

细胞外基质在植物发育中的作用

孙颖 孙大业

(河北师范大学生物系 石家庄 050016)

摘要 植物细胞壁是由纤维素和果胶交联的多糖和蛋白质构成的既彼此独立,又相互作用的三维动力学网络。和动物的细胞外基质一样,植物细胞壁中的许多成分积极地参与植物细胞发育过程的调节,它们以某种方式将信息传递给细胞,调节细胞的行为,以便对各种外界环境作出相应的反应。因此细胞壁不再是一种环绕植物细胞的惰性结构,比起细胞壁,植物细胞外基质这一名词更能反映出这一动力学的特性。

关键词 细胞外基质,细胞壁,细胞粘连,信号发放

ROLES FOR EXTRACELLULAR MATRIX IN PLANT DEVELOPMENT

SUN Ying SUN Da-Ye

(Department of Biology, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016)

Abstract Plant cell wall is three-dimensional dynamic networks made of cellulose, pectin crosslinking glycans and proteins which are independent but interact. As those of extracellular matrix (ECM) from animal, many components from cell wall are involved in the developmental regulation of plants actively. They exert their regulation of cell state by transducing information in some way, and response to diverse environment. Therefore, cell wall is no longer an inert structure enclosing cell, but an alternative term "extracellular matrix" is preferable to indicate their dynamic property.

Key words Extracellular matrix, Cell wall, Cell adhesion, Signaling

所有生物体的细胞都合成一些产物,分泌到周围的环境中形成细胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)。在植物中围绕每一个细胞的 ECM 就是指细胞壁(Brownlee 等, 1995)。长期以来,就已经认识到 ECM 结构的作用在动物和植物中都是支持并固着细胞,然而最近的观点认为 ECM 在生长和发育过程中还起着动力学的作用。例如动物的 ECM 可以影响细胞的分裂、分化、迁移等行为,这是由于 ECM 中的各种粘连蛋白通过与质膜上的受体-整合素结合,连接了细胞内的骨架,形成了 ECM-质膜-细胞骨架的连续体,确保了细胞与环境,或细胞与细胞间信号传递的通道。

植物细胞壁是由纤维素和果胶交联的蛋白质、多糖及其它无机成分构成的复合体。尽管它的化学组成及结构与动物的 ECM 间有明显的差别,但还是有一些惊人的相似,它们的大分子都排列成三维网络结构(Reuzeau 等, 1995),显然这一连续的网络的机械性能对于细胞来说可能是同等重要的。此外在很多植物组织中都发现细胞壁和质膜之间存在粘连接构,且形成细胞壁-质膜-细胞骨架的连续体(Wyatt 等, 1993),植物细胞壁还具有某些类似于动物 ECM 发育方面的功能,植物的许多发育过程依赖于植物细胞壁结构、成分

的变化,这些变化与植物细胞感知环境、发送信号、植物防御、细胞间通讯、选择交换界面等功能特性一一相关。因此植物细胞壁不再是过去人们认为的环绕细胞的惰性结构,其内 10% 的蛋白质及许多非纤维多糖积极参与植物发育过程的调节,比起细胞壁,植物的“细胞外基质”这一名词更能反映出它的动力学特性,尽管细胞外基质这一名词不适于植物的细胞壁,但这毕竟是一全新的概念。

1 植物细胞壁的结构组分

植物细胞壁中的伸展蛋白(Hydroxyproline-rich glycoproteins, HRGPs)、富含甘氨酸的蛋白(Glycine-rich proteins, GRPs)、富含脯氨酸的蛋白(Proline-rich proteins, PRPs)和阿拉伯半乳糖蛋白(Arabinogalactoproteins, AGPs)是植物组织中最为丰富、研究得最为详细的几种细胞壁蛋白。

1.1 HRGPs

HRGPs 在双子叶植物中特别富有,它的多肽骨架内含有一个独特的富含羟脯氨酸的重复单位,大多数羟脯氨酸残基都被糖基化,从而形成一种稳定的杆状结构,HRGPs 中糖基含量达 50%;由于含有大量赖氨酸,其等电点为 10,故为碱性蛋白。其中赖氨酸的正电荷可与果胶中糖醛酸的负电荷相互作用,还可与多糖形成 shift 碱基键;HRGPs 的一个明显特性是进入细胞壁后,由于两个酪氨酸残基间形成二苯醚键的共价交联而变成不溶性,因此它负责细胞壁的强度、控制细胞壁的伸展,这对于调节细胞的生长是很重要的。除受到发育的调节(Knox, 1995),其它因素如创伤、真菌或病毒侵染、热激、重力等因素都会影响 HRGPs 的表达及其在细胞壁中的交联程度(Showalter, 1993),这可以进一步加固细胞壁,使其对外界环境的变化作出超速的防御反应。

HRGPs 很像动物 ECM 中的原始胶原,后者分子中也含有大量的羟脯氨酸,且参与细胞与基质间的粘连相互作用。大量的证据表明 HRGPs 及相关蛋白也参与细胞壁-质膜间的连接,HRGPs 的多克隆抗体不仅结合洋葱鳞茎表皮细胞,而且当细胞壁被酶解后还结合到细胞膜上(Pont-Lezica 等, 1993),尽管抗原的性质并不十分清楚,但 HRGPs 表面决定簇位于细胞壁的区域与质壁分离后形成的质膜附着带相连;用 LMI 抗伸展蛋白的单克隆抗体在培养的水稻细胞膜上鉴定出三种疏水蛋白(Smallwood 等, 1995),外源 HRGPs 还可以使烟草原生质体皮层微管对低温的敏感性降低,重新形成的细胞壁也有此作用(Akashi 等, 1990),另有证据表明在这些实验中,HRGPs 与质膜中的一个跨膜成分的蛋白酶敏感的外表面相互作用(Akashi 等, 1991),这说明 HRGPs 通过质膜上的跨膜蛋白影响细胞皮层微管骨架的稳定性。

1.2 GRPs

GRPs 是发现较晚的一类细胞壁蛋白,其一级结构含有多至 70% 的甘氨酸,推测其二级结构是几股反平行的 β -折叠片,因而在维管的发育过程中赋予细胞壁张力和弹性。豆科植物 GRP1.8 位于初级和次级木质部导管的细胞壁里,它的不溶性可能是由于 GRPs 分子间或 GRPs 与其它壁蛋白间的两个酪氨酸残基间形成交联所致。细胞壁中的 GRPs 受到发育的调节,而位于细胞质里的 GRPs 受到各种胁迫条件的调节,如 ABA、干旱等环境(Showalter, 1993)。用激光共聚焦显微镜研究矮牵牛茎和叶中 ptGRP1 的分布还表明此蛋

白位于细胞壁/细胞膜界面,而不在细胞壁中(Condit, 1993),ptGRP1 的结构也表明它能够作为质膜和细胞壁间的连接蛋白在发育过程中起作用。

1.3 PRPs

PRPs 是另一类新近鉴定的细胞壁蛋白,含有重复的脯氨酸-脯氨酸-X 序列,至少有两亚类,一类是正常植物细胞壁中的组分,另一类存在于植物根瘤中,构成根瘤细胞壁的部分组分。PRPs 中高含量酪氨酸有可能使 PRPs 分子间或 PRPs 与 GRPs 或与伸展蛋白间形成交联,而且由于含有赖氨酸,它还可与酸性果胶通过离子键相互作用。

PRPs 在正常的发育和根瘤形成时起重要作用。将肽酰脯氨酸羟化酶抑制剂加入黄豆细胞培养基中,盐提 PRPs 减少,细胞生长被阻止(Showalter, 1993)。在根瘤形态发生和细菌侵染根毛细胞的过程中,植物细胞可以主动地合成并分泌 PRPs 以占据细胞间隙,由于蛋白质间的交联极大地改变了细胞外基质的结构,使其能够作为一种胶塞或粘连物质阻止根瘤菌的侵染,因此 PRPs 在植物的防御反应中起作用。从烟草中鉴定了花柱输导组织特异的 PRPs,它位于输导组织的细胞间区域,由于脯氨酸残基被糖基化修饰而成为高度可溶的细胞外基质蛋白,在雌蕊的发育过程中以及在花粉管通过输导组织延伸到达子房的过程中,PRPs 及其 mRNA 的水平在时间和空间上都受到调节,这强烈地表明 PRPs 在授粉过程中起功能作用(Wang 等, 1993)。

1.4 AGPs

AGPs 是所有高等植物组织中的主要成分,其含有 D-半乳糖和 L-阿拉伯糖作为主要的碳水化合物组分,含糖量高达 90%,因而属于一类蛋白多糖,易溶解在低盐提取液中。它的 N 端一般都有丙氨酸-羟脯氨酸的重复序列,这成为鉴定 AGPs 的特征之一。

用单克隆抗体检测 AGPs,发现它既可以可溶形式存在于细胞壁中,也可以不溶的形式存在于质膜外表面,而且它的碳水化合物表面决定簇受到发育的调节。如在油菜雄蕊和心皮的分化过程中,质膜 AGPs 的 JIM8 表面决定簇不断地随时间和空间变化(Pennell 等, 1991)。在百合花粉管生长过程中,检测到花粉管尖端分泌的 AGPs 位于质膜及细胞壁中,在百合及烟草的花柱输导组织的细胞外表面也有分泌的 AGPs,它们作为细胞外基质中的特有组分支持花粉管从柱头到子房的延伸(Cheung 等, 1995; Jauh 等, 1996)。

上述事实似乎表明花的组织形成及分化、花粉管生长过程中涉及到细胞间的相互作用。而 AGPs 的特性很像动物 ECM 中的氨基多糖(GAGs),参与了这种相互作用。存在于质膜上的 AGPs 作为细胞粘连分子,它的作用类似于哺乳动物的底物粘连分子,可以结合细胞壁中的未知配基(Pennell 等, 1991);分泌到细胞外的 AGPs 也许能够与细胞表面的未知受体相互作用,从而导致一个跨膜的信号转导。

把 β -葡糖基 Yariv 试剂(一种合成的多价苯基 β -葡糖苷)加入悬浮培养的 Rosa 细胞中,它特异地与细胞壁中几种独特的 AGPs 相互作用,导致可逆的细胞分裂停止而不丧失细胞的生活力(Serpe 等, 1991),这是否由于扰乱了特异 AGPs 与细胞壁或质膜成分的相互作用?虽然没有直接的证据说明这一点,但 AGPs 的酶解产物寡聚半乳糖醛酸可以在植物中诱导一个快速的质膜相连的信号转导事件。

细胞表面 AGPs 还参与细胞增殖与形态发生的调节。在欧龙牙草和高等植物中,AGPs 控制细胞分裂,在胡萝卜悬浮培养细胞中,AGPs 与体细胞胚的形成有关(Pennell 等,

1992),此外细胞壁中的 AGPs 还可能在创伤愈合和植物防御反应中起作用。

AGPs 中多糖结构的复杂性表明它们是植物细胞表面携带信息的分子,能够用于发育的协调过程。和其它几种细胞壁蛋白一样,它们影响细胞发育的机理并不十分清楚,尤其是这些分子间相互作用的细节,以及它们与细胞膜的相互作用机制都有待进一步研究。

2 植物细胞壁中的调节成分

自从 Biro 与孙大业用放射性免疫法首次在植物燕麦芽鞘细胞壁中检测到水溶性钙调素后(Biro 等,1984),越来越多的证据表明植物细胞壁中不仅广泛存在钙调素(叶正华等,1988;Li 等,1993),而且还可在细胞外促进悬浮培养的白芷细胞增殖及脱壁原生质体初生壁再生(Sun 等,1994;Sun 等,1995),增加珍珠粟原生质体的植板率(赵宝华等,1993),启动花粉萌发和促进花粉管伸长(Ma 等,1997),而在悬浮培养的白芷细胞壁中检测到 21 kD 钙调素结合蛋白,进一步说明了钙调素在细胞壁上有结合及作用位点(Tang 等,1996)。从有关细胞外钙调素研究的结果中可以看出细胞壁中的钙调素作为植物的细胞外基质组分普遍存在,它有可能作胞外 Ca^{2+} 的胞外受体,通过胞外钙调素作为植物的细胞外基质组分普遍存在,它有可能作为胞外 Ca^{2+} 的胞外受体,通过胞外钙调素结合蛋白等一系列未知途径将信号传递到胞内,从而调节植物细胞的生长发育过程(孙大业等,1995)。

3 与动物 ECM 组分抗原相关的蛋白

为了搞清植物 ECM 中存在的信号分子及其跨膜转导机制,许多学者还用动物 ECM 分子的抗体、质膜受体整合素的抗体及细胞骨架连接蛋白的抗体检测植物细胞壁、质膜以及细胞质内抗原相关蛋白,这方面的工作从 1980 年末至 1990 年初开始,已经陆续在几种植物的不同组织中检测到至少一种粘连蛋白样分子,即玻连蛋白(Vitronectin, Vn)。

Vn 是一种多功能糖蛋白,最初在人血清中作为细胞粘附因子被鉴定出来,其 N 端有一个三肽序列 Arg-Gly-Asp(RGD),是细胞识别区域,可结合质膜上的整合素受体,C 端一个碱性超二级结构也可以结合某些整合素(Vogel 等,1993);Vn 还有一个糖氨多糖结合域,对硫酸肝素有很强的亲和性,因此 Vn 可被固着在 ECM 中(Suzuki 等,1993);Vn 分子具有构象可变性,当它受到诱导因子的作用后,由折叠构象变成伸展构象,暴露出分子中整合素、硫酸肝素等结合位点,从而促进细胞在 ECM 上的粘连。

墨角藻(*Fucus*)受精卵中假根将要生出的位点,肌动蛋白丝通过质膜连到细胞壁上,形成跨膜桥,以此来维持假根轴的组分。用抗人的 Vn 抗体,抗整合素 β_1 的抗体及抗鸡的纽蛋白(Vinculin)抗体分别检测出三种抗原相关蛋白,其中 Vn 样蛋白(Vn-F)对玻璃及肝素具有亲和性,且与假根尖细胞壁中的一种高度硫酸化的糖蛋白 Fucoidan(F_2)共分布,而 F_2 类似于硫酸肝素,这些表明 Vn-F 具有类似于动物 Vn 的性质及粘连作用(Quatrano 等,1991;Wagner 等,1992a);在粘菌 *Physarum polycephalum* 中也检测到 Vn 样蛋白(Miyazaki 等,1992)。

Vn 样蛋白也参与高等植物细胞壁和质膜间粘连的相互作用。用 Vn 受体多克隆抗体在悬浮培养的黄豆根尖细胞膜中检测到类似于人 Vn 受体 β 亚基的蛋白,并提出植物细胞的分裂和适当细胞壁的合成是由 RGD 依赖的识别系统协调控制的(Schindler 等,1989);适

于 NaCl 胁迫生长的烟草细胞,其质膜和细胞壁间有增强的粘连作用,而检测到的纤维粘连蛋白(Fibronectin,Fn)及 Vn 样蛋白(PVN1)负责这种粘连作用。PVN1 的部分氨基酸序列同源於盘基网丙菌的转录延伸因子 EF-1 α (Zhu 等,1991;1993;1994);用人的 Vn cDNA 探针在蚕豆、黄豆、烟草基因组中检测出 Vn 样蛋白,用冷冻切片的免疫组化法在百合叶及蚕豆的雌蕊群中证明 Vn 样蛋白位于细胞表面的 ECM 中(Sanders 等,1991);此外还发现 Vn 样蛋白参与病原菌接触到植物细胞上(Wagner 等,1992b);Lord 等也提出了花柱输导组织细胞外基质中的 Vn 样蛋白促进花粉管在体内延伸的模型(Lord 等,1992)。然而在植物中发现与动物 Vn 有序列同源性的蛋白只有豌豆种子清蛋白,它含有 Vn 特征性的血结合素样的重复序列(Jenne,1991)。到目前为止,在高等植物中虽然检测到与动物 Vn 抗原相关的蛋白,但并没有反映出基因的同源性,虽然具有与动物 Vn 蛋白相似的理化特性,但并没有确定出其总体结构,特别是在植物细胞膜上还没有鉴定纯化出与 Vn 样蛋白相互识别的整合素样受体,这对于进一步了解 Vn 样蛋白影响植物细胞运动、增殖和分化过程的机理不能不说是一个障碍。

此外,在低等墨角藻胚胎中,不仅在假根尖将生出的位点检测到整合素样受体,而且发现这些位点至少有两种胞内信使局部升高:(1)在假根尖处和假根轴处胞质 Ca^{2+} 浓度升高;(2)在生长的假根顶端胞质中 H^+ 浓度升高(Berger 等,1993),前一变化与动物细胞中整合素介导的信号事件有相似之处,而后一变化却与之相反(Gibbon 等,1995),这说明植物和动物在细胞结构和组成方面毕竟还有许多不同之处,它们不大可能遵循完全一致的信号转导途径。

4 总结与展望

从上述各个模型系统的研究积累的证据足以表明植物的细胞外基质中存在着许多信息分子,这些由细胞合成并释放到胞外的分子可以发送信号返回到原来的细胞或相邻的细胞周围,以维持已有的分化状态。例如游离的原生质体由于缺乏细胞壁而脱分化,培养的原生质体进行细胞分裂的先决条件是细胞壁再生;而随着细胞大量分裂,介质中钙调素的含量也迅速升高,外源钙调素有利于原生质体持续分裂及细胞壁再生;将墨角藻两细胞胚中的假根细胞切掉而留下细胞壁,可诱导叶片细胞在紧邻原假根细胞处分裂分化出假根细胞,这些事实都表明植物的细胞壁中有命运决定子,通过控制基因表达的方式最终决定细胞的命运。然而在发育过程中那些能够控制细胞分化、增殖等行为的分子特性,特别是这些分子如何作用于植物细胞,跨膜发送信号及胞内的信号途径等方面还很不清楚。因此鉴定推测的膜受体就显得十分重要,利用植物遗传基因缺陷的突变体及反义 RNA 等分子生物学手段,能够分析植物细胞相应于细胞壁中的特异因子而出现的异常变化,会使研究工作取得更大进展。

参 考 文 献

- 孙大业,唐军,李红兵,1995. 科学通报,40:1153 ~ 1159
叶正华,孙大业,郭季芳,1988. 科学通报,38:624 ~ 626
赵宝华,孙大业,赵连元,1993. 科学通报,38:134
Akashi T, Kawasaki S, Shibaoka H, 1990. *Planta*, 182:363 ~ 369

- Akashi T, Shibaoka H, 1991. *J Cell Sci*, **98**:169 ~ 174
- Berger F, Taylor A, Brownlee C, 1993. *Zygote*, **1**:9 ~ 15
- Biro R T, Sun D Y, Serlin B S, 1984. *Plant Physiology*, **75**:382 ~ 386
- Brownlee C, Berger F, 1995. *Trends in Genetics*, **11**:344 ~ 348
- Cheung A Y, Wang H, Wu H M, 1995. *Cell*, **82**:383 ~ 393
- Condit C M, 1993. *Plant Cell*, **5**:277 ~ 288
- Gibbon B C, Brugge J S, 1995. *Science*, **268**:233 ~ 239
- Jauh G Y, Lord E M, 1996. *Planta*, **199**:251 ~ 256
- Jenne D, 1991. *Biochem Biophys Res Commun*, **176**:1000 ~ 1006
- Knox J P, 1995. *FASEB J*, **9**:1004 ~ 1012
- Li J X, Lin J W, Sun D Y, 1993. *Cell Research*, **3**:11 ~ 20
- Lord E M, Sanders L C, 1992. *Devel Biol*, **153**:16 ~ 28
- Ma L G, Sun S D, 1997. *Planta*, **202**:336 ~ 340
- Miyazaki K, Hamano T, Hayashi M, 1992. *Exp Cell Res*, **199**:196 ~ 210
- Pennell R, Janniche L, Kjellbom P et al, 1991. *Plant Cell*, **3**:1317 ~ 1326
- Pennell R I, Janniche L, Scofield G N et al, 1992. *J Cell Biol*, **119**:1371 ~ 1380
- Pont-Lezica R F, McNally J G, Pickard B G, 1993. *Plant Cell Environ*, **16**:111 ~ 123
- Quatrano R S, Brain L, Aldridge J et al, 1991. *Development*, **1**:1 ~ 16
- Reuzeau C, Pont-Lezica R F, 1995. *Protoplasma*, **186**:113 ~ 121
- Sanders L C, Wang C S, Walling L L et al, 1991. *Plant Cell*, **3**:629 ~ 635
- Schindler M, Meiners S, Cheresh D A, 1989. *J Cell Biol*, **108**:1955 ~ 1965
- Serpe M D, Nothnagel E A, 1991. *Protoplasma*, **183**:146 ~ 161
- Showalter A M, 1993. *Plant Cell*, **5**:9 ~ 23
- Smallwood M, Martin H, Knox J P, 1995. *Planta*, **196**:510 ~ 522
- Sun D Y, Li H B, Cheung G, 1994. *Plant Science*, **99**:128
- Sun D Y, Bian Y Q, Zhou B H, 1995. *Plant and Cell Physiol*, **36**:133 ~ 138
- Suzuki S, Pierschbacher M D, Hayman E G et al, 1993. *J Biol Chem*, **268**:15307 ~ 15314
- Tang J, Wu S P, Bai J, Sun D Y, 1996. *Planta*, **198**:510 ~ 516
- Vogel B E, Lee S J, Hildebrand A et al, 1993. *J Cell Biol*, **121**:461 ~ 468
- Wagner V T, Brain L, Quatrano R S, 1992a. *Proc Natl Acad Sci USA*, **89**:3644 ~ 3648
- Wagner V T, Matthysee A G, 1992b. *J Bacteriol*, **174**:5999 ~ 6003
- Wang H, Wu H M, Cheung A Y, 1993. *Plant Cell*, **5**:1639 ~ 1650
- Wyatt S E, Carpita, N C, 1993. *Trends in Cell Biol*, **3**:413 ~ 417
- Zhu J K, Shi J, Singh U et al, 1991. *Plant Physiol*, **96**:10 (ABSTRACT).
- Zhu J K, Shi J, Singh U et al, 1993. *Plant J*, **3**:637 ~ 646
- Zhu J K, Damsz B, Kononowicz A K et al, 1994. *Plant Cell*, **6**:393 ~ 404