

阿拉伯半乳糖蛋白在被子植物中的功能

林苏娥^{1,2} 黄 鹂^{1,2*} 曹家树^{1,2}

¹ 浙江大学蔬菜研究所细胞与分子生物学实验室, 杭州 310029;

² 农业部园艺植物生长发育与品质调控重点开放实验室, 杭州 310029)

摘要 阿拉伯半乳糖蛋白(arabinogalactan proteins, AGPs)是一类富含羟脯氨酸/脯氨酸的高度糖基化的蛋白分子,在高等植物的细胞壁、质膜和胞外基质中广泛存在。AGPs是一类重要的糖蛋白,它在被子植物营养生长和生殖发育的各个环节都可能发挥作用,涉及体细胞胚胎发生、细胞增殖、细胞膨大、细胞程序性死亡、损伤防御、根形态建成、花粉管生长以及植物激素信号传导等。植物结构基因组学及功能基因组学的快速发展,使得人们对AGPs的表达模式和功能特点有了更深入的认识。本文首先就AGPs的分子结构和分类,然后重点就利用基因组序列信息分析以及正、反向遗传学等手段进行的AGPs在植物营养生长、生殖发育、细胞程序性死亡,以及分子互作和信号传导等方面的作用的研究进行了综述。

关键词 被子植物;阿拉伯半乳糖蛋白;功能

阿拉伯半乳糖蛋白(arabinogalactan-proteins, AGPs)是一类广泛存在于高等植物各种组织和细胞中的糖蛋白,主要分布在细胞壁、质膜和胞外基质中^[1]。由于其可能参与植物生长发育的多个环节,因此一直受到研究者的重视。十年前,数篇文章曾综述了其在植物细胞分化和被子植物有性生殖中的研究概况^[2-4],表明AGPs在植物的雄性器官(花粉、花粉管、精细胞)、雌性器官(柱头、花柱、子房)和胚胎(合子胚和体细胞胚)等组织和细胞中大量表达,猜测其可能参与体细胞胚发育的调控、细胞增殖和细胞膨胀、伸长,还可能参与花粉粘附、营养和信号传导,以及可能与授粉过程中配子识别和受精后胚胎的发育与分化等过程有关。早期对AGPs功能的研究主要依靠免疫定位法和AGPs的时空表达变化间接地进行推测。利用其半乳糖侧链能与人工合成的苯基偶氮染色剂 β -葡萄糖-Yariv(β -D-glucosyl-Yariv reagent, 1, 3, 5-三[4- β -D-葡吡喃糖基-氧化苯基-偶氮基]-2, 4, 6-三羟基苯, β GlcY)反应形成红色沉淀的特性,以及制备成的与糖基部分特异识别的抗体,已在烟草(*Nicotiana tabacum*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)等多个物种的不同组织如花粉壁和花粉管壁中检测到大量AGPs^[5-7]。然而,仅检测蛋白质的表达并不能确定蛋白质的确切作用方式,而基于糖基侧链特性的检测方法也无法区分单一蛋

白质。虽然不同的AGPs抗体能识别不同的表位,但具有不同表位的AGPs不止一个,因为AGPs是广泛富集在植物细胞壁、质膜和胞外分泌物中的一个大家族^[1]。因此,近年来,利用正向和反向遗传学方法研究AGPs表达模式和功能特点等逐渐成为主要研究手段。目前,已有研究直接利用RNA干涉(RNA interference, RNAi)、反义RNA、人工合成miRNA(artificial microRNA, amiRNA)等技术抑制特异AGP基因的表达或者利用AGP的过量表达从而直接证明AGPs在发育过程中的作用。这些新的研究发现,AGPs在植物发育的各个过程中均发挥重要作用,涉及体细胞胚胎发生、细胞增殖、细胞膨大、细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)、损伤防御、根形态建成、花粉管生长以及植物激素信号传导等过程。同时,拟南芥等植物基因组序列的发表以及随之出现的基因芯片表达谱等数据,也使人们对AGPs的序列特征、表达特点等有了更详细的认识。本文就近几年对AGPs尤其是其功能的最新研究作一综述,希望这些知识能对完整理解高等植物中的AGPs有所帮助。

收稿日期: 2010-10-20 接受日期: 2010-11-19

国家自然科学基金(No.30800697, No.31071805)资助项目

* 通讯作者。Tel: 0571-86971354, Fax: 0571-86971188, E-mail:

lihuang@zju.edu.cn

1 AGPs的分子结构和分类

AGPs属于富含羟脯氨酸的糖蛋白家族, 由一个富含羟脯氨酸的蛋白核心链构成, 并带有富含阿拉伯糖和半乳糖的聚糖单元, 糖基部分通常占整个分子的90%以上^[1]。蛋白核心骨架部分富含羟脯氨酸/脯氨酸、丝氨酸、丙氨酸和苏氨酸, 氨基酸种类和含量因物种和组织的不同而不同。但也有些AGPs的蛋白骨架为羟脯氨酸缺陷型, 或者富含组氨酸型^[8]。聚糖单元大小为30~150个糖残基, 带有II型阿拉伯半乳糖聚糖结构, 该结构由一个带有(1-6)-B-D-半乳糖侧链的(1-3)-B-D半乳糖骨架组成, 此外还含有阿拉伯糖和其他相对少量的糖。这些糖分子通过O-或N-连接在蛋白骨架上。多聚糖链有可能连接在羟脯氨酸残基上, 也可能连接在丝氨酸和苏氨酸残基上^[1]。

根据蛋白核心骨架构成形式的不同, AGPs分为经典AGPs、非经典AGPs、AG(acid glycoprotein, 酸性糖蛋白)肽和类成束蛋白AGPs(fasciclin-like AGPs, FLAs)以及其他嵌合AGPs四类^[9]。其中, 经典AGPs的蛋白核心以羟脯氨酸、丙氨酸、苏氨酸和甘氨酸为主要氨基酸组分, C-末端有糖基化磷脂酰肌醇(glycosyl-phosphatidyl inositol, GPI)的锚。非经典AGPs具有富含赖氨酸的蛋白骨架, 有一段公认的信号肽, N末端有一个富含组氨酸的区域, 连接着一段重复的富含脯氨酸的区域, C-末端富含半胱氨酸(针对富含脯氨酸的蛋白和AGPs)。AG肽只有很短的蛋白骨架(10~13个氨基酸残基)。而FLAs是嵌合的AGPs, 它既包含一个AGP的基本框架, 又有一个成束蛋白区域, 如AtAGP17和AtAGP19^[10-12]。在拟南芥基因组中已经确定有47个基因编码AGPs^[13], 包括14种经典AGPs, 12种AG肽和21种FLAs。此外, 拟南芥基因组还存在未知数量的非经典AGPs^[10,11]。

2 在植物营养生长中的功能

大量研究表明, AGPs是被子植物生长发育过程不可或缺的。在20世纪90年代就发现, AGPs通过抑制细胞分裂而抑制细胞生长^[14], 通过抑制细胞膨大而抑制拟南芥幼苗茎和根的生长^[15,16]。Seifert等^[17]利用 β GlcY反应指出AGPs参与了拟南芥根形态建成, β GlcY试剂处理后根表皮会出现凸起, 这与REB1(Root Epidermal Bulger 1)基因功能缺失突变体根的表皮凸起一致, 而REB1参与了AGP的生物合成。

Eudes等^[18]还发现AGPs的糖位点受内源 β 葡萄糖醛酸酶(beta-glucuronidase, GUS)活性的影响而影响胚轴和根的长度, AGPs在GUS功能缺失突变体*atgus2-1*和GUS过量表达转基因系*Pro_{35S}:AtGUS*中分别含有增高和降低的葡萄糖醛酸含量, 同时胚轴和根的长度会相应的增长和缩短, 这个实验也说明AGPs的糖部分在细胞生长过程中发挥了重要作用。

Lampert等^[19]在烟草BY-2盐胁迫细胞中发现大量AGP基因的上调表达, 盐害程度越高, AGP的释放量越大; 且受到盐胁迫细胞的生长速率和AGP的释放成正相关, 由此推测AGPs很可能在维持细胞质膜中发挥作用并且作为果胶的增塑剂, 起疏松果胶网络结构的作用。Zagorchev等^[20]也在波特鸭茅(*Dactylis glomerata* L.)中发现了类似结果, 他们发现低浓度盐胁迫会增强体细胞发生, 而高浓度盐胁迫会减弱体细胞发生。高浓度盐处理后的体细胞培养中, AGPs量显著增加, 但是细胞壁中的AGPs量没有显著变化。这些证据都表明AGPs很可能参与植物防御反应, 使之适应不同的胁迫。

此外, AGPs在根再生和种子萌发中也具有重要作用。AtAGP30在根中特异表达, 拟南芥悬浮培养的根起始萌发需要AtAGP30的参与, 突变体*agp30*根的体外萌发需要野生型基因产物, 且突变体种子萌发延迟; 通过统计在给定浓度的脱落酸(abscisic acid, ABA)的培养基上的种子萌发率, 显示AtAGP30不影响对ABA的敏感性, 但是会影响对ABA的感知能力从而影响了拟南芥种子萌发^[21]。

AGP31作为一种细胞壁蛋白, 广泛分布在植物叶片、花、根、茎中, 特别是在花序、根及维管组织中大量表达, 已证明维管组织发育过程中需要AGP31的参与, 在韧皮部和初级木质部细胞中都定位到了AGP31, 而AGP31在防御反应中发挥的作用也侧面反映了其在维管组织中的地位^[22]。

3 在植物生殖发育中的功能

高等植物, 特别是被子植物的有性生殖一直是植物发育生物学研究的热点问题, 这一过程包括大小孢子发育、授粉和双受精等一系列异常精密而复杂的事件。研究发现, AGPs在植物的雄性器官(花粉、花粉管、精细胞)、雌性器官(柱头、花粉、子房)和胚胎(合子胚和体细胞胚)等组织和细胞中均有大量的表达, 是花粉壁富含蛋白之一^[23]。从花药发

育、花粉与柱头的黏附和识别、花粉管的萌发与生长、花粉进入子房进行双受精,到植物的胚胎发育,AGPs都参与其中并发挥了重要的作用。

利用AGP的单克隆抗体JIM8、JIM13、MAC207和LM2标记拟南芥花粉和雌蕊发育过程,通过花药和胚珠的发育过程中特异的AGP糖基表位分布的区别,Coimbra等^[6]间接证明了AGPs参与了有性生殖过程。在雌蕊初始配子体细胞、胚囊分泌细胞和助细胞、珠被珠孔细胞、花粉管至胚囊通道都定位到AGPs的存在;在花药中,AGPs特异地与配子体细胞和在花粉管中移动的雄配子相连锁,可能表明AGPs表位是显示花粉管到达最终目的地的信号。这与Coimbra等^[24]的早期研究不谋而合。他们曾同样通过免疫定位实验发现JIM8在千穗谷(*Amaranthus hypochondriacus*)珠孔端的珠心细胞中大量表达,形成了一条从珠孔通向胚囊的通道,由此推测AGPs可能与花粉管的定向生长有关^[24]。正因为AGPs在有性生殖器官中广泛存在,它已经被作为植物有性生殖的分子标记之一^[6]。

对于早年通过免疫定位法间接推测AGPs在有性生殖中的作用的相关研究,秦源等^[4]已经做了详细的综述,在此仅涉及对近年通过基因组序列信息分析以及正、反向遗传学手段获得的相关结果。

3.1 AGPs与花粉发育和授粉受精

研究者们已经鉴定了多个可能参与花粉发育与授粉受精过程的AGPs蛋白或其编码基因。例如,Pereira等^[5]对拟南芥众多的经典AGPs编码基因进行了表达分析,发现只有AGP6和AGP11是花粉特异的,推测它们可能参与了花粉管的生长过程^[5,25-27]。Levitin等^[27]进一步的检测发现AGP6和AGP11在花粉管中也特异表达,并且通过突变体及RNAi技术直接证明了这两个基因的功能。agp6突变体以及AGP6或AGP11表达降低的RNAi转基因植株的花粉释放受阻,花粉管生长受到抑制,最终导致植株育性的下降。研究表明AGP6和AGP11两者在结构上存在重叠,且它们在花粉发育过程中的功能上也存在重叠^[28]。我们在分析白菜(*Brassica campestris*)花粉发育基因表达时,也发现两个AGPs编码基因BcMF8和BcMF18在白菜花粉中特异表达^[29],目前,我们已经获得了两基因表达分别受抑制的反义RNA转基因植株,对两者进一步的功能分析正在进行当中。

烟草花柱引导组织内的传递组织特异(transmitting

tissue specific, TTS)蛋白属于AGPs。TTS蛋白的糖基化梯度引导着花粉管的生长,同时生长中的花粉管对TTS蛋白的去糖基作用还可能将糖基释放出来为花粉管生长提供养分^[30,31]。低TTS蛋白水平的转基因植株因花粉管在引导组织中的生长速率下降导致结籽率下降^[25]。Lee等^[32,33]在花烟草(*Nicotiana glauca*)中发现了一个传递组织特异糖蛋白NaTTS和一个雌蕊特异的大小为120 kDa的糖蛋白120K,它们都属于AGPs,且有一个共同的保守的C端功能域(C-terminal domain, CTD),并直接影响花烟草花粉管生长。

在烟草的柱头及其分泌物中还分离得到了AGPs的编码基因AGPNa3,授粉后5天内成熟雌蕊中AGPNa3的表达量逐渐降低,不亲和的柱头比亲和的柱头具有更高的AGPNa3表达量,表明AGPs可能在花粉与柱头相互黏附过程中发挥作用^[9]。βGlcY试剂处理后的蓝猪耳(*Torennia fournieri*)花粉的萌发受到明显抑制,花粉管生长速率也明显降低^[34]。AGPs和果胶在细胞壁中的合理分布是青杆(*Picea wilsonii*)花粉管正常生长所必需的,细胞内Ca²⁺释放途径阻塞后,会影响内膜系统内AGPs的运输,从而干扰花粉管的生长^[35]。

此外,Garcia等^[36]发现,AGP18在拟南芥雌性生殖器官及雌配子的发育过程中发挥着重要作用,不同的发育时期会在不同的部位表达,AGP18转录后沉默同时影响了配子体和孢子体水平的发育;不同的agp18突变体均出现结种率显著降低的现象,RNAi植株出现胚珠败育及结子率降低的现象。

也有少量研究者对不同AGPs之间的关系进行了研究。拟南芥中有16个基因编码经典AGPs蛋白的骨架,其中AGP17、AGP19与AGP18在氨基酸序列上分别存在56%和42%的相似性,在DNA序列上存在55%和52%的相似性,但AGP18和AGP17、AGP19不存在功能上的重叠或冗余^[36]。此外,上述提到的AGP6和AGP11是两个高度同源基因,它们在花粉发育过程中的重要功能上也存在重叠^[28]。但是到目前为止,相关研究还非常少,花粉发育与授粉受精过程中功能相关的AGPs之间还未建立一个起码的认识框架。

3.2 AGPs与胚胎发育

Pennell等^[37]利用单克隆抗体在油菜(*B. napus*)8-细胞原胚的2个胚体细胞和6个胚柄细胞中,检测到特

异性识别的AGPs, 然而当胚胎发育至球形胚时期以后, 则只在胚柄细胞检测到JIM8识别的AGPs, 其表达具有时空特异性。推测在胚胎发育过程中AGPs可能参与了胚胎的发育、物质的运输以及信号的传递。另外, Paira等^[38]还发现在离体培养基中的蛋白不断增加, 检测到其中的成分之一是AGPs, 因此推测AGPs可能参与了玉米(*Zea mays*)合子胚的发育。同时还在一些植物如绿色咖啡豆(*Cofea arabica*)^[39]的胚乳细胞中检测到了AGPs的存在。

Tang等^[40]使用 β GlcY试剂的研究发现, 使用50 μ mol/L β GlcY培养油菜小孢子时, 只有2%的球形胚发育到下一阶段, 而剩下的胚保持在球形阶段, 但是大小却在缓慢增大; 2.5%的心形胚和大约4%的胚发育到了下一阶段, 剩下的胚表现出各种形态上的变化, 说明了 β GlcY改变了细胞的发育方向和胚的结构形式, 这间接表明AGPs参与了体细胞胚的生长和发育。

Lee等^[41]利用 β GlcY试剂及单克隆抗体研究发现AGPs参与小立碗藓(*Physcomitrella patens*)顶端细胞生长, 进一步采用基因敲除方法研究发现*agp1*突变体细胞长度缩短, 指出AGP1参与顶端细胞的膨大。

烟草未受精的卵细胞中含有大量的AGPs, 但是在受精后含量会逐渐减少, 并在受精卵中形成极性分布。进一步观察发现受精卵分裂后的早期2-细胞胚胎中AGPs含量较低, 后期2-细胞胚胎伸长过程中含量明显增加。 β GlcY离体处理受精卵和授粉的子房, 会导致受精卵的异常分裂。这些都表明受精卵的分裂和早期胚胎发育都涉及AGPs的参与^[42]。

此外, 上述提及的参与拟南芥雌性生殖器官及雌配子发育的AGP18同时也参与了胚珠的发育, 不同的*agp18*突变体及RNAi植株均出现胚珠败育及结籽率降低的现象^[36]。

4 与细胞程序性死亡及衰老的关系

已有研究表明PCD伴随AGPs的表达。在花粉发育中, 绒毡层细胞的退化是一个典型的PCD过程, 绒毡层的PCD信号开始于四分体时期。研究发现, 这个时期和被单克隆抗体JIM8和JIM13识别的AGPs的强度增强有关联^[6]。此外, 在维管细胞^[43]、细胞悬浮培养^[44]和体壁胚胎发生^[45]等情况中, PCD现象都涉及到AGPs的表达。用 β GlcY处理大麦糊粉粒原生质体, GA诱导型PCD受到明显抑制^[46]。由

此可见, AGPs参与了细胞程序性死亡, 但目前, 没有更进一步的报道揭示AGPs在细胞程序性死亡中的作用机理。

衰老作为植物生长发育的终结, 是由一个复杂的基因网络结构精细调控的。其中IDA(*INFLORESCENCE DEFICIENT IN ABSCISSION*)调控拟南芥花器官包括萼片、花瓣和雄蕊在内的和脱落相关的细胞分离^[47]。Stenvik等^[47]在IDA过表达系中发现花器官会提早脱落, 而脱落细胞会分泌大量AGP; 脱落细胞内大量表达的AGP基因中, 有一个AGP的转录本AGP24上调表达, 这都表明AGPs是花器官脱落的一个重要因素, 而IDA很可能是AGP在脱落过程中表达的诱导剂。

5 在信号识别与传导中的作用

细胞之间的信号传递对正常发育非常重要。在多细胞生物中, 细胞之间相互依赖又相互影响。AGPs的分子构成也为其作为各种不同信号物质提供了内在可能性^[2], 其通过以下几种方式在信号传递中发挥作用: (1)AGPs分子释放糖基表位, 该糖基表位结合质膜上的受体, 起始细胞间信号传递; (2)AGPs分子直接与质膜上的受体结合, 或者先与合适的配基结合后间接与质膜上的受体结合, 起始信号传递; (3)某一细胞上结合的AGPs和毗邻细胞上的质膜受体结合, 开始信号传递; (4)释放GPI锚定在质膜上的AGPs后, GPI作为信号物质传递信号; (5)AGPs作为细胞黏附分子, 在质膜上可以形成AGPs聚合体, 从而形成质膜-细胞壁间的联系物质(这些联系物质可以是细胞壁AGPs也可以是细胞壁其他分子, 如: 果胶), 这些联系物质在植物生长和发育过程中发挥着不可或缺的作用^[1]。

在细胞间识别和信号传导通道中, AGPs参与了与其他膜蛋白的反应^[48]。在水稻花粉母细胞和四分体时期可检测到AGPs分子的存在, 推测AGPs可能作为一种信号分子参与绒毡层细胞和小孢子间的信息交流^[49]。Lee等^[32,33]研究发现S-RNA酶结合蛋白(S-RNase-binding protein, SBP1)、包含C2结构域蛋白(C2 domain-containing protein, NaPCCP)和一个半胱氨酸蛋白酶结合在AGP上, 前两者和信号传导及运输密切相关, 由此可见, NaPCCP和NaSBP1与雌蕊AGPs的结合在花粉管生长过程中的信号传导及物质运输过程中起重要作用。还有研究发现AGPs

还参与刺激病原体防御反应中的信号转导^[46]。

AGPs在激素信号传导过程中也发挥着重要作用,包括赤霉素(gibberellane, GA)在内的一系列激素的作用都有可能涉及AGPs^[50], Hengel等^[21]还根据ABA反应推测AGPs可能调控植物激素活性。如AGP17可以影响植株与农杆菌结合,或是在根表面提供一个结合位点,或是通过一个信号转换通道包括GPI侧链使自由水杨酸水平减少^[51]。又如,AtAGP30特异性地对ABA的浓度产生响应而影响拟南芥种子发芽^[21];AGP31 mRNA水平在受到损伤后8 h内呈现逐渐下降的趋势;ABA处理后其表达受抑制;用MeJA(methyljasmonate, 茉莉酸甲酯)处理后,8 h内AGP31 mRNA水平会下降至30%,12 h后会重新上升,但是仍低于原始水平,这些证据都表明AGP31很可能参与了损伤防御过程^[22]。此外, β GlcY处理大麦糊粉粒原生质体后,抑制赤霉素诱导型基因Ca²⁺-ATPase(腺苷三磷酸酶)的表达,诱导2个WRKY基因和1个NAK(TANK-binding kinase)激酶基因的表达,它们都是GA信号传导的抑制剂,从而抑制GA信号传导。因此推测AGPs可能参与感知诱发防御反应的诱发剂^[46]。

很多研究者认为AGPs在执行完它们的功能后可以被内吞回到细胞内,藉由多泡体运输至液泡中降解。这个生物合成和降解的过程对细胞针对细胞外的任何类型的变化作出快速反应极为重要^[52,53]。Lampert等^[19]提出了一个AGPs的动态变化模型,在这个模型中GPI锚被打开,使得AGPs可以从质膜脱离到胞质外空间,从那里到细胞壁,然后最终到细胞外空间。

6 展望

综上所述,近年的大量研究更加直接地证明了AGPs在被子植物生长发育过程中发挥着不可或缺的作用。对于AGPs功能的研究已经成为植物发育生物学研究中的一个热点。但在很长一段时间内,AGPs的功能主要是从其亚细胞分布以及这些分布的组织特异性和时空变化推测出来的^[3],并且大部分试验结果是在离体条件下获得的,缺乏AGPs对细胞分化发育的调控作用的直接证据。而且虽然我们可以根据 β GlcY和AGPs的互作来研究AGPs的表达,但是AGPs和 β GlcY的作用机制也并没有被完全阐明。只是在最近几年,随着植物结构基因组和功能基因

组研究的迅速发展,人们才开始利用遗传学手段来研究植物中的AGPs。相对而言,目前对花粉AGPs的研究较为深入,已经尝试对少数花粉特异的AGPs基因功能进行了遗传学上的直接证明,但其作用机理还未十分明确,即使是在目前最为详细深入的Levitin等^[27]的研究中,AGP6和AGP11表达的抑制是如何导致花粉管生长及花药开裂的异常的,还没有直接的证据发表。另一方面,由于不止一个AGPs参与花粉发育,目前仍未对所有花粉特异AGPs的功能进行阐述并试图分析不同AGPs的关系,功能相关或者存在冗余的AGPs之间还未建立一个完整的网络关系。而AGPs在作为信号传导物质及在胚胎发育等过程中的功能研究较少,作用机制也未明确。由此可见,对许多发育过程中的AGPs基因功能的阐述及不同AGPs之间功能的相关性仍是一个未解决的命题,而这个命题是全面理解植物AGPs功能的一个重要组成部分,相信在不久的将来,会有更多来自遗传学的证据陆续发表。

参考文献(References)

- Showalter AM. Arabinogalactan-proteins: structure, expression and function. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 1399-417.
- 巩万奎. 阿拉伯半乳糖蛋白及其在植物细胞分化中的作用. *生物技术通报* 1999; 15(4): 12-6.
- 巩万奎. 阿拉伯半乳糖蛋白与植物细胞分化. *植物生理学通讯* 2000; 36(4): 362-7.
- 秦源, 赵洁. 阿拉伯半乳糖蛋白在被子植物有性生殖中的作用. *植物生理与分子生物学学报* 2004; 30(4): 371-8.
- Pereira LG, Coimbra S, Oliveira H, Monteiro L, Sottomayor M. Expression of arabinogalactan protein genes in pollen tubes of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 2005; 223: 374-80.
- Coimbra S, Almeida J, Junqueira V, Costa ML, Pereira LG. Arabinogalactan proteins as molecular markers in *Arabidopsis thaliana* sexual reproduction. *J Exp Bot* 2007; 58(15-16): 4027-35.
- Qin Y, Chen D, Zhao J. Localization of arabinogalactan proteins in anther, pollen, and pollen tube of *Nicotiana tabacum* L. *Protoplasma* 2007; 231: 43-53.
- Baldwin TC, McCann MC, Roberts K. A novel hydroxyproline-deficient arabinogalactan protein secreted by suspension-cultured cells of *Daucus carota*. *Plant Physiol* 1993; 103: 115-23.
- Du H, Bacic A, Clarke AE. Arabinogalactan-proteins: a class of extracellular matrix proteoglycans involved in plant growth and development. *Trends Cell Biol* 1996; 6: 411-4.
- Borner GH, Sherrier DJ, Stevens TJ, Arkin IJ, Dupree P. Prediction of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins in *Arabidopsis*. A genomic analysis. *Plant Physiol* 2002; 129(2): 486-99.

- 11 Borner GH, Lilley KS, Stevens TJ, Dupree P. Identification of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins in *Arabidopsis*. A proteomic and genomic analysis. *Plant Physiol* 2003; 132(2): 568-77.
- 12 Schultz CJ, Rumsewicz MP, Johnson KL, Jones BJ, Gaspar YM, Bacic A. Using genomic resources to guide research directions. The arabinogalactan protein gene family as a test case. *Plant Physiol* 2002; 129(4): 1448-63.
- 13 Gaspar Y, Johnson KL, McKenna JA, Bacic A, Schultz CJ. The complex structures of arabinogalactan-proteins and the journey towards understanding function. *Plant Mol Biol* 2001; 47: 161-76.
- 14 Serpe MD, Nothnagel EA. Effects of Yariv phenylglycosides on *Rosa* cell suspensions: Evidence for the involvement of arabinogalactan-proteins in cell proliferation. *Planta* 1994; 193: 542-50.
- 15 Willats WG, Knox JP. A role for arabinogalactan-proteins in plant cell expansion: evidence from studies on the interaction of beta-glucosyl Yariv reagent with seedlings of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 1996; 9(6): 919-25.
- 16 Vissenberg K, Feijo JA, Weisenseel MH, Verbelen JP. Ion fluxes, auxin and the induction of elongation growth in *Nicotiana tabacum* cells. *J Exp Bot* 2001; 52: 2161-7.
- 17 Seifert GJ, Barber C, Wells B, Dolan L, Roberts K. Galactose biosynthesis in *Arabidopsis*: genetic evidence for substrate channeling from UDP-D-galactose into cell wall polymers. *Current Biol* 2002; 12(21): 1840-5.
- 18 Eudes A, Mouille G, Thevenin J, Goyallon A, Minic Z, Jouanin L. Purification, cloning and functional characterization of an endogenous beta-glucuronidase in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 2008; 49(9): 1331-41.
- 19 Lampion DT, Kieliszewski MJ, Showalter AM. Salt stress upregulates periplasmic arabinogalactan proteins: using salt stress to analyse AGP function. *New phytologist* 2006; 169: 479-92.
- 20 Zagorchev L, Petrova S, Odjakova M. Arabinogalactan proteins in salt-adapted suspension cultures of *Dactylis glomerata* L.. *Plant physiology* 2008; 34(3-4): 159-68.
- 21 Hengel AJ, Roberts K. AtAGP30, an arabinogalactan-protein in the cell walls of the primary roots, plays a role in root regeneration and seed germination. *Plant J* 2003; 36: 256-70.
- 22 Liu CG, Mehdy MC. A nonclassical arabinogalactan protein gene highly expressed in vascular tissues, *AGP31*, is transcriptionally repressed by methyl jasmonic acid in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2007; 145(3): 863-74.
- 23 Geitmann A, Steer M. The architecture and properties of the pollen tube cell wall. *Plant Cell Monographs* 2006; 3: 177-200.
- 24 Coimbra K, Salema R. Immunolocalization of arabinogalactan proteins in *Amaranthus hypochondriacus* L. ovules. *Protoplasma* 1997; 199: 75-82.
- 25 Cheung AY, Wang H, Wu HM. A floral transmitting tissue specific glycoprotein attracts pollen tubes and stimulates their growth. *Cell* 1995; 82: 383-93.
- 26 Wu H, Wang H, Cheung AY. A pollen tube growth simulator glycoprotein is deglycosylated by pollen tubes and displays a glycosylation gradient in the flower. *Cell* 1995; 82: 395-403.
- 27 Levitin B, Richter D, Markovich I, Zik M. Arabinogalactan proteins 6 and 11 are required for stamen and pollen function in *Arabidopsis*. *Plant J* 2008; 56: 351-63.
- 28 Coimbra S, Costa M, Jones B, Mendes MA, Pereira LG. Pollen grain development is compromised in *Arabidopsis agp6 agp11* null mutants. *J Exp Bot* 2009; 60: 3133-42.
- 29 Huang L, Cao JS, Zhang A, Ye Y. Characterization of a putative pollen-specific arabinogalactan protein gene, *BcMF8*, from *Brassica campestris* ssp. *chinensis*. *Mol Biol Rep* 2008; 35: 631-9.
- 30 Wheeler MJ, Franklin-Tong VE, Franklin FCH. The molecular and genetic basis of pollen-pistil interaction. *New Phytologist* 2001; 151: 565-84.
- 31 徐国华, 张绍铃, 刘友良. 雌蕊胞外基质在花粉管生长中的作用. *植物学通报* 2003; 20(2): 218-26.
- 32 Lee CB, Swatek KN, McClure B. Pollen proteins bind to the C-terminal domain of *Nicotiana glauca* pistil arabinogalactan proteins. *J Biol Chem* 2008; 283(40): 26965-73.
- 33 Lee CB, Kim S, McClure B. A pollen protein, NaPCCP, that binds pistil arabinogalactan proteins also binds phosphatidylinositol 3-phosphate and associates with the pollen tube endomembrane system. *Plant Physiology* 2009; 149: 791-802.
- 34 赵振东, 秦源, 吴娟子, 赵洁. 在烟草和蓝猪耳花粉萌发及花粉管生长中阿拉伯半乳糖蛋白的作用. *武汉植物学研究* 2006; 24(5): 397-402.
- 35 Chen KM, Wu GL, Wang YH, Tian CT, Samaj J, Baluska F, et al. The block of intracellular calcium release affects the pollen tube development of *Picea wilsonii* by changing the deposition of cell wall components. *Protoplasma* 2008; 233: 39-49.
- 36 Garcia GA, Calzada JPV. A classical arabinogalactan protein is essential for the initiation of female gametogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2004; 16: 2614-28.
- 37 Pennell RI, Janniche L, Kjellbom P, Scofield GN, Peart JM, Roberts K. Developmental regulation of a plasma membrane arabinogalactan protein epitope in oilseed rape flowers. *Plant Cell* 1991; 3: 1317-26.
- 38 Paire A, Devaux P, Lafitte C, Dumas C, Matthys-Rochon E. Proteins produced by barley microspores and their derived androgenic structures promote *in vitro* zygotic maize embryo formation. *Plant Cell Tiss Org Cult* 2003; 73: 167-76.
- 39 Sutherland PW, Hallett IC, MacRae E, Fischer M, Redgwell RJ. Cytochemistry and immunolocalisation of polysaccharides and proteoglycans in the endosperm of green *Arabica coffee* beans. *Protoplasma* 2004; 223(2-4): 203-11.
- 40 Tang XH, He YQ, Wang Y, Sun MX. The role of arabinogalactan proteins binding to Yariv reagents in the initiation, cell developmental fate, and maintenance of microspore embryogenesis in *Brassica napus* L. cv. Topas. *J Exp Bot* 2006; 57(11): 2639-50.
- 41 Lee KJ, Sakata Y, Mau SL, Pettolino F, Bacic A, Quatrano RS, et al. Arabinogalactan proteins are required for apical cell extension in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* 2005; 17: 3051-65.

- 42 Qin Y, Zhao J. Localization of arabinogalactan proteins in egg cells, zygotes, and two-celled proembryos and effects of β -D-glucosyl Yariv reagent on egg cell fertilization and zygote division in *Nicotiana tabacum* L. *J Exp Bot* 2006; 7(9): 2061-74.
- 43 Motose H, Sugiyama M, Fukuda H. A proteoglycan mediates inductive interaction during plant vascular development. *Nature* 2004; 429: 873-8.
- 44 Gao M, Showalter AM. Yariv reagent treatment induces programmed cell death in *Arabidopsis* cell cultures and implicates arabinogalactan-protein involvement. *Plant J* 1999; 19: 321-31.
- 45 McCabe PF, Valentine TA, Forsberg LS, Pennell RI. Soluble signals from cells identified at the cell wall establish a developmental pathway in carrot. *Plant Cell* 1997; 9: 2225-41.
- 46 Mashiguchi K, Urakami E, Hasegawa M, Sanmiya K, Matsumoto I, Yamaguchi T, *et al.* Defense-related signaling by interaction of arabinogalactan proteins and β -Glucosyl Yariv reagent inhibits gibberellin signaling in Barley aleurone cells. *Plant Cell Physiol* 2008; 49: 178-90.
- 47 Stenvik GE, Butenko MA, Urbanowicz BR, Rose JKC, Aalena RB. Overexpression of inflorescence deficient in abscission activates cell separation in vestigial abscission zones in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2006; 18: 1467-76.
- 48 Seifert GJ, Roberts K. The biology of arabinogalactan proteins. *Annu Rev Plant Biol* 2007; 58: 137-61.
- 49 Kawaguchi K, Shibuya N. Characterization of arabinogalactan-proteins and a related oligosaccharide in developing rice anthers. *Cell develop biology of Arabinogalactan proteins*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers 2000, 149-52.
- 50 Suzuki Y, Kitagawa M, Knox JP, Yamaguchi I. A role for arabinogalactan proteins in gibberellin-induced α -amylase production in barley aleurone cells. *Plant J* 2002; 29: 733-41.
- 51 Gaspar YM, Nam J, Schultz CJ, Lee LY, Gilson PR, Gelvin SB, Bacic A. Characterization of the *Arabidopsis* lysine-rich arabinogalactan-protein AtAGP17 mutant (*rat1*) that results in a decreased efficiency of *Agrobacterium* transformation. *Plant Physiol* 2004; 135: 2162-71.
- 52 Kreuger M, Van Holst GJ. Arabinogalactan proteins and plant differentiation. *Plant Mol Biol* 1996; 30: 1077-86.
- 53 Samaj J, Samajova O, Peters M, Baluska F, Lichtscheidl I, Knox JP, *et al.* Immunolocalization of LM2 arabinogalactan protein epitope associated with endomembranes of plant cells. *Protoplasma* 2000; 212: 186-96.

The Functions of Arabinogalactan-Proteins in Angiosperms

Su-E Lin^{1,2}, Li Huang^{1,2*}, Jia-Shu Cao^{1,2}

⁽¹⁾Laboratory of Cell & Molecular Biology, Institute of Vegetable Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China ;

⁽²⁾Key Laboratory of Horticultural Plant Growth, Development and Quality Improvement, Ministry of Agriculture, Hangzhou 310029, China)

Abstract Arabinogalactan-proteins (AGPs) are oxyproline/hydroxyproline-rich (Hyp-rich) proteins which are highly glycosylated, present at the cell wall, plasma membrane and extracellular matrix (ECM) throughout the plant kingdom. AGPs are considered to be an important family of glycosidoproteins, implicated in diverse vegetative and reproductive processes, including somatic embryogenesis, cell expansion, programmed cell death, wound responses, root morphology, pollen tube growth, and plant hormonal signaling pathways. With the rapid development of plant structural genomics and functional genomics, we have known expression patterns and functions of AGPs at closer range. This paper first summarizes the molecular structure and classification of AGPs, then focuses on its functional research on vegetative growth, reproductive development, programmed cell death, and molecular interaction as well as signal transduction, using genomic sequence information analysis, forward and/or reverse genetic approach.

Key words Angiosperms; arabinogalactan-proteins; AGPs; functions

Received: October 20, 2010 Accepted: November 19, 2010

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30800697, No.31071805)

*Corresponding author. Tel: 86-571-86971354, Fax: 86-571-86971188, E-mail: lihuang@zju.edu.cn