

## 植物腺苷 5'-磷酸硫酸激酶 (APSK) 研究进展

谷宁, 杨宇平, 蒲首丞, 孙梅好\* (浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江金华 321004)

**摘要** 腺苷 5'-磷酸硫酸激酶 (APSK) 催化 APS 磷酸化生成 3'-磷酸-腺苷 5'-磷酸硫酸 (PAPS), PAPS 进一步作为硫酸根供体参与胞内的硫酸化反应。因此, 在这些生物体中, APS 激酶是硫酸盐同化的重要组成部分。介绍 APS 激酶的结构、功能、作用机制, 综述植物 APS 激酶当前的研究进展。

**关键词** 腺苷 5'-磷酸硫酸激酶; 硫代谢; 结构与功能

**中图分类号** S-3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)09-0041-04

## Advances in Plant Adenosine 5'-Phosphoryl Sulfate Kinase (APSK)

GU Ning, YANG Yu-ping, PU Shou-cheng et al (Chemistry and Life Sciences College, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004)

**Abstract** Adenosine 5'-phosphoryl sulfate kinase catalyzes the phosphorylation of APS to produce 3'-phosphate-adenosine 5'-phosphoryl sulfuric acid, and PAPS is further used as a sulfate donor in the intracellular sulfation reaction. Thus, in these organisms, APS kinase is an important component of sulfate assimilation. The structure, function, mechanism and function of APS kinase were introduced. The current research progress of APS kinase was reviewed.

**Abstract** Adenosine 5'-phosphoryl sulfate kinase; Sulfur metabolism; Structure and function

## 1 腺苷 5'-磷酸硫酸激酶 (APSK) 简介

APS 激酶磷酸化 APS 以形成 PAPS, 这种酶较近才引起植物研究界的关注, 因为不像酵母、真菌和许多细菌, 植物直接使用 APS 而不是 PAPS 进行硫还原代谢<sup>[1]</sup>。因此, 在这些生物体中, APS 激酶是硫酸盐同化的重要组成部分 (图 1)。在植物中, 它实际上主要从同化物中吸收硫以合成 PAPS, 因此是初级和次级硫代谢的分支点, 其活性的强弱决定植物细胞内硫酸盐的不同代谢方向<sup>[2]</sup>。

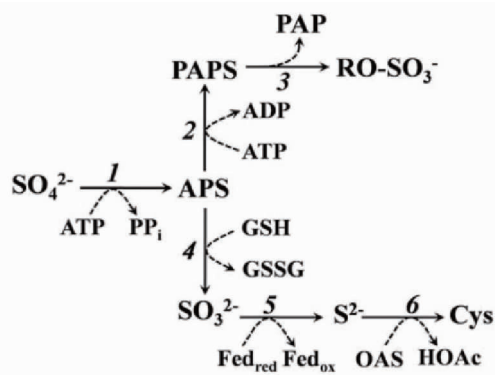


图 1 硫酸盐在植物细胞内的同化过程

Fig. 1 Scheme of sulfate assimilation pathway in plant cells

在拟南芥中发现 4 种 APSK 亚型, 水稻和杨树有 3 种 APK 同种型, 苔藓卷毛藓有 4 种, 青藻衣藻和牛蒡属各自含有 1 种 APSK 基因<sup>[3]</sup>。因此, APSK 在目前分析的大多数植物中都由小型多基因家族编码。然而, 其衍生蛋白质的特定靶向存在差异。虽然水稻似乎只编码具有叶绿体靶向肽的 APSK 同种型, 但在小立陶宛藓中, 所有的 APSK 似乎都是胞质的。虽然水稻和杨树基因组编码多个 *SOT* 基因, 但在这种类型的磺基转移酶中没有同系物存在于小立陶宛藓或莱茵

衣藻中<sup>[4]</sup>。

在拟南芥中, 沉默 APK1 和 APKII 亚型, 得到的双突变体表现出半矮型表型, 说明 APS 激酶不仅是植物硫酸盐代谢的关键酶之一, 而且影响植物生长素的积累<sup>[4]</sup>。但 APS 激酶的重要性目前尚不清楚, 因为没有硫代葡萄糖苷的植物也没有显示出任何显著的生长表型, 并且即使缺失植物激素和 PSY1 受体以及酪氨酸蛋白质磺基转移酶也不致死。

## 2 植物腺苷 5'-磷酸-硫酸激酶 (APSK) 的结构与反应机理

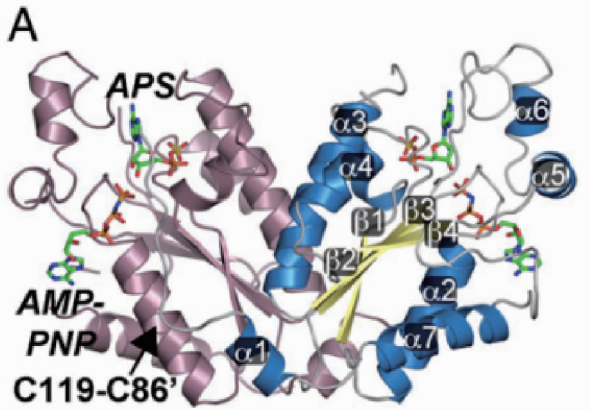
**2.1 APSK 的总体结构** APSK 催化  $\gamma$ -磷酸酯从 ATP 向 APS 腺嘌呤环的 3'-羟基转移, 得到 PAPS 和 ADP。来自产黄青霉、大肠杆菌和拟南芥的 APSK 的动力学研究提出的反应顺序遵循 APS 底物抑制的有序机制<sup>[5-7]</sup>。虽然没有植物 APSK 的结构信息可用, 但已经确定来自人、嗜热菌和脱硫硫杆菌的产黄青霉 APSK 和双功能 ATP 硫化酶-APSK 的 X 射线晶体结构, 并揭示典型的  $\alpha/\beta$  嘌呤核苷酸结合折叠。对于双功能人类酶, APS 对 APSK 活性的底物抑制与低序列同源性的 20-aa 左右 N 末端环连接。为了更好地了解植物 APSK 的分子功能, 确定了与  $\beta, \gamma$ -亚氨基腺苷-5'-三磷酸 (AMP-PNP)、 $Mg^{2+}$  和 APS 复合的 ATAPSK 异构体, 一个缺乏叶绿体定位的晶体结构 (图 2)。

缺少 77-aa N 末端叶绿体定位序列的 ATAPSK 同种型 1 (残基 78-276)<sup>[8]</sup> 用于蛋白质晶体学。与 AMP-PNP、 $Mg^{2+}$  和 APS 复合的 ATAPSK 结构通过使用产黄青霉 APSK<sup>[9]</sup> 的分子替代作为不对称单位中的 3 种单体的搜索模型来解决。链 A 形成结晶二聚体, 链 B 和 C 产生第二非结晶二聚体。二聚体中每个单体的总体折叠由可变的 N-末端区域 (残基 80-98) 组成, 并且覆盖核苷酸结合位点。其包括  $\alpha 1$  和相邻单体, 典型的  $\alpha/\beta$ -嘌呤核苷酸结合结构域 ( $\beta 1-\alpha 2-\beta 2-\alpha 3-\beta 3-\alpha 4-\beta 4-\alpha 7$ ) 以及  $\alpha 5$  和  $\alpha 6$  的小结构域。虽然 ATAPSK 与来自人类的双功能 PAPS 合成酶 (1.2 Å rmsd for

**作者简介** 谷宁 (1991—), 男, 河南漯河人, 硕士研究生, 研究方向: 蛋白质结构与功能。\* 通讯作者, 教授, 博士, 从事硫磺的代谢机理及其生物学功能研究。

**收稿日期** 2017-12-15

187 C $\alpha$  atoms; 51% sequence identity) 和产黄青霉 APSK (1.3 Å rmsd. for 176 C $\alpha$  atoms; 55% sequence identity) 共享共同的折叠,但这些结构上,N 端定位不同<sup>[12]</sup>。该区域的特征是各种 APSK 结构中具有约 7 - aa $\alpha$ ( $\alpha$ 1) 的非结构化环<sup>[9-13]</sup>。在 ATAPSK 结构的初始 2F o - Fc 图中,每个半胱氨酸的硫原子之间的距离落在二硫键的预期键长( ~ 2.05Å) 的范围内。Cys86(A) - Cys119(A) 和 Cys86(B) - Cys119(C) 二硫化物被完全氧化,Cys86(C) - Cys119(B) 二硫化物被部分氧化。形成二硫化物的半胱氨酸在来自植物和苔藓的 APSK 上是不变的,但是在其他生物的同源物中通常缺失。



注:每个单体分别以粉色和蓝色着色。AMP - PNP 和 APS 的位置显示为棒状分子。C86 · C119 二硫键的位置在左单体中表示。二级结构特征标记在右单体

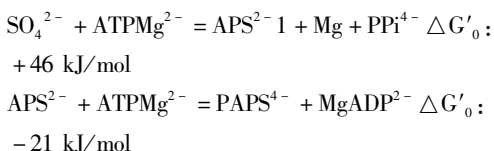
Note: Each monomer is colored in pink and blue, respectively. The positions of AMP-PNP and APS are shown as stick molecules. The position of the C86 · C119 disulfide bond is indicated in the left monomer. Secondary structure features are labeled in the right monomer

图2 ATAPSK 的二聚体带状图

Fig.2 Ribbon diagram of ATAPSK's dimer

**2.2 APSK 的反应机制** 植物可以通过 2 种途径代谢硫酸盐,这 2 种途径在腺苷 5' - 磷酰硫酸(APS)的水平上分支。APS 可以还原成硫化物,并且被并入主要的硫酸盐同化途径的 Cys 中,或者被 APS 激酶磷酸化成 3 - 磷酸腺苷 5 - 磷酸硫酸盐,作为硫酸化反应的硫酸盐供给。

ATP - 硫酸化酶(MgATP:硫酸腺苷酰转移酶,EC 2.7.7.4)和 APS 激酶(MgATP:腺苷酸 3' - 磷酸转移酶,EC 2.7.1.25)催化硫酸盐活化的初始步骤:



2 种酶是能量耦合的,包括无机焦磷酸酶( $\Delta G'_0$ : -6 kcal/mol)的焦磷酸盐水解将无机硫酸盐转化成高反应性磷酰化合物 PAPS。<sup>[14]</sup> APS 激酶是将磷酸基团从 ATP 转移到腺苷酸(APS)中核糖部分的 3 - OH 基团的小的磷酸转移酶(22 - 27kDa)。体外研究的所有 APS 激酶对  $10^{-6}$  M 范围内 Km 的 APS 具有非常高的亲和力。APS 激酶的另一个

特征是在没有 ATP 的情况下可以看到有效的底物抑制。对 APS 激酶的反应机理已从产黄青霉菌和大肠杆菌中广泛地进行研究,但是植物 APS 激酶研究较少<sup>[15-17]</sup>,尽管在几个较高的植物的叶组织或质体中发现了 APS 激酶活性,但纯化酶的动力学研究仅报道于绿藻<sup>[17]</sup>。目前的观点是植物在质体中使用 APS 进行半胱氨酸生物合成,使用 PAPS 形成硫酸酯<sup>[18]</sup>。在细胞质中合成硫酸酯类如硫酸化黄酮醇、硫代葡萄糖苷、植物类固醇和植物素<sup>[19]</sup>,并定位于液泡和高尔基体系。磺脂酯(磺基喹诺基糖基二酰基甘油酯)的生物合成也取决于作为磺酰基供体的体外 APS<sup>[20]</sup>,至于质体 APS - 激酶的功能尚不清楚。质体中 APS 的稳定浓度是未知的,但是当通过合成,结合和代谢 APS 的纯化酶的体外测定估算时,质体中游离 APS 的浓度可能在纳摩尔范围内<sup>[21-22]</sup>。如果在相同隔室中的同种条件下活跃,则 APSkinase 将积累 PAPS 并剥夺其他 APS 消耗底物的反应。研究表明,在 PAPS 离开酶后,在 ExMgADP 复合物解离前,APS 可占据磺酰基核苷酸结合位点。这种机制与从大肠杆菌报道的 APS 激酶的机制不同,其中 APS 在 ATP 之前结合形成酶 - APS 死端复合物。

### 3 APSK 的功能

硫是所有活生物体的必需元素,是生物合成多种代谢物和大分子所必需的。植物和原核生物是将周围环境中的无机硫酸盐( $\text{SO}_4^{2-}$ )转化为生理有用形式的硫的主要同化生物体。硫同化的代谢组织因植物和微生物而异,在酵母、真菌和肠杆菌(包括大肠杆菌)中,将硫酸盐掺入腺苷 - 5' - 磷酸(APS)中,然后转化为 3' - 磷酸 APS(PAPS)作为生物学“活化”化合物,其被还原成硫化物。在其他硫酸盐同化细菌如铜绿假单胞菌中,APS 可用于还原硫化物。植物具有分叉的硫醇代谢途径,其反映能适应环境胁迫和营养波动的固着生物的代谢需要。这些途径在 APS 形成后分化。植物中主要硫代谢途径使用 APS 作为活化的高能化合物用于硫还原和半胱氨酸的生成,这对于蛋白质、蛋氨酸、铁 - 硫簇、维生素辅因子和保护抗氧化应激的化合物(包括谷胱甘肽和植物螯合素肽)的合成至关重要,或者 APS 可以转化成 PAPS,以提供硫酸盐供体,用于修饰多种天然产物,油菜素类固醇和茉莉酮酸激素,植物鸟嘌呤和其他磺化分子。APS 还原酶(APS R)和 APSK 分别控制植物中初级(即还原性)和次级代谢途径之间分支点的硫酸盐分离。APS R 催化 APS 对亚硫酸盐( $\text{SO}_3^{2-}$ )和 AMP 的谷胱甘肽依赖性还原。植物中 APS R 的大量研究表明,该酶在通过初级硫同化途径调节通量方面起关键作用<sup>[23]</sup>。拟南芥(ATAPSR)的 APS R 氧化还原反应改变的活性调节通过调节二硫键发生,其在还原时减弱活性。与 APS R 相反,APSK 在植物硫醇代谢中的作用才开始被检验到。

对拟南芥最近的研究表明,腺苷 - 5 磷酸硫酸激酶(APK)提供活性硫酸盐用于次级代谢物的硫酸化,腺苷 5' - 磷酰硫酸激酶的破坏降低硫酸次代谢物水平,包括硫代葡萄糖苷。已经成功地隔离这个家族的 4 种可能的三重纯合突变体组合中的 3 种。单独的 APK1 同种型足以维持 WT 的生

长和发育水平。分析 APK1 APK2 APK3 和 APK2 APK3 APK4 的突变显示,APK3 和 APK4 功能上是冗余的,尽管分别位于细胞溶质和质体。然而,无法分离出 APK1 APK3 APK4 的突变体,最有可能是因为 APK1 APK3 APK4 的三倍突变组合是花粉致死的。因此,APS 激酶对植物繁殖和生存力至关重要<sup>[4,24-26]</sup>。

#### 4 APSK 氧化还原调控

在植物中,需要腺苷 5'-磷酸硫酸激酶 (APSK) 的生殖活力,并且在专门的代谢中作为 PAPS 的硫供体。以前对拟南芥 APSK 的研究 (ATAPSK) 鉴定 N 末端结构域 (NTD) 和核心支架上半胱氨酸之间形成的调节二硫键。在植物中,APSK 酶活性通过其 N 末端环中的 Cys86 和 Cys119 间的亚基间二硫键进行生物化学调节。这种硫醇开关是苔藓、裸子植物和被子植物独有的<sup>[27]</sup>。在植物中,分支点从 APS 进入亚硫酸盐或 PAPS 可以通过氧化还原条件来调节。硫醇基氧化还原开关差异性调节 APS 还原酶和 APSK 的活性<sup>[23,28-29,40]</sup>。还原减弱 APS 还原酶活性并增强 APSK 活性,而氧化加速 APS 还原酶并减弱 APSK 产生的 PAPS<sup>[23,28-29,40]</sup>。他们的相互氧化还原调节提供了一种根据细胞条件将硫通量引导到初级硫代谢 (APS 还原酶) 或专门代谢 (APSK) 的方法。

植物中的氧化还原敏感性的 APSK 在绿色植物谱系硫同化途径分叉后进化,提供一种通过 APS 将硫流分配成质体中的初级和特异性硫醇代谢途径的控制机制<sup>[23,28-30]</sup>。来自拟南芥 APSK 的早期生物化学研究表明,大肠杆菌硫氧还蛋白可以介导类似的氧化还原调节<sup>[31]</sup>,这与通过硫氧还蛋白还原二硫化物的共同靶标识别机制一致<sup>[32]</sup>。在植物中,氧化应激增加对半胱氨酸和谷胱甘肽的需求,并在导致这些分子的主要途径中激活 2 种关键酶 (APS 还原酶和谷氨酸-半胱氨酸连接酶)<sup>[33-36]</sup>。氧化条件减弱 APSK 活性,以限制 APS 在次级途径中的使用。因此,APS 分支点的相互调节可以通过细胞氧化还原状态来控制。最近研究表明,2,8-二羟甲基二苯并噻吩 S-氧化物在光氧化过程中产生的 O (3P) 能够调节硫醇残基氧化 APSK<sup>[28]</sup>。已经证明该方法提供一种调节 APSK 氧化的有效手段及合适的光化学手段来调控 APSK 酶的活性。

#### 5 APSK 重组酶动力学分析

合成重组 APK 作为融合蛋白与谷胱甘肽-S-转移酶 (GST-APK) 或作为与麦芽糖结合蛋白的融合蛋白。我们怀疑植物 APS 激酶可能通过污染重组蛋白质制备物或商业凝血酶和因子 Xa 制剂中的蛋白酶而对降解非常敏感。而纯化的 APK 融合蛋白非常稳定,在 -70 °C 储存 1 年或在室温下孵育 24 h 后没有催化活性损失。

由于发现融合蛋白是具有功能性的,所以可以直接用融合蛋白进行动力学试验。我们使用酶偶联测定法测定 APS 激酶的活性。Lee 等<sup>[37]</sup> 研究表明,将 APS 滴定至含有 5 mmol/L ATP 的反应混合物中显示速度线性增加至 10 mmol/L APS,但在较高的 APS 浓度下被抑制。在此试验

中,最大速度为 0.3 U/mg。与 4 种不同的酶制剂 (2 种 MAL-APK 和 2 种 GST-APK) 得到的结果相同,尽管比活度范围为 0.3 ~ 0.5 U/mg。该分析表明,理论  $V_{max}$  为 1.2 U/mg,动力学常数 ( $K_m$ ) 对于 APS 为 3.6 mmol/L,ATP 为 1.9 mmol/L。所有制备物显示相同的动力学常数。最大观察速度和理论  $V_{max}$  之间的差异可能是由于在高 APS 浓度下观察到的酶抑制。这些结果类似于产气荚膜梭菌和大肠杆菌报道的结果。其中它被解释为 APS 是与 ATP 相关的非竞争性抑制剂。应该注意的是,由于活性测量使用其中 65% 是麦芽糖结合蛋白 (MAL-APK) 或谷胱甘肽转移酶 (GST-APK) 的 APK 融合蛋白进行,更实际的比活性可以是 3 倍以上,即 0.9 ~ 1.5 U/mg<sup>[37]</sup>。这个值远低于产黄青霉 APS 激酶 (24 U/mg) 和大肠杆菌 (153 U/mg) 的比活性,但接近来自莱茵衣藻的纯 APS 激酶 (2.2 U/mg) 和酿酒酵母 (0.8 U/mg) 的比活性。

#### 6 讨论

植物中的硫同化途径支持硫原子初级代谢中硫的还原和半胱氨酸的合成以及次级代谢的硫化分子的产生。通过 APSR 和 APSK 的活性平衡植物中初级和次级代谢途径间硫酸盐的分离。最近的工作揭示 APSK 对拟南芥生殖生存力的重要作用,但是这种酶在植物中的生物化学调节尚不清楚<sup>[23-26]</sup>。AtAPSK 的结构和功能研究提供 PAPS 形成的分子基础和这一重要代谢分支酶的氧化还原控制的见解。提出 APSK 的反应顺序首先遵循 ATP · Mg<sup>2+</sup> 结合的顺序机制,然后进行 APS 催化,释放 PAPS,释放 ADP · Mg<sup>2+</sup><sup>[38]</sup>。

APS 激酶通过硫代葡萄糖苷网络的 MYB 因子在转录水平上调节<sup>[39]</sup>。转录物水平也对硫酸盐饥饿有反应,并与硫代葡萄糖苷的其他基因网络相结合,抑制 mRNA。此外,在 APSK 酶活的氧化还原调节中,植物 APS 激酶具有氧化还原活性半胱氨酸对,当其减少时,增加催化效率并降低 APS 的抑制作用。由于 APS 还原酶被氧化激活,氧化还原调节可能有助于控制初级和次级代谢之间的硫分配<sup>[23,40-41]</sup>。然而,这需要在体内证明。来自其他生物体的 APS 激酶与植物蛋白质类似,作为 PAPS 合成酶蛋白质的一部分或作为独立的酶<sup>[42]</sup>。除植物外,APS 激酶尚未被证明是高度受调节的,也不被认为是硫代谢的关键调节步骤。这与植物特异性的氧化还原敏感性半胱氨酸对一致。

#### 参考文献

- [1] KOPRIVA S, KOPRIVOVA A. Plant adenosine 5'-phosphosulfate reductase: The past, the present, and the future [J]. Journal of experimental botany, 2004, 55 (404): 1775 - 1783.
- [2] LI X, ZHONG W D, ALPHONES A, et al. Pilot-aided channel equalization in RGI-PDM-CO-OFDM systems [J]. IEEE Photonics Technology Letters, 2013, 25 (23): 2304 - 2307.
- [3] KOPRIVA S, FRITZEMEIER K, WIEDEMANN G, et al. The putative moss 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate reductase is a novel form of adenosine-5'-phosphosulfate reductase without an iron-sulfur cluster [J]. Journal of biological chemistry, 2007, 282 (31): 22930 - 22938.
- [4] MUGFORD S G, YOSHIMOTO N, REICHEL T M, et al. Disruption of adenosine-5'-phosphosulfate kinase in *Arabidopsis* reduces levels of sulfated secondary metabolites [J]. Plant cell, 2009, 21 (3): 910 - 927.
- [5] SATISHCHANDRAN C, MARKHAM G D. Adenosine-5'-phosphosulfate kinase from *Escherichia coli* K12. Purification, characterization, and identifi-

- cation of a phosphorylated enzyme intermediate [J]. Journal of biological chemistry, 1989, 264(25):15012–15021.
- [6] LILLIG C H, SCHIFFMANN S, BERNDT C, et al. Molecular and catalytic properties of *Arabidopsis thaliana*, adenylyl sulfate (APS)-kinase [J]. Archives of biochemistry & biophysics, 2001, 392(2):303–310.
- [7] MACRAE I J, SEGEL I H. Adenosine 5'-phosphosulfate (APS) kinase: Diagnosing the mechanism of substrate inhibition [J]. Archives of biochemistry & biophysics, 1999, 361(2):277–282.
- [8] PHARTIYAL P, KIM W S, CAHOON R E, et al. Soybean ATP sulfurylase, a homodimeric enzyme involved in sulfur assimilation, is abundantly expressed in roots and induced by cold treatment [J]. Archives of biochemistry & biophysics, 2006, 450(1):20–29.
- [9] MACRAE I J, SEGEL I H, FISHER A J. Crystal structure of adenosine 5'-phosphosulfate kinase from *Penicillium chrysogenum* [J]. Biochemistry, 2000, 39(7):1613–1621.
- [10] YU Z H, LANSDON E B, SEGEL I H, et al. Crystal structure of the bifunctional ATP sulfurylase-APS kinase from the chemolithotrophic thermophile *Aquifex aeolicus* [J]. Journal of molecular biology, 2007, 365(3):732–743.
- [11] GAY S C, SEGEL I H, FISHER A J. Structure of the two-domain hexameric APS kinase from *Thiobacillus denitrificans*: Structural basis for the absence of ATP sulfurylase activity [J]. Acta crystallographica, 2009, 65(10):1021–1031.
- [12] SEKULIC N, DIETRICH K, PAARMANN I, et al. Elucidation of the active conformation of the APS-kinase domain of human PAPS synthetase 1 [J]. Journal of molecular biology, 2007, 367(2):488–500.
- [13] SEKULIC N, KONRAD M, LAVIE A. Structural mechanism for substrate inhibition of the adenosine 5'-phosphosulfate kinase domain of human 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthetase 1 and its ramifications for enzyme regulation [J]. Journal of biological chemistry, 2007, 282(30):22112–22121.
- [14] SCHWENN J D, SCHRIEK U. A new role for thioredoxin in assimilatory sulphate reduction [J]. FEBS Letters, 1984, 170(1):76–80.
- [15] BURNELL J N, ANDERSON J W. Adenosine 5'-sulphatophosphate kinase activity in spinach leaf tissue [J]. Biochemical journal, 1973, 134(2):565–579.
- [16] JENDER H G, SCHWENN J D. Purification and properties of the ATP: Adenylyl sulphate 3'-phosphotransferase from *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Archives of microbiology, 1984, 138(1):9–14.
- [17] LEE S, LEUSTEK T. APS kinase from *Arabidopsis thaliana*: Genomic organization, expression, and kinetic analysis of the recombinant enzyme [J]. Biochemical & biophysical research communications, 1998, 247(1):171–175.
- [18] BICK J A, LEUSTEK T. Plant sulfur metabolism—the reduction of sulfate to sulfite [J]. Current opinion in plant biology, 1998, 1(3):240–244.
- [19] VARIN L, MARSOLAIS F, RICHARD M, et al. Sulfation and sulfotransferases 6: Biochemistry and molecular biology of plant sulfotransferases [J]. FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 1997, 11(7):517–525.
- [20] SANDA S, LEUSTEK T, THEISEN M J, et al. Recombinant *Arabidopsis* SQD1 converts udp-glucose and sulfite to the sulfolipid head group precursor UDP-sulfoquinovose *in vitro* [J]. Journal of biological chemistry, 2001, 276(6):3941–3946.
- [21] RENOSTO F, PATEL H C, MARTIN R L, et al. ATP sulfurylase from higher plants: Kinetic and structural characterization of the chloroplast and cytosol enzymes from spinach leaf [J]. Archives of biochemistry & biophysics, 1993, 307(2):272–285.
- [22] MACRAE I J, ROSE A B, SEGEL I H. Adenosine 5'-phosphosulfate kinase from *Penicillium chrysogenum*. site-directed mutagenesis at putative phosphoryl-accepting and ATP P-loop residues [J]. Journal of biological chemistry, 1998, 273(44):28583–28589.
- [23] RAVILIOUS G E, NGUYEN A, FRANCOIS J A, et al. Structural basis and evolution of redox regulation in plant adenosine-5'-phosphosulfate kinase [J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2012, 109(1):309–314.
- [24] KOPRIVA S, MUGFORD S G, MATTHEWMAN C, et al. Plant sulfate assimilation genes: Redundancy versus specialization [J]. Plant cell reports, 2009, 28(12):1769–1780.
- [25] MUGFORD S G, MATTHEWMAN C A, HILL L, et al. Adenosine-5'-phosphosulfate kinase is essential for *Arabidopsis* viability [J]. FEBS Letters, 2010, 584(1):119–123.
- [26] YATUSEVICH R, MUGFORD S G, MATTHEWMAN C, et al. Genes of primary sulfate assimilation are part of the glucosinolate biosynthetic network in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant journal, 2010, 62(1):1–11.
- [27] HERRMANN J, NATHIN D, LEE S G, et al. Recapitulating the structural evolution of redox-regulation in adenosine-5'-phosphosulfate kinase from cyanobacteria to plants [J]. Journal of biological chemistry, 2015, 290(41):24705–24714.
- [28] ZHANG M, RAVILIOUS G E, HICKS L M, et al. Redox switching of adenosine-5'-phosphosulfate kinase with photoactivatable atomic oxygen precursors [J]. Journal of the American chemical society, 2012, 134(41):16979–16982.
- [29] RAVILIOUS G E, WESTFALL C S, JEZ J M. Redox-linked gating of nucleotide binding by the N-terminal domain of adenosine 5'-phosphosulfate kinase [J]. Journal of biological chemistry, 2013, 288(9):6107–6115.
- [30] BICK J A, SETTERDAHL A T, KNAFF D B, et al. Regulation of the plant-type 5'-adenylyl sulfate reductase by oxidative stress [J]. Biochemistry, 2001, 40(30):9040–9048.
- [31] LILLIG C H, SCHIFFMANN S, BERNDT C, et al. Molecular and catalytic properties of *Arabidopsis thaliana*, adenylyl sulfate (APS)-kinase [J]. Archives of biochemistry & biophysics, 2001, 392(2):303–310.
- [32] PALDE P B, CARROLL K S. A universal entropy-driven mechanism for thioredoxin-target recognition [J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2015, 112(26):7960–7965.
- [33] JEZ J M, CAHOON R E, CHEN S. *Arabidopsis thaliana* glutamate-cysteine ligase: functional properties, kinetic mechanism, and regulation of activity [J]. Journal of biological chemistry, 2004, 279(32):33463.
- [34] HOTHORN M, WACHTER A, GROMES R, et al. Structural basis for the redox control of plant glutamate cysteine ligase [J]. Journal of biological chemistry, 2006, 281(37):27557–27565.
- [35] HICKS L M, CAHOON R E, BONNER E R, et al. Thiol-based regulation of redox-active glutamate-cysteine ligase from *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant cell, 2007, 19(8):2653–2661.
- [36] GROMES R, HOTHORN M, LENHERR E D, et al. The redox switch of -glutamylcysteine ligase via a reversible monomer-dimer transition is a mechanism unique to plants [J]. Plant J, 2008, 54:1063–1075.
- [37] LEE S, LEUSTEK T. APS kinase from *Arabidopsis thaliana*: Genomic organization, expression, and kinetic analysis of the recombinant enzyme [J]. Biochemical & biophysical research communications, 1998, 247(1):171–175.
- [38] RENOSTO F, SEUBERT P A, SEGEL I H. Adenosine 5'-phosphosulfate kinase from *Penicillium chrysogenum*. Purification and kinetic characterization [J]. Journal of biological chemistry, 1984, 259(4):2113–2123.
- [39] MUGFORD S G, LEE B R, KOPRIVOVA A, et al. Control of sulfur partitioning between primary and secondary metabolism [J]. Plant J, 2011, 65(1):96–105.
- [40] BICK J A, SETTERDAHL A T, KNAFF D B, et al. Regulation of the plant-type 5'-adenylyl sulfate reductase by oxidative stress [J]. Biochemistry, 2001, 40(30):9040–9048.
- [41] PATRON N J, DURNFORD D G, KOPRIVA S. Sulfate assimilation in eukaryotes: Fusions, relocations and lateral transfers [J]. BMC Evolutionary Biology, 2008, 8(1):1–14.

## 科技论文写作规范——作者

论文署名一般不超过5个。中国人姓名的英文名采用汉语拼音拼写, 姓氏字母与名字的首字母分别大写; 外国人姓名、名字缩写可不加缩写点。