

综述与专论

植物类整合素蛋白研究进展*

孙颖 孙大业**

(河北师范大学生命科学学院分子细胞生物学研究室, 石家庄 050016)

摘要 整合素是动物细胞膜上普遍存在的一类胞外基质受体, 它所介导的粘附作用参与调节多种细胞功能. 近年来的研究发现在植物细胞中可能也存在类整合素. 综述了在植物类整合素检测、定位、组成、结构、基因以及生理功能研究方面所取得的初步进展与存在的问题, 并与动物整合素的研究作了比较.

关键词 类整合素, 植物, 质膜

学科分类号 Q946

整合素 (integrins) 是动物细胞膜整合蛋白的一大家族, 由 α 、 β 亚基组成异二聚体. 它的胞外域结合细胞外基质, 胞内域与细胞骨架相连接, 作为胞外基质的受体参与跨膜信号传递, 在细胞的多种生物学功能中发挥重要作用.

Wyatt 等^[1] 认为在植物细胞中也存在细胞壁-质膜-细胞骨架连续体, 推测在质膜上负责这种连接结构的分子性质与整合素类似. Schindler 等^[2] 首次报道从植物中检测出类整合素, 此后仅偶见相关报道. 1996 年以来特别是近两年来, 对植物类整合素的存在、定位、功能、结构、组成、基因等的研究迅速增多 (表 1), 由此看来在植物细胞中存在类整合素蛋白的可能性大大增加. 也许植物类整合素在结构或基因上与动物整合素有差异, 但這些分子可能通过相似的机制介导植物细胞对体内外环境信号的感知和传导.

1 植物类整合素蛋白的检测与亚基组成

用动物整合素抗体作探针, 在植物细胞中进行免疫印迹检测, 结果表明 (表 1): 在植物中检测到的类整合素主要是保守的 β_1 和 β_3 亚基免疫相关蛋白, 用 α 亚基或完整的整合素抗体做探针检测到的免疫相关蛋白较少, 说明在植物中检测到的类整合素亚基类型是很有限的; 类整合素多在质膜组分中检测出来, 这一点与动物细胞一致; 不同植物材料中检出的类整合素在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳时表观分子质量差异很大, 究其原因可能主要有以下二点: a. 电泳迁移率与还原及非还原条件有关. 动物整合素 α 亚基分子质量在 150~160 ku 左右,

含有链间二硫键, 在进行还原电泳时会因二硫键断裂, 丢失一小肽段使迁移率增加, 表观分子质量减小; β 亚基分子质量在 90 ku 左右, 含有大量的链内二硫键, 在进行还原电泳时因二硫键断裂使分子松散, 迁移率减小, 表观分子质量增加. 植物类整合素在还原及非还原电泳时表观分子质量变化有些与动物整合素相似, 有些也不相同. b. 与糖基化程度有关. 植物类整合素与动物整合素都是糖蛋白, 由于各自糖基化程度不同, 表观分子质量有所差异. 应注意不同的植物组织细胞中, 可能存在着一些非整合素, 但又具有动物整合素抗原决定簇的蛋白.

最初大多数实验中 (表 1) 只使用了一个保守的 β 亚基抗体进行检测, 所以不能确定类整合素是否也是由两个亚基组成的异二聚体, 关于其他特性知道得更少. 我们曾用 α_v , β_3 和玻璃粘连蛋白受体 (vitronectin receptor, VnR) 整合素的抗体在黄花菜花粉管中分别检测到相关蛋白的存在^[3], 说明可能存在 α_v 和 β_3 亚基组成的 VnR 样整合素; Faik 等^[4] 也采用多种整合素亚基的抗体对拟南芥细胞进行免疫印迹检测, 表明在原生质体表面存在的类整合素与血小板整合素 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 的结构相似; Canut 等^[5] 在纯化的拟南芥细胞膜上还发现了 RGD (Arg-Gly-Asp) 肽结合位点, 且每个细胞中约有

* 国家自然科学基金资助项目 (39970071).

** 通讯联系人.

Tel: 0311-6049941-86300, E-mail: sundy@public.sj.he.cn

收稿日期: 2000-05-21, 接受日期: 2000-07-27

40~ 200个 RGD 受体; Kiba 等^[6]发现 RGD 肽能够阻断豌豆上胚轴细胞质膜的类整合素与细胞壁蛋白质组分的结合. 从已有的结果分析, 植物中可能存在与动物整合素结构相似的类整合素, 至少它的质膜外侧区含有 RGD 结合域.

Table 1 Integrin-like proteins immunodetected in plant cells

表 1 植物中检测出的类整合素

植物材料	检测用抗体	电泳分子质量/ku	
		还原条件	非还原条件
<i>Glycine max L.</i> (大豆根尖悬浮细胞)	VnR 多抗(β_3 相关)		70~ 72
<i>Fucus</i> (墨角藻受精卵)	β_1 胞质域多抗	92	
<i>Zea</i> (玉米花粉)	β_1 胞质域多抗	55~ 76	
<i>Allium</i> (洋葱表皮)	β_1 胞外域单抗	109, 123	
	β_1 胞质域多抗	107, 117	
<i>Chara</i> (轮藻)	β_1 胞质域多抗	58, 80	
<i>Arabidopsis</i> (拟南芥根、茎) (拟南芥悬浮细胞)	β_1 胞质域多抗	58, 84~ 116	
	$\alpha_{IIb}\beta_3$ 多抗	30, 60	~ 50, ~ 120
	α_{IIb} 多抗	60	
	β_3 多抗	60	
<i>Rubus</i> (蚕豆悬浮细胞)	$\alpha_{IIb}\beta_3$ 多抗	30, 60, 120	~ 120
<i>Nicotiana</i> (烟草根悬浮细胞)	β_1 胞质/外域单抗	110	
<i>Pisum</i> (豌豆上胚轴)	β_1 单抗	60, 74, 86	
	VnR 多抗	27, 30, 40, 60, 74, 86, 107	
<i>Hemerocallis</i> (黄花菜花粉管)	β_3 胞质域多抗	97, 150	
	α_v 胞质域多抗	155	
	VnR 多抗	160	
<i>Lilium</i> (百合花粉管)	β_3 胞质域多抗		150
	α_v 胞质域多抗		150
	VnR 多抗		150
<i>Zea</i> (玉米愈伤组织)	β_1 胞质域多抗	120	
	$\alpha_{IIb}\beta_3$ 多抗	30, 60	
	α_{IIb} 多抗	30, 60	
	β_3 多抗	60	
<i>Arabidopsis</i> (拟南芥幼苗)	β_1 多抗		100

2 植物类整合素蛋白的定位分布

用免疫电泳^[7]、免疫荧光技术研究发现植物

细胞中类整合素主要定位在细胞壁-质膜交界处, 这与在质膜组分中免疫印迹检测结果可以相互印证. 在不同类型的细胞中类整合素还有不同的分布方式, 这可能与细胞的生长行为相关, 如蚕豆悬浮细胞是分散状态的, 类整合素在细胞表面均匀分布, 拟南芥悬浮细胞容易形成大的凝集体, 类整合素在原生质体表面是斑点状分布, 这类似于血小板表面的整合素成簇分布并相应于血小板凝集的增强^[4]. 类整合素在洋葱表皮细胞膜上也是斑点状分布, 它代表着细胞中的粘附位点, 因为在细胞壁中还同时发现了玻璃粘连蛋白(vitronectin, Vn)和纤粘连蛋白(fibronectin, Fn)免疫相关蛋白, 说明洋葱表皮细胞的粘附位点与动物细胞的粘附位点有相似性^[8].

在极性生长的细胞中, 类整合素主要位于生长尖端. 在轮藻的假根中类整合素自尖端向后形成一定的梯度, 在拟南芥的根尖中主要位于根冠^[9]; 我们分别用整合素的 β_3 , β_1 , α_v 亚基抗体标记百合、烟草、碧桃等花粉管, 用荧光显微镜^[10]或激光共聚焦显微镜^[11]观察, 发现荧光标记呈帽状分布于尖端区和花粉管周边近质膜区, 这与我们的免疫印迹检测结果相印证, 推测类整合素在这类细胞中的分布方式可能与定向生长有关. 另外也有在细胞器中定位到类整合素的报道^[12].

3 植物类整合素蛋白的功能

植物细胞类整合素的生理功能远不如动物细胞中的功能清楚, 研究工作主要是采用动物整合素抗体或拮抗剂 RGD 肽处理植物组织细胞, 观察其对细胞的影响, 并由此推测类整合素的作用.

3.1 作为粘附组分参与植物对环境胁迫的反应

一些植物细胞的质膜和细胞壁间存在连接结构, 高渗溶液胁迫后质膜和细胞壁间的粘附作用会明显增强, 表现为凹型质壁分离增多, 如 NaCl 胁迫的烟草细胞^[13]、甜土植物和盐生植物的细胞等. 在根毛细胞中凹型质壁分离占优势, 而贮盐的表皮腔细胞中, 凹型质壁分离则是唯一的形式, RGD 肽是能够破坏质壁粘附结构的最有效的试剂^[14]. 另外还发现 RGD 肽可引起细胞形态和内部结构的改变^[15], 影响细胞的增殖行为^[2], 因此推测细胞壁与质膜间的粘附结构对于植物细胞正常的生理功能至关重要, 为了抵抗渗透胁迫引起的质壁分离, 植物细胞有可能通过在细胞表面表达更多的类整合素分子来加强质壁间的连接.

3.2 在极性生长的细胞中可能参与定向生长过程

在墨角藻受精卵质膜中检测到 β_1 类整合素, 它可能参与假根极性轴的确定^[16]; 在轮藻节间细胞发现类整合素, 可能作为重力受体参与植物对重力的感知, 调控不对称生长^[17]; 在拟南芥, 作为感知重力位点的根冠细胞中也出现很强的类整合素荧光标记^[9], 似乎也支持上述观点。

我们发现类整合素定位于花粉管尖端, 在半体内培养条件下向花柱引导组织内注射动物整合素 VnR 的抗体或 RGD 肽均可以浓度依赖方式抑制花粉管的生长, 这也说明类整合素可能参与了雌蕊胞外基质调节的花粉管定向生长过程^[11], 与花粉管相类似的动物神经轴突^[18]和真菌菌丝的极性生长都与整合素在细胞表面的表达量有关。

3.3 参与植物抵抗微生物的防御反应

Kiba 等^[6]在豌豆上胚轴细胞壁和质膜中分别检测到 Vn 和 VnR, 证明 RGD 肽能够阻断两者的结合, 并抑制激发子刺激的植物抗毒素——豌豆素的累积, 推测 RGD 肽很可能是分离了细胞壁和质膜之间的连接结构, 导致防御反应的信号不能从细胞外传递到细胞内, 接着就阻断了防御系统。一个间接的证据是在真菌感染植物细胞的位点附近, 常出现凹型质壁分离, 说明细胞膜与细胞壁的粘附力增强。

4 植物类整合素的基因

克隆类整合素基因是证实类整合素存在的最直接证据, 在植物中有初步结果。Pont-Lezica 研究组用人 VnR 整合素抗体筛选拟南芥培养细胞 cDNA 表达文库, 得到了一个克隆, 在较小程度上与一个酵母类整合素有同源性, 与一种起粘附作用的膜糖蛋白有同源性^[19]。Laval 等^[20]用动物整合素 β_5 基胞质域序列的核苷酸作探针, 在拟南芥的基因文库中筛选出一类克隆, 发现有两个区域与 β_5 整合素的特征性 motif 相似, 一个是半胱氨酸富集区, 另一个是近 N 端的 Asp-x-Ser-x-Ser 序列, 这个序列已被鉴定是动物整合素 RGD 肽结合位点。在植物蛋白中存在这样的结构域是很有意义的, 它与上述用生化方法所得结论相互印证, 但还不能确定这一蛋白质如何及在哪里发挥作用。

从以上资料可以看出植物类整合素的存在主要基于免疫交叉反应与定位分布的证据, 生理功能的研究也来自间接证据, 至于信号转导的细节就更不清楚。因此只有最终克隆出类整合素基因才能提供

类整合素存在的直接证据, 并可以在分子水平上研究类整合素在植物细胞中的生物学功能。

参 考 文 献

- Wyatt S E, Carpita N C. The plant cytoskeleton-cell wall continuum. Trends Cell Biology, 1993, 3 (12): 413~ 417
- Schindler S, Meiner S, Cheresch D A. RGD-dependent linkage between plant cell and plasma membrane: consequence for growth. J Cell Biol, 1989, 1089 (7): 1955~ 1965
- 孙 颖, 徐小冬, 孙大业. 植物花粉管质膜类整合素蛋白的免疫印迹检测. 植物学报, 1998, 40 (7): 680~ 682
Sun Y, Xu X D, Sun D Y. Acta Botanica Sinica. 1998, 40 (7): 680~ 682
- Faik A, Labouré A M, Gulino D, et al. A plant surface protein sharing structural properties with animal integrins. Eur J Biochem, 1998, 253 (3): 552~ 559
- Canut H, Carrasco A, Galand I P, et al. High affinity RGD-binding sites at the plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* links the cell wall. Plant J, 1998, 16 (1): 63~ 71
- Kiba A, Sugimoto M, Toyoda K, et al. Interaction between cell wall and plasma membrane via RGD motif is implicated in plant defense responses. Plant Cell Physiol, 1998, 39 (11): 1245~ 1249
- Swatzell L J, Edelmann R E, Makaroff C A, et al. Integrin-like proteins are localized to plasma membrane fractions, not plastids, in *Arabidopsis*. Plant Cell Physiol, 1999, 40 (2): 173~ 183
- Gens J S, Reuveau C, Doolittle K W, et al. Covisualization by computational optical-sectioning microscopy of integrin and associated proteins at the cell membrane of living onion protoplasts. Protoplasma, 1996, 194 (3~ 4): 215~ 230
- Katembe W J, Swatzell L J, Makaroff C A, et al. Immunolocalization of integrin-like proteins in *Arabidopsis* and *Chara*. Physiol Plant, 1997, 99 (1): 7~ 14
- 孙 颖, 穆睿聆, 郝美璞, 等. 植物花粉管中类整合蛋白的免疫荧光定位研究. 实验生物学报, 1999, 32 (2): 164~ 168
Sun Y, Mu R L, Hao M P, et al. Acta Biologicae Experimentalis Sinica, 1999, 32 (2): 164~ 168
- Sun Y, Qian H, Xu X D, et al. Integrin-like proteins in pollen tube: detection, localization and function. Plant Cell Physiol, 2000, 41 (10): 1136~ 1142
- Lynch T M, Lintilhac P M, Domozych D. Mechanotransduction molecules in the plant gravisensory response: amyloplast/ statolith membranes contain a β_1 integrin-like protein. Protoplasma, 1998, 201 (1~ 2): 92~ 100
- Zhu J K, Shi J, Singh U, et al. Enrichment of vitronectin and fibronectin-like proteins in NaCl-adapted plant cells and evidence for their involvement in plasma membrane-cell wall adhesion. Plant J, 1993, 3 (4): 637~ 646
- Nelson D, Bohnert H. Plasma membrane-cell wall adhesion in ice plant. Plant Physiol, 1994, 105 (suppl): 58
- Labouré A M, Faik A, Mandaron P, et al. RGD-dependent

- growth of maize calluses and immunodetection of an integrin-like protein. FEBS Lett, 1999, **442** (21379): 123~128
- 16 Quatrano R S, Brain I, Aldridge J, *et al.* Polar axis fixation in *Fucus* zygotes: components of the cytoskeleton and extracellular matrix. Development (suppl), 1991, **1**: 11~16
 - 17 Wayne R, Staves M P, Leopold A C. The contribution of the extracellular matrix to gravisensing in characean cells. J Cell Sci, 1992, **101** (3): 611~623
 - 18 Condic M L, Letourneau P L. Ligand-induced changes in integrin expression regulate neuronal adhesion and neurite outgrowth. Nature, 1997, **389** (6653): 852~856
 - 19 Galaud J-P, Laval V, Carrière M, *et al.* Osmotic stress activated expression of an *Arabidopsis* plasma membrane-associated protein: sequence and predicted secondary structure. Biochim Biophys Acta, 1997, **1341** (1): 79~86
 - 20 Laval V, Chabannes M, Carrière M, *et al.* A family of *Arabidopsis* plasma membrane receptors presenting animal β -integrin domains. Biochim Biophys Acta, 1999, **1435** (1~2): 61~70

Advance in Integrin-like Proteins in Plants^{*}

Sun Ying, Sun Da-Ye^{**}

(Institute of Molecular and Cell Biology, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China)

Abstract Integrins are receptors of extracellular matrix, which are commonly present on the cell surface of animal. Integrin-mediated adhesion is involved in many aspects of cell activities. Recent studies have shown that there may be integrin-like proteins in plant cells. The advance in identification, localization, composition, structure, gene and possible function of integrin-like proteins were reviewed.

Key words integrin-like proteins, plant, plasma membrane

^{*} This work was supported by a grant from National Natural Science Foundation of China (39970071).

^{**} Corresponding author. Tel: 86-311-6049941, E-mail: sundy@public.sj.he.cn

Received: May 21, 2000 Accepted: July 27, 2000