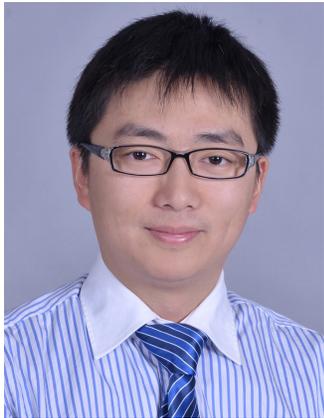


领域前沿 · 中国



徐通达, 中国科学院上海生命科学研究院植物逆境生物学研究中心研究员, 博士生导师。2010年毕业于美国加州大学河边分校, 获分子细胞发育生物学博士学位。2011年至2013年在新加坡淡马锡生命科学院担任青年研究员。徐通达研究员主要从事植物激素生长素信号转导途径的功能研究, 鉴定了定位于细胞膜的生长素受体复合体。从事科研工作以来共发表研究论文10篇, 代表性研究成果发表在Cell、Science、Plos Biology等国际核心期刊上。2010年, 在Cell上发表论文, 解析了生长素激活小G蛋白调节细胞形态建成的分子机制。最近, 在Science杂志上发表了关于细胞膜上生长素受体复合体ABP1/TMK的最新研究成果。2014年, 徐通达研究员获得中组部“青年千人计划”支持。

植物生长素ABP1-TMK膜受体复合体调控 细胞极性形态建成

曹 珉 徐通达*

(中国科学院上海生命科学研究院上海植物逆境生物学研究中心, 上海 201602)

植物在生长过程中会受到多种内源(如植物激素)^[1]和外源(如光)^[2]信号的调控, 而植物细胞在感受各个信号之后经过不同信号通路的信号传递和汇总, 最终对细胞生长、细胞分裂和细胞分化进行精细调控。植物细胞在不同的组织中通过形成不同形态的细胞来执行不同的功能, 其中, 植物细胞的极性生长(cell polar growth)在细胞形态建成(cell morphogenesis)过程中起到至关重要的作用, 如花粉管通过极性生长来保证配子完成双受精过程、根毛通过极性生长来摄取土壤中养分等。对于不同细胞极性生长调控分子机制的研究表明, 小G蛋白作为细胞内信号传递的开关, 能调控各种细胞的极性生长过程^[3]。ROP家族蛋白属于植物特有的Rho GTPase(Rho-related GTPase from plants, ROP), 该家族有11个成员^[4]。ROP蛋白在细胞中被极性激活, 从而激活下游效应因子RIC蛋白(ROP-interactive CRIB motif-containing proteins, RICs)和ICR1蛋白(interactor of constitutively active ROP1 proteins, ICR1 and ICR1-

like), 通过调控细胞骨架的动态变化来调控细胞极性生长。已有研究表明, ROP1在花粉管细胞中顶端部位激活, 并激活下游RIC4蛋白, 通过调控F-actin来促进花粉管极性伸长。在根毛细胞中, ROP2在根毛顶端被激活, 并激活下游RIC蛋白, 调控F-actin的动态分布, 从而促进根毛的极性生长^[5-10]。

在各种极性生长的细胞中, 叶表皮铺板细胞(epidermal pavement cell)因具有非常特殊的嵌套铺板形状而成为研究细胞形态建成的一种模式细胞。铺板细胞并不像其他大多数极性生长细胞那样单方向极性生长, 而是在局部区域向外极性生长, 形成凸起(lobes), 而在相邻区域向外极性生长受到抑制, 表现为凹陷(indentations)。更有意思的是, 在一个细胞的凸起处, 恰好是相邻细胞的凹陷处, 最终使得整个叶表皮扁平细胞看上去像嵌套拼图一样(jigsaw-puzzle appearance)(图1A)。因此, 叶表皮扁平细胞的生长不仅受到自身细胞信号的调节, 同时也势必受到细胞间信号的调控^[11-12]。

研究发现, 在叶表皮细胞中小G蛋白ROP2可以在细胞形成凸起(lobe)的位置上被特异性激活, 使其下游效应蛋白RIC4在凸起处聚集。RIC4可以调节

*通讯作者。Tel: 021-57078236, E-mail: tdxu@sibs.ac.cn

*Corresponding author. Tel: +86-21-57078236, E-mail: tdxu@sibs.ac.cn

网络出版时间: 2014-04-02 09:54

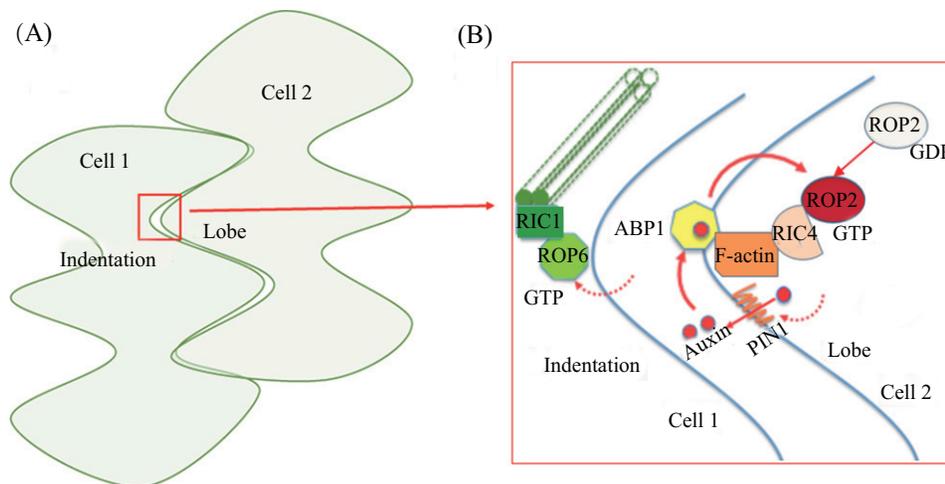
URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.04.9001.html>

细胞骨架中的微丝(F-actin)来促进该区域向外极性生长形成凸起。与此同时, ROP6可以在细胞形成凹陷的位置上被特异性激活, 从而激活其下游效应蛋白RIC1。RIC1可以结合到细胞骨架中的微管蛋白(microtubule), 并通过调控微管的动态结构从而形成平行规则的维管束来抑制细胞向外生长。这两条信号通路互相抑制, 从而在细胞膜上间隔性激活ROP2和ROP6, 以调控叶表皮细胞形成特殊的嵌套形状。然而, 激活ROP2和ROP6的上游发育信号分子却一直没有找到^[11-13]。

Xu等^[14]在2010年发现了生长素(auxin)可以通过细胞膜定位的生长素结合蛋白ABP1(auxin binding protein 1)激活小G蛋白信号通路, 从而调节叶表皮细胞的形态建成。生长素作为一种重要的植物激素(phytohormone), 它的作用贯穿于植物生长发育的各个时期, 如胚胎发育、根的生长、叶片的发育和顶端分生细胞分化等。前期研究发现, 生长素在细胞核被其受体TIR1结合, 通过泛素化-蛋白酶体降解途径将抑制子IAA蛋白降解, 从而促进ARF蛋白调控基因转录^[15-17]。然而, 此信号途径无法解释生长素的所有功能, 如生长素如何调节细胞的极性生长等。研究发现, 生长素可以激活小G蛋白来促进叶表皮细胞的局部极性形态建成。定量分析表明, 生

长素能在30秒内激活小G蛋白ROP2和ROP6。这种快速激活机制意味着生长素不太可能通过细胞核内TIR1(transport inhibitor response 1)介导的信号转导途径来激活小G蛋白。研究发现, 另一个定位于细胞膜上的生长素结合蛋白ABP1能介导生长素快速激活小G蛋白^[14,18](图1B)。ABP1作为生长素结合蛋白已经被发现了40多年, 前期研究证实了其在生长素信号途径中的重要作用, 但其作用的分子机制一直不清楚。ABP1蛋白定位于细胞膜上不具有跨膜域及胞内功能域, 这预示着ABP1需要辅助蛋白来传递生长素信号以激活细胞膜小G蛋白信号途径。具有胞外域和胞内激酶域的一类受体蛋白激酶RLK(receptor like kinase)在结构上提供了介导ABP1行使生长素功能的可能性^[19-21]。

TMK家族属于类受体蛋白激酶家族中的一个小的亚家族, 该家族由4个同源蛋白组成。它们都拥有一个胞内激酶域(intracellular kinase domain)、一个跨膜区域(transmembrane domain)和一个胞外域(extracellular domain), 其中胞外域含有富含亮氨酸的重复序列(leucine rich repeat, LRRs)。研究发现, *tmk*突变体表现出生长素功能缺失表型, 比如胚胎致死表型、子叶发育缺失表型及叶表皮细胞形态建成缺失表型等。这些表型为TMK可能参与细胞膜上



A: 拟南芥叶表皮细胞形成特殊的铺板形状, 由相互间隔的凸起和凹进组成, 相邻细胞协调形成对应的凸起和凹进; B: 生长素由细胞膜上ABP1介导激活小G蛋白ROP2信号途径来控制凸起的形成及调控PIN1在此处的定位; 生长素同时激活临近细胞小G蛋白ROP6信号途径来控制凹进的形成, 最终形成完整的叶表皮细胞。

A: the jigsaw-puzzle cell shape of leaf pavement cells. Pavement cell forms interdigitated lobes and indentations; B: the working model for auxin dependent activation of ROP2 and ROP6 signaling cascades in changing pavement cell morphogenesis.

图1 生长素激活小G蛋白信号途径来调控叶表皮细胞的形态建成的分子机制

Fig.1 The molecular mechanism about how auxin regulates pavement cell morphogenesis through activating Rho GTPase signaling pathway

生长素信号通路提供了可靠证据^[22]。

Xu等^[23]通过叶表皮细胞来探索TMK是否与ABP1一起介导细胞膜上的生长素信号转导途径。*tmk*突变体分析发现, 其叶表皮细胞类似于*abp1*突变体, 存在形态建成缺陷, 并且这种缺陷不能通过施加外源生长素恢复。为了检测TMK是否与ABP1类似能介导生长素激活小G蛋白, 研究团队将带有GFP标签的ROP2和ROP6分别引入到*tmk*突变体和野生型植株中。在野生型中, 100 nmol/L NAA(萘乙酸, 人工合成的生长素)能显著提高ROP2和ROP6的活性; 在*tmk*突变体中, 类似于在*abp1*突变体中, NAA无法快速激活ROP2和ROP6。

为了进一步证明TMK能介导生长素激活小G蛋白, 研究团队利用ROP下游的效应分子的定位来间接指示小G蛋白在活体细胞内的活性。ROP2的下游效应蛋白RIC4只能与活性的ROP2结合, 在野生型拟南芥的叶表皮细胞中定位于ROP2被激活的凸起处, 并促进微丝蛋白在此处的动态聚集。在*tmk*突变体中, RIC4无法定位在细胞膜上, 也无法检测到微丝蛋白在凸起形成处富集。ROP6的下游效应蛋白RIC1在被活性ROP6激活后, 定位于微管上并促进微管的有序排列, 而在*tmk*突变体中, RIC1无法定位于微管上, 导致细胞内微管分布混乱。这些实验证据与前期在*abp1*及*rop*突变体下的结果相一致, 进一步说明了TMK在叶表皮细胞中与ABP1一起介导生长素激活小G蛋白ROP2和ROP6信号通路。研究团队根据上述结果大胆假设, TMK能和ABP1形成生长素在细胞膜上的受体复合体。

首先, 通过研究TMK1和ABP1的定位来探索ABP1和TMK形成复合体在空间上的可能性。研究团队利用*pTMK1::TMK1-GFP*转基因植物来检测TMK1的定位, 发现TMK1蛋白主要定位于细胞膜上。同时, 利用免疫组织电镜技术及ABP1-GFP融合蛋白来检测ABP1的定位, ABP1蛋白主要定位于内质网和细胞膜上。

那么, 同时定位于细胞膜的ABP1和TMK1是否能形成一个膜上蛋白复合体来传递生长素信号? 我们利用*pTMK1::TMK1-GFP*转基因植物提取蛋白, 通过免疫共沉淀的方法, 证明ABP1和TMK1的确可以形成蛋白复合体。同时我们发现, 生长素处理之后能促进ABP1/TMK1复合体的形成。

我们知道, ABP1作为生长素结合蛋白能直接

和生长素结合, 如果生长素能够促进ABP1/TMK1复合体形成, 那么ABP1与生长素的亲和力将直接调控ABP1/TMK1复合体的形成。前期研究报道*abp1-5*突变体是一个点突变体, 在ABP1蛋白生长素结合位点上氨基酸的点突变(生长素与ABP1蛋白结合位点)导致其和生长素的结合能力降低。在*abp1-5*突变体中, ABP1-5/TMK1复合体的形成效率显著降低, 并且生长素无法促进ABP1-5/TMK1复合体形成。这一结果直接证明了ABP1/TMK1蛋白复合体的形成依赖于ABP1与生长素的结合。

为了能进一步解析ABP1/TMK介导生长素信号转导的作用机制, 我们希望探索ABP1和TMK1蛋白的哪个功能区域相结合。通过烟草叶片瞬时表达系统共表达ABP1和HPB标签的TMK蛋白片段, 然后利用免疫共沉淀的方法检测到ABP1和TMK1形成蛋白复合体。结果表明, ABP1只可以与TMK1细胞外区域(Ex-TMK1)相互作用, 并且外源生长素可以促进ABP1和EX-TMK1的相互作用。同时, ABP1-5突变体蛋白与EX-TMK1的相互作用弱于ABP1野生型蛋白, 并且生长素不能促进ABP1-5和EX-TMK1复合体的形成。上述结果说明, 生长素可以调节ABP1和TMK1胞外域的相互作用, 这个结论与ABP1在细胞膜外膜接收生长素信号的假设相一致, 从而提出了如图2所示的ABP1/TMKs作为生长素受体复合体介导生长素激活小G蛋白信号途径的可能工作模型。Auxin结合ABP1后, 促进ABP1/TMKs在细胞表面形成受体复合体, 激活下游小G蛋白ROPs, 通过激活相应效应因子调控细胞骨架的动态变化, 最终调控叶表皮铺板细胞的形态建成^[23]。

我们的研究工作精确阐明了拟南芥叶表皮细胞形态建成的分子机制: 首先, 我们找到了上游发育调控信号生长素, 并且首次将植物生长素信号转导途径与小G蛋白信号转导途径相关联, 成功地阐述了这两条植物中最重要的信号途径如何互相协作调节植物的生长发育。其次, 我们清晰阐明了一条位于细胞表面调节细胞骨架的生长素信号转导途径, 协同生长素在细胞核内调控基因表达的信号途径, 进一步完善了生长素在植物生长发育过程中的功能。最后, 我们首次发现了细胞膜上ABP1/TMK生长素受体复合体, 成功地解开了植物学界长期以来对于ABP1是否为生长素受体的疑虑, 并阐述了其受体复合体的作用模式, 为将来生长素的研究开辟了新的领域。

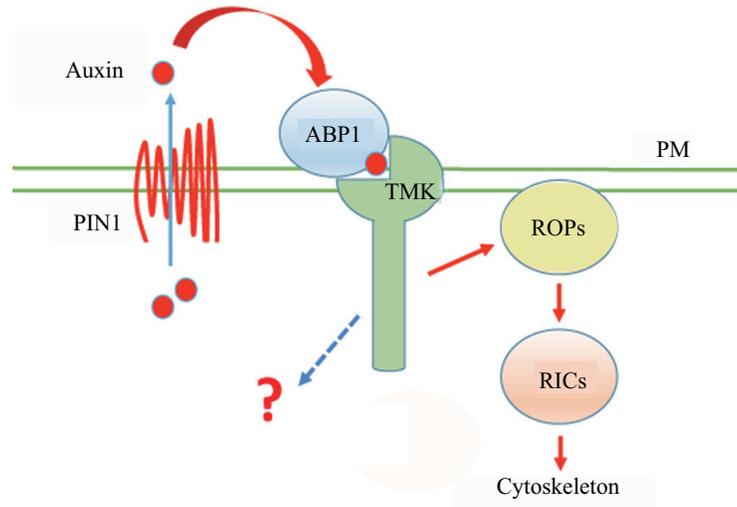


图2 ABP1/TMK作为生长素膜受体复合体介导生长素激活小G蛋白信号途径的工作模型

Fig.2 The working model for auxin activating Rho GTPase through ABP1/TMK sensing complex

参考文献 (References)

- Gray WM. Hormonal regulation of plant growth and development. *PLoS Biol* 2004; 2(9): e311.
- Chen M, Chory J, Fankhauser C. Light signal transduction in higher plants. *Annu Rev Genet* 2004; 38: 87-117.
- Yang Z. Small GTPases: Versatile signaling switches in plants. *Plant Cell* 2002; 14 Suppl: S375-88.
- Vernoud V, Horton AC, Yang Z, Nielsen E. Analysis of the small GTPase gene superfamily of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2003; 131(3): 1191-208.
- Jones MA, Shen JJ, Fu Y, Li H, Yang Z, Grierson CS. The *Arabidopsis* Rop2 GTPase is a positive regulator of both root hair initiation and tip growth. *Plant Cell* 2002; 14(4): 763-76.
- Li H, Lin Y, Heath RM, Zhu MX, Yang Z. Control of pollen tube tip growth by a Rop GTPase-dependent pathway that leads to tip-localized calcium influx. *Plant Cell* 1999; 11(9): 1731-42.
- Gu Y, Fu Y, Dowd P, Li S, Vernoud V, Gilroy S, *et al*. A Rho family GTPase controls actin dynamics and tip growth via two counteracting downstream pathways in pollen tubes. *J Cell Biol* 2005; 169(1): 127-38.
- Gu Y, Vernoud V, Fu Y, Yang Z. ROP GTPase regulation of pollen tube growth through the dynamics of tip-localized F-actin. *J Exp Bot* 2003; 54(380): 93-101.
- Yang Z. Cell polarity signaling in *Arabidopsis*. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2008; 24: 551-75.
- Nagawa S, Xu T, Yang Z. RHO GTPase in plants: Conservation and invention of regulators and effectors. *Small GTPases* 2010; 1(2): 78-88.
- Fu Y, Gu Y, Zheng Z, Wasteneys G, Yang Z. *Arabidopsis* interdigitating cell growth requires two antagonistic pathways with opposing action on cell morphogenesis. *Cell* 2005; 120(5): 687-700.
- Fu Y, Li H, Yang Z. The ROP2 GTPase controls the formation of cortical fine F-actin and the early phase of directional cell expansion during *Arabidopsis* organogenesis. *Plant Cell* 2002; 14(4): 777-94.
- Fu Y, Xu T, Zhu L, Wen M, Yang Z. A ROP GTPase signaling pathway controls cortical microtubule ordering and cell expansion in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2009; 19(21): 1827-32.
- Xu T, Wen M, Nagawa S, Fu Y, Chen JG, Wu MJ, *et al*. Cell surface- and rho GTPase-based auxin signaling controls cellular interdigitation in *Arabidopsis*. *Cell* 2010; 143(1): 99-110.
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M. The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 2005; 435(7041): 441-5.
- Teale WD, Paponov IA, Palme K. Auxin in action: Signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7(11): 847-59.
- Zhao Y. Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annu Rev Plant Biol* 2010; 61: 49-64.
- Xu T, Nagawa S, Yang Z. Uniform auxin triggers the Rho GTPase-dependent formation of interdigitation patterns in pavement cells. *Small GTPases* 2011; 2(4): 227-32.
- Chen JG, Ullah H, Young JC, Sussman MR, Jones AM. ABP1 is required for organized cell elongation and division in *Arabidopsis* embryogenesis. *Genes Dev* 2001; 15(7): 902-11.
- Jones AM, Im KH, Savka MA, Wu MJ, DeWitt NG, Shillito R, *et al*. Auxin-dependent cell expansion mediated by overexpressed auxin-binding protein I. *Science* 1998; 282(5391): 1114-7.
- Jones AM, Herman EM. KDEL-containing auxin-binding protein is secreted to the plasma membrane and cell wall. *Plant Physiol* 1993; 101(2): 595-606.
- Dai N, Wang W, Patterson SE, Bleecker AB. The TMK subfamily of receptor-like kinases in *Arabidopsis* display an essential role in growth and a reduced sensitivity to auxin. *PLoS One* 2013; 8(4): e60990.
- Xu T, Dai N, Chen J, Nagawa S, Cao M, Li H, *et al*. Cell surface ABP1-TMK auxin-sensing complex activates ROP GTPase signaling. *Science* 2014; 343(6174): 1025-8.