

## 微丝骨架在植物细胞信号转导中的作用

张永梅<sup>1</sup>, 吴忠义<sup>2</sup>, 于荣<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>首都师范大学生命科学学院, 北京 100037; <sup>2</sup>北京市农林科学院北京农业生物技术研究中心, 北京 100090

### Role of Microfilaments in Signal Transduction of Plant

ZHANG Yong-Mei<sup>1</sup>, WU Zhong-Yi<sup>2</sup>, YU Rong<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100037, China; <sup>2</sup>Beijing Agro-Biotechnology Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100090, China

摘要: 文章从小 G 蛋白、离子浓度和肌醇磷脂信号系统等方面阐述植物细胞微丝骨架与细胞信号转导的关系。

关键词: 微丝骨架; 信号转导; 微丝结合蛋白

细胞骨架是细胞的结构之一。它在细胞形态维持、物质运输和细胞分裂中均有作用, 尤其是在细胞信号转导中的作用越来越受到人们的关注。微丝骨架(microfilament cytoskeleton, F-actin)是细胞骨架的一种, 主要由球形肌动蛋白单体(G-actin)和微丝结合蛋白(F-actin binding protein)组成, 有高度动态不稳定性, 即在体内和体外均可根据一系列信号分子的调节而发生解聚和聚合反应。植物中已经鉴定的微丝结合蛋白有微丝解聚因子(actin-depolymerizing factor, ADF)和抑制蛋白(profilin), 它们协同调节微丝的动力学特性(Kost 等 2002)。

过去, 细胞骨架的重排一度被认为是信号通路的终点(end-point), 现在越来越多的证据表明微丝骨架主动参与到信号转导的各个环节, 微丝骨架的排布和动态转换(turn-over)是和信号传递的许多过程联系在一起的(Stradal 和 Scita 2006)。信号系统网络中有很多直接或间接影响微丝骨架的因子, 如小 G 蛋白、离子浓度、酯类和环核苷酸水平等, 它们将胞外信号转化为胞内信息, 改变微丝骨架的形态学和动力学特性(Staiger 和 Hussey 2003), 进而影响到细胞相应的生理功能。除了直接作用于肌动蛋白本身之外, 许多信号分子也可以作用于 ADF 和抑制蛋白等微丝结合蛋白而影响微丝的动力学活性(Feijó 等 2004)。

迄今, 动物微丝骨架在信号转导中作用的研究已取得很大进展, 虽然植物细胞在这一领域中的研究晚于动物细胞, 但进展很快。本文就植物微丝骨架参与细胞信号转导的研究进展作介绍。

### 1 小 G 蛋白

小 G 蛋白是细胞信号网络中的一员, 参与调节细胞骨架重排、花粉管伸长、根毛发育及激素信号转导等多种细胞生物学过程。ROP (Rho-related GTPases from plant) 是小 G 蛋白 Rho 家族中的一员, 它与 Rho 家族中的 CDC42、RAC、RHO 来源于共同的祖先, 是植物中所特有的 Rho GTPases。它感受外界信息, 通过激活 RIC (Rop-interactive CRIB motif-containing) 蛋白、活性氧和微丝结合蛋白等多种下游靶分子影响微丝骨架的动力学, 进而调控生物体内的一系列生理反应。

**1.1 RIC 蛋白** Wu 等(2001)从拟南芥中分离出一种含 CRIB (Cdc42/Rac-interactive binding) 结构域的蛋白, 命名为 RIC 蛋白, RIC 只与结合 GTP 的 ROP 反应而不与结合 GDP 的 ROP 反应。质膜上的鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factors, GEFs)将小 G 蛋白转化为结合 GTP 的活化态, 这种活化的 GTP 表现出固有的微弱的 GTPase 活性, 需要在 GTPase 激活蛋白(GTPase active proteins, GAPs)的作用下将 GTP 水解使小 G 蛋白恢复静息状态。拟南芥 GAP 存在特殊的 CRIB 区域, 能引导 GAP 和 Rop 结合, 直接调节 Rop 活性(Wu 等 2000)。CRIB 是植物特有的结构域, 动物和真菌的 GAP 不会有此结构。Cdc42/Rac 的许多下游效应因子中

收稿 2007-05-14 修定 2007-09-10

资助 北京市科委科技新星项目(2003B34)和国家自然科学基金(30600318、30400228)。

\* 通讯作者(E-mail: yurong@mail.cnu.edu.cn; Tel: 010-68901692)。

都含有 CRIB, 因而它们可与特定的 Rop GAP 结合而激活 Cdc42/Rac。

近年来的研究表明: ROP 控制微丝骨架的组装(Geldner 等 2001; Friml 等 2002), 微丝骨架及其动态变化对花粉管顶端生长非常重要(Gu 等 2005)。ROP1 位于花粉管顶端细胞的质膜上, 可以激活下游 RIC3 和 RIC4 两个相互牵制的(counteract)信号通路调节花粉管的生长(Hwang 等 2005)。GEFs 和 GAPs 都含有能和  $\text{Ca}^{2+}$  或  $\text{Ca}^{2+}$  感受器(sensors)结合的结构域, 可以和  $\text{Ca}^{2+}$  结合而被激活,  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化能影响 ROP 的活性。ROP1 通过 RIC3 途径促使细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 花粉管顶端细胞内  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  浓度升高, 高浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  促进 F-肌动蛋白的解聚; 当  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高到一定水平 [即阈值(threshold level)]时, GTP-ROP 和 GDP-ROP 的循环速度降低, 造成 ROP1 活性减弱; RIC4 和活化态的 ROP1 结合后定位在花粉管顶端细胞的质膜上, 可以促进 F-肌动蛋白的聚合, 稳定花粉管顶端的微丝骨架, 而使  $\text{Ca}^{2+}$  水平保持在阈值之下。RIC4 介导的微丝组装有利于将囊泡运输到生长点, 但不能使囊泡和生长点的质膜融合, 而受 RIC3 调节的  $\text{Ca}^{2+}$  则能促进囊泡与质膜顶端融合, 于是生长得以进行。RIC4 超表达能稳定烟草花粉管顶端的微丝, 因而正常的极性生长受抑, 取而代之的是去极性生长(depolarized growth) (Gu 等 2005)。用微丝特异性抑制剂 LatB (Latrunculin B) 处理 RIC4 超表达的花粉管, 促使微丝解聚, 于是花粉管恢复极性生长(polarized growth) (Fu 等 2001)。在花粉管生长过程中, 显微注射野生型 ROP1 (ROP1 和 GST 的融合蛋白) 可以在花粉管顶端的肌动蛋白自由区(actin-free zone) 诱导形成新的 F-肌动蛋白, 并提高花粉管的生长速率, 推测增加的 F-肌动蛋白可以为细胞器和大分子物质沿细胞骨架运输提供更多的通道, 使运输更加便利, 从而为 Rop 和微丝组装在控制植物顶端生长中起作用的论点提供了直接证据(Zhao 和 Ren 2006)。

拟南芥表皮细胞的形态建成过程, 最初由五角形或六角形细胞沿着叶片的长轴形成成长的多角形细胞, 而后多角形细胞向相邻细胞伸出多个凸起或者局部横向生长, 而相邻细胞的相应部位凹陷

形成缺刻, 最后形成相互嵌合(interlocking)的表皮细胞, 这一现象是通过 ROP2 协同调节下游 RIC1 和 RIC4 两个靶蛋白实现的, 这两条信号通路在空间上彼此独立(Fu 等 2002)。ROP2 可激活 RIC4 而促进微丝的组装, 于是表皮细胞局部伸出凸起(lobes), 同时 ROP2 又抑制 RIC1 的活性。RIC1 促进周质微管的组装, 抑制局部表皮细胞生长, 使之向内凹陷, 形成叶片缺口或锯状齿(indentation), *rop2* 和 *ric4* 突变体可增强 RIC1 对周质微管的作用, 说明 ROP 是负调节 RIC1-周质微管(RIC1-MT)之间作用的。RIC1 不仅可抑制表皮细胞局部伸出突起(localized outgrowth lobes), 还会反过来抑制凹处 ROP2 的活性, *ric1* 超表达可削弱 ROP2-RIC4 之间的作用, 而敲除 *ric1* 的突变体能增强 ROP2-RIC4 的相互作用。另外, *ric1* 基因敲除的突变体不能改变 *ric4* 基因敲除突变体的表型, 这和 RIC1 通过 ROP2 失活来下调 RIC4 是一致的。RIC1 负调控 ROP2-RIC4 信号通路, 但这种调控是依赖于 RIC1 促进 MT 组装这条信号通路的(Fu 等 2005)。由此可见, ROP 可以控制周质微管和微丝骨架的组装(Yang 2002), 细胞骨架成分反过来也可反馈调节 ROP GTPase 的活性。

**1.2 活性氧** 活性氧(ROS)的产生依赖于 NADPH 氧化酶的活性, 植物中 NADPH 氧化酶的活性与 ROPs 有关。跨膜的 NADPH 氧化酶产生的过氧化阴离子可以在植物体外(apoplast)中超氧化物歧化酶的催化下传递给  $\text{H}_2\text{O}_2$  (已知  $\text{H}_2\text{O}_2$  可以激活保卫细胞的  $\text{Ca}^{2+}$  通道), 在过渡金属如  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  的存在下形成 ROS [如: 氢氧基( $\cdot\text{OH}$ )], 直接和生物靶分子相互作用。另外 NADPH 氧化酶的氨基端包括两个 EF 手型结构(EF-hand motif)说明它可能是  $\text{Ca}^{2+}$  结合蛋白, 为  $\text{Ca}^{2+}$  激活后即呈现出 ROS 活性。RHD2 是编码 NADPH 氧化酶亚单位有缺失的拟南芥 *rhd2* (*root-hair defective 2*) 突变体中的 NADPH 氧化酶。有人认为该信号通路是这样的, ROPs 接受外来刺激(如病原刺激)后, 激活 RHD2, 产生的 ROS 可以激活质膜上超极化的  $\text{Ca}^{2+}$  通道, 以利于  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 进一步影响微丝骨架的组装和调节拟南芥根的生长(Foreman 等 2003)。有报道发现 *rhd2* 突变体根毛变短, 在根尖中检测不到  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度梯度(Wymer 等 1997), 用 ROS 处理 *rhd2* 突

变体的根可以部分抑制突变体的表型,说明ROS的产生确实是与NADPH氧化酶活性有关。由此可见植物微丝骨架的改变与ROS的产生紧密相关。

### 1.3 小G蛋白激活的微丝结合蛋白

**1.3.1 抑制蛋白** 抑制蛋白是一个高度保守的小分子蛋白,其活性依赖 $Ca^{2+}$ 浓度变化,即它与肌动蛋白单体结合需要 $Ca^{2+}$ 。胞内抑制蛋白浓度很高且和ATP-肌动蛋白有高亲和性,所以胞内大部分的G-肌动蛋白都以抑制蛋白-肌动蛋白复合体形式存在。抑制蛋白可以和富含脯氨酸的蛋白结合。微丝的成核和延长过程可被一些蛋白或蛋白复合体催化,其中研究比较多的是Arp2/3复合体(actin-related protein 2/3 complex)和formin。

在动物和酵母细胞中,Arp2/3复合体的活性可受一些成核促进因子如:WASP(wiskott aldrich syndrome protein)蛋白家族的控制,这些蛋白和ROP GTPase以及含有SH3-和WW-结构域的蛋白相互作用,影响微丝的重组。WASP是富含脯氨酸的蛋白,WAVE是哺乳动物中WASP的类似物,WASP/WAVE蛋白家族含有CRIB结构域,能和ROP GTPase结合。WASP/WAVE的C端有一个保守的VCA(ver-proline, cofilin and acidic)结构域,其中V为脯氨酸区(ver-proline),能和PLC $\gamma$ 1等含有-SH3结构域的蛋白和分子结合;C为cofilin同源区,cofilin是一种微丝结合蛋白,激活后能加速F-肌动蛋白的解聚;A为酸性区可以和CRIB上游的碱性区相互作用,形成自身铰链闭合结构,抑制VCA结构域与Arp2/3复合物的结合,阻止WASP的cofilin区解聚肌动蛋白,也可阻止G-肌动蛋白单体与ver-proline区的结合,而Arp2/3复合物的激活和G-肌动蛋白单体对于肌动蛋白的成核反应是必需的。Rho GTPase家族,尤其是Rac和Cdc42与WASP蛋白的CRIB基序结合后能打开WASP的自身铰链闭合结构,暴露其VCA结构域,使WASP/WAVE、Arp2/3复合体和G-肌动蛋白形成三聚体,启动肌动蛋白的成核反应(Pantaloni等2001),也可以结合到微丝的侧端上,启动微丝的分支,形成树枝状的微丝结构(Deeks等2004)。到目前为止植物中还没有发现Arp2/3复合体。但功能互补分析表明,Arp2/3复合体的7个亚单位的同源物(homolog)在植物中已

经发现(Saedler等2004),拟南芥Arp2/3复合体突变体表型比野生型植物在形态上有很大变化,如:表皮毛变得扭曲,茎有不正常的增厚;根毛短粗、略呈波浪形;Arp2/3复合体亚单位的突变体中也得到同样的结果(Mathur等2003)。但是也有报道说拟南芥的Arp2/3突变体对根尖和花粉管不起作用(Bannigan和Baskin 2005)。

植物formins分为第一类(groups I)和第二类(groups II)两类。AFH1(Arabidopsis FH1)是拟南芥二十多个异构体中的第一类formins,细胞外结构域和跨膜结构域共同组成AFH1的N端,其C端含有一个约400个氨基酸残基的FH2(formin homology 2)区域(Higgs和Peterson 2005)和与之相邻的富含脯氨酸的长度多变的FH1区域,N端和C端之间区域和其他AFHs或其他种类的formins基本没有序列相似性,称为可变区。动物和酵母中的FH1和FH2为保守性不高的结构域包围着,Rho GTPases结合到formins的N端使其激活,C端释放出来,FH1和FH2将抑制蛋白-肌动蛋白组装到F-肌动蛋白上,该段微丝还可以继续延长,formins和不断延长的F-肌动蛋白正端结合,使帽子蛋白(capping protein)不能结合到F-肌动蛋白的正端,而更多的抑制蛋白-肌动蛋白则可以组装到F-肌动蛋白上,这样就形成了多分支的网络状微丝骨架结构(Kovar 2006)。但是到目前为止在植物中还没有发现与动物及真菌formins的Rho GTPases同源的区域。AFH1是一个成核因子,能够将植物的抑制蛋白-肌动蛋白组装成新的F-肌动蛋白,成核之后AFH1不再结合到延长的F-肌动蛋白正端而转移到F-肌动蛋白的侧部(Kovar 2006)。近来有实验表明,AFH1的表达水平和活性能影响花粉管的生长,低水平AFH1可刺激花粉管生长,但AFH1超表达能使花粉管变粗、直径增大、生长去极化,在细胞膜到细胞质之间产生比野生型更多束状的肌动蛋白丝,表明formins是通过调节肌动蛋白丝的含量而调节花粉管径的。AFH1通过N端使之锚定在细胞膜上,推测它可能是外界刺激和微丝骨架之间的媒介,其在授粉期间对介导雌性器官释放信号以调节花粉管生长是很重要的(Cheung和Wu 2004)。

**1.3.2 微丝解聚因子** ADF可以结合在微丝的负端

使微丝解聚,对调节植物体内微丝骨架的变动很重要。Chen等(2003)报道,ADF通过Rac/Rop GTPase介导的信号通路调节花粉管的生长,Rho GTPase可促使ADF的第六位Ser(Ser-6)磷酸化,改变它与肌动蛋白的结合活性,进而影响微丝的重塑。Rac/Rop GTPase高表达可使烟草花粉管顶端的微丝骨架解聚,并从极性生长转化为等方向性(isotropic)生长,形成圆球形的顶端,烟草ADF(NtADF)的高表达可以抑制NtRac(烟草的Rac/Rop GTPase)的作用。用非磷酸化的丙氨酸代替第六位Ser,可增加NtADF对NtRac的抑制作用,用天冬氨酸(含-COOH,可以被磷酸化)在相同的位置代替Ser后,减小了NtADF对NtRac的抑制作用,而且花粉粒中的NtRac1高表达可以显著提高非磷酸化ADF的磷酸化速度,说明NtADF的第六位Ser磷酸化对NtADF参与Rac/Rop GTPase所介导的信号通路很重要。

AIP1(actin-interacting protein 1)是ADF的协同操纵子(co-operator),可以增强ADF活性,在植物微丝细胞骨架装配中起作用。无ADF时,AIP1基本上不和微丝作用,有ADF时,AIP1可以微弱地盖在F-肌动蛋白的正端,也可以直接和ADF结合,增强ADF的活性。植物AIP1在有ADF的情况下是一个成帽因子(capping factor),可阻止抑制蛋白-肌动蛋白结合于F-肌动蛋白的正端,但G-肌动蛋白可以继续结合在F-肌动蛋白上。RNAi(RNA interference)引起拟南芥AIP1基因沉默后,拟南芥表型即发生变化,微丝骨架遭到破坏,认为这是RNAi减弱了微丝骨架的解聚和聚合之间的动态变化,从而促进微丝成束(Ketelaar等2004)。

## 2 离子浓度

微丝骨架装配依赖于周围环境的离子浓度,在 $Ca^{2+}$ 和低浓度的 $Na^+$ 、 $K^+$ 溶液中,微丝趋于解聚成G-肌动蛋白;在 $Mg^{2+}$ 和高浓度的 $Na^+$ 、 $K^+$ 溶液中,G-肌动蛋白则装配成F-肌动蛋白,新的G-肌动蛋白掺入到微丝末端,于是微丝延伸。细胞骨架作为离子的“靶目标”之一(Holdaway-Clarke和Helper 2003),其动力学活性受各种离子不同程度的调节。

### 2.1 $Ca^{2+}$ 离子浓度 胞质中的 $Ca^{2+}$ 在植物细胞信号

转导网络中占重要地位(Hetherington和Brownlee 2004;Harper等2004),许多影响微丝骨架的动力学特性的信号因子如光、温度、氧胁迫和ABA等都是通过 $Ca^{2+}$ 进行信号转导,这也是细胞完成各种生命活动所必需的。近来的遗传学证据表明, $Ca^{2+}$ -ATPases对花粉管的生长是必要的(Schiott等2004), $Ca^{2+}$ -ATPase可以逆浓度梯度将 $Ca^{2+}$ 从浓度低的部位运输到高浓度部位,低浓度的 $Ca^{2+}$ 促使微丝骨架聚合,微丝骨架可以将囊泡运输到生长点, $Ca^{2+}$ 促进囊泡与质膜顶端融合后,实现生长,而高浓度的 $Ca^{2+}$ 促使微丝骨架解聚,花粉管的生长即朝向 $Ca^{2+}$ 浓度高的部位,由此说明通过 $Ca^{2+}$ 和微丝骨架的变化可以影响花粉管的生长方向和生长速度。花粉管内的胞质环流与微丝骨架紧密相关,用Lat B破坏花粉管顶端的微丝骨架系统后,胞质环流即停止。Kohnno和Shimmen(1988)报道花粉管内的胞质环流受 $Ca^{2+}$ 和肌球蛋白调节,肌球蛋白能为细胞器沿微丝骨架运动提供动力,高浓度的 $Ca^{2+}$ 可以促进微丝骨架的解聚,也可以抑制肌球蛋白的活性,影响胞质环流,这些结果为认为微丝骨架作用于胞质环流的观点提供了又一个证据。钙调素(calmodulin, CaM)普遍存在于高等植物细胞质外体中,它在细胞增殖和花粉管萌发中起作用。花粉管细胞质膜上的异三聚体G蛋白、磷酸肌醇和胞内的 $Ca^{2+}$ 参与此信号转导通路(Ma等1999),为 $Ca^{2+}$ 活化的细胞外CaM与其膜受体结合并将其激活,进而活化异三聚体G蛋白,于是胞质中游离 $Ca^{2+}$ 浓度增加,微丝骨架解聚。拟南芥的保卫细胞细胞壁上有分子量为17kDa的CaM,推测CaM通过诱导保卫细胞中 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 的升高,导致微丝骨架解聚,进而促进气孔的关闭,但关于CaM的受体、胞外CaM诱导微丝骨架解聚的机制还需进一步研究(Xiao等2004)。 $Ca^{2+}$ 还可以和抑制蛋白相互作用来调节肌动蛋白的动力学活性,有报道说抑制蛋白可以减少高 $Ca^{2+}$ 区肌动蛋白纤维含量(Kovar等2000),抑制蛋白对肌动蛋白单体有高亲和力,当细胞需要聚合肌动蛋白时,抑制蛋白-肌动蛋白复合物释放肌动蛋白单体。将高浓度的抑制蛋白显微注射到紫露草的雄蕊毛细胞中后,几分钟内就通过破坏肌动蛋白网络而抑制胞质流动和胞质分

裂(胞质分裂是依靠细胞骨架结构即成膜体来实现的),推测这是由于抑制蛋白螯合了绝大多数的肌动蛋白单体,以致细胞内微丝骨架只能维持正常的解聚平衡,并不发生任何新的聚合(Cleary 1995)。

**2.2 H<sup>+</sup> 离子浓度** ADF的活性依赖于胞内pH值变化,对周围的pH环境很敏感,据报道在花粉管的顶端有一个pH梯度,即有一个与生长相关联的酸性顶端和位于顶端下的碱性的区域。一个稍微碱性的环境对ADF的微丝解聚活性是有利的(Bamburg等1999),富含ADF的肌动蛋白网位于比花粉管顶端稍微碱性的细胞质中(Heppler等2001; Wilsen等2006)。因此推测,在花粉管的亚顶端(subapical region),ADF可以传递外来的信号使微丝骨架快速地解聚和聚合,形成适合花粉管生长的微丝骨架形态。

拟南芥根中的中柱细胞(columella cell)胞质中pH值的瞬时增加与重力刺激的早期感知有关(Fasano等2001)。Blancaflor(2002)认为在植物的向重性反应中微丝骨架会发生变化。一定浓度的Lat B可破坏拟南芥根尖的微丝网络,从而更有利于启动根对重力的感知,增强拟南芥根的向重性反应,而且Lat B处理后根的弯曲程度(curvature)与侧部生长素浓度有关,将根内细胞侧部生长素达到一定浓度时的拟南芥根水平放置时,微丝即参与生长素的流出重新回到它们在质膜上的原来的位置,于是根恢复垂直生长(Hou等2004)。微丝骨架还可以为生长素的极性运输提供运输通道和动力,生长素沿着微丝骨架而流动,如果微丝骨架系统受到细胞松弛素D破坏后,生长素的极性运输即受到削弱(Butler等1998)。笼化质子(caged protons)光解后放出质子,以之阻断由重力刺激所引起的中柱细胞质的碱化,则Lat B诱导的根弯曲程度减小,侧部的生长素浓度降低,这说明碱性环境对维持聚合态的微丝骨架是有利的。

**2.3 K<sup>+</sup> 离子浓度** 一般认为气孔开关是由K<sup>+</sup>等渗透调节物质进出保卫细胞导致水分运动引起的,但细胞骨架在气孔运动中的作用很不清楚。有人曾报道微丝结构对植物气孔保卫细胞的K<sup>+</sup>通道有调节作用(Hwang等1997),由此认为微丝结构可能参与气孔运动的调节。K<sup>+</sup>可以诱导气孔开放,气

孔用Lat B处理后,微丝即解聚,K<sup>+</sup>诱导气孔开放的作用即受到抑制,这进一步说明微丝可能参与K<sup>+</sup>诱导的气孔开放过程(黄荣峰和王学臣1996)。黄荣峰等(1997)还认为微丝在无K<sup>+</sup>情况下仍可调控气孔的开放,据此他们认为微丝对气孔开放起直接调控作用,这种调控作用可能不依赖于K<sup>+</sup>,其具体调控方式或途径还有待进一步研究。

### 3 肌醇磷脂信号系统

在动物细胞肌醇磷脂信号系统中,1,4,5-三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>)和二酰基甘油(DAG)都可以激活下游信号分子,将外界信号进行放大。在植物细胞中已鉴定出与蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)功能相当的蛋白激酶。有报道表明,二酰基甘油参与花粉管和气孔的调节(Munnik等1998),说明肌醇磷脂信号系统在植物细胞信号转导中也起作用。

**3.1 磷脂酶D (phospholipase D, PLD)** PLD可以水解胆碱磷脂产生磷脂酸和DAG而间接激活PKC,介导植物细胞骨架的组装、防御反应、膜运输等多种生物学过程。PLD含有钙调蛋白结合域,通道开放剂、拮抗剂对异三聚体G蛋白的激活以及热、冷和虫咬对膜的损伤都可以通过钙调蛋白结合域和游离Ca<sup>2+</sup>激活PLD,激活的PLD运到质膜中水解胆碱磷脂。磷脂酸起离子载体的作用,它可使更多的Ca<sup>2+</sup>进入胞质,于是胞质中的高浓度Ca<sup>2+</sup>即促进微丝解聚。微丝骨架的状态也能影响PLD的活性,体外实验证明,聚合的F-肌动蛋白能增强PLD的活性,而G-肌动蛋白则抑制其活性(Samaj等2002)。

哺乳动物的capping protein (CP)是一种参与调节微丝动态组装的帽子蛋白,与F-肌动蛋白的正端有高亲和性,受磷脂如磷脂酸和PIP<sub>2</sub>所调节,它们和CP结合后,CP即失活并从F-肌动蛋白末端释放出来,这样,在抑制蛋白存在下F-肌动蛋白可以继续组装。拟南芥的CP是目前所知道的真核细胞中唯一能被磷脂酸调节的微丝结合蛋白,虽然拟南芥的CP和肌动蛋白的结合能力比较弱,但或多或少也能抑制微丝骨架的动态转换(Huang等2003)。花粉管和悬浮细胞中的磷脂酸高表达可以显著提高F-肌动蛋白含量,这可能是通过去除与F-肌动蛋白结合的CP后使F-肌动蛋白得到组

装所致(Huang等2006)。与细胞器膜和与质膜相关的磷脂酸诱导的CP失活会导致相应部位F-肌动蛋白聚集,于是有人推测聚合态的微丝可能与细胞和细胞器的运动有关(Staiger和Blanchoin 2006)。

**3.2 磷脂酶 C (phospholipase C, PLC)** Rops、PIP<sub>2</sub> (phosphatidylinositol -4,5-bisphosphate)和微丝骨架功能的调节之间关系密切,Rop5 (At-Rac2)可以和位于花粉管顶端细胞质膜上的PIP激酶(PIP-kinase)作用产生PIP<sub>2</sub>。PIP<sub>2</sub>也位于花粉管顶端细胞质膜上,PLC催化水解产生IP<sub>3</sub>和DAG,IP<sub>3</sub>扩散到细胞质中并作用于胞内“钙库”上的钙通道而刺激Ca<sup>2+</sup>释放,通过调节Ca<sup>2+</sup>浓度变化来影响微丝骨架的组装,DAG可以激活膜上的PKC,通过磷酸化修饰细胞骨架成分。植物中已鉴定出有PLC活性的一些酶,此种酶分为两类:I型PLC是可溶性的,其优先作用的底物是磷酸肌醇(phosphatidylinositol, PI),需毫摩尔水平的Ca<sup>2+</sup>;II型PLC主要结合在细胞质膜上,其优先作用的底物是PPI,可为微摩尔水平的Ca<sup>2+</sup>完全激活。

微丝骨架可以通过微丝结合蛋白锚定到细胞膜上,也可以直接与细胞膜上的脂类相互作用,PIP<sub>2</sub>也能调节抑制蛋白和ADF的活性和定位(Martin 1998)。抑制蛋白与G-肌动蛋白形成复合体并结合在F-肌动蛋白的末端,从而阻止肌动蛋白进一步聚合。抑制蛋白含有PIP<sub>2</sub>结合位点,对PIP<sub>2</sub>具高亲合性,可抑制PLC活性和PIP<sub>2</sub>水解。在静止细胞中,抑制蛋白大量和质膜上的PIP<sub>2</sub>结合形成一种“保护层”(一分子抑制蛋白至少可以和十分子的PIP<sub>2</sub>结合),从而防止PLC对PIP<sub>2</sub>的水解作用。细胞受刺激之后,受体酪氨酸激酶活化,继而PLC- $\gamma$ 序列中的几个酪氨酸磷酸化,后者则可使抑制蛋白磷酸化与PIP<sub>2</sub>解离,这样PLC可进一步水解PIP<sub>2</sub>。ZmADF3是玉米中的微丝结合蛋白,它可以和PIP、PIP<sub>2</sub>结合,并通过抑制PLC活性抑制PIP<sub>2</sub>的水解,从而抑制ZmADF3对微丝的解聚作用(Gungabissoon等1998)。

#### 4 结语

细胞骨架成分感知细胞外环境刺激,与其他信号分子协同作用共同调节细胞各种生命活动,对外界刺激作出反应,形成一个复杂而庞大的信

号网络系统。有关植物微丝骨架在细胞信息传递中的作用及其分子机制将是今后研究的焦点。其中,Rop作为分子开关在花粉管和根尖发育过程中的精确调控还有待进一步阐明;植物在冷、热、盐、旱等环境胁迫下,一系列信号分子(如ABA、NO等)如何与微丝骨架相联系,进而调整其生理反应还了解甚少;一般认为,在细胞周期中,核膜对于细胞骨架的组装是有利的(Stoppin等1994),尤其在有丝分裂末期和早前期,但微丝骨架在调节植物细胞周期的信号途径中是否有作用呢?微丝骨架参与的信号通路中,是否有微丝结合蛋白的参与,是否有与微管骨架成分的协同作用,以及相应的作用机制是什么?这些都有待进一步研究。

#### 参考文献

- 黄荣峰,王学臣(1996). 细胞松弛素B对蚕豆气孔运动的影响. 植物生理学报, 22 (4): 404~408
- 黄荣峰,王学臣,娄成后(1997). 微管、微丝和钾离子在调控蚕豆(*Vicia faba* L.)气孔开放中的关系. 中国农业大学学报, 2 (1): 30, 44
- Bamburg JR, McGough A, Ono S (1999). Putting a new twist on actin: ADF/cofilins modulate actin dynamics. Trends Cell Biol, 9: 364~370
- Bannigan A, Baskin TI (2005). Directional cell expansion-turning toward actin. Curr Opin Plant Biol, 8 (6): 619~624
- Blancaflor EB (2002). The cytoskeleton and gravitropism in higher plants. J Plant Growth Regul, 21: 120~136
- Butler JH, Hu S, Brady SR, Dixon MW, Muday GK (1998). *In vitro* and *in vivo* evidence for actin association of the naphthylphthalamic acid-binding protein from zucchini hypocotyls. Plant J, 13: 291~301
- Chen CYH, Cheung AY, Wu HM (2003). Actin-depolymerizing factor mediates Rac/Rop GTPase-regulated pollen tube growth. Plant Cell, 15: 237~249
- Cheung AY, Wu HM (2004). Overexpression of an Arabidopsis formin stimulates supernumerary actin cable formation from pollen tube cell membrane. Plant Cell, 16: 257~269
- Cleary AL (1995). F-actin redistributions at the division site in living *Tradescantia* stomatal complexes as revealed by microinjection of rhodamine-phalloidin. Protoplasma, 185: 152~165
- Deeks MJ, Kaloriti D, Davies B, Malhó R, Hussey PJ (2004). *Arabidopsis* NAP1 is essential for Arp2/3-dependent trichome morphogenesis. Curr Biol, 14: 1410~1414
- Fasano JM, Swanson SJ, Blancaflor EB, Dowd PE, Kao TH, Gilroy S (2001). Changes in root cap pH are required for the gravity response of the *Arabidopsis* root. Plant Cell, 13: 907~922
- Feijó JA, Costa SS, Prado AM, Becker JD, Certal AC (2004).

- Signalling by tips. *Curr Opin Plant Biol*, 7: 589~598
- Foreman J, Demidchik V, Bothwell JHF, Mylona P, Miedema H, Torres MA, Linstead P, Costa S, Brownlee C, Jones JDG et al (2003). Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature*, 422 (27): 422~446
- Friml J, Wisniewska J, Benkova E, Mendgen K, Palme K (2002). Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature*, 415: 806~809
- Fu Y, Gu Y, Zhang Z, Wasteneys G, Yang Z (2005). *Arabidopsis* interdigitating cell growth requires two antagonistic pathways with opposing action on cell morphogenesis. *Cell*, 120: 687~700
- Fu Y, Li H, Yang Z (2002). The ROP2 GTPase controls the formation of cortical fine F-actin and the early phase of directional cell expansion during *Arabidopsis* organogenesis. *Plant Cell*, 14: 777~794
- Fu Y, Wu G, Yang Z (2001). Rop GTPase-dependent dynamics of tip-localized F-actin controls tip growth in pollen tubes. *J Cell Biol*, 152: 1019~1032
- Geldner N, Friml J, Stierhof YD, Jürgens G, Palme K (2001). Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature*, 413: 425~428
- Gu Y, Fu Y, Dowd P, Li S, Vernoud V, Gilroy S, Yang ZB (2005). A Rho family GTPase controls actin dynamics and tip growth via two counteracting downstream pathways in pollen tubes. *J Cell Biol*, 196: 127~138
- Gungabissoon RA, Jiang CJ, Bjorn KD, Maciver SK, Hussey PJ (1998). Interaction of maize actin-depolymerising factor with actin and phosphoinositides and its inhibition of plant phospholipase C. *Plant J*, 16 (6): 689~696
- Harper JF, Breton G, Harmon A (2004). Decoding Ca<sup>2+</sup> signals through plant protein kinases. *Annu Rev Plant Physiol*, 55: 263~288
- Hepler PK, Vidali L, Cheung AY (2001). Polarized cell growth in higher plants. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 17: 159~187
- Hetherington AM, Brownlee C (2004). The generation of Ca<sup>2+</sup> signals in plants. *Annu Rev Plant Physiol*, 55: 401~427
- Higgs HN, Peterson KJ (2005). Phylogenetic analysis of the formin homology 2 domain. *Mol Biol Cell*, 16: 1~13
- Holdaway-Clarke TL, Hepler PK (2003). Control of pollen tube growth: role of ion gradients and fluxes. *New Phytol*, 159: 539~563
- Hou G, Kramer VL, Wang YS, Chen R, Perbal G, Gilroy S, Blancaflor EB (2004). The promotion of gravitropism in *Arabidopsis* roots upon actin disruption is coupled with the extended alkalization of the columella cytoplasm and a persistent lateral auxin gradient. *Plant J*, 39: 113~125
- Huang S, Blanchoin L, Kovar DR, Staiger CJ (2003). *Arabidopsis* capping protein (AtCP) is a heterodimer that regulates assembly at the barbed ends of actin filaments. *J Biol Chem*, 278: 44832~44842
- Huang S, Gao L, Blanchoin L, Staiger CJ (2006). Heterodimeric capping protein from *Arabidopsis* is regulated by phosphatidic acid. *Mol Biol Cell*, 17: 1946~1958
- Hwang JU, Gu Y, Lee Y-J, Yang ZB (2005). Oscillatory ROP GTPase activation leads the oscillatory polarized growth of pollen tubes. *Mol Biol Cell*, 16: 5385~5399
- Hwang JU, Suh S, Yi H, Kim J, Lee Y (1997). Actin filaments modulate both stomatal opening and inward K<sup>+</sup> channel activities in guard cells of *Vicia faba* L. *Plant Physiol*, 115: 335~342
- Ketelaar T, Allwood EG, Anthony R, Voigt B, Menzel D, Hussey PJ (2004). The actin-interacting protein AIP1 is essential for actin organization and plant development. *Curr Biol*, 14: 145~149
- Kohno T, Shimmen T (1988). Accelerated sliding of pollen tube organelles along *Characeae* actin bundles regulated by Ca<sup>2+</sup>. *J Cell Biol*, 106: 1539~1543
- Kost B, Bao YQ, Chua NH (2002). Cytoskeleton and plant organogenesis. *Philos Trans Roy Soc Ser B Biol Sci*, 357: 777~789
- Kovar DR (2006). Molecular details of formin-mediated actin assembly. *Curr Opin Cell Biol*, 18: 11~17
- Kovar DR, Drøbak BK, Staiger CJ (2000). Maize profilin isoforms are functionally distinct. *Plant Cell*, 12: 583~598
- Ma LG, Xue XD, Cui SJ, Sun DY (1999). The presence of heterotrimeric G protein and its role in signal transduction of extracellular calmodulin in pollen germination and growth. *Plant Cell*, 11: 1351~1363
- Martin TFJ (1998). Phosphoinositide lipids as signaling molecules: common themes for signal transduction, cytoskeletal regulation and membrane trafficking. *Ann Rev Cell Dev Biol*, 14: 231~264
- Mathur J, Mathur N, Kernebeck B, Hülskamp M (2003). Mutations in actin-related proteins 2 and 3 affect cell shape development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 15: 1632~1645
- Munnik T, Irvine RF, Musgrave A (1998). Phospholipid signaling in plants. *Biochem Biophys Acta*, 1389: 222~272
- Pantaloni D, Le Clainche C, Carlier MF (2001). Mechanism of actin-based motility. *Science*, 292: 1502~1506
- Saedler R, Mathur N, Srinivas BP, Kernebeck B, Hülskamp M, Mathur J (2004). Actin control over microtubules suggested by *DISTORTED2* encoding the *Arabidopsis* ARPC2 subunit homolog. *Plant Cell Physiol*, 45: 813~822
- Samaj J, Ovecka M, Hlavacka A, Lecourieux F, Meskiene I, Lichtscheidl I, Lenart P, Salaj J, Volkmann D, Bogre L et al (2002). Involvement of the mitogen-activated protein kinase SIMK in regulation of root hair tip growth. *EMBO J*, 21: 3296~3306
- Schiott M, Romanowsky SM, Baekgaard L, Jakobsen MK, Palmgren MG, Harper JF (2004). A plant plasma membrane Ca<sup>2+</sup> pump is required for normal pollen tube growth and fertilization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 9502~9507
- Staiger CJ, Blanchoin L (2006). Actin dynamics: old friends with new stories. *Curr Opin Plant Biol*, 9: 554~562
- Staiger CJ, Hussey PJ (2003). Actin and actin-modulating proteins. In: Hussey PJ (ed). *The Plant Cytoskeleton in Cell Differentiation and Development*. Oxford: Blackwell/CRC Press,

- 32~80
- Stoppin V, Vantard M, Schmit AC, Lambert AM (1994). Isolated plant nuclei nucleate microtubule assembly: the nuclear surface in higher plants has centrosome-like activity. *Plant Cell*, 6: 1099~1106
- Stradal TEB, Scita G (2006). Protein complexes regulating Arp2/3-mediated actin assembly. *Curr Opin Cell Biol*, 18: 4~10
- Wilson KL, Lovy-Wheeler A, Voigt B, Menzel D, Kunkel JG, Hepler PK (2006). Imaging the actin cytoskeleton in growing pollen tubes. *Sex Plant Reprod*, 19: 51~62
- Wu G, Gu Y, Li SD, Yang ZB (2001). A Genome-wide analysis of *Arabidopsis* Rop-interactive CRIB motif-containing proteins that act as RopGTPase targets. *Plant Cell*, 13: 2841~2856
- Wu G, Li H, Yang ZB (2000). *Arabidopsis* RopGAPs are a novel family of Rho GTPase-activating proteins that require the Cdc42/Rac-interactive binding motif for Rop-specific GTPase stimulation. *Plant Physiol*, 124: 1625~1636
- Wymer CL, Bibikova TN, Gilroy S (1997). Cytoplasmic free calcium distribution during the development of root hair of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 12: 427~439
- Xiao YM, Chen YL, Huang RF, Chen J, Wang XC (2004). Depolymerization of actin cytoskeleton is involved in stomatal closure-induced by extracellular calmodulin in *Arabidopsis*. *Sci China C Life Sci*, 47: 454~460
- Yang Z (2002). Small GTPases: versatile signaling switches in plants. *Plant Cell*, 14: S375~S388
- Zhao HP, Ren HY (2006). Rop1Ps promote actin cytoskeleton dynamics and control the tip growth of lily pollen tube. *Sex Plant Reprod*, 19: 83~91