Sci* **10**, 117-122.
- Vaux DL** (1999). Caspases and apoptosis-biology and terminology. *Cell Death Differ* **6**, 493-494.
- Vaux DL, Korsmeyer SJ** (1999). Cell death in development. *Cell* **96**, 245-254.
- Vercammen D, Belenghi B, van de Cotte B, Beunens T, Gavigan JA, de Rycke R, Brackenier A, Inzé D, Harris JL, van Breusegem F** (2006). Serpin1 of *Arabidopsis thaliana* is a suicide inhibitor for metacaspase 9. *J Mol Biol* **364**, 625-636.
- Vercammen D, van de Cotte B, Jaeger GD, Eeckhout D, Casteels P, Vandepoele K, Vandenberghe I, Beeumen JV, Inzé D, Breusegem FV** (2004). Type II metacaspases Atmc4 and Atmc9 of *Arabidopsis thaliana* cleave substrates after arginine and lysine. *J Biol Chem* **279**, 45329-45336.
- Watanabe N, Lam E** (2004). Recent advance in the study of caspase-like proteases and Bax inhibitor-1 in plants: their possible roles as regulator of programmed cell death. *Mol Plant Pathol* **5**, 65-70.
- Watanabe N, Lam E** (2005). Two *Arabidopsis* metacaspases AtMCP1b and AtMCP2b are arginine/lysine-specific cysteine proteases and activate apoptosis-like cell death in yeast. *J Biol Chem* **280**, 14691-14699.
- Woltering EJ** (2004). Death proteases come alive. *Trends Plant Sci* **9**, 469-472.
- Wyllie AH** (1980). Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* **284**, 555-556.
- Yamada K, Shimada T, Nishimura M, Hara-Nishimura I** (2005). A VPE family supporting various vacuolar functions in plants. *Physiol Plant* **123**, 369-375.

## Key Caspase-like Enzymes in Programmed Cell Death in Plants

Yuliang Chen<sup>1</sup>, Feixiong Zhang<sup>1</sup>, Guiyou Zhang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100037, China

<sup>2</sup>Department of Biological Sciences and Biotechnology, Tsinghua University, Beijing 100084, China

**Abstract** Caspases are essential to programmed cell death (PCD) in animals. Vacuolar processing enzymes (VPEs), metacaspases and saspases with caspase-like protease activity play an important role in plant PCD. This paper summarizes the differences in PCD between animals and plants and discusses the possible function of caspase-like enzymes in plants.

**Key words** metacaspases, programmed cell death, saspases, vacuolar processing enzymes

Chen YL, Zhang FX, Zhang GY (2008). Key caspase-like enzymes in programmed cell death in plants. *Chin Bull Bot* 25, 616–623.

\* Author for correspondence. E-mail: zhang-gy@mail.tsinghua.edu.cn

(责任编辑: 刘慧君)

---

### 新书推介

中国芳香植物(上、下册)

王羽梅 主编

本书是一本系统、全面地介绍我国芳香植物资源及其利用现状的书籍。内容分总论和各论两大部分。总论部分除介绍了有关芳香植物的基本知识外,还综述了芳香植物的种类与分布、生产与贸易、利用及研究现状。各论部分,在对我国芳香植物资源进行调查的基础上,分科分属对我国所有的上千种芳香植物一一进行了介绍。内容包括种名、别名、拉丁学名、英文名、原产地与分布、生物学特性、栽培技术要点、主要精油成分和利用状况等。本书是对我国芳香植物资源的全面总结与概括,书中融入了作者课题组多年来对我国芳香植物进行调查研究的结果,参阅了大量国内外相关文献资料,内容丰富而全面。书中还附上了632幅芳香植物的彩色图片,可供调查、识别所用。具有很强的本土性和实用性,可作为工具书使用。

本书由科学出版社最新出版(定价:180.00元),可供从事芳香植物种植、加工、销售、利用的企业技术人员,从事有关芳香植物研究的单位和个人,大专院校生物学、园艺学等相关专业的教师和学生使用。