

# 植物类受体激酶 CrRLK1-L 亚家族及其生物学功能\*

韩永峰 杨倩 张胜伟 孙大业 孙颖\*\*

(河北师范大学分子细胞生物学研究所, 河北省分子细胞生物学重点实验室, 石家庄 050016)

**摘要** 植物 CrRLK1-L 亚家族类受体激酶的胞外域具有新颖结构基序, 但功能大都未知。该家族成员广泛存在于被子植物中, 但在动物和微生物中不存在其同源物。CrRLK1-L 家族成员相对较少, 但组织表达非常广泛。它们定位于细胞质膜上, 并且部分成员的定位还具有极性, 这与其参与雌雄配子体的识别和受精作用密切相关。该家族成员普遍具有激酶活性, 该活性对其功能的发挥至关重要。目前仅报道在拟南芥中参与助细胞与花粉的识别和调控营养组织的细胞伸长, 但参与这些生物学过程的作用机制似乎独立于已知的信号通路之外, 可能有自身独特的信号传导机制。所以对这一类具有特有结构基序的类受体激酶基因的功能研究, 将有助于解析植物特有生物学过程的分子作用机制, 特别是在植物有性生殖过程中, 合理利用这些分子开展育种实践对未来农业生产具有潜在的应用价值。

**关键词** 类受体激酶, CrRLK1-L, 信号传导

**学科分类号** Q2, Q7, Q75

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2011.00085

受体激酶因含有胞外域、跨膜域和胞内激酶域而堪称细胞表面介导信号转导的关键分子。与动物中仅有少量受体激酶形成鲜明对比的是, 水稻和拟南芥基因组中含有数量巨大的受体激酶编码基因<sup>[1-2]</sup>, 它们构成超级家族, 这暗示它们是植物中最主要的细胞表面受体类型。除少数成员外, 大多数蛋白质的天然配基尚未找到, 其受体的功能还未确定, 故将它们称为类受体激酶(receptor-like kinase, RLKs)<sup>[3-6]</sup>。

植物类受体激酶具有广泛而重要的生物学功能, 如参与细胞生长与分化、自交不亲和、抗病、抗逆等等<sup>[7-16]</sup>, 这在很大程度上依赖其多种多样的胞外域。在过去的 20 多年中, 对类受体激酶及其配基的研究绝大多数集中在 LRR 亚家族, 这可能与该亚家族成员最多、分布最广有关。然而对其他亚家族的研究, 特别是对含有植物特有基序的 RLKs 亚家族的研究则相对较少。

与动物和微生物相比, 植物在解剖结构和生长发育等方面有其独特性, 在进化过程中保留下来的一些特有的结构基序很可能在植物生长发育调节、抗逆、抗病等过程中有重要作用。例如胞外域含有凝集素基序的雌蕊柱头细胞表达的受体 SRK

(s-locus-receptor kinase), 可以识别花粉释放的 SCR/SP11 多肽配基, 介导植物中特有的现象——自交不亲和反应<sup>[17-18]</sup>。近期还发现一类胞外域具有新颖结构基序的 CrRLK1-L 类受体激酶亚家族, 它们为植物所特有, 在雌雄细胞识别过程中发挥重要作用<sup>[19-21]</sup>。本文根据 CrRLK1-L 类受体激酶亚家族在拟南芥中的研究进展并结合我室在水稻中的研究工作, 对其独特性及重要性进行了评述。

## 1 CrRLK1 的发现

Schulze-Muth 等<sup>[22]</sup>于 1996 年在长春花属植物 (*Catharanthus roseus*) 的悬浮细胞 cDNA 文库中筛选得到一个单拷贝基因, 开放阅读框编码 803 个氨基酸。由于该蛋白质具有典型的类受体激酶所有的结构域, 而胞外域与当时已知的类受体激酶比对没有发现任何相似性, 所以以长春花植物的拉丁文首字母命名为 CrRLK1。研究发现, CrRLK1 具有 Ser/Thr 激酶活性, 该活性主要依赖于  $Mn^{2+}$ 。与其

\* 国家重点基础研究发展计划(973)(2007CB1087021)资助项目。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 0311-86267213, E-mail: yingsun@mail.hebtu.edu.cn

收稿日期: 2011-02-25, 接受日期: 2011-04-08

他类型的植物 RLK 不同的是, CrRLK1 的激酶活化不是通过分子间, 而是通过分子内的自我磷酸化机制实现的. 其激酶域第二个保守区中 499 位的赖氨酸(K499)突变成精氨酸后(K499R), 自磷酸化和底物磷酸化活性几乎完全丧失, 说明 CrRLK1 分子内磷酸化依赖 K499 转移磷酸基团, 这对其激酶活性的发挥至关重要. 进一步研究发现, 激酶域中第 720 位苏氨酸(T720)接收磷酸基团被磷酸化对其激酶活性的发挥也是必需的.

自 CrRLK1 被报道后, 利用生物信息学预测, 发现在其他植物中也存在类似的 RLKs, 统称为 CrRLK1-Like(CrRLK1-L)亚家族类受体激酶. 该亚家族成员广泛存在于被子植物中, 从苔藓、蕨类等低等无花植物, 到甘蓝、辣椒、葡萄、杨树,

以及模式植物拟南芥和水稻等高等显花植物都有分布<sup>[19, 23-24]</sup>. 目前在 NCBI 数据库注册的 CrRLK1-L, 有拟南芥 17 个, 水稻 20 个, 葡萄 20 个, 碎米蕨 4 个, 小立碗蕨 3 个, 金鱼草、甘蓝和辣椒各 1 个等等<sup>[19, 23-26]</sup>. 其中水稻有 16 个成员具有完整的 3 个结构域(胞外域、跨膜域和胞内激酶域), 有 3 个基因的激酶域完全或大部分缺失(Os03g03290, Os05925430, Os04g49690), 1 个基因的胞外域大部分缺失(Os01g14926), 而拟南芥的 17 个和碎米蕨的 4 个成员都是完整的. 目前尚未在动物和微生物中发现 CrRLK1-L 的同源基因, 表明该亚家族类受体激酶是植物中特有的, 对其进化树分析见图 1.

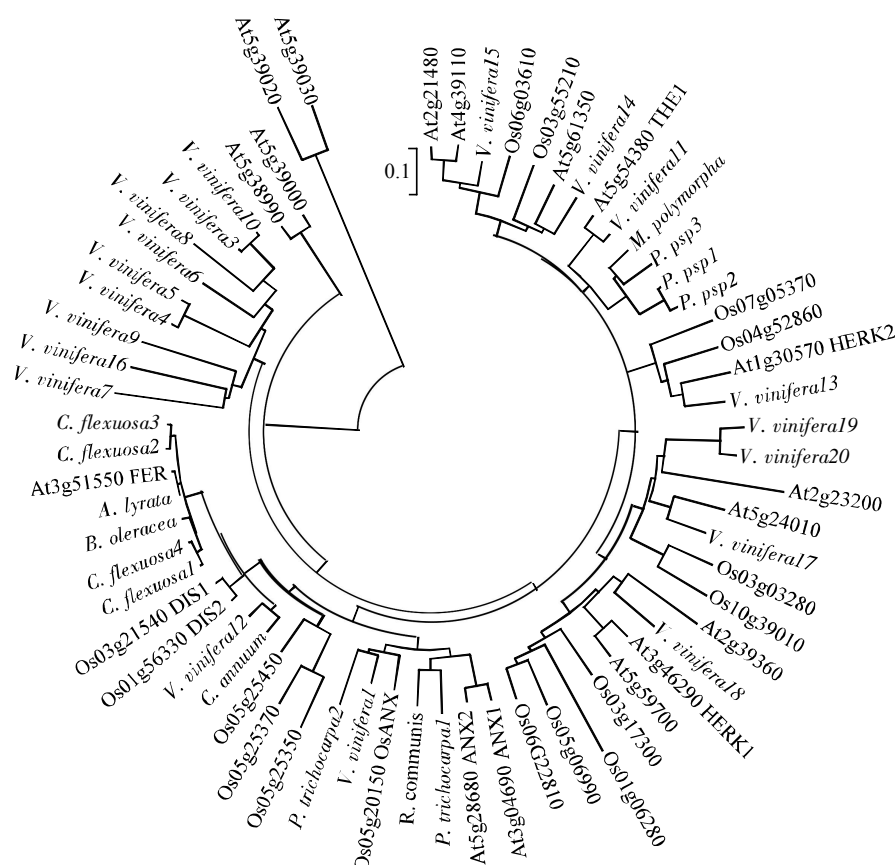


Fig. 1 Phylogenetic tree of the 68 members of CrRLK1-L subfamily in plants

图 1 植物 CrRLK1-L 亚家族成员的进化树分析

分别利用 ClusterX 2.0 软件和 MEGA 4.1 软件对 CrRLK1-L 家族成员的蛋白质全长序列做多重序列比对和进化树分析(参数均为默认值). 包括水稻(*Oryza sativa*, Os) 16 个, 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*, At) 17 个, 葡萄(*V. vinifera*) 20 个, 碎米蕨(*C. flexuosa*) 4 个, 小立碗蕨(*Physcomitrella patens subsp. patens*, *P. psp*) 3 个, 杨树(*P. trichocarpa*) 2 个, 蓖麻(*R. communis*) 1 个, 辣椒(*C. annuum*) 1 个, 甘蓝(*B. oleracea*) 1 个, 地钱(*M. polymorpha*) 1 个, 玉山槲子芥(*A. lyrata*) 1 个, 长春花(*Catharanthus roseus*, Cr) 1 个. 除拟南芥和水稻外, 其他植物相应蛋白的 NCBI 登录号分别为: *V. vinifera*1(CAO40132), *V. vinifera*2(CAO44912), *V. vinifera*3(CAO49182), *V. vinifera*4(CAO49193), *V. vinifera*5(CAO49186), *V. vinifera*6(CAO49191), *V. vinifera*7(CAO49189), *V. vinifera*8(CAO49183), *V. vinifera*9(CAO49185), *V. vinifera*10(CAO49181), *V. vinifera*11(CAO39220), *V. vinifera*12(CAO18320), *V. vinifera*13(CAO42539), *V. vinifera*14(CAO64509), *V. vinifera*15(CAO47576), *V. vinifera*16(CAO68675), *V. vinifera*17(CAO49473), *V. vinifera*18(CAO41561), *V. vinifera*19(CAO71933), *V. vinifera*20(CAO71930), *C. flexuosa*1(ABT18097), *C. flexuosa*2(ABT18098), *C. flexuosa*3(ABT18099), *C. flexuosa*4(ABT18095), *P. psp*1(XP\_001757873), *P. psp*2(XP\_001757874), *P. psp*3(XP\_001760700), *P. trichocarpa*1(XP\_002319081), *P. trichocarpa*2(XP\_002316044), *R. communis*(EEF31088), *C. annuum*(AAL40864), *B. oleracea*(ABT 18094), *M. polymorpha*(BAF79940), *A. lyrata*(ABT18096), CrRLK1(Z73295).

2 CrRLK1-L 的结构特点

从核酸序列来看, 根据生物信息学预测, 至少在水稻和拟南芥中, 绝大多数 CrRLK1-L 成员的编码区没有内含子, 个别成员在 5' 非翻译区 (5' untranslated region, 5' UTR) 或 3' UTR 有一

个短的内含子, 但没有在 5' UTR 和 3' UTR 同时存在内含子的情况出现, 说明这类基因很少存在选择性剪接形式, 核酸序列的这些特点也使其有别于植物其他的 RLKs. 已有文献报道的 6 个拟南芥 CrRLK1-L 成员和我们克隆的几个水稻 CrRLK1-L 基因都证实了这一点(表 1).

Table 1 Summary of the research on CrRLK1-L receptor-like kinases  
表 1 已报道的 CrRLK1-L 亚家族受体样激酶的相关信息

| 基因名称          | NCBI 登陆号  | 内含子          | 亚细胞定位     | 激酶活性 | 激素诱导        | 主要生物功能                             | 参考文献        |
|---------------|-----------|--------------|-----------|------|-------------|------------------------------------|-------------|
| <i>ANX1</i>   | At3g04690 | 无            | 花粉管质膜(极性) | —    | —           | 监控花粉管伸长与适时破裂                       | [20-21]     |
| <i>ANX2</i>   | At5g28680 | 无            | 花粉管质膜(极性) | —    | —           | 监控花粉管伸长与适时破裂                       | [20-21]     |
| <i>FER</i>    | At3g51550 | 5' UTR       | 助细胞质膜(极性) | 有    | BR, GA      | 花粉管与助细胞识别, 抑制花粉管过度伸长               | [19, 27-28] |
| <i>THE1</i>   | At5g53480 | 5' UTR; 基因内部 | 质膜        | 有    | BR, GA      | 促进营养组织细胞伸长、介导纤维素合成缺陷的细胞伸长、细胞壁完整性监控 | [26, 29]    |
| <i>HERK1</i>  | At3g46290 | 无            | 质膜        | 有    | BR, GA, IAA | 促进营养组织细胞伸长                         | [25, 30]    |
| <i>HERK2</i>  | At1g30570 | 无            | —         | —    | BR          | 促进营养组织细胞伸长                         | [30]        |
| —             | At2g23200 | 无            | —         | 有    | —           | 可能参与抗病反应                           | [31]        |
| <i>AmRLK</i>  | —         | —            | 质膜(极性)    | —    | —           | 抑制花瓣圆锥表皮细胞过度生长                     | [26]        |
| <i>CrRLK1</i> | Z73295    | —            | —         | 有    | —           | —                                  | [22]        |

—表示尚无相关文献报道

长期以来对 CrRLK1-Ls 的胞外域功能结构域知之甚少, 最近的生物信息学分析发现, 大多数 CrRLK1-Ls 的胞外域序列中含有 2 个区域与新鉴定的非洲爪蟾蛋白 Malectin 的碳水化合物结合域相似, Malectin 优先结合 2- 葡萄糖 -N- 多糖 (GLC2-N-glycan) [32]. 我们将不同物种来源的

CrRLK1-L 胞外域去掉信号肽进行多重序列比对, 发现 CrRLK1-L 家族成员的胞外域有 6 个保守的新颖基序(图 2, 表 2), 其中 motif5 中含有类似于 Malectin 中的糖结合序列, 如 LHFCE、IYLN 等(图 2, 方框). 胞内域除激酶域以外, C 端也有一个相对保守的基序 FSQGR(图 2, 表 2). 已有文献

Table 2 The conserved motifs in the extracellular domain and the C-terminal domain of the CrRLK1-L subfamily  
表 2 CrRLK1-L 亚家族胞外域及 C 端的保守结构基序

| 胞外域    | 保守基序名字    | 保守基序一致序列                                                                                                                                                                                                                |
|--------|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Motif1 | CGRD      | C/S <b>G</b> X <sub>n</sub> R/Q X W/F X X D/E                                                                                                                                                                           |
| Motif2 | YRFV      | Y/F X T/K/S A/V/S R/K V/I F/S X <sub>n</sub> <b>Y</b> S/T/R/K/E/N F/I X <sub>n</sub> <b>G</b> X <sub>4</sub> <b>R</b> L/I H/Y <b>F</b> X P/A X <sub>n</sub> F/V/I S/T/A/R <b>V</b> X <sub>n</sub> L/V/H L/M/I X X F/I/Y |
| Motif3 | EFPNE     | K/R/E <b>E</b> F/Y X <sub>n</sub> <b>F</b> X <b>P</b> X <sub>n</sub> A/G/S/V F/Y/L I/V/M/L <b>N</b> G/A I/V <b>E</b> I/V X S/R/Q/P X P/D D/E/K/N                                                                        |
| Motif4 | RNGDRWD   | A/G/N/V/S L/Y/F/S/M E/Q/H T/S/N/I V/M/I/L Y/H/S/F/V <b>R</b> L/I/V <b>N</b> V/M/I <b>G</b> G/N X <sub>4-6</sub> <b>D</b> X <sub>3-4</sub> <b>R</b> X <b>W</b> X X <b>D</b>                                              |
| Motif5 | APYRHFFDD | A/G <b>P</b> X X <b>Y</b> X T/S A/C/S X <sub>n</sub> <b>R</b> L/F <b>H</b> F C/S/F X <sub>n</sub> <b>F</b> <b>D</b> X <sub>n</sub> <b>D</b>                                                                             |
| Motif6 | LNGEK     | I/L/F/S/Q L/V/M N/S <b>G</b> V/I/F/M <b>E</b> I/V/M F/L/M/S K/E X <sub>5-7</sub> L/A                                                                                                                                    |
| C 端    |           |                                                                                                                                                                                                                         |
| Motif7 | FSQGR     | V/M F/G S/T/A Q/E/A X <sub>5</sub> G/A/T R                                                                                                                                                                              |

X 表示任意氨基酸; X<sub>n</sub> 表示连续的任意氨基酸, 数目不定.

Motif1~Motif6 为胞外域基序, Motif7 为胞内 C 端基序



报道, 胞外域第一个保守基序 CGRD 中的 G 突变为 D 后, 或第三个保守基序 EFPNE 中的第一个 E 突变为 K 后, 都造成基因功能完全丧失, 意味着这些位点的氨基酸对于蛋白质的三级结构非常重要<sup>[28]</sup>. 二级结构预测发现, 该家族成员的胞外域基本上由多个  $\beta$  折叠和短的  $\alpha$  螺旋环交叉连接组成, 这种结构特点在植物 RLKs 家族中也是独特的.

### 3 CrRLK1-L 的亚细胞定位

通常植物受体激酶都是定位于质膜上发挥功能的, CrRLK1-L 的亚细胞定位也是如此. 应用农杆菌转化烟草表皮细胞、基因枪法转化洋葱表皮细胞、质粒转染原生质体等体外实验均证实拟南芥的 *FER* (FERONIA)、*THE1* (THESEUS1)、*ANX1* (ANXUR1)、*ANX2* (ANXUR2)、*HERK1* (HERCULES Receptor Kinase 1) 定位于质膜上; 除 *THE1* 外, 其他 4 个基因的拟南芥遗传转化的体内实验也都证实了质膜定位这一点<sup>[19-21, 25, 28]</sup>. 我们将水稻中的 2 个 OsCrRLK1-L 基因 *DIS1* 和 *DIS2* 融合 GFP 标签瞬时转化烟草表皮细胞后, 也发现其定位于质膜上<sup>[33]</sup>.

比较特别的是, 拟南芥中的 *FER*、*ANX1*、*ANX2* 都有极性定位的特点(表 1). *FER* 定位于胚囊丝状器的助细胞质膜上, 在靠近珠孔端的一侧分布较多, 在靠近卵细胞的一侧分布较少<sup>[19]</sup>; *ANX1* 和 *ANX2* 则定位于萌发花粉管的质膜上, 在花粉管顶端分布较多, 远离花粉管顶端分布较少<sup>[21]</sup>. 更有意思的是, 金鱼草 AmRLK-GFP 融合蛋白异源转化烟草后也有在质膜上极性分布的特点, 它们主要定位在花瓣圆锥表皮细胞和根毛细胞的尖端部位<sup>[26]</sup>, 暗示一些 CrRLK1-L 亚家族蛋白被选送到细胞膜的特定区域发挥功能.

### 4 CrRLK1-L 的生物学功能

自 1996 年在长春花属植物中克隆了第一个 CrRLK1 后, 有关这个亚家族成员的功能研究一直鲜有报道. 然而, 近几年来相继报道了拟南芥中几个 CrRLK1-L 基因的功能, 表明它们参与了植物特有的一些生物学过程, 包括植物有性生殖过程中雌雄配子体的信息交流、营养生长期细胞壁完整性的感知和细胞伸长调控等, 这显然与该亚家族胞外域特殊的保守基序有关, 一些研究结果正在揭示该亚家族成员重要的生物学功能.

#### 4.1 CrRLK1-L 在植物有性生殖中的作用

*FER* 是拟南芥中第一个通过突变体筛选而确定功能的 CrRLK1-L 基因, 在有性生殖过程中扮演重要角色, 该基因缺失后, 几乎得不到纯合突变体<sup>[19, 27-28]</sup>. 杂交实验发现, *fer/FER* 杂合体的花粉能够给野生型的胚珠受精, 传递效率为 78.5%, 且结实率正常, 但野生型花粉给 *fer/FER* 雌蕊授粉后传递效率仅为 14.5%, 暗示 *fer/FER* 的花粉发育及活性基本不受影响, 而雌蕊有明显缺陷<sup>[19, 28]</sup>. 细胞学研究发现: *FER* 在成熟花粉中并不表达<sup>[19, 28]</sup>, 而是在助细胞的丝状器上表达, 缺失 *FER* 后并不影响助细胞的正常发生, 但却极大地削弱了对花粉管的识别能力, 使花粉管进入胚囊后持续生长, 不破裂释放精子, 造成受精失败<sup>[19, 28]</sup>.

*FER* 的胞外域所含有的结构信息对于花粉管的接收可能非常关键, 它有可能识别花粉管上所携带的配基. 在花粉管尖端质膜上表达的 *ANX1* 和 *ANX2* 是 *FER* 的两个最相近的同源基因. *anx1* 和 *anx2* 的单突变体没有任何表型, *anx1 anx2* 双突变体的花粉能够正常萌发, 但是萌发后不久花粉管就会破裂释放内容物, 造成精细胞过早流失而不能输送到株孔, 可见 *ANX1* 和 *ANX2* 有可能携带雌蕊所识别的信息, 且功能冗余<sup>[20-21]</sup>. 基于 *FER* 能够抑制进入胚囊的花粉管持续生长, 促使其释放精细胞完成受精作用, 而 *ANX1* 和 *ANX2* 能够促进花粉管的极性伸长并抑制其过早破裂, 我们推测, 它们所控制的生物学功能一致, 它们之间有可能进行信息交流.

支持 *FER* 胞外域能够与花粉管的 *ANX1* 和 *ANX2* 胞外域相互识别的证据来自种间杂交所具有的生殖隔离障碍. 不同物种之间助细胞和花粉管质膜上 CrRLK1-L 类受体激酶胞外域的氨基酸序列变异越大, 与拟南芥杂交后的败育率就越高, 表明 CrRLK1-L 蛋白胞外域变异程度的大小决定着种间生殖隔离的强弱<sup>[19]</sup>.

我们研究发现, 水稻中 *FER* 的两个直系同源基因 *DIS1* 和 *DIS2* 同时被 RNA 干涉后, 花粉数量和质量受到严重影响, 所有的转基因株系几乎收不到种子, 为雄性败育<sup>[33]</sup>. 这说明水稻中 *FER* 的同源基因参与的生物学过程与拟南芥有差异之处, 有可能在进化过程中, CrRLK1-L 基因在单子叶和双子叶植物中的组织表达发生了变化, 导致功能趋异.

## 4.2 CrRLK1-L 在植物营养生长期参与细胞伸长调控

除雌配子体外, *FER* 还在许多营养组织中表达. 利用人工小 RNA 干扰技术(amiRNA)下调其表达后, 会造成植株矮小、叶片变小、叶柄严重短小等表型<sup>[29]</sup>. 拟南芥中该亚家族另外 3 个成员 *THE1*、*HERK1* 和 *HERK2* 的单突变体都没有明显表型, *the1 herk1* 双突变体的叶柄细胞明显变短, *the1 herk1 herk2* 三突变体加剧了 *the1 herk1* 的表型<sup>[25, 30]</sup>. 这些实验结果表明, *FER*、*THE1*、*HERK1*、*HERK2* 四个基因对细胞伸长都起正调节作用<sup>[25, 30]</sup>.

现在公认的促进细胞伸长的植物激素有油菜素甾醇(BR)、生长素(IAA), 赤霉素(GA)等, *FER*、*THE1*、*HERK1*、*HERK2* 四个基因不同程度地受这些植物激素中的一个或几个诱导(表 1), 并且这些基因发挥功能时与某些激素促进细胞伸长的作用还有一定的协同性, 然而它们介导细胞伸长的作用机制与这些已知的激素信号途径却是各自独立的<sup>[25, 30]</sup>, 所以很可能存在 CrRLK1-L 独特的信号传导通路.

我们用 RNAi 的方法降低了水稻中 2 个 CrRLK1-L 亚家族基因 *DIS1* 和 *DIS2* 的表达后, 发现植株严重矮化, 所有营养器官都变小; 启动子融合 GUS 报告基因染色发现 *DIS1* 和 *DIS2* 在水稻中的表达非常广泛, 除在有性生殖器官外, 还在茎节、根、叶片、叶鞘等部位表达; *DIS1* 和 *DIS2* 都受到 IAA 和 GA 诱导, *DIS1* 还受到细胞分裂素 6-BA 的诱导; 所以 *DIS1* 和 *DIS2* 很可能在水稻中也是细胞伸长的正调节子, 是否有其自身独特的信号通路还有待研究<sup>[33]</sup>.

拟南芥 *THE1* 促进细胞伸长的作用与细胞壁的完整性密切相关. 在一些纤维素合成酶缺陷的突变体中, *THE1* 的 T-DNA 插入突变体减弱了对拟南芥小苗、特别是下胚轴伸长的抑制作用, 也降低了因纤维素缺失导致的细胞壁异常木质化的水平, 过表达 *THE1* 则表型相反. 进一步用基因芯片结果显示, 在一些纤维素合成酶缺陷的突变体背景下, 部分参与细胞壁交联、抵抗病原菌和活性氧侵害等基因的下调依赖 *THE1* 的存在<sup>[29]</sup>. 这些结果暗示, *THE1* 可能作为一个细胞壁完整性的监控器发挥作用, 当感受到细胞壁纤维素缺陷时, 能够传递信号, 下调细胞壁交联基因的表达, 抑制细胞伸长<sup>[29]</sup>. 由于胞外保守基序的点突变体 G37D 和 E150K(图 2)与 *THE1* 缺失突变体的表型一样, 失去了对细胞伸

长的抑制作用, 故胞外域第一个基序 CGRD 和第三个基序 EFPNE 应该是负责感知细胞壁纤维素缺陷的关键基序. 然而如前所述, 在细胞壁完整时, *THE1* 是正调节细胞伸长的, 那么在 *THE1* 胞外域是否还存在感知细胞壁纤维素完整性的关键基序呢? 这需要进一步的实验去证实.

有趣的是, 金鱼草 CrRLK1-L 亚家族成员 AmRLK 过表达后极性定位于花瓣圆锥表皮细胞尖端质膜, 并抑制细胞伸长和极性生长<sup>[26]</sup>. 通常极性生长着的细胞尖端也和花粉管尖端一样, 是缺乏细胞壁的, 那么很有可能 AmRLK 与拟南芥的 *THE1* 一样, 它们感知细胞壁的纤维素缺乏后对细胞伸长产生抑制作用. 这也许就是转录因子 MIXTA 在彻底抑制了 AmRLK 的转录后, 能够促进细胞极性生长的原因. 由此看来, CrRLK1-L 家族成员在不同物种中都担负着感受细胞壁纤维素变化的功能, 并调节着细胞的生长状态, 这一作用可能是植物细胞特有的.

此外, 一些研究者还发现, CrRLK1-L 亚家族可能参与植物抵抗病原微生物的天然免疫反应, 如受病原菌效应子诱导后部分成员的基因表达上调, 或发生了磷酸化反应, 或与效应子发生相互作用等<sup>[28, 31, 34]</sup>, 但它们在这一生物学过程中扮演何种角色还有待于遗传学实验来确定.

## 4.3 CrRLK1-L 在水稻中的功能

目前, CrRLK1-L 在水稻中的功能尚未见文献报道. 我们实验室根据前期水稻基因芯片的结果, 挑选了几十个在水稻杨花前后表达较高的 RLKs, 运用 RNAi 技术进行批量筛选, 得到了有限的几个有功能的 RLKs, 其中包括 *DIS1* 和 *DIS2* 这两个 CrRLK1-L 家族成员.

通过综合运用分子遗传学、细胞生物学、生物化学、植物生理学等技术手段, 研究发现, *DIS1* 和 *DIS2* 功能广泛, 不仅控制营养生长, 而且控制生殖生长, 二者在功能发挥上有较大程度的重叠和交叉, 这与二者表达模式的高度一致紧密相关<sup>[33]</sup>. 根据现在已有的研究结果, *DIS1* 和 *DIS2* 的功能与拟南芥 *FER* 相比, 主要的相同点和不同点归纳如下.

相同点: a. 在营养生长期都控制细胞伸长, 是细胞伸长的正调节子. *fer* 表现为叶柄和下胚轴变短, 水稻 RNAi 植株表现为叶片窄小、茎节变短、植株半矮或严重矮化. b. 在生殖生长期都控制雌雄识别与互作, 影响结实. *fer* 表现为花粉

管与助细胞识别紊乱, 双受精失败, 水稻 RNAi 植株表现为花粉活力剧减, 雌雄发育不良, 直接影响授粉. c. 控制雌雄识别的机制保守性强. 水稻 DIS1 异源转化 *fer/FER* 杂合体, 可以互补其半败育的表型, 而点突变(K569E)的 DIS1 因自磷酸化活性降低使其互补功能减弱.

不同点: a. 水稻 DIS1 和 DIS2 控制水稻分蘖, 是水稻分蘖的正调节子. DIS1 和 DIS2 各自单突变体的水稻分蘖稍有减少, RNAi 同时下调二者表达后分蘖减少; 而单独过表达 DIS1 和 DIS2 都会使水稻分蘖增加, 尤其是 DIS2 的功能更加显著, 而拟南芥 FER 无此功能报道. b. 水稻 DIS1 和 DIS2 协同调控叶片分化的极性. c. 水稻 DIS1 和 DIS2 协同调控花序、花药以及花粉的分化与发育, 而拟南芥中的 FER 对花粉的发育无影响.

## 5 展 望

综上所述, CrRLK1-L 虽然是植物中一个较小的类受体激酶亚家族, 却担负着非常重要的功能. 它们可以作为一个细胞表面感受器, 通过级联磷酸化途径介导胞外信号的跨膜传递. 能够感知的信号至少应该包括介导雌雄配子体相互识别的信号分子和监控细胞壁纤维素完整性的信号分子, 感知这些信号的分子基础应该就在其独特的胞外域. 比较复杂的是, 有的成员既参与生长发育又对病原菌做出响应, 有些成员在不同的环境下有时促进细胞伸长, 有时又抑制细胞伸长<sup>[19, 25, 29, 31, 34]</sup>, 因此我们推测, 很可能同一基因在不同组织器官或不同发育阶段利用不同的基序与不同配基或信号分子互作, 或者与同一基因互作的配基或信号分子的数量或活性不同, 最终启动不同的信号传导机制, 导致产生不同的生物学效应, 因此进一步研究胞外域 6 个保守基序的生物学功能有助于解析其发挥作用的分子机制.

CrRLK1-L 类受体激酶的胞内域也有其特殊之处. 首先, 激酶域具有分子内自磷酸化特性<sup>[22]</sup>, 那么在起始信号转导时, 它很可能不需要形成二聚体就可以被活化. 其次, 它们胞内域的 C 端具有一个保守的 FSQGR 基序(图 2, 表 2). 这些特征暗示 CrRLK1-L 所介导的信号通路与其他植物类受体激酶的信号通路不同, 很可能是独特的, 至少参与营养组织细胞伸长的功能独立于已知的激素信号途径之外<sup>[25, 29-30]</sup>. 但目前这只是推测, 有待证实, 因此对于其下游互作蛋白的研究将有助于阐明其独特的

下游信号途径.

未来运用功能蛋白质组学、磷酸化蛋白质组学, 串联亲和纯化、酵母双杂交、突变体库筛选等方法结合生物信息学分析来寻找胞内外互作蛋白, 结构域缺失及功能互补来研究胞内外保守基序的作用, 很可能会发现新的生物学功能和新的作用机制. 目前, 此类基因仅在拟南芥中有过较深的功能研究, 在水稻、小麦等农作物中至今没有相关报道, 所以阐明这类基因在农作物中特别是在有性生殖过程中的作用机制, 极有可能对农业生产实践带来一定的帮助.

## 参 考 文 献

- [1] Shiu S H, Bleecker A B. Receptor-like kinases from *Arabidopsis* form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(19): 10763-10768
- [2] Shiu S H, Karlowski W M, Pan R, *et al.* Comparative analysis of the receptor-like kinase family in *Arabidopsis* and rice. *Plant Cell*, 2004, **16**(5): 1220-1234
- [3] Ullrich A, Schlessinger J. Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell*, 1990, **61**(2): 203-212
- [4] Walker J C, Zhang R. Relationship of a putative receptor protein kinase from maize to the S-locus glycoproteins of *Brassica*. *Nature*, 1990, **345**(6277): 743-746
- [5] van der Geer P, Hunter T, Lindberg R A. Receptor protein-tyrosine kinases and their signal transduction pathways. *Annu Rev Cell Biol*, 1994, **10**: 251-337
- [6] Shiu S H, Bleecker A B. Plant receptor-like kinase gene family: Diversity, function, and signaling. *Sci STKE*, 2001, **2001** (113): re22
- [7] Torii K U. Receptor kinase activation and signal transduction in plants: An emerging picture. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, **3**(5): 361-367
- [8] Cock J M, Vanoosthuysen V, Gaudet T. Receptor kinase signalling in plants and animals: distinct molecular systems with mechanistic similarities. *Curr Opin Cell Biol*, 2002, **14**(2): 230-236
- [9] Dievart A, Clark S E. LRR-containing receptors regulating plant development and defense. *Development*, 2004, **131**(2): 251-261
- [10] Haffani Y Z, Silva N F, Goring D R. Receptor kinase signalling in plants. *Can J Bot*, 2004, **82**(1): 1-15
- [11] Torii K U. Leucine-rich repeat receptor kinases in plants: structure, function, and signal transduction pathways. *Int Rev Cytol*, 2004, **234**: 1-46
- [12] Oka-Kira E, Kawaguchi M. Long-distance signaling to control root nodule number. *Curr Opin Plant Biol*, 2006, **9**(5): 496-502
- [13] Goff K E, Ramonell K M. The role and regulation of receptor-like kinases in plant defense. *Gene Regul Syst Bio*, 2007, **1**: 167-175
- [14] Afzal A J, Wood A J, Lightfoot D A. Plant receptor-like serine threonine kinases: Roles in signaling and plant defense. *Mol Plant Microbe Interact*, 2008, **21**(5): 507-517

- [15] Parniske M. Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol*, 2008, **6**(10): 763–775
- [16] De Smet I, Voss U, Jurgens G, *et al.* Receptor-like kinases shape the plant. *Nat Cell Biol*, 2009, **11**(10): 1166–1173
- [17] Kachroo A, Schopfer C R, Nasrallah M E, *et al.* Allele-specific receptor-ligand interactions in *Brassica* self-incompatibility. *Science*, 2001, **293**(5536): 1824–1826
- [18] Takayama S, Shimamoto H, Shiba H, *et al.* Direct ligand-receptor complex interaction controls *Brassica* self-incompatibility. *Nature*, 2001, **413**(6855): 534–538
- [19] Escobar-Restrepo J M, Huck N, Kessler S, *et al.* The FERONIA receptor-like kinase mediates male-female interactions during pollen tube reception. *Science*, 2007, **317**(5838): 656–660
- [20] Miyazaki S, Murata T, Sakurai-Ozato N, *et al.* ANXUR1 and 2, sister genes to FERONIA/SIRENE, are male factors for coordinated fertilization. *Curr Biol*, 2009, **19**(15): 1327–1331
- [21] Boisson-Dernier A, Roy S, Kritsas K, *et al.* Disruption of the pollen-expressed FERONIA homologs ANXUR1 and ANXUR2 triggers pollen tube discharge. *Development*, 2009, **136**(19): 3279–3288
- [22] Schulze-Muth P, Irmeler S, Schroder G, *et al.* Novel type of receptor-like protein kinase from a higher plant (*Catharanthus roseus*). cDNA, gene, intramolecular autophosphorylation, and identification of a threonine important for auto- and substrate phosphorylation. *J Biol Chem*, 1996, **271**(43): 26684–26689
- [23] Rensing S A, Lang D, Zimmer A D, *et al.* The Physcomitrella genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants. *Science*, 2008, **319**(5859): 64–69
- [24] Jaillon O, Aury J M, Noel B, *et al.* The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*, 2007, **449**(7161): 463–467
- [25] Guo H, Li L, Ye H, *et al.* Three related receptor-like kinases are required for optimal cell elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(18): 7648–7653
- [26] Hematy K, Hofte H. Novel receptor kinases involved in growth regulation. *Curr Opin Plant Biol*, 2008, **11**(3): 321–328
- [27] Rotman N, Rozier F, Boavida L, *et al.* Female control of male gamete delivery during fertilization in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol*, 2003, **13**(5): 432–436
- [28] Huck N, Moore J M, Federer M, *et al.* The *Arabidopsis* mutant *feronia* disrupts the female gametophytic control of pollen tube reception. *Development*, 2003, **130**(10): 2149–2159
- [29] Hematy K, Sado P E, Van Tuinen A, *et al.* A receptor-like kinase mediates the response of *Arabidopsis* cells to the inhibition of cellulose synthesis. *Curr Biol*, 2007, **17**(11): 922–931
- [30] Guo H, Ye H, Li L, *et al.* A family of receptor-like kinases are regulated by BES1 and involved in plant growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav*, 2009, **4**(8): 784–786
- [31] Xiang T, Zong N, Zou Y, *et al.* *Pseudomonas syringae* effector AvrPto blocks innate immunity by targeting receptor kinases. *Curr Biol*, 2008, **18**(1): 74–80
- [32] Boisson-Dernier A, Kessler S A, Grossniklaus U. The walls have ears: The role of plant CrRLKs in sensing and transducing extracellular signals. *J Exp Bot*, 2011, **62**(5): 1581–1591
- [33] 韩永峰. 水稻类受体蛋白激酶 DIS1 和 DIS2 的功能研究. 石家庄: 河北师范大学, 2010
- Han Y F. Functional Analysis of Receptor-Like Kinases DIS1 and DIS2 in Rice. Shijiazhuang: Hebei Normal University, 2010
- [34] Benschop J J, Mohammed S, O'Flaherty M, *et al.* Quantitative phosphoproteomics of early receptor signaling in *Arabidopsis*. *Mol Cell Proteom*, 2007, **6**(7): 1198–1214



## Receptor-like Kinase CrRLK1-L Subfamily: Novel Motifs in Extracellular Domain and Biological Functions in Plants\*

HAN Yong-Feng, YANG Qian, ZHANG Sheng-Wei, SUN Da-Ye, SUN Ying\*\*

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

**Abstract** CrRLK1-L receptor-like kinases (RLKs) possess novel motifs with unknown functions in the extracellular domain and the typical Ser/Thr kinase domain in the intracellular region. CrRLK1-L subfamily spread broadly in angiosperm, however, no homologs of CrRLK1-L proteins exist in animals and microorganisms. CrRLK1-L RLKs express extensively in most of tissues, and mainly involve in signal exchanging between male and female gametophytes, the sensing of cell-wall-integrity and cell elongation control of the vegetative organs, and also in the response of cell to diverse biotic stress, etc. CrRLK1-L RLKs commonly localize on plasm-membrane, and their kinase activity is essential for their biological functions. Therefore, CrRLK1-L RLKs can function as cell surface sensor for extracellular signal and initiate a signal transduction that largely independent of the known phytohormone signaling pathways. Detailed study of CrRLK1-L RLKs gene functions will be helpful for our understanding the molecular mechanisms in the special biological processes in plant, especially in sexual reproduction in that optimal utilization will benefit the agriculture production in future.

**Key words** receptor-like kinase, CrRLK1-L, signal transduction

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2011.00085

---

\* This work was supported by a grant from National Basic Research Program of China (2007CB1087021).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-311-86267213, E-mail: yingsun@mail.hebtu.edu.cn

Received: February 25, 2011 Accepted: April 8, 2011