

果糖 1,6-二磷酸酯酶研究进展

李清平¹,张秀飞¹,梁明²,郭彦¹,赵庆臻¹

(1.聊城大学 生命科学学院,山东 聊城 252059;2.聊城市食品药品检验检测中心,山东 聊城 252000)

摘要 果糖 1,6-二磷酸酯酶(FBPase)是糖异生途径中的关键酶,广泛分布于植物、动物及微生物中,研究其功能调控的分子机制具有重要的生物学意义。酵母细胞中只有一种 FBPase,它会通过液泡途径或蛋白酶体途径等不同方式降解;高等植物及动物中则有不同亚型的 FBPase,分别在植物光合作用及蔗糖和淀粉的合成以及人类血糖调控等过程中发挥重要作用。综述了不同物种中 FBPase 的分布、生理功能及调控机理的研究进展,旨在为该酶的深入研究提供理论基础。

关键词 FBPase;糖异生;代谢物降解;调控机理

中图分类号 Q591.4

文献标识码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Research Progress of Fructose-1,6-bisphosphatase

LI Qingping¹,ZHANG Xiufei¹,LIANG Ming²,GUO Yan¹,ZHAO Qingzhen¹

(1.School of Life Science,Liaocheng University,Liaocheng 252059,China;2.Liaocheng Food and Drug Testing Center,Liaocheng 252000,China)

Abstract Fructose-1,6-bisphosphatase(FBPase) is one of the key enzymes in gluconeogenesis, which is widely distributed in plants, animals and microorganism. Exploring the molecular mechanism of FBPase's functional regulation has great biological influence. There is only one type of FBPase in yeast and the protein can be degraded via vacuolar or 26S proteasome pathway. There are different subtypes of FBPase in higher plants and animals which play important roles in plant photosynthesis, sucrose and starch synthesis and human blood glucose regulation respectively. In this paper, we reviewed the biological distribution, physiological function and metabolic regulation of FBPase in various organisms, which may provide theoretical basis for further study of FBPase.

Key Words fructose-1,6-bisphosphatase; gluconeogenesis; catabolite degradation; regulative mechanism

0 引言

葡萄糖作为细胞的主要碳源,不仅为各种细胞组分提供能量,在细胞内调节中也有着至关重要的作用。糖代谢的中心途径是糖异生和糖酵解途径,二者具有相同的中间产物,且其中大部分步骤为可逆反应,但有三个步骤是不可逆的,分别由不同的关键酶催化完成。其中,果糖-1,6-二磷酸酯酶(fructose-1,6-bisphosphatase,FBPase)是糖异生途径中的关键酶之一,它催化果糖-1,6-二磷酸(fructose-1,6-diphosphate,FDP)水解成果糖-6-磷酸(fructose-6-phosphate,F6P)和无机磷,而果糖-6-磷酸又是各种生物合成途径中的重要前体,因此对于 FBPase 生理功能和代谢调控的研究具有重要的理论意义和应用价值。

收稿日期:2020-08-12

基金项目:国家自然科学基金项目(31200907);山东省自然科学基金项目(ZR2014CL1009)资助

通信作者:赵庆臻,女,汉族,博士,副教授,研究方向:植物分子生物学,E-mail:zhaoqingzhen@lcu.edu.cn。

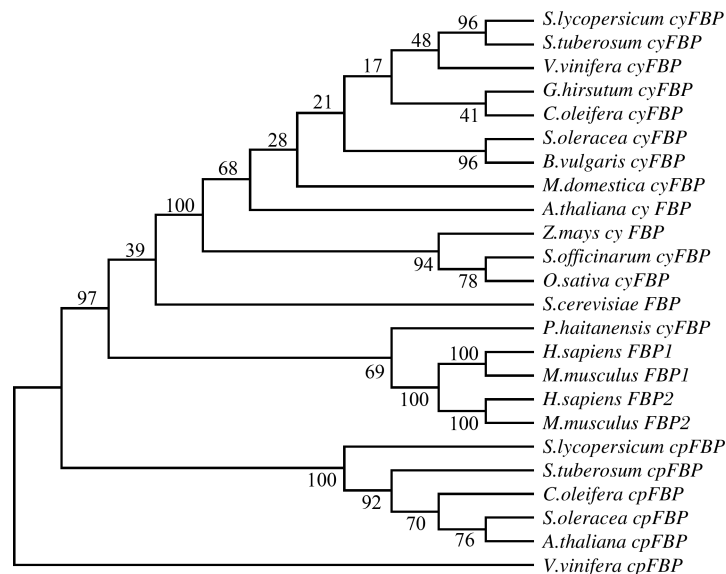
1 FBPase 的种类及结构与动力学特征

1.1 酵母中的 FBPase

酵母是一种单细胞真菌,早在 1943 年就已发现酵母中的 FBPase(EC 3.1.3.11)^[1],这也是最早被报道的 FBPase,研究证明调节该酶的活性能够实现酵母细胞在糖酵解和糖异生途径之间的切换,以保证细胞高效经济地利用能量^[2]。

1.2 植物中的 FBPase

植物中功能性的 FBPase 包括两种类型,一种为细胞质 FBPase(cytosolic FBPase, cyFBPase),与酵母 FBPase 作用相同,是糖异生途径的关键酶,同时也被认为是蔗糖生物合成的关键酶,其表达和活性受到光照和干旱等环境因素的影响^[3]。另一种类型是叶绿体 FBPase(chloroplast FBPase, cpFBPase),它定位于类囊体基质中,其催化的 FDP 与 F-6-P 之间的转化是卡尔文循环及淀粉生物合成途径的组成部分,因此也是绿色植物实现其自养功能的重要一环。研究发现,硫氧还蛋白(thioredoxin, TRX)以及光照引起的 pH 和 Mg^{2+} 浓度的变化能够调节 cpFBPase 活性^[4];而后又在草莓中分离出一种新型的叶绿体 FBPase-cpFBPaseII,它不受硫氧还蛋白的激活,已被证实可补充酵母细胞中 FBPase 的缺失和非发酵碳源的生长缺陷,但对底物的亲和力较低^[5]。无论是叶绿体 FBPase 还是细胞质 FBPase,均不同程度地受到 AMP 和果糖-2,6-二磷酸的抑制。目前多种植物中的 FBPase 基因克隆及生化活性测定已完成,如苹果、甘蔗、坛紫菜和油茶中的胞质型 FBPase^[6-9]及马铃薯叶绿体 FBPase^[10],但它们具体的功能及调节机制还鲜有报道。



注:选取不同物种 FBPase 的氨基酸序列,利用邻接法构建其系统进化树。cyFBP:细胞质 FBPase; cpFBP:叶绿体 FBPase; FBP1:肝型 FBPase; FBP2:肌型 FBPase。S.lycopersicum cyFBP:(番茄,XP_004252579.1); S.tuberosum cyFBP:(马铃薯,NP_001274842.1); V.vinifera cyFBP:(葡萄,XP_002269230.1); G.hirsutum cyFBP:(陆地棉,AGU12783.1); C.oleifera cyFBP:(油茶,QGW58450.1); S.oleracea cyFBP:(菠菜,XP_021857795.1); B.vulgaris cyFBP:(甜菜,prf|1906373A); M.domestica cyFBP:(苹果,XP_008381814.2); A.thaliana cyFBP:(拟南芥,NP_175032.1); Z.mays cyFBP:(玉米,NP_001151106.2); S.officinarum cyFBP:(甘蔗,CAA61409.1); O.sativa cyFBP:(水稻,BAA25422.1); S.cerevisiae FBP:(酿酒酵母,QHB10516.1); P.haitanensis cyFBP:(坛紫菜,AIY29189.1); H.sapiens FBP1:(人,NP_000498.2); M.musculus FBP1:(家鼠,NP_062268.1); H.sapiens FBP2:(人,EAW92616.1); M.musculus FBP2:(家鼠,NP_032020.2); S.lycopersicum cpFBP:(番茄,NP_001315602.1); S.tuberosum cpFBP:(马铃薯,XP_006349477.1); C.oleifera cpFBP:(油茶,QGW58457.1); S.oleracea cpFBP:(菠菜,AAD10207.1); A.thaliana cpFBP:(拟南芥,CAA41154.1); V.vinifera cpFBP:(葡萄,XP_002270826.2)。

图 1 酵母及部分动植物 FBPase 的系统进化树

1.3 动物中的 FBPase

与酵母中一样,无脊椎动物基因组中也只有一个 FBPase 位点^[11];而脊椎动物中的 FBPase 则有肝型 FBPase(FBP1)和肌型 FBPase(FBP2)两种同工酶,其蛋白质同源性约为 77%^[12]。其中 FBP1 主要分布在

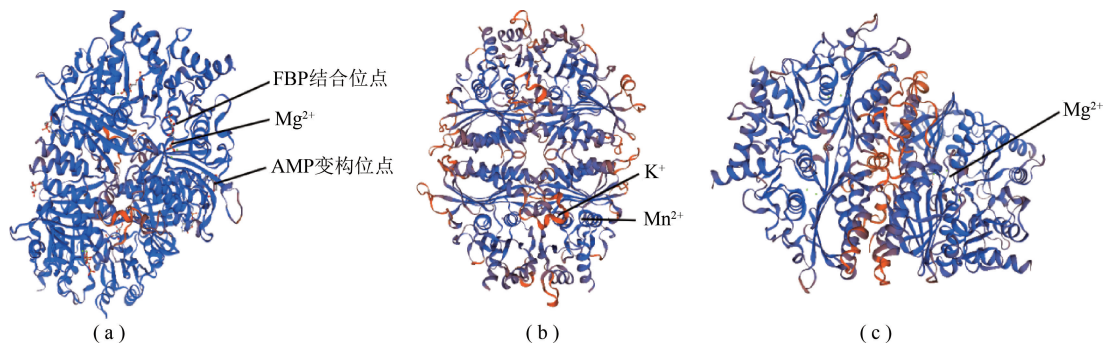
肝脏和肾脏,肝脏是糖异生的主要器官,参与机体血糖水平的调节;而肾脏在长时间处于饥饿或患有糖尿病机体中也会参与糖异生的调节。FBP2 主要在非糖异生的细胞中广泛表达^[13],但具体功能尚不明确。

从酵母及部分动植物 FBPase 的系统进化树(图 1)中可以看出,哺乳动物肝型 FBPase(FBP1)与肌型 FBPase(FBP2)在进化上均与酵母 FBPase 很接近,植物中胞质 FBPase(*cyFBP*)也是与酵母 FBPase 同源,而叶绿体 FBPase(*cpFBP*)在进化上与酵母 FBPase 的亲缘关系较远,可能是由其他如叶绿体祖先中的基因演变而来的。

1.4 FBPase 的结构与动力学特征

有关 FBPase 蛋白质的结构及动力学特征主要是利用哺乳动物肝肾中的 FBP1 分析的,但基于这两种同工酶在催化位点和底物结合位点上的高度相似性,肌型和肝型 FBPase 的催化机制应该完全相同。该酶是同源四聚体,单亚基分子量约为 37 ku。每个单体蛋白由两个结构域组成:一个含有底物结合位点,称为 FBP 结构域;另一个可变构的结构域可与 AMP 和 NAD^+ 相互作用,称为 AMP 结构域。 AMP (可能还包括 NAD^+)能与 AMP 结构域的结合,从而将 FBPase 稳定在失活的“T-状态”。而二价阳离子如 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Co^{2+} 或 Zn^{2+} 对于酶的催化活性是必须的,可使 FBPase 由无活性的“T-状态”转变为活性的“R-状态”,这些离子可能结合于底物果糖-1,6-二磷酸的 1 位磷酸基团上。而 Ca^{2+} 则是肌型 FBPase 的强抑制剂,但对肝型 FBPase 影响很小。另外,肝型和肌型 FBPase 都能被某些一价阳离子(如 Na^+ 、 K^+ 和 NH_4^+)激活,也都会受到果糖-2,6-二磷酸的抑制,因为它会与底物果糖-1,6-二磷酸竞争结合 FBP 结构域^[14]。

我们选取不同物种中有代表性且定位于细胞质中的 FBPase(分别来源于人类肝型 FBPase、酵母 FBPase 及拟南芥胞质 FBPase),利用 Swiss-model 构建了其三维结构模拟图,并以其中一个亚基为例将其配体位点标示(图 2)。从图中可以看出,与哺乳动物 FBP1 的结构相似,酵母与拟南芥胞质 FBPase 也均为同源四聚体,这与 FBPase 功能的保守性是一致的。人类肝型 FBPase 的结构研究较为清楚,可以确定其 AMP 的变构位点及 FBP 与 Mg^{2+} 的结合位点;而酵母及拟南芥胞质 FBPase 目前只能确定金属离子的结合位点。



注:(a) 人类肝型 FBPase(NP_000498.2);(b) 酵母 FBPase(QHB10516.1);(c) 拟南芥胞质 FBPase(NP_175032.1)。

图 2 不同物种 FBPase 的三维结构模拟图

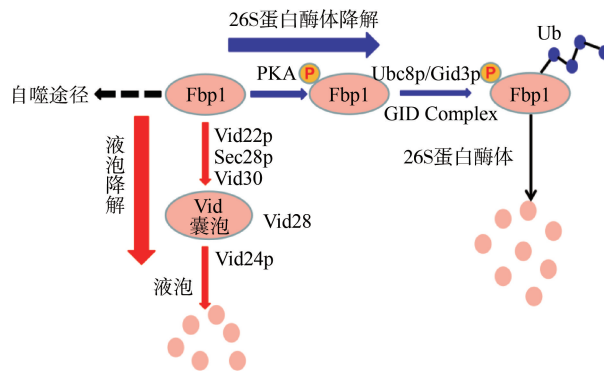
2 FBPase 的生理功能及调控机理

2.1 酵母中 FBPase 的活性调节及降解机制

当酵母细胞生长在非发酵碳源(如乙醇)培养基上时,FBPase 开始合成并启动糖异生途径,从而将无机碳转变为葡萄糖供细胞利用;一旦在培养基中添加葡萄糖,细胞中就会发生由糖异生向糖酵解途径的快速转变,以阻止 ATP 的无效循环水解,从而避免能量浪费。关闭糖异生途径的分子机制就是 FBPase 蛋白的代谢物失活和降解,主要包括其编码基因 *FBP1* 的表达抑制,FBPase 蛋白的磷酸化修饰及果糖-2,6-二磷酸和 AMP 的变构抑制,随之而来的即是 FBPase 的快速降解^[5]。

在酵母细胞中 FBPase 蛋白的降解可以有不同的方式(图 3)。研究者首先发现 FBPase 的降解依赖于液泡,并分离了葡萄糖诱导下 FBPase 液泡输入及降解缺陷的 *vid* (vacuolar import and degradation) 突变体^[15]。除此之外,Wolf 等人提出分解代谢物降解的另一种机制,他们认为 FBPase 的代谢降解依赖于完整的蛋白酶体,而其降解的前提是 FBPase 的多聚泛素化^[16]。有趣的是,FBPase 的降解可以从蛋白酶体途径

转移到液泡降解途径,这个过程取决于酵母细胞葡萄糖饥饿的持续时间^[17]。最近还发现甲醇酵母中 FBPase 的降解可能与自噬途径相关^[18]。



注:Fbp1 是酵母果糖-1,6-二磷酸酯酶(FBPase)。Fbp1 的 26S 蛋白酶体途径降解首先由 PKA 催化其磷酸化修饰,而后在特定 E2 (Ubc8p/Gid3p)和 E3(GID Complex)的作用下多聚泛素化修饰,然后送至 26S 蛋白酶体降解;其液泡降解途径首先 Fbp1 在 Vid22p、Sec28p 及 Vid30 的参与下包裹入 Vid 囊泡,Vid28 参与 Vid 囊泡的胞质定位;Vid24p 则参与了 FBPase 由 Vid 囊泡向液泡的转运过程。另外 Fbp1 的降解可能与自噬途径有关。

图三 酵母 FBPase 的不同降解途径

2.1.1 FBPase 的液泡降解途径。当酵母细胞长期处于葡萄糖饥饿状态时,FBPase 会分泌到细胞质中。当向培养基中添加葡萄糖时,FBPase 会首先包裹到 Vid 囊泡(vacuole import and degradation vesicle)/内吞小体(endosome)中,随后通过这种中间载体被送至液泡中进行降解^[19]。目前已鉴定出酵母细胞中多个参与 FBPase 液泡运输及降解的 Vid 基因,其在小鼠和人的同源基因表明 Vid 基因在进化上是高度保守的。如 Vid24p/Gid4p 是定位于含有 FBPase 的囊泡的膜外周蛋白,其缺失导致 FBPase 在这些小泡中积累,无法被运送到液泡中降解^[20]。定位于质膜的 Vid22p 则参与了从胞浆到 Vid 囊泡的转运过程^[21],FBPase 包裹入 Vid 囊泡还需要内吞途径组分 SEC28 的参与^[22]。肌动蛋白聚合在细胞内吞的早期步骤中起着重要的作用,Vid 囊泡形成的早期也需与肌动蛋白斑结合,Vid28 对于这种结合以及 Vid 囊泡的胞内定位起着关键作用^[23];Vid30 则通过与 Vid24p 及 Sec28p 相互作用影响肌动蛋白聚合及内吞作用,从而调节 FBPase 的液泡降解途径^[24,25]。另外,还发现 TORC1(target of rapamycin complex 1)复合体的组分 TOR1 过表达会抑制 FBPase 的磷酸化及随后的液泡降解^[26],但只有早期文章提及 FBPase 液泡降解之前需磷酸化修饰^[27],但后续未见相关研究。

2.1.2 FBPase 的 26S 蛋白酶体降解途径。当酵母细胞从非发酵培养基转移到含有葡萄糖的培养基中时,FBPase 除了会通过 Vid 途径运送至液泡中降解,还可以通过 26S 蛋白酶体途径快速降解^[16,28]。该途径是所有真核生物体内均具有的高度选择性的蛋白质降解途径,其中泛素化修饰是底物蛋白被送入 26S 蛋白酶体中降解的前提条件。泛素化修饰是通过泛素激活酶 E1(ubiquitin activating enzyme)、泛素耦联酶 E2(ubiquitin conjugating enzyme)和泛素连接酶 E3(ubiquitin ligase)的依次级联反应完成的^[29,30]。酵母基因组中 E1、E2 和 E3 的编码基因数量分别为 1、11 和超过 600 个。E1 的功能比较通用,底物蛋白的特异性主要由 E3 决定,而 E2 会影响所产生的泛素化修饰链的具体构型^[31]。特定的 E2-E3 组合能够调控特异底物蛋白发生特定类型的泛素化修饰,从而决定该底物蛋白的命运^[32]。虽然大部分底物蛋白泛素化修饰的特定 E2-E3 尚需解析,作用于酵母 FBPase 的 E2 和 E3 已经确定。Wolf 实验室鉴定了一系列的酵母 Gid(Glucose induced degradation)基因,发现由 Ubc8p/Gid3p 作为 E2^[33],由 7 个 Gid 蛋白组成的 GID 复合物作为泛素连接酶 E3^[2,34],共同参与了 FBPase 的泛素化修饰。生化分析表明,GID 复合物中的两个亚基 Gid2 和 Gid9 具有非经典的 RING 结构域,承担其 E3 活性^[2],而 Gid4 则是在添加葡萄糖后才结合到由其他 6 个亚基组成的复合体中,组成具有 E3 活性的完整的 GID 复合体^[34]。另外,还发现 HSP70 类分子伴侣 Ssa1 在快速清除糖异生酶包括 FBPase 的泛素蛋白降解途径中起着重要作用^[35]。

2.2 FBPase 对植物生长发育的影响

绿色植物通过光合作用将大气中 CO₂ 首先固定成磷酸三碳糖,而叶绿体中的磷酸三碳糖有两种去向:

一是运送到细胞质中合成蔗糖,二是在叶绿体中转变成淀粉。细胞质型和叶绿体型 FBPase 分别是蔗糖和淀粉合成的关键酶,叶绿体 FBPase 同时还是卡尔文循环的关键酶,因此这两种 FBPase 在光合碳同化和分配过程中起重要作用。

科学家们尝试通过改变基因表达量来分析植物中这两种 FBPase 的功能。将胞质 FBPase 与磷酸三碳糖转运蛋白(triose-phosphate translocater, TPT)同时过表达的拟南芥,表现出比野生型莲座叶大、鲜重提高等生长更旺盛的表型,转基因植物中光合碳同化速率及可溶性糖(蔗糖、葡萄糖和果糖)含量也明显提高,证明胞质型 FBPase 的确是蔗糖合成的关键酶^[36];但拟南芥胞质 FBPase 突变体与野生型并无明显差异,其体内蔗糖含量没有降低的原因可能是由叶绿体输出的己糖或己糖磷酸盐补偿了胞质中(由于 cyFBPase 缺失导致的)通过糖异生途径生成六碳糖的缺陷^[37];马铃薯中也有类似的结果,利用反义技术降低其胞质 FBPase 的活性虽然会导致蔗糖合成速率有所降低,但对马铃薯的生长发育和块茎几乎没有影响^[38]。但水稻中胞质 FBPase 突变体的光合速率明显降低,蔗糖合成受损,出现了严重的生长迟缓现象甚至导致死亡^[39],这种单双子叶植物表现出的差异还需进一步分析。

研究表明,改变叶绿体 FBPase 表达水平对植物的光合作用和淀粉及可溶性糖的分配都有着重要影响。利用反义 RNA 技术降低拟南芥叶绿体 FBPase 的表达量,会使植物中蔗糖含量提高,同时氮代谢也发生了改变^[40];在其基因功能完全敲除的突变体中,光合作用和 CO₂ 固定速率等许多过程都受到影响,突变体比野生型明显生长迟缓;胞质型和叶绿体型 FBPase 的双突变体则表现为叶绿体 FBPase 突变体的表型^[37]。抑制番茄叶绿体 FBPase 活性,其果实的重量平均减少 20%^[41]。综合不同物种中下调 cpFBPase 活性的结果,可以看出叶绿体 FBPase 的不同表达量对光合碳同化产生不同的影响:当叶绿体 FBPase 的活性被抑制 20% 以内会促进光合作用和碳同化,而被抑制 80% 以上将会对植物造成伤害^[42]。叶绿体 FBPase 的活性受 f 型及 m 型硫氧还蛋白调节^[43,44],豌豆中还发现 S-亚硝基化也是影响叶绿体 FBPase 活性的因素^[45];在拟南芥细胞质中过表达蓝藻 FBPaseII,由于碳分配的改变影响了生长素和独脚金内酯等激素代谢和响应过程,进而促进了植物侧根的生长^[46]。

2.3 动物中 FBPase 的生理功能及抑制剂研究

2.3.1 肝型 FBPase 是调节糖代谢的关键酶。FBPase 是调节糖异生途径的关键酶,在动物内源性葡萄糖的合成、输出及调控中发挥重要作用。肝型 FBPase 即 FBP1 主要在糖异生器官如肝脏、肾脏中表达,在葡萄糖和糖原合成中发挥重要的调节作用^[14]。虽然糖异生途径的酶一般都定位于细胞质中,但肝型 FBPase 也发现有细胞核定位^[47]。糖异生途径异常是人类 2 型糖尿病的主要原因,研究发现,在肥胖和胰岛素抵抗动物模型中,FBPase 及其调节的糖异生作用均增加;在小鼠中过表达人类肝型 FBPase 也导致其葡萄糖水平增高^[48]。因此,FBPase 成为人类糖尿病治疗的靶点之一,其抑制剂的研究成为新药研发的一个重要方向。FBPase 有两种内源性生理抑制剂,一种是底物 FDP 的类似物果糖-2,6-二磷酸(fructose-2,6-diphosphate),它与 FDP 竞争性地结合于 FBPase 的激活位点,抑制其活性;另一种则是与 FBPase 变构位点结合的 AMP,可使 FBPase 处于失活状态^[49]。近年来,许多靶向 AMP 位点的 FBPase 抑制剂被开发,然而这些抑制剂均没有表现出合适的效力和药物性。最近,研究者发现几个硝基苯乙烯化合物共价结合在 FBPase 上的 C128 位点上,显示出对 FBPase 的强大抑制作用^[50],起到有效的降血糖作用,但后续研究尚未报道。另外,肝型 FBPase 缺乏还是引起孩童复发性低血糖和酸中毒的重要原因^[51];最新证据还表明 FBP1 在几种癌症的肿瘤起始和进展中也发挥着关键作用^[12,52]。

2.3.2 肌型 FBPase 的生理功能。研究表明收缩肌中糖酵解产生的乳酸有多达 50% 可以在肌肉中转变成糖原,而不是经血液运送到肝脏中通过糖异生途径生成葡萄糖^[53],这说明肌肉中的 FBP2 一定是有活性的。对其机理的研究发现,肌型 FBPase 即 FBP2 能够与肌型醛缩酶 ALDOA(糖酵解关键酶,催化果糖-1,6-二磷酸与磷酸三碳糖之间的相互转换)结合,它们以代谢物依赖的方式形成一个底物通道^[54,55]。通过这个通道,ALDOA 催化反应的产物果糖-1,6-二磷酸(FDP)可以直接转移至糖原合成途径,因此可以保护 FDP,避免其被糖酵解途径降解。目前认为这是使得肌纤维能够从碳水化合物前体合成糖原的基本机制^[56]。FBP2-ALDOA 复合物定位于横纹肌 Z-线的两侧,其稳定性受 Ca²⁺ 调节。肌肉收缩时伴随着钙离子浓度的升高,

刺激了FBP2从FBP2-ALDOA-Z-线复合物中解离出来,位于细胞质中游离的FBP2立即被AMP和Ca²⁺抑制,这就避免了细胞中由于糖异生和糖酵解同时发生而导致的能量浪费。在胰岛素促进糖酵解速率增加时也是通过相同的机制完成对糖异生的抑制^[57]。近年还发现FBP2而非FBP1对线粒体的ATP合成有保护作用,这两种FBPase似乎都有抑癌作用^[14]。

3 结语

FBPase是一种进化上非常保守的碳水化合物代谢途径中的关键酶,其催化的反应决定了该酶的功能在细胞代谢中的重要性。早在1943年就发现了第一个FBPase,但近一个世纪以来,对FBPase的研究大部分停留在它是糖代谢的调控因子,侧重于研究其酶促动力学及酶的蛋白结构等方面。近年来动物中FBP1除了糖异生途径关键酶的细胞质定位,还被发现其存在于细胞核中;FBP2更是在多种组织中有非常广泛的表达,包括神经元这种一般认为不会发生从碳水化合物前体合成糖原的部位。这些信息表明FBPase在细胞中的功能不仅仅是糖代谢调控这一个方面,更有可能通过多个途径参与细胞命运的调节,具有比我们现在所认识到的更加重要的生物学功能,目前这方面的研究还处在起步阶段^[14]。绿色植物特有的叶绿体FBPase是卡尔文循环及淀粉合成的关键酶,它与在细胞质中参与糖异生途径的胞质FBPase都在光合碳同化和分配中起重要的调控作用,因此对植物的生长发育至关重要,但它们本身的调控机制还知之甚少。目前酵母中FBPase降解的机制研究得较为清楚,但动植物中还没有相关方面的报道,这应是今后研究FBPase作用机制的主要方向之一。

参 考 文 献

- [1] GOMORI G. Calcification and phosphatase[J]. *Am J Pathol*, 1943, 19(2): 197-209.
- [2] SANTT O, PFIRRMANN T, BRAUN B, et al. The yeast GID complex, a novel ubiquitin ligase(E3) involved in the regulation of carbohydrate metabolism[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(8): 3323-3333.
- [3] DAIE J. Cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase: A key enzyme in the sucrose biosynthetic pathway[J]. *Photosynth Res*, 1993, 38(1): 5-14.
- [4] SOTO SUAREZ M, SERRATO A J, ROJAS GONZALEZ J A, et al. Transcriptomic and proteomic approach to identify differentially expressed genes and proteins in *Arabidopsis thaliana* mutants lacking chloroplastic 1 and cytosolic FBPases reveals several levels of metabolic regulation[J]. *BMC Plant Biol*, 2016, 16(1): 258.
- [5] SERRATO A J, YUBERO SERRANO E M, SANDALIO L M, et al. cpFBPaseII, a novel redox-independent chloroplastic isoform of fructose-1,6-bisphosphatase[J]. *Plant Cell Environ*, 2009, 32(7): 811-827.
- [6] ZHOU R, CHENG L. Biochemical characterization of cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase from apple (*Malus domestica*) leaves[J]. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45(7): 879-886.
- [7] 叶冰莹, 黄金存, 邵武华, 等. 甘蔗果糖-1,6-二磷酸酯酶的 cDNA 片段克隆及序列分析[J]. *中国糖料*, 2009(3): 1-4.
- [8] 曲玲, 徐燕, 纪德华, 等. 坛紫菜细胞质型果糖-1,6-二磷酸酯酶基因的克隆及表达分析[J]. *应用海洋学报*, 2015, 34(3): 402-410.
- [9] 谭晓凤, 曹彦妮, 郭静怡, 等. 油茶 FBPase 基因的全长 cDNA 克隆及序列分析[J]. *江西农业大学学报*, 2011, 33(3): 514-520.
- [10] KOSSMANN J, MULLER ROBER B, DYER T A, et al. Cloning and expression analysis of the plastidic fructose-1,6-bisphosphatase coding sequence from potato: circumstantial evidence for the import of hexoses into chloroplasts[J]. *Planta*, 1992, 188(1): 7-12.
- [11] TILLMANN H, BERNHARD D, ESCHRICH K. Fructose-1,6-bisphosphatase genes in animals[J]. *Gene*, 2002, 291(1/2): 57-66.
- [12] LIU G M, ZHANG Y M. Targeting FBPase is an emerging novel approach for cancer therapy[J]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18: 36-42.
- [13] GIZAK A, SOK A J, LIPINSKA A, et al. A comparative study on the sensitivity of *Cyprinus carpio* muscle and liver FBPase toward AMP and calcium[J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2012, 162(1/3): 51-55.
- [14] GIZAK A, DUDA P, WISNIEWSKI J, et al. Fructose-1,6-bisphosphatase: From a glucose metabolism enzyme to multifaceted regulator of a cell fate[J]. *Advances in Biological Regulation*, 2019, 72: 41-50.
- [15] HOFFMAN M, CHIANG H L. Isolation of degradation-deficient mutants defective in the targeting of fructose-1,6-bisphosphatase into the vacuole for degradation in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Genetics*, 1996, 143(4): 1555-1566.
- [16] SCHORK S M, BEE G, THUMM M, et al. Catabolite inactivation of fructose-1,6-bisphosphatase in yeast is mediated by the proteasome[J]. *FEBS Lett*, 1994, 349(2): 270-274.
- [17] HUNG G C, BROWN C R, WOLFE A B, et al. Degradation of the gluconeogenic enzymes fructose-1,6-bisphosphatase and malate dehydrogenase is mediated by distinct proteolytic pathways and signaling events[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(47): 49138-49150.

- [18] DMYTRUK O, BULBOTKA N, ZAZULYA A, et al. Fructose-1,6-bisphosphatase degradation in the methylotrophic yeast *Komagataella phaffii* occurs in autophagy pathway[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 20: 1067-1073.
- [19] HUANG P H, CHIANG H L. Identification of novel vesicles in the cytosol to vacuole protein degradation pathway[J]. *J Cell Biol*, 1997, 136(4): 803-810.
- [20] CHIANG M C, CHIANG H L. Vid24p, a novel protein localized to the fructose-1,6-bisphosphatase-containing vesicles, regulates targeting of fructose-1,6-bisphosphatase from the vesicles to the vacuole for degradation[J]. *J Cell Biol*, 1998, 140(6): 1347-1356.
- [21] BROWN C R, MCCANN J A, HUNG G G, et al. Vid22p, a novel plasma membrane protein, is required for the fructose-1,6-bisphosphatase degradation pathway[J]. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt 3): 655-666.
- [22] BROWN C R, WOLFE A B, CUI D, et al. The vacuolar import and degradation pathway merges with the endocytic pathway to deliver fructose-1,6-bisphosphatase to the vacuole for degradation[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(38): 26116-26127.
- [23] GIARDINA B J, DUNTON D, CHIANG H L. Vid28 protein is required for the association of vacuole import and degradation (Vid) vesicles with actin patches and the retention of Vid vesicle proteins in the intracellular fraction[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(17): 11636-11648.
- [24] ALIBHOY A A, GIARDINA B J, DUNTON D D, et al. Vid30 is required for the association of Vid vesicles and actin patches in the vacuole import and degradation pathway[J]. *Autophagy*, 2012, 8(1): 29-46.
- [25] BROWN C R, DUNTON D, CHIANG H L. The vacuole import and degradation pathway utilizes early steps of endocytosis and actin polymerization to deliver cargo proteins to the vacuole for degradation[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(2): 1516-1528.
- [26] ALIBHOY A A, CHIANG H L. The TOR complex 1 is required for the interaction of multiple cargo proteins selected for the vacuole import and degradation pathway[J]. *Communicative & Integrative Biology*, 2010, 3(6): 594-596.
- [27] HOLZER H, PURWIN C. How does glucose initiate proteolysis of yeast fructose-1,6-bisphosphatase? [J]. *Biomed Biochim Acta*, 1986, 45(11-12): 1657-1663.
- [28] REGELMANN J, SCHULE T, JOSUPEIT F S, et al. Catabolite degradation of fructose-1,6-bisphosphatase in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: a genome-wide screen identifies eight novel GID genes and indicates the existence of two degradation pathways[J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(4): 1652-1663.
- [29] VIERSTRA R D. The ubiquitin-26S proteasome system at the nexus of plant biology[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(6): 385-397.
- [30] 张祥云, 赵思语, 温潇, 等. 小麦 TaUBC 基因泛素结合酶活性分析[J]. *聊城大学学报(自然科学版)*, 2018, 31(3): 79-85.
- [31] CALLIS J. The ubiquitination machinery of the ubiquitin system[J]. *Arabidopsis Book*, 2014, 12: e0174.
- [32] VAN WIJK S J, DE VRIES S J, KEMMEREN P, et al. A comprehensive framework of E2-RING E3 interactions of the human ubiquitin-proteasome system[J]. *Molecular Systems Biology*, 2009(5): 295-301.
- [33] SCHULE T, ROSE M, ENTIAN K D, et al. Ubc8p functions in catabolite degradation of fructose-1,6-bisphosphatase in yeast[J]. *EMBO J*, 2000, 19(10): 2161-2167.
- [34] MENSSEN R, SCHWEIGGERT J, SCHREINER J, et al. Exploring the topology of the Gid complex, the E3 ubiquitin ligase involved in catabolite-induced degradation of gluconeogenic enzymes[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(30): 25602-25614.
- [35] JURETSCHKE J, MENSSEN R, SICKMANN A, et al. The Hsp70 chaperone Ssa1 is essential for catabolite induced degradation of the gluconeogenic enzyme fructose-1,6-bisphosphatase[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 397(3): 447-452.
- [36] CHO M H, JANG A, BHOO S H, et al. Manipulation of triose phosphate/phosphate translocator and cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase, the key components in photosynthetic sucrose synthesis, enhances the source capacity of transgenic *Arabidopsis* plants[J]. *Photosynth Res*, 2012, 111(3): 261-268.
- [37] ROJAS GONZALEZ J A, SOTO SUAREZ M, GARCIA DIAZ A, et al. Disruption of both chloroplastic and cytosolic FBPase genes results in a dwarf phenotype and important starch and metabolite changes in *Arabidopsis thaliana*[J]. *J Exp Bot*, 2015, 66(9): 2673-2689.
- [38] ZRENNER R, KRAUSE K P, APEL P, et al. Reduction of the cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase in transgenic potato plants limits photosynthetic sucrose biosynthesis with no impact on plant growth and tuber yield[J]. *Plant J*, 1996, 9(5): 671-681.
- [39] LEE S K, JEON J S, BORNKE F, et al. Loss of cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase limits photosynthetic sucrose synthesis and causes severe growth retardations in rice (*Oryza sativa*) [J]. *Plant Cell Environ*, 2008, 31(12): 1851-1863.
- [40] SAHRAWY M, AVILA C, CHUECA A, et al. Increased sucrose level and altered nitrogen metabolism in *Arabidopsis thaliana* transgenic plants expressing antisense chloroplastic fructose-1,6-bisphosphatase[J]. *J Exp Bot*, 2004, 55(408): 2495-2503.
- [41] OBIADALLA ALI H, FERNIE A R, LYTOVCHENKO A, et al. Inhibition of chloroplastic fructose 1,6-bisphosphatase in tomato fruits leads to decreased fruit size, but only small changes in carbohydrate metabolism[J]. *Planta*, 2004, 219(3): 533-540.
- [42] SERRATO A J, EO DIOS BARAJAS LOPEZ J, CHUECA A, et al. Changing sugar partitioning in FBPase-manipulated plants[J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(10): 2923-2931.
- [43] OKEGAWA Y, MOTOHASHI K. Chloroplastic thioredoxin m functions as a major regulator of Calvin cycle enzymes during photosynthe-

- sis in vivo[J].Plant J,2015,84(5):900-913.
- [44] NARANJO B, DIAZ ESPEJO A, LINDAHL M, et al. Type-f thioredoxins have a role in the short-term activation of carbon metabolism and their loss affects growth under short-day conditions in *Arabidopsis thaliana*[J].J Exp Bot,2016,67(6):1951-1964.
- [45] SERRATO A J, ROMERO PUERTAS M C, LAZARO PAYO A, et al.Regulation by S-nitrosylation of the Calvin-Benson cycle fructose-1,6-bisphosphatase in *Pisum sativum*[J].Redox Biology,2018,14:409-416.
- [46] OTORI K, TAMOI M, TANABE N, et al.Enhancements in sucrose biosynthesis capacity affect shoot branching in *Arabidopsis*[J].Biosci Biotechnol Biochem,2017,81(8):1470-1477.
- [47] YANEZ A J, BERTINAT R, CONCHA, LL, et al.Nuclear localization of liver FBPase isoenzyme in kidney and liver[J].FEBS Lett,2003,550(1-3):35-40.
- [48] VISINONI S, FAM B C, BLAIR A, et al.Increased glucose production in mice overexpressing human fructose-1,6-bisphosphatase in the liver[J].Am J Physiol Endocrinol Metab,2008,295(5):E1132-1141.
- [49] RAKUS D, TILLMANN H, WYSOCKI R, et al.Different sensitivities of mutants and chimeric forms of human muscle and liver fructose-1,6-bisphosphatases towards AMP[J].Biol Chem,2003,384(1):51-58.
- [50] HUANG Y, WEI L, HAN X, et al.Discovery of novel allosteric site and covalent inhibitors of FBPase with potent hypoglycemic effects[J].Eur J Med Chem,2019,184:111749.
- [51] SALIH R M, MOHAMMED E A, ALHASHM A M, et al.Fructose-1,6-bisphosphatase deficiency with confirmed molecular diagnosis. An important cause of hypoglycemia in children[J].Saudi Med J,2020,41(2):199-202.
- [52] WANG Z, DONG C.Gluconeogenesis in Cancer:Function and Regulation of PEPCK,FBPase,and G6Pase[J].Trends Cancer,2019,5(1):30-45.
- [53] FOURNIER P A, BRAU L, FERREIRA L D, et al.Glycogen resynthesis in the absence of food ingestion during recovery from moderate or high intensity physical activity: novel insights from rat and human studies[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A Molecular & Integrative Physiology,2002,133(3):755-763.
- [54] RAKUS D, DZUGAJ A.Muscle aldolase decreases muscle FBPase sensitivity toward AMP inhibition[J].Biochem Biophys Res Commun,2000,275(2):611-616.
- [55] RAKUS D, PASEK M, KROTKIEWSKI H, et al.Muscle FBPase in a complex with muscle aldolase is insensitive to AMP inhibition[J].FEBS Lett,2003,547(1-3):11-14.
- [56] DZIEWULSKA SZWAJKOWSKA D, ZMOJDZIAN M, DOBRYSZYCKI P, et al.The interaction of FBPase with aldolase: a kinetic and fluorescence investigation on chicken muscle enzymes[J].Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol,2004,137(1):115-129.
- [57] GIZAK A, MAZUREK J, WOZNIAK M, et al.Destabilization of fructose 1,6-bisphosphatase-Z-line interactions is a mechanism of gluconeogenesis down-regulation in vivo[J].Biochim Biophys Acta,2013,1833(3):622-628.