

# 被子植物生殖细胞和精细胞

杨延红 王雅英 田惠桥\*

(厦门大学生命科学学院, 厦门 361005)

**摘要** 随着被子植物精细胞分离技术的突破和细胞生物学以及分子生物学技术的发展, 对被子植物精细胞的研究不断深入。在以前细胞生物学研究的基础上结合近年来的分子生物学研究结果对被子植物雄性生殖细胞的产生、精细胞的形成和发育以及有关精细胞的表面蛋白质、精细胞的特异启动子、精细胞cDNA文库的构建等分子生物学研究进展和今后的发展趋势进行了综述。

**关键词** 被子植物; 生殖细胞; 精细胞

双受精是被子植物所特有的现象, 即: 进入胚囊的一对精细胞, 一个和卵细胞融合形成合子, 随后发育成胚; 一个和中央细胞融合, 发育成胚乳。由于大多数被子植物的胚囊深嵌在多层组织包裹的子房中, 对于双受精机制的认识还很肤浅。和卵细胞相比, 被子植物精细胞的操作相对容易, 通过花粉粒直接爆破以及花柱的半离体培养长出花粉管后爆破均可获得精细胞, 所以对于精细胞的研究比较广泛和深入。在上世纪 80 年代, 对精细胞的研究主要是利用细胞生物学技术揭示其形态结构特征。随着分子生物学技术的发展, 特别是近几年来逆转录酶聚合酶链式反应(RT-PCR)技术的出现为研究精细胞的基因表达提供了一个灵敏、稳定、可靠的技术和手段, 依靠这种技术几种植物的精细胞 cDNA 文库已经建立。GFP 基因和一些特异基因的结合为研究花粉特异基因的表达提供了一种有效的手段。生殖细胞特有启动子的分离为研究精细胞的形成机制以及两个精细胞之间在基因表达上的差异提供了一个可能机会。本文从几个方面介绍被子植物精细胞的细胞生物学和分子生物学的研究进展。

## 1 生殖细胞和营养细胞的分化

小孢子的第一次有丝分裂是一个典型的不对称细胞分裂, 产生一个小的染色质高度凝集的生殖细胞和一个大的染色质松散的营养细胞, 前者再分裂产生两个精细胞, 而后者则形成一个延长的花粉管, 把精细胞送入雌配子体——胚囊中。在小孢子有丝分裂之前, 它就形成了明显的极性: 一个大的中央液泡将细胞核挤到细胞的边缘区域。在分裂中期, 纺锤体纵轴与细胞壁(花粉壁)垂直, 产生的两个子细胞自然就形成了一个大的营养细胞和一个小的生殖细胞。

早期的研究显示微管参与了小孢子的不对称分裂。Tanaka 等<sup>[1]</sup>发现秋水仙碱可以阻止培养的郁金香小孢子的不对称分裂, 表明微管参与了调控小孢子的不对称分裂。Brown 等<sup>[2]</sup>运用共聚焦扫描电子显微镜观察了大叶杓兰(*Cypripedium fasciculatum*)小孢子的不对称纺锤体和半球状成膜体的三维结构。然而, 小孢子分裂的纺锤体不对称性是由于小孢子大液泡形成和细胞极性的结果。对小孢子的大液泡形成机制尚少报道。在白菜雄性不育花药中发现, 可育小孢子中的大液泡的形成和钙离子有关, 当内质网中的钙离子明显增加时, 内质网腔膨大形成小液泡, 继而融合成大液泡形成了小孢子的极性<sup>[3]</sup>。这种由于小孢子的大液泡造成极性、导致其不等分裂的现象也有例外。为了证实小孢子不对称分裂导致了形成的营养细胞和生殖细胞大小不等, 最近运用突变体方法分析花粉发育的早期阶段, 结果揭示带有 *sidecar* 花粉突变基因的小孢子经历一次早熟的对称细胞分裂, 形成两个大小相同的细胞, 其中一个分裂形成了营养细胞和生殖细胞, 后者再分裂形成两个精细胞, 结果花粉含有四个细胞, 说明这两个细胞还是有内在的一些不对称机制<sup>[4]</sup>。另外, 最近发现在洋葱小孢子发育过程中, 没有大液泡形成的现象, 其小孢子呈半圆型, 细胞核贴在直线细胞壁一边进行不等分裂(文章未发表)。这类花粉的不等分裂显然是由其他方式控制的, 但目前对此还完全不清楚。

小孢子分裂形成的生殖细胞和营养细胞在发育中表现有差异。用微管敏感药物或低温或高温诱导雄性不育的实验中, 小孢子不分裂或分裂产生了两个

收稿日期: 2006-06-21 接受日期: 2006-10-23

国家自然科学基金资助项目(No.30670126)

\* 通讯作者。Tel: 0592-2186486, E-mail: hqtian@xmu.edu.cn

同等大小的细胞。这些不正常的花粉细胞核与正常花粉的营养核类似,都是具松散的染色质<sup>[1]</sup>。进一步研究发现,不正常花粉内部的所有细胞都表达营养细胞特有的标记基因——*LAT52*<sup>[5]</sup>。*Tanaka*<sup>[6]</sup>发现百合花粉的营养核中组蛋白 H1 的水平逐渐降低,在成熟的花粉粒中组蛋白 H1 的含量很少,而在生殖细胞核中组蛋白 H1 的水平没有变化。普遍认为组蛋白 H1 抑制转录活性并和染色质的凝集相关。这可能解释了为什么在生殖细胞中染色质高度凝集而在营养细胞中是松散的。在营养核中组蛋白 H1 选择性的降低确定了营养细胞的最终发育命运,也是营养细胞和生殖细胞分化的关键因素<sup>[6]</sup>。目前的研究表明雄性细胞(如花粉营养细胞)可以指导特异的基因表达。*Ueda* 等<sup>[7]</sup>分离了一个在百合生殖细胞中特异表达的组蛋白基因——*gH2A* 及其启动子序列, *gH2Apro* 的活性是通过在生殖细胞中雄性配子特异转录因子的调控。推测配子因素(gametic factors, gf)在小孢子分裂过程中只在生殖细胞的一极存在,或者是 gf 本身可能和 *gH2A* 的启动子区域直接相连。虽然营养细胞和生殖细胞之间的发育差异是由小孢子的不对称分裂引起,但真正的调节机制目前还不清楚。大的营养细胞的发育伴随着一定数目的特异基因表达,如 *LAT52*、*LAT59*、*Zm13*、*NTP303* 和 *Brar1*<sup>[8]</sup>, 这些都和花粉成熟、萌发以及花粉管的生长有关。近年来在生殖细胞中也发现了一些特异表达基因<sup>[9]</sup>。推测在营养细胞和生殖细胞中分别存在的这些特异表达基因与二者特定功能有关。

## 2 精细胞的形成

被子植物开花时的花粉分为二胞花粉和三胞花粉,生殖细胞在花粉粒中分裂形成两个精细胞的称为三胞花粉;生殖细胞在萌发的花粉管中分裂形成两个精细胞的称为二胞花粉。对生殖细胞如何分裂形成两个精细胞的研究较少,在培养烟草的花粉管中,偶然观察到了生殖核分裂形成精细胞的现象<sup>[10]</sup>。*Vervaeke* 等<sup>[11]</sup>发现在 6 种凤梨科植物的花粉培养中,添加混合氨基酸(水解酪蛋白)不能促进生殖核的分裂,但添加单个的氨基酸如精氨酸、天冬氨酸和蛋氨酸能促进美叶光萼荷(*Aechmea fasciata*)的生殖核的分裂;而对光萼荷(*A. chantinii*)来说,精氨酸、氨基乙酸、蛋氨酸促进生殖核分裂的效果更好。添加几种特定的氨基酸诱导生殖核分裂比添加水解酪蛋白的效果好,暗示在体内不同植物的花柱内促进生殖核分裂所需要

的特定氨基酸不同。尤其是在美叶光萼荷的花粉管培养基中,增加精氨酸可以导致生殖核的分裂,而添加鸟氨酸则会抑制花粉的第二次有丝分裂。在美叶光萼荷花粉管体外培养的实验中,精氨酸是生殖核进行第二次有丝分裂的关键因子,为确保花粉萌发 6 h 后生殖核分裂,在花粉萌发前 2 h 加入精氨酸是必须的<sup>[12]</sup>。*Rotman* 等<sup>[13]</sup>从拟南芥中分离出一个新的 R2R3 MYB 基因——*DUO1*, 这是一个特定在拟南芥雄性生殖细胞中表达的基因,编码一个新的转录因子,它的缺陷会阻止生殖细胞进入有丝分裂而形成一个大二倍体的细胞。*DUO1* 可能通过激活特定的靶基因(如细胞周期基因)来促进生殖细胞的分裂。显然 *DUO1* 基因作用的时间是在生殖细胞的 G<sub>2</sub> 期,因为生殖细胞通过了 S 期, DNA 含量加倍了,但由于细胞周期的 G<sub>2</sub> 期发生异常,导致生殖细胞不能分裂,产生了一个二倍体细胞。

两个精细胞形成后,有一个发育变化的过程。在早期的研究中就发现在大麦精细胞发育过程中有细胞质丢失的现象<sup>[14]</sup>。如果两个精细胞的细胞质丢失的量不等,有可能会造成两者之间的体积差异。在烟草传粉后 8 h 对 9 对精细胞进行三维重构研究中,比较了 11 项细胞学参数后得出结论,两个精细胞的体积是相同的。但在对烟草传粉后 26 h 的精细胞多项参数比较中,一对精细胞的体积和表面积不同,其体积差异很显然是因为两个精细胞中细胞质被排出的数量不一样造成的<sup>[15]</sup>。表明在花粉管生长过程中两个精细胞之间的体积发生了不同的变化。通过统计进一步证实了烟草两个精细胞发育早期体积相似,但在体内生长 36 h 后,两个精细胞在体积上的差异呈现统计学上的显著差异<sup>[16]</sup>。在烟草中的结果证明它的两个精细胞在成熟的过程中差异逐渐增大。

两个精细胞之间的差异除了在发育过程中逐渐变大外,有人发现在有些植物的生殖细胞中就已出现极性分化了,其结果是直接导致了两个精细胞刚形成时就有差异。在海红豆(*Erythrina Crista-galli*)(二胞花粉)的花粉中,生殖细胞移动到营养细胞内部后有一个含 DNA 细胞器的极性变化。在蓝花丹(*Plumbago auriculata*)(三胞花粉)的生殖细胞中含 DNA 细胞器的不均等分布在生殖细胞移入到营养细胞内部之前就存在了<sup>[17]</sup>。这种含 DNA 细胞器的极性分布是否在被子植物中普遍存在? 对 56 个科、104 个属的 115 种植物的生殖细胞或精细胞的 DNA 分布检测中,发现在没有密切亲缘关系的 4 个科、6 个属的 6 种植

物中, 生殖细胞或精细胞含 DNA 的细胞器呈极性分布, 说明生殖细胞具有极性不是个别植物中的现象<sup>[17]</sup>。由这类生殖细胞分裂形成两个有差异的精细胞也就很自然了。用伴刀豆凝集素(Con A)、麦芽凝集素(WGA)和大豆凝集素(SBA)标记大豆、鸢尾以及朱顶红的生殖细胞, 发现具有尾状形态的生殖细胞, 其表面凝集素受体呈极性分布, 这种生殖细胞表面凝集素受体的极性分布可能导致了在精细胞形成过程中二者的差异<sup>[18]</sup>。从烟草生殖细胞到精细胞的发育过程中 WGA 的结合区域逐渐消失, 表明在生殖细胞分裂后, 精细胞质膜表面受体的糖部分重新分布, 在精细胞质膜上的这种变化可能和其功能上的特殊作用有关<sup>[19]</sup>。

### 3 雄性生殖单位

上世纪 70 年代电子显微镜技术的应用, 使我们对被子植物成熟花粉中的精细胞形态结构有了进一步的认识。除了确认精细胞是一个没有细胞壁的裸细胞外, 还发现精细胞具有一定形状, 两个精细胞相连并与营养核紧密联结。Russell 等<sup>[20]</sup>应用定量三维重构方法观察了白花丹成熟的花粉粒, 指出两精细胞之间通过一横向的具胞间连丝的壁互相连接, 并且两精细胞被营养细胞的内质膜包围, 其中一个精细胞和营养核相连, 构成一个联合体。后来在菠菜和油菜等其他几种三胞花粉植物中也发现了类似的联合体。在此基础上, Dumas 等<sup>[21]</sup>提出了雄性生殖单位(male germ unit, MGU)这一术语, 意指在生殖过程中两个精细胞与营养核在功能上是作为一个统一的传送单位。花粉管中两个精细胞和营养核连在一起, 有助于精细胞在花粉管中的同步运输, 确保了双受精的准确发生。花粉管中的胞质环流非常明显, 且随着花粉管的不断生长在其后面形成胼胝质使细胞质始终集中在花粉管顶端, 保证其顶端生长。两个精细胞维持相互联结, 有利于同步转移。另外, 精细胞具有很强的融合能力, 当从授粉后 13 h 的烟草花粉管中分离精细胞时, 两个幼小的精细胞很容易相互融合。随着花粉管的生长, 比较成熟的两个精细胞就不容易融合, 但加入少量酶液后, 又可使精细胞的融合频率增加<sup>[22]</sup>。因此, 两个精细胞的相互联结也有防止二者在花粉管狭小空间里发生融合以及从花粉管喷射出来时发生融合的功能。在拟南芥中, 精细胞和营养核之间的联接可以通过突变体改变。在 gum 突变体中, 尽管一对精细胞相连并且移入花粉

中间(如同野生型一样), 但是营养核依然是靠近花粉壁。在 mud 突变体中, 精细胞和营养核相连(如同野生型一样), 但是三者都不移向花粉中间, 仍然保留在花粉壁附近<sup>[23]</sup>。

### 4 精子二型性和倾向受精

花粉管中的两个精细胞在受精时一个和卵细胞融合形成胚, 另一个和中央细胞融合形成胚乳, 完成双受精作用。参与双受精的两个精细胞有两个机制需要解决: (1)如何控制两个精细胞分别与卵细胞和中央细胞的融合? (2)如果两个精细胞是有差异的, 二者在受精过程中是随机的还是有选择性的? 对于前一个问题现在还完全没有线索。对后一个问题则成为目前植物生殖生物学研究的热点, 因为精细胞的选择性受精实质上是雌、雄配子细胞的识别问题。前面提到有些植物的精细胞呈现出一定的差异。在白花丹精细胞中, 线粒体和质体这两种细胞器都存在, 但在大的、与营养核联结的精细胞(Svn)中质体极少, 而含大量线粒体; 相反, 不与营养核联结的小精细胞(Sua)中质体丰富而线粒体少。Svn 含线粒体量比 Sua 多 6.4 倍, 而 Sua 的质体比 Svn 多 54 倍<sup>[24]</sup>。油菜和甘蓝的精细胞都缺少质体, 线粒体在一对精细胞中的含量也不等, 与营养核联结的大精细胞含线粒体多<sup>[25]</sup>。甜大戟的两个精细胞不与营养核联结, 但仍然是大的精细胞比小的含线粒体多(214:110)<sup>[26]</sup>。乳黄杜鹃花(*Rhododendron macgregoriae*)的一对精细胞都与营养核联结, 姊妹精细胞之间表面积有明显差异, 平均值为: 大的 99.4  $\mu\text{m}^2$ , 小的 65.3  $\mu\text{m}^2$ , 而细胞的体积、线粒体和质体数量则差异不大<sup>[27]</sup>。海红豆离体萌发的花粉管中, 一对精细胞中一个具有含 DNA 的细胞器, 另一个则缺少<sup>[28]</sup>。

两个精细胞之间的差异不仅表现在体积、表面积和含 DNA 细胞器的数量等特征, 还有其他的一些特征。对分离的白花丹精细胞进行电泳分析, 发现精细胞表面带有负电荷, 平均迁移率为(1.27±0.23) ( $\mu\text{m/s}$ )/(v/cm), 但在两个精细胞之间, 它们的表面电荷表现出差异: 与卵细胞融合的精细胞具有较大的电泳迁移率, 而与中央细胞融合的精细胞其电泳迁移率较小<sup>[29]</sup>。在烟草精细胞电泳中, 两个精细胞向负极移动, 表面带有正电荷, 与营养核相联结的精细胞的电泳迁移速度较另一个小, 也表现出了两个精细胞的表面电荷差异<sup>[30]</sup>。

具有二型性的一对精细胞在受精过程中的融合

对象是一个有趣的问题。Russell<sup>[31]</sup>应用电子显微镜以及三维重构技术发现白花丹(*Plumbago zeylanica*)的两个精细胞特异的参与双受精过程:含质体多、线粒体少的精细胞一般与卵细胞融合,而含线粒体多、质体少的精细胞一般与中央细胞融合,随即提出了被子植物倾向受精的问题。他的研究结果表明这两个精细胞之间的差异使它们在受精前就已被决定和不同靶细胞融合的命运。虽然倾向受精的现象只在白花丹中得到证实,但精细胞的二型性现象在数十种植物中都观察到。最近在鹤顶兰(*Phaius tankervilleae*)中发现释放到退化助细胞中的两个精细胞,先移动的奔向中央细胞,后移动的奔向卵细胞的现象<sup>[32]</sup>,证明了鹤顶兰精细胞的倾向受精现象。被子植物的精细胞是否普遍具有倾向受精的现象引起了植物生殖生物学的极大兴趣。考虑到在受精过程中,卵细胞和中央细胞是位置固定的,而精细胞则是运动的(主动运动或被动运动),因此,探索精细胞识别机制的研究较多。有关被子植物倾向受精的研究进展参见有关文献<sup>[33]</sup>。

## 5 生殖细胞和精细胞的分子生物学研究

随着多种被子植物精细胞被大量分离出来,探索精细胞的分子生物学特征逐渐成为研究配子识别的活跃领域。来自动物和低等植物的有关研究表明,糖蛋白与受精识别有关。借鉴动物和低等植物中的实验结果, Southworth 等<sup>[34]</sup>用阿拉伯半乳糖蛋白的抗体检测了油菜的精细胞和麝香百合的生殖细胞,发现有两个单克隆抗体 JIM8 和 JIM13 在百合的生殖细胞和油菜的精细胞上都有抗体结合部位。Xu 等<sup>[35]</sup>用 6 种不同的凝集素对玉米精细胞进行荧光标记,发现其对蓖麻毒素(RCA I)、Con A 和 WGA 呈阳性反应,表明玉米精细胞质膜含有半乳糖、甘露糖、N-乙酰基葡萄糖和 N-乙酰神经氨酸等单糖残基。从上述结果看,植物精细胞表面存在多种糖蛋白,其中可能包括某些凝集素受体。至于这些糖蛋白在配子识别中的作用,则需要进一步的研究。Southworth 等<sup>[36]</sup>用 BRSP1 抗体检测了白花丹等 6 种植物的精细胞或生殖细胞, BRSP1 能结合到精细胞以及生殖细胞的现象暗示着精细胞部分地保留了分子识别机制。最近,在拟南芥的花粉管以及雄配子体中也发现阿拉伯半乳糖蛋白基因的表达,并且在雄配子的发育过程中可能起作用。这些糖蛋白也可能与精、卵细胞膜相互黏连有关<sup>[37]</sup>。

Xu 等<sup>[38]</sup>构建了百合生殖细胞的 cDNA 文库,从中筛选出一个特异基因(*LGCI*),其表达产物定位在生殖细胞以及精细胞的表面,推测可能与精、卵细胞的相互作用有关。随后 Singh 等<sup>[39]</sup>分离出 *LGCI* 基因的启动子序列,并和 *GFP* 或者 *GUS* 基因构建在一起,通过对 *GUS* 基因转化的烟草植株进行检测,他们认为 *LGCI* 在其启动子的驱使下,只在二胞花粉的生殖细胞以及后来的精细胞中特异表达,而在小孢子和成熟花粉的营养细胞以及其他的体细胞营养组织和花器官中都不表达。这个启动子是一个抑制元件,当其部分片段被删除时,报告基因就会更加广泛的表达。这是第一例有关雄性配子特异启动子的研究报道。Xu 等<sup>[38]</sup>从百合生殖细胞的 cDNA 文库中筛选出两个生殖细胞所特有的组蛋白基因 *gcH2A* 和 *gcH3*,生殖细胞形成后这两个基因被激活,其转录产物随着生殖细胞的成熟日益增多。随后 Ueda 等<sup>[40]</sup>又从百合的生殖细胞中分离出了 3 种新的核心组蛋白基因 *gH2A*、*gH2B* 以及 *gH3*,其氨基酸序列和其他植物体细胞的核心组蛋白仅有 40%~50% 的同源性,它们所编码的蛋白质在 2 个精细胞中含量最高,推测可能与雄配子的染色质浓缩或重组有关,并抑制雄配子的基因表达。Ueda 等<sup>[41]</sup>进一步发现了百合生殖细胞特有的核心组蛋白 *gH2A* 的启动子序列,通过对烟草植株的转化研究表明基因的 5' 端上游区域可以使基因特异地在生殖细胞中表达,而在营养细胞或其他的营养组织中均无活性。

在哺乳动物的配子发育过程中泛素(ubiquitin)具有特殊的功能,在精细胞发育过程中原来体细胞的组蛋白逐渐降解,而产生一些精细胞特有的组蛋白将其替换形成高度凝集的染色质。在植物精细胞发生过程中也曾报道一些特异的组蛋白会出现在生殖细胞中,可能和精细胞的发生相关<sup>[38]</sup>。Singh 等<sup>[9]</sup>构建了麝香百合生殖细胞和白花丹精细胞的 cDNA 文库,在两个 cDNA 文库中发现各有一个基因编码相同的多聚泛素(polyubiquitin),但两个基因的编码区外不同。这两个基因的功能是参与蛋白质的降解(泛素化),推测是在雄性生殖细胞中加强蛋白质的更新。原位杂交和 RT-PCR 分析都表明泛素基因的表达在白花丹一个精细胞中比另一个中高的多。和百合生殖细胞中相似, Alché 等<sup>[42]</sup>发现在橄榄发育后期的花粉也出现一个特异的泛素带。编码泛素的基因在真核生物中是高度保守的,在雄性配子细胞特有启动子调控下,大量泛素基因的表达可能调控了不同的蛋白质降解



过程,正是这些不同时间和不同部位的原有蛋白质的降解确保了高等植物雄配子的发生和发育。在花粉的发育过程中,每一次细胞分裂都导致了细胞发育的转变:二倍体的小孢子母细胞经过减数分裂导致了孢子体细胞向小孢子的转变;小孢子的有丝分裂导致了孢子向配子体的转变,而生殖细胞的分裂则产生雄配子。在这些转变过程中,都伴随着旧蛋白质的分解和新蛋白质的合成,即消除旧细胞的影响,构建新细胞的结构。因此,在精细胞的发育过程中,蛋白质泛素化的作用是显而易见的。

由于精细胞的体积很小,并且被包裹在营养细胞的内部,在表达序列标签(expressed sequence tags, EST)数据库中来自精细胞的 mRNA 资料很少,但是近年来随着精细胞分离纯化技术的提高以及分子生物学技术的发展,一些植物的生殖细胞或精细胞的 cDNA 文库被构建。Xu 等<sup>[43]</sup>构建了烟草精细胞 cDNA 文库,从 396 个克隆片段中初步筛选出 2 个在生殖细胞和精细胞中特异表达的 *NtS1* 和 *NtS2* 基因,其中的 *NtS1* 编码一个多聚半乳糖醛酸酶,推测该酶对烟草雄配子分化过程中的细胞壁降解起作用。苟小平等<sup>[44]</sup>构建了水稻精细胞的 cDNA 文库,并利用抑制差减杂交技术从中筛选到一些在精细胞中特异表达的基因。最近, Miao 等<sup>[45]</sup>从水稻精细胞 cDNA 文库中筛选出 *RSSG58* 基因,仅在花粉发育中的精细胞中优势表达,其编码的蛋白质与拟南芥的肌球蛋白(myosin heavy chain)有一定的同源性,因此它可能对精细胞在花粉管中的运动和精、卵细胞的识别起作用。Bai 等<sup>[46]</sup>等从水稻精细胞 cDNA 文库中筛选到一个在精细胞中表达的基因 *RSG6*,其表达活动始于二胞花粉时期,在成熟花粉的精细胞中活性最强。随后,兰利琼等<sup>[47]</sup>利用已知的 *RSG6* 基因序列设计引物扩增到 2 个 *RSG6* 启动子片段 *PB* 和 *PS*,分别位于水稻第 10 和第 4 染色体上,*PB* 和 *PS* 序列之间有较高的同源性。在玉米的精细胞 cDNA 文库中,大约 8% 带有明显开放阅读框的 cDNA 克隆片段是已知或推测编码分泌型蛋白或质膜蛋白,推测这些蛋白质和精、卵细胞识别以及融合有关。另外, *Zmsp041*、*Zmsp943*、*Zmsp842*、*Zmsp443* 和 *Zmsp721* 基因都是在精细胞中特异表达,而 *Zmsp271*、*Zmsp034* 以及 *Zmsp444* 基因在营养细胞中的表达比在精细胞中更丰富,表明有一些基因转录在营养细胞和精细胞中都存在<sup>[48]</sup>。有趣的是精细胞所特有的这些转录片段中的一部分是在花粉发育的早期就被合成。如何解释早期存在的

这些转录片段后来成为精细胞所特有的?或许这些片段被极端地标记,然后在精细胞中以新的方式被翻译<sup>[48]</sup>。既然生殖细胞和精细胞被认为是转录不活跃的,如何解释为什么玉米的精细胞有很多不同的 mRNA?或许其中的一些 mRNA 直到转运到中央细胞或卵细胞后才开始翻译。在拟南芥中已证实了一些来自父本的基因是在受精后几天才表达<sup>[49]</sup>。

然而,在上述精细胞 cDNA 文库构建的研究中,都是将两个精细胞混合在一起得出的结果。而雌、雄配子的识别机制是两个精细胞分别与卵细胞和中央细胞融合的过程。因此,下一步精细胞 cDNA 文库的研究应集中在两个精细胞之间的差异分析。最近, Russell 实验室在分离白花丹姊妹精细胞两个群体的基础上又分别构建了二者的 cDNA 文库并对其进行了分析(私人通讯)。这是筛选两个精细胞之间特异基因的第一次尝试。然而,白花丹花粉粒中的精细胞是否发育成熟,能否代表受精时的精细胞还需要验证。为构建二胞花粉植物的精细胞 cDNA 文库, Yang 等<sup>[30]</sup>从烟草全长花柱的花粉管中分离并采集了数量上千的两个精细胞群体,为构建烟草两个精细胞的 cDNA 文库工作提供了条件。

## 6 小结

被子植物雄配子体的细胞虽少,但结构特殊,功能复杂。对被子植物的精细胞研究一直是一个活跃的领域,但很多机制还不清楚。随着分子生物学技术的日益完善以及一些新的实验技术的应用,将有可能对高等植物的雄性配子的发生以及发育机制有进一步的了解。目前已构建了几种植物的精细胞 cDNA 文库,从中筛选出一些雄配子特异表达的基因,特别是对这些特异基因启动子序列的分离,将使得人们对精细胞发育过程中这些特异基因的表达和调控规律有了更深入的认识。通过两个精细胞的 cDNA 文库构建,区分出两个精细胞之间的基因和蛋白质差异后,高等植物雌、雄配子识别的核心问题有望获得解决。

## 参考文献 (References)

- [1] Tanaka I et al. *Protoplasma*, 1981, **108**: 329
- [2] Brown RC et al. *Sex Plant Reprod.* 1994, **9**: 59
- [3] 谢潮添等. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, **31**: 615
- [4] McCormick S et al. *Plant Cell*, 2004, **16**: S142
- [5] Eyal Y et al. *Plant Cell*, 1995, **7**: 373
- [6] Tanaka I et al. *Planta*, 1998, **206**: 561

- [7] Ueda K *et al.* *Plant Mol Biol*, 2005, **59**: 229
- [8] Okada T *et al.* *Sex Plant Reprod*, 2001, **13**: 301
- [9] Singh MB *et al.* *Sex Plant Reprod*, 2002, **14**: 325
- [10] Read SM *et al.* *Protoplasma*, 1993, **174**: 101
- [11] Vervaeke I *et al.* *Plant Cell Tiss Org Cul*, 2004, **76**: 17
- [12] Vervaeke I *et al.* *Plant Cell Tiss Org Cul*, 2005, **81**: 77
- [13] Rotman N *et al.* *Curr Biol*, 2005, **15**: 244
- [14] Mogenson HL *et al.* *Protoplasma*, 1985, **128**: 1
- [15] Yu HS *et al.* *Sex Plant Reprod*, 1994, **7**: 324
- [16] Tian HQ *et al.* *Sex Plant Reprod*, 2001, **14**: 123
- [17] Saito C *et al.* *Sex Plant Reprod*, 2002, **15**: 167
- [18] Fang KF *et al.* 2003, *Acta Bot Sin*, **45**: 1373
- [19] Fang KF *et al.* *Plant Sci*, 2005, **168**: 1259
- [20] Russell SD *et al.* *Protoplasma*, 1981, **107**: 85
- [21] Dumas C *et al.* *What's New in Plant Physiology*, 1984, **15**: 17
- [22] Tian HQ *et al.* *Sex Plant Reprod*, 1998, **11**: 171
- [23] Lalanne E *et al.* *Plant Physiol*. 2002, **129**: 865
- [24] Russell SD. *Planta*, 1984, **162**: 385
- [25] McConchie CA *et al.* *Planta*, 1987, **170**: 446
- [26] Wilms HJ *et al.* *Plant Sperm Cells as Tools for Biotechnology*, Wageningen: Pudoc, 1988, 75
- [27] Taylor PE *et al.* *Sex Plant Reprod*, 1989, **2**: 254
- [28] Saito C *et al.* *Sex Plant Reprod*, 2000, **12**: 296
- [29] Zhang Z *et al.* *Planta*, 1999, **208**: 539
- [30] Yang YH *et al.* *Sex Plant Reprod*, 2005, **18**: 47
- [31] Russell SD. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, **82**: 6129
- [32] Ye XL *et al.* *Planta*, 2002, **215**: 60
- [33] 葛丽丽等. *植物生理与分子生物学学报*, 2006, **32**: 271
- [34] Southworth D *et al.* *Sex Plant Reprod* 1996, **9**: 269
- [35] Xu HP *et al.* *Protoplasma*, 1997, **198**: 125
- [36] Southworth D *et al.* *Protoplasma*, 1999, **208**: 115
- [37] Dresselhaus T. *Curr Opin Plant Biol*, 2006, **9**: 41
- [38] Xu HL *et al.* *Pro Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 2554
- [39] Singh M *et al.* *FEBS Lett*, 2003, **542**: 47-52
- [40] Ueda K *et al.* *Chromosoma*, 2000, **108**: 491
- [41] Ueda K *et al.* *Plant Mol Biol*, 2005, **59**: 229
- [42] Alché JD *et al.* *Sex Plant Reprod*, 2000, **12**: 285
- [43] Xu HP *et al.* *Sex Plant Reprod*, 2002, **14**: 339
- [44] 苟小平等. *植物学报*, 2001, **43**: 1093
- [45] Miao C *et al.* *Acta Bot Sin*, 2003, **45**: 234
- [46] Bai Y *et al.* *Acta Bot Sin*, 2003, **45**: 346
- [47] 兰利琼等. *中国水稻科学*, 2004, **18**: 290
- [48] Engel ML *et al.* *Plant J*, 2003, **34**: 697
- [49] Vielle-Calzada JP *et al.* *Nature*, 2000, **404**: 91

## Generative and Sperm Cells of Angiosperms

Yan-Hong Yang, Ya-Ying Wang, Hui-Qiao Tian\*

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract** Two Sperm cells from a pollen tube fuse with egg cell and central cell separately to complete the double fertilization of angiosperms. The researches on sperm cells are becoming an active field of plant developmental and reproductive biology with technique development of cell and molecular biology and of isolating sperm cells. Based on the recently results of cell and molecular biology on generative and sperm cells of angiosperms, we reviewed the advance on the generative cell producing, the formation and development of sperm cell, the proteins on the surface of sperm cell, the isolation of specific sperm promoter and creating cDNA library of both sperm cells. The results of recent research into these topics may help us to understand the mechanism in sperm cell development of angiosperms.

**Key words** angiosperms; generative cell; sperm cell

Received: June 21, 2006 Accepted: October 23, 2006

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30670126)

\*Corresponding author. Tel: 86-592-2186486, E-mail: hqtian@xmu.edu.cn