

生型 Tax 以及能激活 NF- $\kappa$ B 活性的 Tax 突变体都可阻止 IL-2 缺失所诱发的细胞凋亡。相反,能激活 ATF/CREB 而不能激活 NF- $\kappa$ B 的 Tax 突变体无论是否存在 IL-2 都能促进凋亡<sup>[24]</sup>。这些结果表明 Tax 可通过 NF- $\kappa$ B 的激活来阻止 T 细胞凋亡。这与原癌蛋白 Ras 类似,Ras 可诱导不依赖于 p53 的凋亡效应,然而激活 NF- $\kappa$ B 时,凋亡被抑制<sup>[25]</sup>。

### 五、调控 G2-M 转换及 细胞内其他目标

由于 ATL 细胞核型异常,往往出现多型多核巨细胞<sup>[26]</sup>。表达 Tax 的细胞跟随出现 DNA 渐进性损伤。过表达 Tax 的细胞出现多核以及微核<sup>[27]</sup>。Tax 诱发的多核/微核包含动粒,表明染色体的分离及有丝分裂后核的装配失常,从而暗示 Tax 可能导致有丝分裂检查点失控。有丝分裂(M)纺锤体检查点防止染色体在双极纺锤体间排列正确前进入后期而引发细胞分裂。Tax 可以与人有丝分裂检查点蛋白 MAD1 结合,干扰 MAD1 同源二聚体的形成,导致 M 检查点的丢失,这可能是导致 HTLV-1 诱发的 ATL 细胞出现核型异常的原因之一<sup>[28]</sup>。而基因组的不稳定性也是导致癌变的重要因素。卡波氏肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)的潜伏相关抗原 LANA 可在有丝分裂期使 KSHV DNA 整合于染色体<sup>[29]</sup>。最近我们发现,mitosin 能与 Tax 的结合蛋白 ATF4/CREB2 结合并影响其 DNA 结合能力,mitosin 为染色体着丝点的组分,在有丝分裂期位于动粒<sup>[30]</sup>。由于 mitosin 的表达随着细胞周期的转换而变化,这是否提示 Tax 还可能与 mitosin 竞争 ATF4,从而导致细胞功能的失调。

总之,由于 HTLV-1 基因组较小,因而 Tax 可

做为—多功能的调节蛋白参与 HTLV-1 转化 T 细胞的各个过程及通路,使细胞周期调控的关键检查点失控,同时 Tax 还可协调细胞内的各个信号途径,最终使 T 细胞转化。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Hidaka, M. et al. ,1988, *EMBO J.* , 7:519.
- [ 2 ] Zhao, L. J. et al. ,1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* ,89: 7070.
- [ 3 ] Lemasson, E. , et al. ,1997, *J. Virol.* ,71:1975.
- [ 4 ] Korber, B. et al. ,1991, *J. Virol.* ,65:5471.
- [ 5 ] Grassmann, R. et al. ,1992, *J. Virol.* ,66:4570.
- [ 6 ] Pozzatti, R. , et al. ,1990, *Mol. Cell. Biol.* ,10:413.
- [ 7 ] Coscoy, L. et al. ,1998, *Virology* ,248:332.
- [ 8 ] Rosin, O. et al. ,1998, *J. Biol. Chem.* ,273:6698.
- [ 9 ] Lemasson, I. et al. ,1998, *J. Biol. Chem.* ,273:23598.
- [ 10 ] Schmitt, I. et al. ,1998, *J. Virol.* ,72:633.
- [ 11 ] Neuvent, C. et al. ,1998, *Mol. Cell. Biol.* ,18:3620.
- [ 12 ] Suzuki, T. et al. ,1996, *EMBO J.* ,15:1607.
- [ 13 ] Suzuki, T. et al. ,1999, *Virology* ,259(2):384.
- [ 14 ] Gottlieb, T. M. et al. ,1996, *Biochem. Biophys. Acta.* , 1287:77.
- [ 15 ] Nagai, H. et al. ,1991, *Jpn. J. Cancer Res* ,82:1421.
- [ 16 ] Reid, R. L. , et al. ,1993, *Oncogene* ,14:3029.
- [ 17 ] Mulloy, J. C. et al. ,1998, *J. Virol.* ,72:8852.
- [ 18 ] Pise-Masison, C. A. et al. ,2000, *AIDS Res Hum Retroviruses* ,16(16):1669.
- [ 19 ] Akagi, T. , et al. ,1996, *Oncogene* ,12:1645.
- [ 20 ] de La Fuente C. et al. ,2000, *J. Virol.* ,74(16):7270.
- [ 21 ] Mrozov, A. , et al. ,1997, *J. Virol.* ,71:3451.
- [ 22 ] Los, M. et al. ,1998, *J. Immunol.* ,161:3050.
- [ 23 ] Chlichlia, K. et al. ,1997, *J. Gen. Virol.* ,78:3277.
- [ 24 ] wanaga, Y. et al. ,1999, *J. Virol.* ,73(2):1271.
- [ 25 ] Mayo, M. W. et al. ,1997, *Science* ,278:1812.
- [ 26 ] Taguchi, H. et al. ,1993, *Cancer* ,71:133.
- [ 27 ] Semmes, O. J. , et al. ,1996, *J. Virol.* ,70:6347.
- [ 28 ] Jin, D. Y. , et al. ,1998, *Cell* ,93:81.
- [ 29 ] Ballestas, M. E. , et al. ,1999, *Science* ,284:641.
- [ 30 ] Zhu, X. , et al. ,1995, *Mol. Cell. Biol.* ,15:5017.

## 植物液泡的形成及其功能

廖祥儒 陈 彤 刘小丽

(河北大学生命科学学院 保定 071002)

液泡是细胞内除线粒体和质体外的由膜所包围的泡状结构,早在 1844 年 Naegeli 就对植物细胞中的液泡进行了研究。实验证明,植物液泡膜系统由胞内生物合成和内吞作用两条途径共同形成。形成途径包括:(1)定位到液泡的一些蛋白质在分泌途径的早期要与运送到细胞表面的蛋白质分开;(2)由质膜获取原料的内吞作用;(3)液泡形成过程中的自我

吞噬作用;(4)直接由细胞质向液泡传递的过程<sup>[1]</sup>。植物液泡的一些基本性质与海藻、酵母细胞的液泡以及动物细胞的溶酶体相同。它们可作为离子和代谢物的贮藏库,对细胞解毒和稳定内环境十分重要;参与细胞对环境及生物因素的应答反应;在植物的营养器官里,它们和细胞壁共同作用产生膨压,为细胞生长提供驱动力;在种子和其他特殊的贮藏组织

中,它们可以贮藏蛋白质和可溶性碳水化合物。由此可见液泡在植物细胞的生长发育中具有重要作用。

## 一、液泡的多样性

植物液泡多种多样,它们在形状、大小、内含物和功能上都有很大不同,一般在同一细胞内即可以有多种类型的液泡。尽管液泡在形态上的不同已经为很多学者所证实,但人们普遍认为所有的液泡都具有共同的起源,它们都属于同一家族。随着细胞分级分离技术、生化分析技术的改进以及分子探针的应用,对不同组织细胞中的液泡组分进行定性已成为可能<sup>[2]</sup>。根据现有的研究,植物细胞内主要分布有营养性液泡和贮存性液泡,其中中央大液泡即是植物营养性液泡的特殊形式。

### 1. 中央大液泡

中央大液泡是成熟植物细胞的典型标志之一。在植物营养组织的大部分细胞中,中央液泡都占据了很大的空间。中央大液泡的功能也具有多样性,这对于许多生理活动都是必需的,其主要功能是维持渗透压和内环境的稳定,代谢产物贮存,隔离和排除异物,消化细胞质组分等。不过中央大液泡主要是作为营养性液泡而起作用的,即与物质代谢有关,此类液泡膜上一般有营养特异性液泡膜固有蛋白(Tonoplast intrinsic protein,略写为 TIP)即水通道 $\gamma$ -TIP<sup>[3]</sup>。

### 2. 贮存性液泡

某些特殊细胞的液泡中贮存有起保护和信号作用的复合物,尤其是那些对植物生长意义重大的组织细胞,例如叶表皮细胞等。早在上个世纪,人们就发现许多色素定位在花、叶和茎表皮的细胞中。最近研究结果显示,这些特殊液泡的膜上具有特异性的含 ABC 结构域的载体(ATP-binding cassette,略写为 ABC)<sup>[1]</sup>。

种子和果实的贮藏组织中具有可贮存蛋白质的液泡(Protein storage vacuole,略写为 PSV)。PSV 的液泡膜上具有种子特异性的 $\alpha$ -TIP<sup>[3]</sup>。当受到伤害和发育转变时,贮藏蛋白质也会在特殊的营养细胞中形成并累积<sup>[4]</sup>。不同的是,营养组织中 PSV 膜上具有种子特异性的水通道 $\alpha$ -TIP<sup>[4,5]</sup>。在禾谷类作物的胚乳中,蛋白质累积在来源于内质网的与液泡大小相仿的组织结构中。

最近一些研究显示,在同一个细胞中不同类型的液泡可以同时发挥作用,不同类型的液泡组分分

别具有特异性不同的 TIP。已经发现在大麦和豌豆幼苗的根尖细胞、成熟的烟草植株、豌豆幼苗的胚芽细胞中同时含有最少两种液泡,它们分别含有两种不同的水通道 $\alpha$ -TIP 和 $\gamma$ -TIP<sup>[3]</sup>。大麦根尖细胞中的凝集素贮存于具有 $\alpha$ -TIP 的液泡中,而在具有 $\gamma$ -TIP 的液泡中无凝集素。与此相反,大麦的酸性半胱氨酸蛋白酶则存在于具有 $\gamma$ -TIP 的液泡中。因此种子特异性的 TIP 常常定位于贮存性液泡,使蛋白质与降解酶分开;营养特异性的 TIP(如 $\gamma$ -TIP)常常定位于酸性的具有水解活力的液泡中,这类液泡内部可降解蛋白质。当细胞形成大液泡时,这两个部分开始融合<sup>[3]</sup>。

Swanson 等在大麦糊粉层的原生质体内也发现这两种不同的液泡类型。但除了 PSV 外,糊粉细胞还具有一种被称为二级液泡的可降解蛋白质的结构。尽管 PSV 和二级液泡都具有蛋白质水解酶,但具有植物液泡典型特征的二级液泡具有溶酶体的作用,可能参与糊粉细胞的程序性死亡<sup>[6]</sup>。

液泡多样性的另一个例子来自于含羞草(*Mimosa pudica*)的叶枕运动细胞<sup>[7]</sup>。不成熟运动细胞中的液泡距细胞核较近,含有大量的单宁,被认为具有 $\text{Ca}^{2+}$ 库的作用。而成熟运动细胞的液泡中多水且不含单宁,体积比含单宁的液泡大许多,占据成熟细胞的中央位置。细胞体积的变化与叶枕调节的叶片运动有关,这种运动受大液泡中水的进出来调节,其中大液泡吸水即引起叶枕细胞增大从而使叶片打开;相反则使叶片合拢。已经发现在大液泡膜上具有 $\gamma$ -TIP 和液泡型质子转运 ATPase(V-ATPase)。这两种液泡都可以随细胞收缩而改变形状。但含有单宁的液泡形成内部相连的管状结构,而多水的液泡则形成膜褶皱。含单宁液泡和多水液泡也不会成熟的运动细胞中融合而是同时存在。

除此之外,由于液泡是高度动态性的细胞器,常常能够改变形状和功能,在一个细胞中经常可以找到几代的液泡。在发育中的豌豆子叶细胞中已发现分别含有 $\gamma$ -TIP 和 $\alpha$ -TIP 的两类液泡,其中含 $\gamma$ -TIP 的营养特异性液泡随子叶的发育而减少,而含 $\alpha$ -TIP 的贮藏性液泡则在不断形成<sup>[1]</sup>。此外,在缺乏蔗糖的悬浮培养细胞中,蛋白质降解由大量活跃的自体吞噬的液泡支持。当自体吞噬的消化过程完结之后,小液泡就融合成一个大的较成熟的中央大液泡<sup>[1]</sup>。当细胞内消化被抑制时,自体吞噬性的液泡中含有未被消化完的底物,它们留在胞质中成为残余小体,与大的中央液泡分开。

## 二、液泡的形成

直到最近,我们关于液泡形成和维持的知识很大程度上是建立在形态观察的基础之上的。在过去几年中的科技突破使我们对于液泡形成的理解达到了较细致的分子水平。驻留在液泡中的蛋白质就像在液泡中降解的蛋白质一样,通过各自不同的途径被运送到液泡,其中包括生物合成、自体吞噬、内吞运输等(见图1)。这些过程实施的基本机制在真核生物中具有高度的保守性<sup>[8]</sup>。

### 1. 营养性液泡形成的途径

(1) 早期分泌途径 与动物细胞和酵母一样,在植物细胞中像膜蛋白质这样新合成的可溶性物质的前期运输,一般通过由内质网开始的液泡途径来完成。大多数定位到液泡的可溶性蛋白质都是由膜结合的核糖体合成的,它们的前体形式都具有一段暂时的N末端信号肽,新合成的前体高效定位到内质网腔。当它们移位经过内质网时,分泌蛋白质就会被折叠并进行早期的翻译后修饰。驻留在内质网的蛋白质,例如内质网腔的结合蛋白质 BiP<sup>[9]</sup>,会协助新合成的多肽折叠成正确构象。未能形成正确三维结构的蛋白质最终通过一种不包括高尔基体调节路线的机制送到液泡中降解。另外还有一些在内质网中未被正确折叠的蛋白质通过反向移位作用经内质网运送到胞液中<sup>[10]</sup>。

经内质网分泌的蛋白质可能具有定位信号。这些信号对于它们向分泌途径中几乎所有组分的定位或滞留都是必需的。对于一些蛋白质来说,定位的组织结构就是内质网,这些蛋白质不能再被运送到更远的地方。所有能沿分泌途径转移的蛋白质一般通过一种仍不清楚的囊泡-管状中间结构运送到高尔基体。高尔基体在蛋白质分泌途径中具有关键的作用。在植物细胞中,它由一系列分散的单位和围绕在其周围的蛋白质类基质组成。就像动物细胞中一样,植物细胞中每个形态学上高尔基体的单位都包括一个高尔基体中间膜囊和一个在高尔基体反面的管网结构(Trans-Golgi network,略写为TGN)<sup>[11]</sup>。高尔基体中间膜囊由三组彼此分离的潴泡组成,它们的形态、细胞化学及生化特性都有所不同。新合成的分泌蛋白质其共价结构修饰从内质网开始,在高尔基体复合物和后高尔基体组分中继续进行。

(2) 晚期分泌途径——从TGN到前液泡 高尔基体中的TGN是分泌途径中一个重要的分支

点,也是定位发生的位点,将胞泌蛋白质从定位到液泡的蛋白质中分离。TGN的大小随细胞的特定功能而不同。其形成和转运蛋白质的过程由特殊细胞要求而被调节。在形成液泡较活跃的细胞中液泡和有丝分裂中分隔的形成对TGN的大小就有一定的调节作用。在正形成新液泡的细胞中,TGN具有一个弯曲的多边形的网状结构,从朝向高尔基体的盘状驻液腔向四周伸出表面光滑的管状结构。通过这种结构,一个TGN可以被多个高尔基体中间膜囊共用。在TGN中可以观察到笼形蛋白质包被的小泡和含有小泡的膨胀小囊。大量的小泡从TGN出芽,调节并控制生物大分子运送到液泡<sup>[1]</sup>。

(3) 前液泡囊腔 来源于TGN的小泡在液泡途径中形成一种介于晚期高尔基体反面的定位点和液泡之间的一种中间囊腔。这些小泡和后液泡有关系,因为它们的发生上相当于液泡的祖先。它们也调节内质网/高尔基体复合体与液泡间的运输,在功能上也更接近于液泡。由此看来,它们可以被认为是前液泡囊腔(Provacuolar compartment,略写为PVC)<sup>[1]</sup>。

初生的后液泡由TGN网状结构的节间出芽,平均直径100nm,明显大于TGN管状结构的直径(约15nm)。囊状的后液泡很快进入与来源小泡孔径相同的管状的后液泡。它们的腔内充满了源于膜结构内褶形成的小泡。已形成液泡的细胞中的管状后液泡可能就是类似于动物细胞和酵母中普遍存在的PVC的结构<sup>[1]</sup>。如果从后液泡中形成的膜流减慢或者由TGN/内吞作用获得的膜流增加,就会产生动力学效应而使膜增殖。

(4) 自体吞噬(autophagy)和液泡形成 经三维高压电镜观察发现,自体吞噬液泡的形成开始于一个管状化的后液泡结构,可以包围分散的胞内物质<sup>[1]</sup>。细胞化学研究显示TGN、后液泡和自体吞噬小泡是酸性的,含有溶酶体的酸性水解酶。自体吞噬小泡中的胞质在小泡完全封闭后开始降解。据推测,消化酶类从围腔中释放出来,作为内部膜结构的破坏者。消化过程一旦完成,一个典型的液泡就形成了。外部的膜不被水解酶所渗透,使其消化活性限于形成的液泡内,这层膜便形成了液泡膜。新形成的液泡开始融合形成一些大的液泡,最终通过 $\gamma$ -TIP调节,快速运送水分通过液泡膜,使液泡迅速增大<sup>[12]</sup>。

(5) 饥饿诱导的自体吞噬 在已经形成了液泡的细胞中,由于饥饿的诱导,还会发生自体吞噬过

程。例如从悬液培养细胞体系中去除蔗糖就可以激活液泡形成的自体吞噬途径<sup>[13,14]</sup>。在此途径中,一部分外表面的胞质可以被包围在双层膜结构中并最终被消化并形成小液泡。小液泡融合成中央大液泡。研究显示细胞自体吞噬的诱导由供应给线粒体的呼吸底物来控制,而不是由于蔗糖和磷酸己糖的浓度下降而引起的<sup>[13]</sup>。自体吞噬性液泡的形成与细胞内蛋白质水解效率的增高和膜内极性脂类的大量分解有关<sup>[13]</sup>。

作为一条降解途径,自体吞噬在蛋白质和组织更新过程中具有重要作用。在营养缺乏等恶劣条件下,它对细胞生存极为重要。

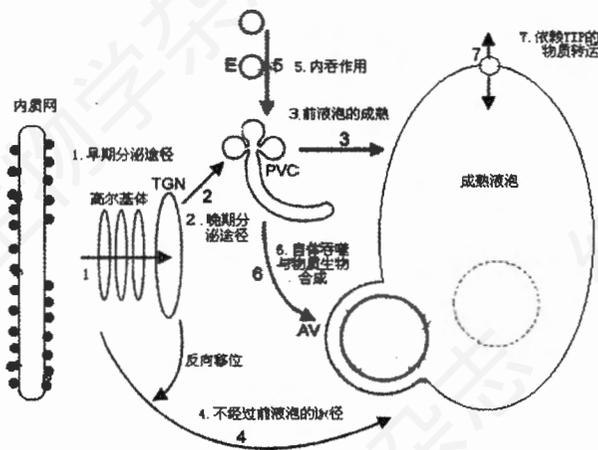


图1 液泡形成的示意图[参考 Marty(1999)并做修改]

## 2. 贮藏类液泡的形成途径

种子和营养器官的特殊细胞中会积累储备氨基酸的蛋白质。最常见的氨基酸贮藏蛋白质是球状蛋白质,它们广泛存在于不同植物种子的胚中。谷蛋白是禾谷类植物特有的贮藏蛋白质。大多数贮藏蛋白质,包括球状蛋白质和一些谷蛋白一般通过高尔基体复合物运送到液泡<sup>[15]</sup>。然而关于豆科植物和禾谷类植物的贮藏蛋白质的研究显示,贮藏蛋白质也能在液泡形成的不同途径被运输,并最终被贮存在一系列对植物物种、组织、细胞分化阶段和蛋白质种类具有特异性的液泡组分中。

(1) 依赖高尔基体的途径和不依赖高尔基体的途径 间歇标记实验、形态学和免疫细胞化学研究以及生物活性分析已经证明,在豆科植物和一些双子叶植物中,许多贮藏蛋白质向 PSV 的运输依赖于高尔基体。这类贮藏蛋白质先以前体形式被合成,通过高尔基体复合物运送到特殊的液泡之中<sup>[1]</sup>。

然而在运输途径的早期,很少能够观察到粗面

内质网腔蛋白质贮存的发生。浓缩的贮存蛋白质一般出现于直径约为 100nm 的光面小泡中。这些小泡与高尔基体复合物的正面、中间和反面的膜囊相联系<sup>[16]</sup>。此外在接近高尔基体的区域中,常有三类不同类型的小泡即携带贮藏蛋白质的小泡、含有细胞壁聚合物的小泡和 CCV 小泡 (Clathrin-coated vesicle)。高尔基体上液泡贮藏蛋白质定位位点的不同和多种分泌小泡的参与显示液泡在功能上具有一定的差异<sup>[17]</sup>。根据当前的观点,含有贮藏蛋白质的小泡由高尔基体顺面结构产生,蛋白质在成熟过程中由高尔基体 TGN 被定位进入贮藏性液泡<sup>[17]</sup>。

最近从南瓜和蓖麻种子的细胞中发现了一条不同的途径<sup>[18]</sup>。在这些细胞中原球蛋白和 pro2S 清蛋白是由粗面内质网通过较大的小泡 (直径 200 - 400nm) 运送 PSV 的。这些较大的小泡与来源于高尔基体的小泡不同,它们类似于豌豆子叶中的原蛋白质体<sup>[18]</sup>。在这些小泡中驻留的原蛋白质核心直接来源于内质网中形成的蛋白质浓缩体<sup>[19]</sup>。它们积累原蛋白质前体和诸如 BiP (Binding protein) 这类驻留内质网的蛋白质。在成熟的南瓜子叶中,绝大部分贮藏蛋白质未被糖基化,积累前体的小泡在高尔基体附近,因此它们的运输不会被羧基载体 monensin 抑制。与南瓜种子相反,蓖麻籽中含有带有复杂聚糖的贮存糖蛋白。糖蛋白是在高尔基体复合物中合成的,这些糖蛋白随后进入位于核心糖蛋白周围的源于内质网的前体积聚液泡。贮存糖蛋白和其他糖蛋白最终一起被运送到成熟液泡中,但最后步骤仍不清楚<sup>[1]</sup>。

(2) 自体吞噬和 PSV 在成熟的豆科植物子叶的薄壁细胞中,一些大营养性液泡一般被转化为大量的 PSV。超微结构观察显示,营养性液泡先被含有贮存蛋白质的新合成的管状膜系统围绕<sup>[1]</sup>,当新的贮存性液泡被贮存蛋白质充满时,被包围的营养性液泡就消失了。在此过程中,贮存蛋白质先凝聚成簇,使液泡膜突出伸向胞质。聚集的贮存蛋白质体通过出芽过程,被液泡膜包裹成为独立的小贮存液泡,分散在胞质中。

在子叶成熟的晚期,出芽过程停止。主要的原初贮存液泡不断继续积累贮存蛋白质,变为一种不同类型的大贮存液泡。在种子成熟的晚中期,贮存蛋白质合成停止之前,第三种类型的贮存蛋白质库在细胞内形成。贮存蛋白质在光面膜囊和末端膨大的管道中积累。这些膨大管状结构将彼此分开,成为独立的不具有管网连接的球形小体。在发芽的豆

科植物幼苗中,PSV被一种分散结构的营养性液泡所代替。液泡膜内陷,胞质物质被内吞,最终在PSV中降解<sup>[20]</sup>。

(3) 禾谷类植物中的贮存蛋白质 与豆科植物不同,禾谷类作物在胚乳细胞中积累醇溶谷蛋白作为贮存蛋白质<sup>[21]</sup>。禾谷类谷蛋白像豆科植物一样,合成过程中即被运到内质网腔。许多禾谷类作物,包括玉米、水稻、高粱,它们的谷蛋白质都形成致密、不溶性的不断增大的颗粒,在内质网腔中形成蛋白体(PB)<sup>[1]</sup>。在正发育的胚乳细胞中,PB不断变大,同时新合成的谷蛋白质在二硫键异构酶和BiP之类的分子伴侣的帮助下集聚。

其他禾谷类作物的谷蛋白质(例如小麦、大麦、燕麦),是和球状蛋白质一起在液泡中积累的。球状蛋白质通过高尔基体复合物到液泡组分,而谷蛋白PB是通过自体吞噬过程进入液泡的<sup>[1]</sup>。一些细胞形态观察实验证明,禾谷类转基因编码的蛋白质在烟草营养性细胞中表达时,也有极为类似的自体吞噬机制同时发生<sup>[10]</sup>。转基因产物就像在许多贮存细胞中那样,在内质网中形成,但内质网膜上结合的PB被自体吞噬所俘获并运送到营养性液泡,在那里它们最终被降解。有趣的是,在正常发育的细胞中,贮存蛋白质通过大的前体累积型小泡运送到贮存性液泡时,一些步骤与上面PB的运送过程十分相似<sup>[19]</sup>。这样的结果说明自体吞噬的细胞学机制适用于胞质蛋白质与早期膜结合的PB运送到液泡的过程,可以被认为是一条与酵母相同的由胞质到液泡的生物合成运输途径。然而,贮存特异性蛋白质组分的发生是有所不同的,并非所有的贮存物都是同源的,尽管它们都属于植物细胞的液泡系统。

### 3. 液泡中的物质组装

(1) 液泡中信号分子 在分泌途径的早期,高尔基体出芽点就将定位于液泡中的可溶性蛋白和膜蛋白与运送到细胞表面的蛋白质分开<sup>[8]</sup>。液泡可溶性蛋白需要一种定位信号给它们加标记,以便离开高尔基体后,蛋白质向液泡运输能顺利进行。如果没有这种标记,它们就会被运送到胞外。目前已经发现了三种不同类型的液泡定位信号:①N端定位信号;②C端定位信号;③内部定位信号。其中具有N端定位信号和C端定位信号液泡蛋白质都先以前体的形式合成,根据其定位信号位置,分别将两类前体定名为NTPP和CTPP。

N端定位信号 NTPP的定位信号位于液泡蛋白前体的N端,在蛋白质定位后即被切除。已经

发现大麦半胱氨酸蛋白酶(aleurain)和红薯蛋白质sporamin的定位信号都具有一段保守的Asn-Pro-Ile-Arg氨基酸序列。NTPP的这种序列对于sporamin前体的定位是必需的<sup>[22]</sup>。由于定位信号的存在sporamin可被运送到红薯管状根细胞的原液泡中,而aleurain则被运送到贮藏蛋白质的液泡组分中。

C端定位信号 与NTPP的定位信号相比,CTPP的定位信号之间氨基酸序列相似程度较差。但对蛋白质定位到液泡却是必不可少的<sup>[23]</sup>。已经发现,不同植物的液泡蛋白质CTPP定位信号长度不同。最近在一种可溶性的菜豆蛋白中发现了一段短CTPP定位信号,其中含有对蛋白质定位液泡的机制有关的信息。实验证明,在CTPP定位信号中可能具有不止一种的定位机制,而且从高尔基体向液泡运送具CTPP定位信号的蛋白质也可能具有不止一条途径<sup>[10]</sup>。

内部信号 在蛋白质合成过程中,有一些定位于液泡的植物蛋白质并不额外合成用于液泡定位的信号肽,定位信号存在于成熟蛋白质的内部。对菜豆(*Paseolus vulgaris*)植物凝血素(PHA)和蚕豆(*Vicia faba*)豆球蛋白的研究显示,成熟蛋白质裸露区的定位信息贮存在子叶薄壁组织细胞的PSV中。不过,在细胞外基质中也发现有少量定位于液泡内的植物凝血素,说明液泡定位信号不能完全被所有细胞所识别<sup>[24]</sup>。此外,在激素作用下,一些可溶性的成熟的液泡内水解酶也可以排出到介质中。这些蛋白质的外排也受液泡的调节。这些都足以说明一些液泡蛋白质内部具有引导其进出液泡的信号。

TIP中的信号 已经在液泡膜上发现许多不同的TIP,如 $\alpha$ -TIP和 $\gamma$ -TIP,它们在膜上分散成六个区域,但其N端和C端都定位在胞质中。实验证明 $\alpha$ -TIP的C末端的尾部足以使一些非液泡蛋白质定位到液泡膜上,但另一些液泡蛋白质的定位则与 $\alpha$ -TIP的C末端无关。最近有人也发现,液泡蛋白质定位受体BP-80的跨膜区可以指导蛋白质通过高尔基体向前液泡组分运输,加上 $\gamma$ -TIP的C末端尾部并不能改变运输路径<sup>[25]</sup>;相反,加上 $\alpha$ -TIP的C末端尾部抑制蛋白质的定位。因此,蛋白质向液泡的运输可能有两条不同的路径:一条是依靠 $\alpha$ -TIP由内质网直接到PSV,另一条是依靠 $\gamma$ -TIP由高尔基体和PVC到营养性可降解蛋白质的液泡。

(2) 液泡中的蛋白质定位 膜蛋白和可溶性

蛋白的运输,一般通过运输小泡的出芽和融合来调节<sup>[1]</sup>。在一定的细胞类型或生理环境下,它们的运输则由膜囊和直接的管状连接来调节。在植物细胞中,作为液泡性运输的早期步骤,出芽过程包括从胞液集中包被蛋白质(coated protein,略写为 COP),形成 CCV、COP I 小泡(指高尔基体上形成的包被蛋白包裹的小泡)、COP II 小泡(由内质网上形成的包被蛋白包裹的小泡)以及高密度小泡。资料表明,植物、酵母和动物细胞的 COP 还是具有很高同源性的。

对接和融合过程主要由膜上整合的可溶性 N-乙基顺丁烯二酰亚胺敏感因子附着的蛋白受体(Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor,略写为 SNARE)来调节<sup>[8]</sup>,这类受体在膜对接和小泡融合中就有重要作用。一般小泡上的 SNARE(简称 v-SNAREs)先与靶膜结构上的同类 SNARE(简称 t-SNARE)相互作用,引起可溶性蛋白与 v-SNARE/t-SNARE 复合物结合,经 ATP 水解的放能作用引发蛋白质复合物重排最终促进膜的融合。已知小泡运输路线的不同点和特异性与影响液泡蛋白质运输的因素有关,这些因素包括 Rab 类蛋白(一类小分子 GTPase)<sup>[26]</sup>、Rab 蛋白结合分子、Ca<sup>2+</sup> 和细胞骨架组分。

### 三、液泡的功能

从发展的观点来看,液泡在植物细胞适应所处环境和细胞生长发育的决策中具有重要作用。在绝大多数植物细胞中,它们促使细胞表面与原生质体体积之间形成高的比值,为细胞和外环境间的物质和信息交换创造条件。液泡与细胞壁一起产生膨压,是最基本的植物生长动力。在特殊细胞中,有色素和异源化学物质累积的液泡是作为植物间、植物与微生物、植物与食草动物之间相互联系的调节者出现的。在种子中液泡贮存蛋白质用于幼苗生长过程中的合成代谢,液泡功能的多样性与其形态、生化特性和发生的多样性是相一致的。

植物细胞中液泡对内环境的稳定起重要作用。它受到细胞体积和膨压、胞质中离子、pH、贮存氨基酸、糖类、CO<sub>2</sub>、隔离的有毒离子和共生现象的调节控制。这些活性都是由液泡膜的特异性蛋白质调节的。

根据化学渗透模型,由液泡膜上的 V-ATPase 和运转质子的焦磷酸酶(H<sup>+</sup>-translocating inorganic pyrophosphatase,略写为 H<sup>+</sup>-PPase)产生的动力驱

动两次运输。从而使离子和水通过液泡膜上的离子通道和水通道。离子、水和代谢物流过液泡膜对植物液泡行使不同的功能极为重要,这些过程在细胞增大、植物生长、信号传递、胞质环境稳定和代谢途径调节中都有极大意义。

近期研究表明,液泡膜上有一些有机溶质运输载体的存在。它们由 Mg<sup>2+</sup>-ATP 直接供能,属于 ABC 蛋白。这些载体能够运输糖类、多肽、生物碱、无机离子等多种物质,与植物对多种药物抗性有关。如多种药物抗性相关蛋白(Multidrug resistance-associated protein,略写为 MRP)就属于这类载体,它们参与了外源、内生亲水脂分子和谷胱甘肽复合物由胞质到液泡的运输,在除草剂解毒、细胞色素沉积、抗菌复合物的贮存以及抗氧化中,MRP 都有重要作用。

### 结 束 语

综上所述,液泡是细胞原生质以外的膜体结构,它由重新形成和内吞作用两条途径形成,在植物细胞物质储藏和运输、胞内环境稳定和防御反应中具有重要作用。然而,液泡运输途径很多但有明显的交叉点,说明液泡运输是相互联系的。各组分之间的关系难于从形态上加以确定,仍待从分子水平加以研究。

在降解和生物合成途径中,自体吞噬是液泡系统发生和重新构建的关键过程。当分生组织分化时,它驱动营养性液泡的形成,液泡系统由营养性向贮存性转变时,自体吞噬开始发生,而且它能够被饥饿诱导。但自体吞噬引起的蛋白质运输仍有许多问题还待解决。例如,自体吞噬的膜成分是否都具有相同的起源?是什么启动了自体吞噬组分的形成、运动和融合?细胞骨架在组织小泡内部组分的运动和液泡成形过程中有何作用?细胞分裂时子细胞从母细胞获得液泡的调控机制是怎样的?等等。

### 摘 要

液泡是细胞原生质以外的一种膜体结构,它由重新形成和内吞作用两条途径形成,在植物细胞物质储藏、胞内环境稳定和防御反应中具有重要作用。

### 参 考 文 献

- [1] Marty F, 1999, *Plant Cell*, 11: 587-600.
- [2] Webb MA, 1999, *Plant Cell*, 11: 751-761.
- [3] Paris N, Stanley CM, Jones RL, et al., 1996, *Cell*, 85: 563-572.

- [4] Jaug GY, Fisher AM, Grimes HD, et al., 1998, *Proc Natl Acad Sci. USA*, **95**:12995-12999.
- [5] Neuhaus JM, Rogers JC, 1998, *Plant Mol Biol*, **38**: 127-144.
- [6] Swanson SJ, Bethke PC, Jones RL, 1998, *Plant Cell*, **10**: 685-698.
- [7] Fleurat-Lessard P, Franggne N, Maeshima M, et al., 1997, *Plant Physiol*, **114**:827-834.
- [8] Sanderfoot AA, Raikhel NV, 1999, *Plant Cell*, **11**: 629-641.
- [9] Denecke J, Souza Goldman MH, Demolder J, et al., 1991. *Cell*, **3**:1025-1035.
- [10] Frigerio L, de Virgilio M, Prada A, et al., 1998, *Plant Cell*, **10**:1031-1042.
- [11] Dupree P Sherrierr DJ, 1998, *Biochem Biophys Acta*, **1404**: 259-270.
- [12] Maurel C, 1997, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **48**:399-429.
- [13] Aubert S, Gout E, Bligny R, et al., 1996, *J Cell Biol*, **133**: 1251-1263.
- [14] Moriyasu Y, Ohsumi Y. 1996, *Plant Physiol*, **111**: 1233-1241.
- [15] Chrispeels MJ, 1991, *Annu. Rev. Plant Physiol Plant Mol Biol*, **42**:21-53.
- [16] Hohl I, Robinson D, Chrispeels M, et al., 1996, *J Cell Sci*, **109**:2539-2550.
- [17] Gomez L, Chrispeels MJ, 1993, *Plant Cell*, **5**: 1113-1124.
- [18] Robinson DG, Hinz G, 1997, *Protoplasma*, **197**:1-25.
- [19] Hara-Nishimura I, Shimada T, Hatano K, et al., 1998, *Plant Cell*, **10**:825-836.
- [20] Melroy DL, Herman EM, 1991, *Planta*, **184**:113-122.
- [21] Shewry PR, Napier JA, Tatham AS, 1995, *Plant Cell*, **7**: 945-956.
- [22] Nakamura K, Matsuoka K, Mukumoto F, 1993, *J Exp Bot*, **44**(Suppl):331-338.
- [23] Matsuoka K, Higuchi T, Maeshima M, et al., 1997, *Plant Cell*, **9**:533-546.
- [24] Kjenstrup S, Borkhsenius O, Raikhel NV, 1995, *Plant Physiol*, **109**:603-610.
- [25] Jiang L, Rogers JC, 1998, *J Cell Biol*, **143**:1183-1199.
- [26] Rothman JE, Sollner TH, 1997, *Science*, **276**: 1212-1213.

## 植物防御反应中水杨酸与茉莉酸的“对话”机制

李国婧 周 燮

(南京农业大学农学院 南京 210095)

植物经常遭受病原菌侵袭、机械损伤及昆虫和食草类动物的咬食,在长期的进化过程中,植物至少形成了抵抗这些外界伤害的两套生化防御系统,其一是由病原菌的侵染而引发的。通常表现为寄主植物的抗性基因(resistance, R)与病原菌互作,产生过敏反应(hypersensitive response, HR),形成坏死型病斑,不仅被侵染的部位对再次侵染产生抗性,而且植株非侵染部位也被诱导产生抗性,即系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR)。另一套则是由于机械损伤及虫害等产生的,这种防御作用的产生有时也具有全株性。在这两个系统的诱导产生过程中,水杨酸(salicylic acid, SA)和茉莉酸(jasmonic acid, JA)是其重要的信号分子,随着研究的不断深入,发现SA与JA在介导植物抗性发生过程中存在互作(或“对话”)关系,从而为SA和JA的研究和实践提供了新的思路。

### 一、SA和JA在信号转导中的相对独立性

长期以来,SA被认为是植物对病原菌入侵产生

抗性反应的信号分子,JA则是植物对创伤产生抗性反应的信号分子,两者在产生途径、诱导因子及诱导SAR基因表达等方面各不相同,即这两套防御系统是相对独立的。

#### 1. SA与JA经由不同的生物途径合成

SA(又称邻羟基苯甲酸)是肉桂酸(*trans*-cinnamic acid)的衍生物,一般认为SA是莽草酸途径中反式肉桂酸侧链经 $\beta$ -氧化和邻羟基化的两种不同反应顺序转变而来的<sup>[1]</sup>。病原菌侵染后,在SA水平升高前SA合成过程的关键酶——苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)活性升高;用<sup>14</sup>C标记的苯甲酸或肉桂酸饲喂平铺白珠树(*Caultheria Procumbens*)幼叶,均发现有标记的SA合成<sup>[2]</sup>。

与SA不同,JA生物合成的最初前体是 $\alpha$ -亚麻酸( $\alpha$ -linolenic acid),它通过十八烷酸途径,经一系列复杂的催化过程合成JA。其中,脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)是合成途径中的重要调控酶<sup>[3]</sup>。

#### 2. 不同伤害分别诱导SA和JA的合成

尽管很早以前就发现,外施SA或乙酰水杨酸(acetyl salicylic acid, ASA, SA的人工合成衍生物)可以增强烟草对花叶病毒(tobacco mosaic virus,