

MAPK 和脱落酸信号传导

胡风庆* 王秋雨

(辽宁大学生命科学系 沈阳 110036)

脱落酸(ABA)是20世纪60年代鉴定的一种天然植物激素,广泛存在于高等植物中。ABA在植物生长、发育调节中起重要作用,如内源性反蒸作用、逆境胁迫的适应、细胞分化及种子发育与萌发等生理过程。ABA如何发挥其重要作用,即ABA发挥作用的分子机理已成为当今研究热点。

植物对信号作出反应依赖于植物体内由一系列分子所组成的特定信号途径,通过信号分子的活化/钝化,传递信号,调节植物的许多重要生理过程(如种子萌发、植物对胁迫的适应等)。在对植物信号传导途径的研究中了解到,促有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)是真核细胞中普遍存在的信号组分,由创伤、非生物胁迫、植物激素和病原体等诱导,并在植物信号传导中发挥重要作用^[1-5]。最近研究发现,ABA可诱导大麦糊粉粒细胞中MAPK的快速、短暂活化^[6]。另有文献报道,在植物中ABA的生理功能与在动物、酵母中MAPK发挥作用的生理过程之间存在着密切联系。ABA信号传导表现极强的组织专一性,不同组织对ABA反应不同。植物对环境胁迫的反应有时经ABA获得,有时独立,因此有足够证据表明ABA信号传导途径与MAPK信号级联有关,如type-2蛋白磷酸酶^[7],表明MAPK可能参与ABA的信号传导,并发挥重要作用。

一、ABA的生物学功能与MAPK

ABA是一种重要的植物激素,在植物生长、发育以及对逆境的适应^[8,9]中发挥重要作用。

在种子发育过程中,ABA负责贮存蛋白的积累与成熟种子脱水期组织的存活^[10,11]。在种子发育期及成熟后,ABA负责种子萌发的调节作用,既可阻止种子萌发,也可诱导种子休眠。在种子自身萌发过程中,ABA可抵消赤霉素(GA)诱导水解酶的作用。在种子发育过程中,ABA可诱导种子分化,促进胚的发育。ABA对于狼尾草(*pennisetum*)愈伤组织分化或胡萝卜细胞培养物分化为胚是必需的^[12,13]。ABA也诱导苔草光合组织的分化,该分化过程要求C-4途径。

在种子成熟过程中,ABA的作用与胁迫反应(如对脱水作用的保护)中ABA的作用相关。除了对这种内源胁迫反应中的作用外,ABA也参与植物对外源胁迫(如干旱或水胁迫^[14]、低温胁迫^[15]及盐胁迫^[16])中的反应。此外,ABA可调节气孔的关闭以阻止过量水分损失,也可诱导几个参与保护脱水损害(如醛糖还原酶)基因的表达^[17]。

在真核生物中,MAPK参与对渗透反应/超生休克的调节及细胞周期调控/分化等重要的生理过程^[17-20]。MAPK可通过几种信号机制打破静止的细胞周期,调节细胞分化^[21]。在种子萌发起始期,ABA可作为该活化作用的抑制剂。GA在调节萌发时与ABA作用相反,可活化处于萌发期的胚静止细胞。GA在燕麦中可诱导两种MAPK同源物的表达^[22],但ABA在这些基因表达中的效应还没有报道。

关于在不同真核细胞间信号途径中的作用和保守性,人们试图探索植物中MAPK在ABA信号途径中的作用。目前,MAPK信号级联的几个成分在植物中已被鉴定,很多基因已被克隆,期待各自生理功能的发现。

二、ABA信号传导级联

1. ABA作用的组织专一性

ABA诱导的细胞反应依赖于细胞类型,ABA作用的靶细胞以气孔门细胞和谷粒糊粉层细胞为代表。为了调节叶表面的气体交换,守卫细胞经历快速的体积变化,对众多刺激(包括ABA)作出迅速的反应。糊粉粒细胞在种子萌发期可调节水解酶的合成与分泌。与此功能一致,ABA在门细胞渗透调控中起重要作用。而在糊粉粒细胞中,ABA的作用是抑制细胞水解与凋亡^[23]。在上述两种情况中,ABA作用方式不同,但结果与所预期信号途径相一致。在这两类细胞中,信号分子与细胞间游离钙浓度改变^[24]、细胞间pH^[25]、K⁺离子通道活力^[26]、L-苹果酸^[27]和特定基因表达中的成分相似^[28]。然而,

* 联系人,沈阳药科大学在读博士研究生。

ABA在不同组织中对这些介导物的效应通常是相反的。此外,即使在一类细胞中,信号传导也可经不同路线。Allan等^[29]发现鸭跖草(*commelina*)门细胞的两类不同ABA信号传导途径路线的证据,一个参与细胞间 Ca^{2+} 的变化,另一个不依赖于 Ca^{2+} ,主要依靠植物生长的温度。

ABA信号的组织专一性可通过 *Eral* 基因的组织专一性表达来解释。拟南芥 *eral* 突变株在萌发期可加强对ABA的反应,该突变株明显包含一个在法呢基转移酶的突变。在野生型植物中,来自法呢基转移酶的mRNA仅在花芽中检测到,表明它参与早期种子发育^[30]。法呢基转移酶参与特定蛋白(如Ras)和来自异源二聚体GTP蛋白的 γ 亚单位的法呢基化。这些蛋白经法呢基化后可被锚定于膜脂蛋白上,因而在信号传导过程中发挥重要作用。由于 *eral* 突变株没有活性法呢基转移酶,并且对ABA过分敏感,表明法呢基转移酶在ABA信号传导中起负调控作用。

胁迫反应的信号传导不仅体现组织专一性,而且在该组织中特定阻遏物可介导ABA依赖/非依赖性反应。Shinozaki和Yamaguchi-Shinozaki等^[31]报道,针对干旱和盐胁迫信号至少存在4个独立途径。两个依赖ABA,两个不依赖ABA。一个ABA非依赖途径与低温胁迫的信号途径相关。

2. 磷酸化/去磷酸化

越来越多的证据表明,磷酸化/去磷酸化在ABA信号传导级联中起重要作用。ABA在糊粉粒细胞原生质体中可激活MAPK^[6],此外,相继报道有关激酶和磷酸酶抑制剂对ABA信号途径的作用,但拟南芥 *abil* 和 2 突变株的特点阻碍了对ABA信号转导路线中磷酸酶重要性的深刻认识,这有待于研究的进一步深入^[32-34]。

三、ABA活化MAPK

MAPK参与ABA信号传导的最有力证据是在大麦糊粉粒细胞中ABA可活化MAPK。Knetsch等^[6]报道ABA能在大麦糊粉粒细胞诱导以MBP为底物激酶的短暂活化,而己知MBP是MAPK的底物。MBP激酶是否就是MAPK呢?ABA诱导的酶活力可能与抗-ERK1抗体发生免疫沉淀,经活力分析,ABA诱导活力具有与ERK1相同的分子量。ABA诱导活力能与抗-磷酸化tyr抗体发生免疫沉淀。

最近,通过研究MAPK与小GTP结合蛋白之

间的相互关系,发现MAPK的调节作用^[35]。MAPK最初活化要求Ras的活化^[36]。通过另一种小分子结合蛋白Rap1的结合才可获得持续活化。有意义的是,表皮生长因子(EGF)和神经生长因子(NGF)经一个或相同MAPK诱导不同反应,但具有不同活化动力学。而EGF能诱导短暂活化,NGF诱导这种酶的持续活化。按这个结果,在大麦糊粉粒细胞中的快速短暂活化将有Ras蛋白存在。在大麦糊粉粒细胞中,Ras类似蛋白的存在已被证明^[37],法呢基转移酶作为负调节子参与ABA信号传导支持GTP结合蛋白参与ABA信号传导,但与经Ras的MAPK的活化作用相矛盾。

ABA是否也作用于其他组织MAPK的活化呢?从已了解信号传导中的差异看,MAPK很可能在其他器官/组织表现不同的方式,或根本不参与。如果MAPK信号反应在其他器官/组织存在,那么MAPK短暂活化很难被检测到。大麦糊粉粒细胞是由同一类细胞组成的遍在组织,其原生质体可同时对ABA和GA作出反应,区别于系统快速、短暂的活化^[38]。在大麦未受损糊粉层,由于糊粉粒细胞活化受时空调节^[39],这个短暂反应的特点可通过同一方法检测。但即使同一反应在体内的门细胞或胚中存在,也将很难在单细胞水平建立这样的信号途径。

Mori和Muto证明其他MAPK参与ABA信号传导^[40],他们发现3种来自蚕豆(*Vicia faba*)46、48、49Kda的MBP在门细胞原生质体中是有活性的。48Kda蛋白由ABA强烈诱导,在刺激10min后达到最大活力。其活力不能用抗磷酸化酪氨酸抗体免疫沉淀,表明它不是MAPK。而46、49Kda MAPK有活性时,可经抗磷酸化酪氨酸免疫沉淀,表明它们是MAPK。它们的活化可由ABA轻微诱导,但似乎对于ABA介导的气孔关闭不是重要的。

由ABA介导的非生物胁迫(如低温、干燥和接触)作用拟南芥中5min,可诱导MAPK同源物ATMPK3的基因表达^[1]。ABA是否影响基因表达水平还未见报道,已发现在苜蓿中由低温和干燥诱导的MMK4 MAPK的活力,ATMPK3与苜蓿的MMK4严格相关。盐、热和ABA对MMK4活力没有影响,可能这个MAPK在ABA非依赖信号传导路线类型4中发挥作用^[31]。其它环境因子(如铁离子缺乏可引起拟南芥形态和生理的变化、三价铁离子可通过水稻原生质体ABI1途径影响ABA的信号传导)也可影响ABA的作用^[41、42]。

四、蛋白磷酸酶在 ABA 信号传导的作用

1. PP2C 基因的断裂可引起 ABA 不敏感性

ABA 信号传导研究的主要突破是在拟南芥中编码磷酸酶类型 2 (PP2C) 的 ABI1 基因和 ABI2 基因的发现。拟南芥 *abi1* 和 *abi2* 突变株在几种组织中对 ABA 反应被削弱, *abi2* 除了对干旱生根和某一基因诱导外, 有与 *abi1* 相似表现型。两个表现型都表现出降低了的磷酸酶 2C 活力^[32,43-45]。

2. ABI1 和 ABI2 磷酸酶对 MAPK 途径的调节

拟南芥 ABI1 和 ABI2 的基因与来自苜蓿的 MP2C 基因表现出很高的同源性, 在该基因产物中心区 200 个氨基酸残基中大约有 42% 一致。不同 PP2C 的相似性仅限于中央催化区, 表明它们对底物是保守的, 但磷酸酶的调节有差异。MP2C 基因能钝化酵母 MAPKKK (STE11) 对渗透压的反应, 具有 MP2C 抑制胁迫诱导 SAMK 途径的证据。这一结果与出芽酵母中的 PP2C 基本功能一致, 表明 MAPK 途径的负调控负责对非生物胁迫的适应^[7,46]。

3. PP2C 位置

ABI1 和 2 突变株影响 ABA 反应, 表明在分化成特定组织路线之前的某一位点, 即在 ABA 信号传导路线中的早期发挥作用^[47]。另外, 有可能共用某一部分信号途径, 但可能用不同受体^[27]。有意义的是, ABI1 和 ABI2 PP2C 蛋白的过表达和 PP2C 活力的抑制都将封闭拟南芥叶片原生质体中 ABA 依赖性基因表达。而 Sheen 研究表明 ABI1、ABI2 和 AtPP2C (第三个来自拟南芥的 PP2C) 作为 ABA 信号传导的负调节子有多余的功能。

ABI1 编码的磷酸酶在其 N 末端区包含一个 EF-臂, 负责 Ca^{2+} 的调节。然而, 没有钙的结合, 也没有检测到对钙的敏感性。ABI1 活力对质子和镁离子浓度很敏感, 这种对 pH 的敏感性为解释 ABA 诱导的 pH 变化和 ABI1 在 ABA 信号传导中的作用提供了线索。

应用激酶和磷酸酶抑制剂的研究为磷酸酶参与 ABA 信号途径提供了证据。在大豆和 *Pisum sativum* 门细胞中冈田酸 (Okadaic acid) 加强慢离子通道活力和 ABA 诱导的门细胞关闭。K252a 可抑制这两个反应^[48,49]。然而, Pei 等^[50] 在拟南芥门细胞中发现了与此相矛盾的结果, 冈田酸 (Okadaic acid) 抑制阴离子通道的 ABA 活化。不论体现这些

机制的结果如何, 但总的说明在 ABA 信号传导途径中包含几种磷酸酶和至少一类激酶。

Heimovaara^[51] 等报道大麦糊粉粒原生质体中的具有氧化苯胂 (phenylarside oxide, PAO) 的酪氨酸磷酸酶抑制引起几种蛋白质的超磷酸化。用 PAO 处理这些原生质体可减少 ABA 诱导的基因表达和 ABA 诱导的 MAP 活化^[6]。酪氨酸磷酸酶活力对于由 EGF 活化的 MAPK 是必不可少的^[52]。拟南芥酪氨酸磷酸酶基因已被克隆, 其表达可被盐胁迫诱导, 但可经冷处理消除。最近, Lorenzo 等^[53] 报道, 在休眠的拟南芥种子中, ABA 与 PP2C 诱导的种子休眠有关, 并且 PP2C 的表达具有明显的组织专一性。

五、结 论

ABA 在大麦糊粉细胞粒中可诱导 MAPK 活力, 该活化作用与由 ABA 专一诱导的基因表达相关。MAPK 暂时活化和由 ABA 诱导的 *rad*-基因表达可被 PAO 抑制, 表明动物酪氨酸磷酸酶在专一 MAPK 上游起作用。与动物 MAPK 调节相似, Ras 参与 MAPK 活化。

在糊粉粒细胞, 由 ABA 活化的 MAPK 是 MAPK 参与 ABA 信号传导的惟一证据。然而, 有证据表明 MAPK 级联参与其他的 ABA 反应。PP2C 与酵母中调节 MAPK 的磷酸酶明显相似, 且对大多数 ABA 反应是基本的, PP2C 提供了一个最基本的联系。最后, 法呢转移酶被认为可调节 Ras 蛋白功能。反过来, Ras 可调节 MAPK 活化。

所有这些有理由让我们认为 MAPK 参与 ABA 作用, 而不仅仅是在大麦糊粉粒细胞中, 然而, ABA 信号传导的复杂性表明, 如果所有 ABA 信号级联都包括 MAPK, 那么它在不同级联中的位置和作用将与 ABA 作用本身不同。

摘 要

ABA 在调节种子发育、参与对逆境胁迫的反应中发挥重要作用, 使其成为当今研究热点, 特别是对 ABA 与 MAPK 相互关系的研究。本文就 ABA 生物学功能及其与 MAPK 的关系、ABA 信号传导级联分子组成、ABA 信号传导中的磷酸化、MAPK 与 ABA 信号传导等方面的最新进展予以综述, 以对 ABA 所发挥重要作用的分子机制有深入的认识。

参 考 文 献

[1] Mizoguchi T, Irie K, Hirayashida T, et al., 1996, *Proc.*

- Natl. Acad. Sci. USA*, **93**:765-769.
- [2] Ligterink W, Kroj, Zur Nieden U, et al., 1997, *Science*, **276**:2054-2057.
- [3] Hirt H., 1997, *Trends Plant Sci*, **2**:11-15.
- [4] Wilson C, Voronin V, Touraev A, et al., 1997, *Plant Cell*, **9**:849-857.
- [5] Zhang S, Du H, Klessig DF., 1998, *Plant Cell*, **10**:435-449.
- [6] Knetsch ML, Wang M, Snaar-Jagalska BE, et al., 1996, *Plant Cell*, **8**:1061-1067.
- [7] Shizoki K, Russel P., 1995, *EMBO J*, **14**:492-502.
- [8] Hare PD, Cress WA, Staden J Van, et al., 1997, *Plant Growth Regulation*, **23**:79-103.
- [9] Ghelis T, Jeannette E, Bardat F, et al., 2000, *FEBS Letters*, **474**:43-47.
- [10] Balboa-Zavala O, Dennis FG, 1977, *J Am Soc Hortic Sci*, **102**:633-637.
- [11] Black M, In: Addicott FT (ed) Abscisic acid.
- [12] Rajasekara K, Hein MB, Vasil IK, 1987, *Plant Physiol*, **84**:47-51.
- [13] Kiyose T, Nakajima M, Yamaguchi I, et al., 1992, *Biochem Physiol Pflanzen*, **188**:343-347.
- [14] Meurs C, Basra AS, Karssen CS, et al., 1992, *Plant Physiol*, **98**:1484-1493.
- [15] Galiba G, Tubersoa R, Kocsy G, et al., 1993, *Plant Breeding*, **110**:237-242.
- [16] Singh NK, Larosa PC, Handa AK, et al., 1987, *Natl. Proc. Acad. Sci. USA*, **84**:4108-4112.
- [17] Bartels D, Engelhardt K, Roncarati R, et al., 1991, *EMBO J*, **10**:1037-1043.
- [18] Levin DE, Errede B., 1995, *Curr Opin Cell Biol*, **7**:197-202.
- [19] Marshall CJ, 1995, *Cell*, **80**:179-185.
- [20] Bokemeyer D, Sorokin A, Du M., 1996, *Kidney Int*, **49**:1187-1198.
- [21] Ruderman JV, 1993, *Curr Opin Cell Biol*, **5**:207-213.
- [22] Wang M, Oppedijk BJ, Lu X, et al., 1996, *Plant Mol Biol*, **32**:1125-1134.
- [23] Gilroy S, Fricker MD, Read ND, et al., 1991, *Plant Cell*, **3**:333-344.
- [24] Gehring CA, Irving HR, Parish RW, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**:9645-9649.
- [25] Vander VR, Heimovaara DS, Wang M, 1997, *Biophys J*, **72**:A336.
- [26] Hedrich R, Marten I, Lohse G, et al., 1994, *Plant J*, **6**:741-748.
- [27] Neill SJ, Hey SJ, Barrrt DHP, 1993, *J Exp Bott*, **44**:supp13.
- [28] Allan AC, Fricker MD, Ward JL, et al., 1994, *Plant Cell*, **6**:1319-1328.
- [29] Cutler S, Ghassemian M, Bonetta D, et al., 1996, *Science*, **273**:1239-1241.
- [30] Shinozaki K, Yamaguchi SK., 1997, *Plant Physiol*, **115**:327-334.
- [31] Leung J, Merlot S, Giraudat J., 1997, *Plant Cell*, **9**:759-771.
- [32] Heimovaara-Dijkstra S, Nieland TJF, Van der Meulen RM, et al., 1996, *Plant Grow Regu*, **18**:115-123.
- [33] Esser JE, Liao YJ, Schroeder JI., 1997, *J Exp Bot*, **48**:539-550.
- [34] York RD, Yao H, Dillon T, et al., 1998, *Nature*, **392**:622-626.
- [35] Hughes PE, Renshaw MW, Pfaff M, et al., 1997, *Cell*, **88**:521-530.
- [36] Wang M, Sedee NJA, Heidekamp F, et al., 1993, *FEBS Lett*, **329**:245-248.
- [37] Jacoben JV, Beach LR., 1985, *Nature*, **316**:275-277.
- [38] Wang M, Oppedijk BJ, Caspers MPM, et al., 1998, *J. Exp Bot*, **49**:1293-1301.
- [39] Leung J, Bouvier-Durand M, Morri PC, et al., 1994, *Science*, **264**:1448-1452.
- [40] Meyer K, Leube MP, Gill E., 1994, *Science*, **263**:1452-1455.
- [41] Hagenbeek D, Rock CD, Quatrano RS., 2000, *Plant physiology*, **123**:1553-1560.
- [42] Schmidt W, Schikora A, Tittel J., 2000, *Plant physiology*, **122**:1109-1118.
- [43] Bertauche N, Leung J, Giraudat J., 1996, *Eur J Biochem*, **341**:193-200.
- [44] Meskiene I, Bogre L, Glaser W, et al., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**:1938-1943.
- [45] Koornneerf M, Leon-Koosterziel KM, Schwartz SH, et al., 1998, *Plant Physiol Biolchem*, **36**:83-89.
- [46] Schmidt C, Schelle I, Liao YJ, et al., 1995, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**:9535-9539.
- [47] Hey JH, Bacon A, Burnett E, et al., 1997, *Planta*, **202**:115-123.
- [48] Pei ZM, Kuchitsu K, Ward JM, et al., 1997, *Plant Cell*, **9**:409-423.
- [49] Heimovaara-Dijkstra S, Mundy J, Wang M., 1995, *Plant Mol Biol*, **27**:815-820.
- [50] Zhao Z, Tan Z, Wright JH, et al., 1995, *J Biol Chem*, **270**:11765-11769.
- [51] Xu Q, Fu HH, Gupta R, et al., 1998, *Plant Cell*, **10**:849-857.
- [52] Herskowitz I, 1995, *Cell*, **80**:187-197.
- [53] Lorenzo O, Nicolas G, Rodriguez PL, et al., 2001, *Plant Physiology*, **125**:1949-1956.

核果类果树原生质体培养研究进展

吴延军*,** 张上隆* 徐昌杰* 张岚岚*

(* 浙江大学华家池校区园艺系 杭州 310029 ** 安徽农业大学园艺系 合肥 230036)

从20世纪70年代初首次从烟草原生质体成功地培养出再生植株以来,至今已有250多种高等植物的原生质体培养获得成功。原生质体是“裸露”的植物细胞,具有全能性,能在适应的培养条件下诱导再生植株。同时,由于没有细胞壁的障碍,原生质体

能够直接高效地摄取外源DNA或遗传物质、各种细胞器甚至细胞核;又可以与异种原生质体经诱导融合而形成体细胞杂种。这些特性不仅大大提高了育种效益,而且使亲缘关系较远、常规育种不可能进行的许多杂交组合成为可能。