

植物多肽信号分子的特点和功能

彭丽桃^{1,2)} 蒋跃明^{1,2)*} 杨书珍³⁾

(¹⁾中国科学院华南植物研究所, 广州 510650; ²⁾中国科学院研究生院, 北京 100039; ³⁾西北农林科技大学园艺学院, 陕西 712100)

摘要 近几年研究表明, 植物体内存在类似动物和酵母的多肽信号分子, 调控植物生长发育以及对环境的响应. 介绍了植物中的系统素、迅速碱化因子 (RALF)、早期结瘤蛋白 40 (ENOD40)、植物磺化激动素 (PSK)、S 位点富含半胱氨酸蛋白 (SCR)、CLV3 以及相应受体的特点和功能研究进展, 并且对多肽信号在植物中的作用及其应用前景进行了探讨.

关键词 多肽激素, 植物, 系统素

学科分类号 Q78

近几年研究表明, 多肽信号分子在植物的生长、发育、生殖以及对外界环境的响应中具有重要的调节作用^[1]. 自 1991 年发现番茄系统素及其前体原系统素后, 又陆续鉴定了其他几种多肽信号分子, 同时鉴定出了一系列多肽信号受体蛋白的基因^[1,2]. 目前研究还证实多肽信号分子与生长素、赤霉素、细胞分裂素、乙烯、脱落酸 (ABA)、赤霉素 (JA) 和油菜素内酯共同调节植物的生长发育和对特定环境的响应. 本文介绍最近发现的几种多肽信号分子的特点和功能, 并对研究存在的问题、解决方法 and 应用前景进行了简述.

1 植物多肽信号分子的特点和功能

1.1 系统素

系统素 (systemin) 是研究引起系统伤响应的信号物质时鉴定的第一个多肽信号分子^[2]. 受伤植株在伤害部位和未受伤部位大量表达蛋白酶抑制子 (PIs), 而且受伤部位的粗提液能够活化未受伤植株的 PIs 的表达. 这样, Pearce 等^[2]最后确定粗提液的活性组分为一含 18 个氨基酸的系统素. 系统素生理活性浓度为 10^{-15} mol/L, 在韧皮部中移动传递伤信号. 对系统素序列分析表明, 其 N 端 14 个氨基酸负责结合特定受体, 而 C 端的 4 个氨基酸是功能区^[3]. 系统素基因编码 200 个氨基酸的前体, 系统素位于该前体的 C 端, 其加工过程与动物和酵母多肽信号分子加工过程非常相似^[4]. 将原系统素基因的反义 cDNA 转入植株中成为组成型表达, 植株对伤害不能产生系统防御响应, 说明系统素是防御信号分子^[5]. 外施原系统素或系统素均能引起伤响应, 但缺少系统素部分的原系统素

不起作用, 说明系统素序列是信号产生的条件. 除番茄外, 系统素基因已经在土豆、辣椒等植物中得到鉴定. 但烟草中鉴定的 2 个 18 氨基酸的系统素, 与番茄的系统素没有同源性. 进一步分析表明, 两多肽中的一些脯氨酸被修饰成羟脯氨酸, 其中部分羟脯氨酸还与戊糖相连, 两者同源性较低, 但可能与同一受体作用^[5]. 更特别的是, 两多肽由同一原蛋白加工得到, 这在植物中还是首次发现.

系统素高亲和受体位于细胞质膜上, 约 160 ku, 与系统素活性类似物亲和性极高. 类似物标记受体可以被未标记的系统素完全抑制. 加入茉莉酸后系统素类似物与受体的结合数上升 3 倍, 蛋白质抑制剂处理后结合数下降, 表明系统素受体处于合成和降解的动态平衡中^[6]. 最近研究还表明系统素受体是富含 Leu 重复结构的蛋白激酶, 与油菜素内酯受体高度相似^[7].

1.2 早期结瘤蛋白 40

早期结瘤蛋白 40 (ENOD40) 是植物中被鉴定的第二种多肽^[8], 在根瘤菌侵染时对根结瘤原基形成具有非常重要的作用. ENOD40 基因在高度保守的区域 box I 和 II 中含有小的开放读码框 (ORF). 苜蓿 ENOD40 5' 端的 box I 编码 13 个氨基酸的多肽, 中间部分的 box II 也产生约 27 个氨基酸有生物活性的多肽, 可能由蛋白酶加工而来. 大豆中鉴定出两个 ENOD40 含有比较小的 ORF, 24 个氨基酸的 ORF 与 12 氨基酸的 ORF 重叠, 这两种多肽分子均与同一节瘤蛋白强烈结合^[9]. 由

* 通讯联系人.

Tel: 020-85232934, E-mail: ymjiang@scib.ac.cn

收稿日期: 2002-05-21, 接受日期: 2002-06-28

于这些多肽没有信号序列, 可能在胞质中合成. 除大豆和苜蓿外, 在烟草、豌豆、水稻中也找到了 ENOD40 的类似物. 将 ENOD40 在苜蓿中过度表达, 能促进菌根的富集和丛枝吸胞的形成^[10].

ENOD40 的受体已经得到分离, 该受体蛋白为 93 ku 的结瘤素 100, 是蔗糖合成酶亚基^[9]. 这表明植株可能通过调节固氮根瘤对蔗糖的利用来控制共生菌的富集和生长.

1.3 植物磺化激动素

植物磺化激动素 (PSK) 为一类新发现的多肽信号分子, 最初从芦笋悬浮培养细胞的介质中提取得到^[11]. 研究人员发现高密度悬浮培养细胞的介质能够活化低密度细胞的分裂, 以后纯化得到该条件培养因子. 该因子对热稳定, 耐糖苷酶处理, 但易被链霉菌蛋白酶消化, 鉴定为两个小分子多肽 PSK α 、 β , PSK α 为 HTyr (SO₃H) - Ile-Tyr (SO₃H) - Thr-Gln-OH 的 5 肽, PSK β 则为 HTyr (SO₃H) - Ile-Tyr (SO₃H) - Thr-OH 的 4 肽, 两者均在 Tyr 残基上磺酸化. 从水稻、金鱼草、胡萝卜中得到的 PSKs 完全相同, 而且化学合成的 PSK 与天然存在的 PSK 同样有效. 截去 C 端残基的 PSK α 类似物活性微弱, 而 N 端短截和没有磺酸化的类似物没有活性, 说明 N 端磺酸化的三肽是 PSK 活性中心. PSK β 可能是 α 的降解产物. 目前发现 PSK 能促进黄瓜不定根和金鱼草不定芽的形成, 以及鱼尾菊叶肉细胞筛管分化和胡萝卜体细胞胚的发生^[12]. 编码 PSK 的 cDNA 已经从水稻和拟南芥中得到分离, 并初步确定 PSK 从含引导肽的蛋白前体的 C 端加工而来^[12, 13]. 而且, 拟南芥的 PSK 蛋白前体存在枯草杆菌蛋白酶的水解位点^[12].

目前, 利用 PSK 类似物确证质体膜上的 120 ku 和 160 ku 的蛋白为 PSK 的结合位点. 两蛋白均含有 10 ku 的多糖, 与 PSK 的结合常数分别为 5.0 和 5.4 nmol/L^[13]. 最新研究表明, 120 ku 的受体蛋白为含有 LRR 结构的单跨膜受体激酶^[14]. 从烟草和胡萝卜细胞中分离的质体膜也能被类似物标记, 表明 PSK 受体蛋白分布比较广泛.

1.4 CLAVATA3 (CLV3)

从拟南芥中得到的 CLV3 编码 78 个氨基酸的小分子细胞外蛋白, 为 CLV1 受体的配基, 两者在顶端分生组织中负责细胞分裂与分化的平衡^[15, 16]. CLV3 含有能为枯草杆菌蛋白酶加工的双碱基结构, 似乎为 CLV3 发挥作用后迅速降解的位点^[17]. CLV3 蛋白突变引起拟南芥的分生组织扩大, 产生

巨大的花器官. 作为 CLV3 受体的 CLV1 蛋白编码基因最初从拟南芥中分离, 推导的 CLV1 蛋白的胞外区含有 21 个串联的 LRR (富含亮氨酸重复) 序列, 为具有 Ser/Thr 激酶活性的跨膜受体. CLV1 突变导致大量未分化细胞的累积. 遗传学手段确定 CLV3 基因和 CLV1 基因共同表达协调邻近细胞的生长^[16]. 最近, Trotochaud 等^[18] 在大肠杆菌中证实受体激酶 CLV1 直接与 CLV3 编码的多肽结合. 目前, 拟南芥中发现了与 CLV3 同源的基因家族, 推测临近细胞在其他发育进程中的信息交流与 CLV3 和 CLV1 作用相似.

1.5 S 位点富含半胱氨酸蛋白

油菜柱头的表皮细胞能识别自身的花粉并能抑制花粉的生长, 从而产生自交不亲和. 经研究后发现控制油菜自交不亲和 S 位点成分为 47~60 个氨基酸并富含 Cys 的小分子分泌蛋白——S 位点富含半胱氨酸蛋白 (SCR)^[19]. SCR 家族含有高度保守的信号肽序列, 而加工成熟的信号分子只是 Cys 残基绝对保守, 其他残基同源性较弱, 可能是这些多肽有相似的空间构象. SCR 从发育的花粉粒中分泌, 与柱头上的受体作用, 激活信号转导途径, 从而抑制花粉的发育. 除油菜外, 在拟南芥中也发现了 SCR 基因家族, 暗示拟南芥中也具有类似的调控机制^[20].

SCR 的受体为 S-受体激酶 (S-receptor kinase, SRK)^[19]. 克隆的受体基因位于 S 位点上, 编码具有 Ser/Thr 蛋白激酶活性的跨膜受体. SRK 蛋白的胞外区与 S 位点糖蛋白基因的分泌产物 SLG 惊人同源, 可能 SLG 与 SRK 形成具有高亲和性的受体复合物. 目前已经证实 SCR 和 SRK 有极高的亲和性. SRK 指导一些在生殖器官专一表达基因的转录.

1.6 迅速碱化因子

在分离烟草多肽信号分子时得到了含 49 氨基酸、引起悬浮培养细胞介质迅速碱化的多肽, 称为迅速碱化因子 (RALF)^[21]. RALF 能迅速激活细胞的促分裂原活化蛋白 (MAP) 激酶, 但 RALF 不能诱导蛋白抑制子的表达. 编码 RALF 的表达序列标签 (EST) 已经从 9 科 16 种植物中得到, 在拟南芥中有 9 个 RALF 的 EST. 烟草 RALF 的 cDNA 编码 115 个残基的前体蛋白, 其 N 端有约 25 残基的信号肽, 49 个氨基酸的 RALF 在 C 端. 该前体蛋白存在两个双碱基的结构, 该结构在动物和酵母中由专一的 Ser 蛋白酶水解. 一个在 RALF

序列 N 端之前, 可能负责加工前体蛋白形成 RALF; 另一个在 RALF 内部, 似乎是 RALF 发挥作用后被降解的位点. RALF 的生理活性浓度在 2 nmol/L 以内, 与系统素相似. 各物种的序列标签表明, RALF 的蛋白前体 N 端同源性较低, 但在加工位点和 RALF 的序列具有极高的同源性. 目前发现 RALF 还能阻止番茄和拟南芥种子萌发期间根的生长和根毛的形成, 而且功能可逆.

目前, 利用合成的 RALF (有生物学活性) 已鉴定出了 120 ku 和 25 ku 的特异结合蛋白, 但该蛋白质特性有待于进一步研究阐明.

2 研究存在的问题, 解决方法和前景

多肽信号分子的发现改变了人们对植物信号分子调控的传统认识, 开辟了植物科学研究的新领域. 尽管目前一些信号多肽和受体已得到了鉴定, 但这些多肽信号在植物的生长发育等方面的重要性还没有完全了解. 例如, 多肽信号的产生和加工、信号多肽与受体的相互作用以及信号分子调控植物生长、发育和对环境响应的机制等. 突变分析和基因分离技术的发展、完善, 以及借鉴动物多肽信号的研究成果, 将有助于这些问题的解决.

目前, 植物多肽信号转导已经成为植物科学研究的新热点. 信号分子结构与功能的阐明, 将扩展我们对植物信号调控网络的认识, 并且可为调控植物, 特别是经济作物的生长发育和对环境的响应提供更有用的生物技术手段.

参 考 文 献

- Ryan C A, Pearce G. Polypeptide hormones. *Plant Physiol*, 2001, **125** (1): 65~ 68
- Pearce G, Strydom D, Johnson S, *et al.* A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase-inhibitor proteins. *Science*, 1991, **253** (5022): 895~ 898
- Meindl T, Boller T, Felix G. The plant wound hormone systemin binds with the N-terminal part to its receptor but needs the C-terminal part to activate it. *Plant Cell*, 1998, **10** (9): 1561~ 1570
- McGurl B, Pearce G, Orozco-Cardenas M, *et al.* Structure, expression, and antisense inhibition of the systemin precursor gene. *Science*, 1992, **255** (5051): 1570~ 1573
- Pearce G, Moura D S, Stratmann J, *et al.* Production of multiple plant hormones from a single polyprotein precursor. *Nature*, 2001, **411** (6839): 817~ 820
- Scheer J M, Ryan C A. A 160 ku systemin receptor on the surface of *Lycopersicon peruvianum* suspension cultured cells. *Plant Cell*, 1999, **11** (8): 1525~ 1536
- Scheer J M, Ryan C A. From the cover: The systemin receptor SR160 from *Lycopersicon peruvianum* is a member of the LRR receptor kinase family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (14): 9585~ 9590
- van de Sande K, Pawlowski K, Czaja I, *et al.* Modification of phytohormone response by a peptide encoded by ENOD40 of legumes and a nonlegume. *Science*, 1996, **273** (5273): 370~ 373
- Rohrig H, Schmidt J, Miklashevichs E, *et al.* Soybean ENOD40 encodes two peptides that bind to sucrose synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (4): 1915~ 1920
- Staelin C, Charon C, Boller T, *et al.* *Medicago truncatula* plants overexpressing the early nodulin gene enod40 exhibit accelerated mycorrhizal colonization and enhanced formation of arbuscules. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (26): 15366~ 15371
- Matsubayashi Y, Sakagami Y. Phytosulfokine, sulfated peptides that induce the proliferation of single mesophyll cells of *Asparagus officinalis* L. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (15): 7623~ 7627
- Yang H, Matsubayashi Y, Nakamura K, *et al.* Diversity of *Arabidopsis* genes encoding precursors for phytosulfokine, a peptide growth factor. *Plant Physiol*, 2001, **127** (3): 842~ 851
- Matsubayashi Y, Sakagami Y. 120- and 160-kDa receptors for endogenous mitogenic peptide, phytosulfokine- α , in rice plasma membranes. *J Biol Chem*, 2000, **275** (20): 15520~ 15525
- Matsubayashi Y, Ogawa M, Morita A, *et al.* An LRR receptor kinase involved in perception of a peptide plant hormone, phytosulfokine. *Science*, 2002, **296** (5572): 1470~ 1472
- Clark S E, Williams R W, Meyerowitz E M. The *CLAVATA 1* gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis*. *Cell*, 1997, **89** (7): 575~ 585
- Fletcher J C, Brand U, Running M P, *et al.* Signaling of cell fate decisions by *CLAVATA3* in *Arabidopsis* shoot meristems. *Science*, 1999, **283** (5409): 1911~ 1914
- Berger D, Altmann T. A subtilisin-like serine protease involved in the regulation of stomatal density and distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Dev*, 2000, **14** (9): 1119~ 1131
- Trotochaud A E, Jeong S, Clark S E. *CLAVATA3*, a multimeric ligand for the *CLAVATA 1* receptor kinase. *Science*, 2000, **289** (5479): 613~ 617
- Schopfer C R, Nasrallah M E, Nasrallah J B. The male determinant of self-incompatibility in *Brassica*. *Science*, 1999, **286** (5445): 1697~ 1700
- Vanoosthuysse V, Miede C, Dumas C, *et al.* Two large *Arabidopsis thaliana* gene families are homologous to the *Brassica* gene superfamily that encodes pollen coat proteins and the male component of the self-incompatibility response. *Plant Mol Biol*, 2001, **46** (1): 17~ 34
- Pearce G, Moura D S, Stratmann J, *et al.* RALF, a 5-kDa ubiquitous polypeptide in plants, arrests root growth and development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (22): 12843~ 12847

Plant Polypeptide Signals: Properties and Functions

PENG Li-Tao^{1,2)}, JIANG Yue-Ming^{1,2)*}, YANG Shu-Zhen³⁾

¹⁾ South China Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

²⁾ Graduate School of The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China;

³⁾ College of Horticulture, Northwest Sci & Tech University of Agriculture and Forest, Shaanxi 712100, China)

Abstract Recent studies suggest that polypeptide signals, such as systemin, RALF, PSK, ENOD40, SCR, CLV3, regulate plant growth and development process as well as plant responses to the environment. Most of the receptors of the polypeptide signals in plants are identified and the procession, release and signal transduction of the polypeptides show high similarity to those in animals and yeast. The possible roles of polypeptide signals in plants and the future prospects in this area are discussed.

Key words polypeptide hormone, plant, systemin

* Corresponding author. Tel: 86-20-85232934, E-mail: ymjiang@scib.ac.cn

Received: May 21, 2002 Accepted: June 28, 2002