

## 芸薹属中自交不亲和反应的信号转导

芦岩 李玉花\*

东北林业大学花卉生物工程研究所, 哈尔滨150040

### Signal Transduction of Self-incompatibility in *Brassica*

LU Yan, LI Yu-Hua\*

Research Institute of Flower Biotechnology, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**摘要** 自交不亲和现象在芸薹属(*Brassica*)植物中普遍存在, 芸薹属中表现的是典型的孢子体型自交不亲和性。单元特异性的S位点受体激酶(SRK)基因和S位点花粉胞被蛋白(SCR/SP11)发生识别后, 一系列相关蛋白——臂重复蛋白(ARC1)、M位点蛋白激酶(MLPK)等, 引发了自交不亲和反应信号的传导, 最终产生自交不亲和反应。文章就这方面的研究进展作介绍。

**关键词** 孢子体自交不亲和; ARC1; MLPK; 信号转导

自交不亲和性(self-incompatibility, SI)是有花植物进化过程中产生的一种促进远系繁殖的机制, 是提高遗传多样性的一个方面<sup>[1]</sup>。植物自交不亲和的实质是: 雌蕊细胞分泌识别物质可识别并且拒绝自身花粉的分子反应。SI受S位点复等位基因控制<sup>[2]</sup>, 根据遗传学上的差异, SI系统可分为孢子体型和配子体型2种类型。前一种自交不亲和遗传型比后一种类型更为复杂<sup>[2]</sup>, 其受精事件的结果多是由亲本的基因型决定的, 以芸薹属的研究居多。多年来自交不亲和机制一直都是研究的热点, 尤其是近年来在芸薹属基因的鉴定方面取得了显著进展。20世纪80年代, 首先鉴定出S位点糖蛋白基因(S-locus glycoprotein gene, *SLG*)<sup>[3,4]</sup>。继*SLG*为人们所认识<sup>[5]</sup>以后, 又鉴定出另外一个自交不亲和反应相关基因——S位点受体激酶(S-locus receptor kinase, SRK)基因<sup>[4,6]</sup>, 并在进一步的功能研究中得出SRK是自交不亲和反应中雌性方面决定成分的结论<sup>[7]</sup>, 而最初则认为是雌性方面决定成分的*SLG*基因起到增强自交不亲和反应的作用<sup>[8]</sup>。20世纪末, 不同的研究小组<sup>[9,10]</sup>各自鉴定出雄性方面的决定成分: S位点花粉胞被蛋白(S-locus pollen coat protein, SCR, 也有人命名为SP11)。随后又有了许多新的发现, 比如硫氧还蛋白(thioredoxin h, Th)家族的参与<sup>[11]</sup>, 臂重复蛋

白(arm repeat containing, ARC1)的加入<sup>[12]</sup>, 以及最近新发现的M位点蛋白激酶(M locus protein kinase, MLPK)<sup>[13]</sup>。

在芸薹属植物中, 当相关的花粉和柱头彼此接触发生识别以后, 花粉管的生长就会受抑制, 而受精则会受到阻碍。芸薹属自交不亲和反应的发生主要依靠柱头细胞表达的SRK和存在于花粉粒上的相应的单元特异性配体SCR/SP11之间的相互识别。

目前, 大多是将植物自交不亲和反应的整个分子细胞途径拆开来分别研究。本文介绍植物自交不亲和反应的分子途径。

#### 1 自交不亲和反应

自交不亲和反应其过程可分为: 识别阶段和分子传导阶段。

**1.1 自交不亲和反应中参与信号识别阶段的蛋白**  
据目前所知, 在自交不亲和信号识别中, 至少涉及3个蛋白, 它们分别是SRK和SLG以及SCR/SP11。在识别过程中, 很有可能是这些成分共同作用导致不亲和花粉受到排斥。当一个自体不亲

收稿 2004-10-25 修定 2005-04-19

资助 国家自然科学基金(30371189)。

\*通讯作者(E-mail: lyhshen@mail.hl.cn, Tel: 0451-82191795)。

和(self-incompatible)花粉粒落到柱头上时,SCR就会在乳突细胞中溶解,并在乳突细胞中以单元特异性的方式与SRK受体区域结合,从而导致SRK发生构象改变,激活SRK的活性。如果缺少单元特异性的花粉配体SCR/SP11,SRK就会为Th所抑制<sup>[14]</sup>。

**1.2 SRK基因** SRK编码一种跨膜的蛋白质激酶,位于柱头乳突细胞的质膜上<sup>[4,15]</sup>。其氨基酸序列包含1个信号肽、1个与SLG具有高度序列一致性的S区域<sup>[16]</sup>、1个跨膜结构区域和1个激酶区域。它与类免疫球蛋白的重复序列很相象<sup>[17]</sup>,也有可能和植物的另一个识别系统——防御病原体系统相关联<sup>[18,19]</sup>。人们对SRK在自交不亲和性机制中的作用基本上已没有争议,因为许多转基因植物试验已确切证明SRK是SI反应中雌蕊一方的首要因子<sup>[8]</sup>。SRK基因发生突变可导致SI丧失<sup>[20]</sup>。

**1.3 SCR基因** 自交不亲和雄性方面的决定因子SCR/SP11的发现大费周章。人们认为芸薹属花粉S基因应该与S位点紧密连锁结合,并且表现出高度的多态性,同时应在花粉/花药中表达。根据这种思路,一些研究小组采用对S位点区域作图和测序的方法,期望能找到花粉S基因<sup>[7]</sup>。在寻找该基因的过程中,人们发现了几个相关蛋白,它们分别是PCP-A1(花粉胞被蛋白)和SLA(S locus anther)基因<sup>[7,19]</sup>。PCP-A1与S位点不是紧密连锁,而且与SLG的作用也并非等位基因特异性的。SLA虽然与S位点连锁,并且还能够编码产生一个在花药中特异表达的小蛋白,但进一步分析SLA的结果却显示无论亲和还是不亲和的芸薹属结球甘蓝(*Brassica oleracea*)的变种都携带一个突变的SLA等位基因<sup>[19]</sup>,因此对于自交不亲和反应来说,一个具有功能性的SLA并不是十分必需的。有关此问题的突破性发现是在Suzuki等<sup>[21]</sup>的实验中得到的,他们的研究小组鉴定出一个花粉表达基因,命名为SP11,属于花粉胞被蛋白家族的成员<sup>[21]</sup>。与此同时,Schoper等<sup>[22,23]</sup>鉴定出了一个编码半胱氨酸丰富的蛋白,称之为S位点半胱氨酸丰富蛋白SCR<sup>[22,23]</sup>。Takayama等人<sup>[24]</sup>进一步证明了SP11确实编码花粉S产物,并从其它

的芸薹属芜菁(*Brassica campestris*)中的S等位基因中也鉴定出SP11基因,发现SP11基因是高度多态性的,SP11编码的蛋白能产生一个具有等位基因特异性的自交不亲和反应。经证实,这两组研究人员分别鉴定出来的蛋白是同一种蛋白。成熟的SCR/SP11蛋白是一个分子量8.4~8.6 kD的亲水性蛋白,包含8个保守的半胱氨酸残基<sup>[22]</sup>。分析显示SCR和SP11类似于PCP基因家族成员,只是氨基酸残基位置有所不同。SCR/SP11的产物都是在减数分裂后期累积。在一个花粉自交不亲和的突变体中发现缺少SCR的转录子,于是在转基因实验中将SCR<sub>6</sub>基因导入其中,结果导致转基因植物的花粉被S<sub>6</sub>植物的雌蕊拒绝,重新获得自交不亲和性<sup>[22]</sup>。此种功能获得性和丧失性实验分别证明SCR对决定花粉SI特异性反应是必需的。

目前,已有21个SCR/SP11的等位基因被鉴定出来,它们编码的蛋白均具有花粉胞被蛋白家族的特性<sup>[21,24]</sup>,总的说来,它们的成熟蛋白之间的相似性很少,保守区域限定在信号肽区域。SCR与PCPs以及防卫素(defensins)<sup>[25]</sup>在结构上的共同特征致使它们有可能是在漫长的演化过程中从原始的免疫系统的部分分别独立演化而来的,因而能够识别自身的花粉或识别病原体,彼此之间识别花粉和病原体是很相似的<sup>[26]</sup>。

## 2 参与SI信号转导途径的蛋白

**2.1 SI途径中正向效应物ARC1** ARC1是目前在信号转导途径中唯一被鉴定出来的蛋白<sup>[27]</sup>。它是一个由酵母双杂交实验所筛选出来的蛋白质,是SRK潜在的3个底物蛋白中最令人感兴趣的。它存在于信号转导途径中,是E3遍在蛋白连接酶家族中的一员<sup>[27,28]</sup>。它调控蛋白间的相互作用,在柱头特异表达,与SRK结合后进行磷酸化<sup>[12]</sup>。尽管ARC1主要存在于细胞溶胶中,但它可以在细胞溶胶和核内之间活跃地穿梭。ARC1也可能是在SRK-MLPK复合物的下游起调控作用。采用反义cDNA表达抑制ARC1的活动,会引起SI功能的部分丧失。Stone等<sup>[27]</sup>的反转录转基因实验证实了ARC1在SI反应中的功能,它抑制ARC1的表达从而导致SI的部分功能丧失,据此,可以认

为ARC1确实是SI途径的正向效应物。但是这个自交不亲和部分丧失也很可能是通过另一个可能存在的信号途径,或者由于ARC1受到不完全抑制。也有可能是在信号转导过程中ARC1进一步使某种未知底物进行蛋白化作用,后为蛋白酶体降解,这些底物的降解可能会导致花粉的被排斥和阻止受精<sup>[29]</sup>。

## 2.2 与自交不亲和联系的激酶MLPK

### 2.2.1 新激酶的发现

MLPK是Murase等<sup>[13]</sup>首先从芸薹属自交不亲和途径中发现的一种新的激酶。在转基因植物中存在自交不亲和性的部分丧失,这种现象可能意味着ARC1的不完全抑制或者另一种信号途径的存在<sup>[30]</sup>。隐性突变体 $modifier(m)$ 是Hinata等<sup>[28]</sup>由芸薹属结球白菜(*Brassicarapavar. yellow sarson*) C634 ( $S_{12}S_{12}m/m$ )和自交不亲和的芸薹属结球白菜(*Brassica rapa*)  $S_8$ 纯合子( $S_8S_8M/M$ )的杂交种中鉴定得来的<sup>[28]</sup>。他们采用图谱克隆的方法,将MLPK作为 $modifier$ 基因的侯选者鉴定出来,并且证明MLPK基因的突变体对于 $modifier$ 表型起作用。他们的体外培养实验表明该基因的突变会导致 $m/m$ 表型植物中此种激酶活性丧失,同时导致该蛋白完全缺失。为了研究MLPK基因是否造成了 $m$ 位点的突变,他们设计了一种乳突细胞瞬时性表达的测定方法。在这种方法中,将MLPK和红色荧光蛋白(RFP)标记的基因利用特殊的粒子轰击仪导入到 $m/m$ 表型的植物中,18 h后,在荧光显微镜下将表达RFP的细胞挑选出来,并采用显微操作器进行了自交和杂交操作。然后,分别观察在RFP导入与RFP和MLPK共同导入的情况下花粉管的伸长情况。实验结果显示在导入MLPK的情况下这些亲和性的突变体可以获得SI,证明了野生型的MLPK能够重新恢复 $m/m$ 表型植物的自交不亲和性。

以上所提到SI的部分丧失暗示有可能在SRK与MLPK发生结合之后的信号传导途径中存在另外的分支途径<sup>[29]</sup>。M位点与S位点(S位点包含紧密连锁的 $SP11/SRK$ 基因)彼此不仅独立存在,而且M位点对S位点来说是上位性的<sup>[28]</sup>。在 $S_8S_8$ (基因型M/m)植物中,SI在柱头上丧失,在花粉部

位则不丧失;而在芸薹属结球白菜隐性纯合体中,M( $modifier$ )位点突变成 $m$ 时就会造成SI的完全丧失<sup>[28]</sup>。这暗示M位点可能在SRK的下游调控中编码一个关键的作用因子。以前曾经有人假设M是一个类似水离子通道基因 $MIP-MOD$ <sup>[31]</sup>,但近来的实验推翻了这个假设,但真实的M基因所编码的产物还未鉴定出来<sup>[32,33]</sup>。

### 2.2.2 MLPK激酶的特征

实验证明,M位点限制在一个50 kb的区域,用BLAST(basic local alignment searching tools)搜寻这一区域,鉴定出12个推测的开放阅读框,其中的一个是ORF-G,人们预期ORF-G能编码一个蛋白激酶。比较PCR得到的cDNA序列和基因组序列的结果表明,这个基因共包含了8个外显子和7个内含子。这一基因编码一个含有404个氨基酸的蛋白激酶,称为MLPK,它包含1个典型的N端-十四[烷]酰化(豆蔻酰化)的花边序列:Met-Gly-XXX-Ser/Thr(Arg)(X代表任何一个氨基酸)和1个具有30个氨基酸并且富集丝氨酸(33%)的区域以和11个蛋白激酶的亚结构域<sup>[34]</sup>。

在数据库中搜索的结果显示,MLPK属于一组类似细胞质受体激酶(receptor-like cytoplasmic kinases, RLCKs)家族。在模式植物拟南芥中,这些激酶簇与类似受体激酶(receptor-like kinases, RLKs)家族一起是系统发育的,但是缺少明显的信号或者跨膜区域<sup>[35]</sup>。人们对RLCKs所知甚少,而MLPK则是RLCKs家族中与受体激酶信号转导途径相联系的第1个成员,所以人们对MLPK的了解更少。

当MLPK在烟草细胞中瞬间表达时,MLPK首先在质膜区域富集,并且它还含有一个人们预期的可以在质膜定位的十四烷基化位点,这意味着它在质膜上有可能与SRK结合。另外,基因型 $m/m$ (M位点突变成 $m$ )的植物中,SI完全丧失,这意味着MLPK参与了所有可能存在的SRK调控的信号途径(假设有多种途径存在的话)<sup>[27]</sup>。以上这些就为MLPK与SRK形成信号复合物共同调控自交不亲和反应的假设从理论上提供了支持。而这些信号复合物的磷酸化可以激活其他参与者的

活性, 并且建立与下游信号成分结合的位点。

Northern 杂交实验分析揭示, 器官中 MLPK 的表达具有如下特性: (1) MLPK 在柱头中表达最多; (2) MLPK 在早期阶段的柱头中表达很少, 但在开花前 2~3 d (6~8 mm 长的花蕾) 迅速增加, 开花的当天达到顶峰; (3) MLPK 的表达方式与 SRK 相一致, 且与柱头获得 SI 的阶段也一致。Western 杂交分析揭示, MLPK 存在于微粒体部分而不是细胞质中。将绿色荧光蛋白和 MLPK 在原生质体 (由烟草 BY-2 细胞获得) 中融合后, MLPK 在细胞中表达位于质膜区域。这说明它可能在 SRK 附近区域起作用, 也很有可能是与 SRK 结合在一起共同起作用的。另外, 转基因植物实验已证明 MLPK 具有足够使自交不亲和突变体重新恢复特性的能力<sup>[13]</sup>。植物中获得的几个受体激酶和它们的相应配体复合物已经得到鉴定<sup>[36, 37]</sup>, 但人们对它们下游的效应子却知之甚少。

**2.2.3 MLPK与自交不亲和反应的关系** 作为 RLCK 家族成员的 MLPK, 有可能是一个 SRK 信号转导途径中的介体。对于未来自交不亲和信号的转导来说, MLPK 在 SRK 受体复合物中起作用是一个很吸引人的模式。受体激酶有可能与非受体激酶共同作用而激活信号途径, 这一发现激发人们对

植物信号转导的研究产生了极大的兴趣。

芸薹属自交不亲和信号转导途径中, 非受体激酶 MLPK 与受体激酶 SRK 相结合, 激活了某种信号转导途径。目前对此还只是一些推测, 一般认为, MLPK 在由雌蕊细胞分化出来的质膜部分才大量表达, 而已有的实验证明 SRK 恰恰在质膜上表达的。这是不是预示着它们之间存在某种的必然联系, 于是又提出 MLPK 可能是与 SRK 信号转导途径中某一种复合物结合后而调控拒绝反应的作用模式<sup>[29]</sup>。Murase 等<sup>[13]</sup>提出一种新的想法, 他们认为受体激酶与 RLCK 协同起作用。这种想法将来可能会普遍被接受, 并用来解释在植物基因组存在大量 RLCK 类细胞质受体激酶 VII 的现象<sup>[31]</sup>。

### 3 自交不亲和反应的模式

根据近来的研究进展, Stone 等<sup>[28]</sup>提出了一种芸薹属植物自交不亲和反应的新模式 (图 1)。

无亲和花粉时, SRK 受 THL1 (thioredoxin L 1) 抑制。ARC1 可在核和胞质内穿梭, 但由于核输出信号 (nuclear export signal, NES) 的存在, 它主要位于胞质内。在自交授粉期间, 花粉配体 SCR 的结合可激活受 THL1 抑制的受体 SRK, 于是 THL1 便游离下来, 且促进 SRK 的磷酸化。磷酸化的 SRK 与胞质内的 ARC1 结合导致 ARC1 磷酸

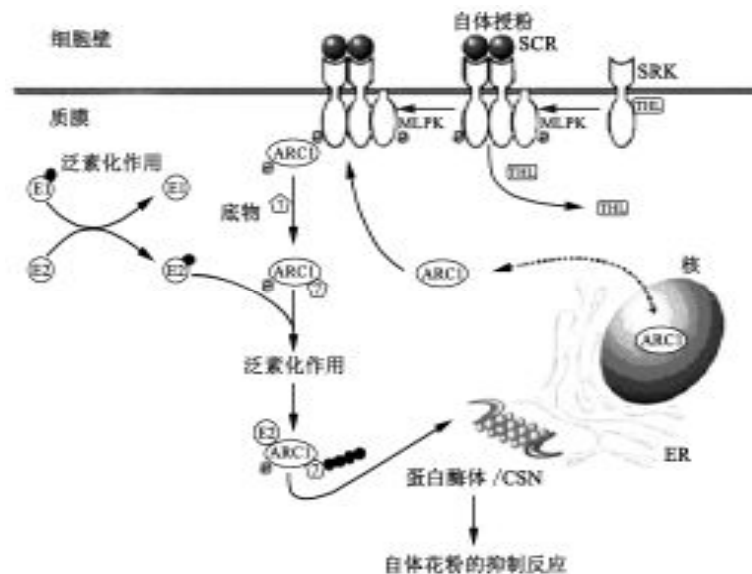


图1 芸薹属自交不亲和反应的模型 (参考文献28并作修改)

化。ARC1 可通过 N 末端亮氨酸拉链 (Leu zipper) 和/或卷曲螺旋结构域 (coiled-coil domain) 与核、胞质中底物和/或从内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 中输出的底物结合。ARC1 通过 U-box 结构与和泛肽携带蛋白同源的 E<sub>2</sub> 酶作用后, 与 ARC1 结合的底物泛素化作用, 并运输到 ER 膜表面的蛋白酶体/CSN (COP9 signalosome) 中。在蛋白酶体/CSN 中, ARC1 介导底物降解, 并最终导致花粉自我抑制。目前, 人们对这些 ARC1 底物的认识还不清楚, 它们可能是促进花粉水合、萌发和花粉管生长的雌性亲和因子。

在混合的花粉中, 亲和花粉并不受抑制, 所以, 可以认为 SRK 信号途径在空间上仅局限于与不亲和花粉粒直接接触的部位。当一个自体不亲和花粉粒落到柱头上时, 在乳突细胞中 SCR/SP11 以单元特异性的方式与 SRK 的受体区域结合, 从而导致 SRK 构象发生改变, 并激活 SRK 活性, 这种结合可促进 MLPK 加入到业已激活的复合物上。伴随着 SRK 的激活, 加上 ARC1 与 SRK 激酶区域中磷酸丝氨酸/苏氨酸停靠位点的结合, 因而来源于 SRK 的信号转导可受到促进。这种相互作用可能来源于 SRK 的磷酸化作用或 SRK 的构象变化, ARC1 与 SRK 的相互作用会导致 ARC1 激活和磷酸化作用。某些胞内底物的进一步磷酸化可导致信号转导的级联反应, 最终导致花粉萌发受抑制。自交不亲和反应就是这样发生的。尽管这样, 但 ARC1 在 SI 中的具体功能仍然是未知, 尚待进一步研究。这些都是单元特异性花粉配体存在下的情况; 如果缺少单元特异性的花粉配体 SCR/ SP11, SRK 的活性就会为 Th 抑制<sup>[14]</sup>。THL1 和 THL2 是除了 ARC1 以外在酵母双杂交系统中得到的另外两个蛋白, 它们与 SRK 激酶区域特异结合, 同时又为花粉外壳中的半胱氨酸富含蛋白 SCR 所激活。近年来的体外培养实验证明, THL1 是 SRK 自动磷酸化的抑制子, 这个抑制作用可以通过添加具有单元特异性的 SCR 所解除。据此可以认为, THL1 是在缺少花粉配体 SCR/ SP11 的情况下起 SRK 负调节基因作用的<sup>[11]</sup>。THL1 和 THL2 是否共同作用抑制 SRK 活性, 还不很清

楚<sup>[36]</sup>。MLPK 与 SRK 结合所形成的复合物的激活和磷酸化可能会进一步导致细胞内一种或更多信号途径的启动, 它们之间是受体与非受体激酶作用的关系。

#### 4 结束语

近些年来, 尽管自交不亲和反应的研究已取得突飞猛进的进步, 但还存在诸许多问题尚待探讨。今后一段时间内, 自交不亲和反应的研究将可能集中在 SRK、MLPK 和 ARC1 之间准确的生化和胞间关系上。芸苔属 SI 体系是通过蛋白质泛肽化在蛋白酶体进行降解途径中进行的反应, 这个反应过程也将是人们研究的热点。又如在反转义基因植物中, SI 的部分丧失是由于 ARC1 受到 cDNA 的抑制, 还是由于某些相关的 E3 泛素连接酶功能性的丰余部分造成, 尚不清楚。此外, ARC1 与 MLPK-SRK 形成复合物后, 对某些未知底物降解和泛素化作用中的底物又是什么? 尽管一些受体激酶和它们相应的配体的复合物已得到鉴定, 但 MLPK 在 SRK 复合物中究竟起什么作用? 迄今, 对下游效应子了解也很少<sup>[37, 38]</sup>, 这些问题都有待探讨。

#### 参考文献

- 1 de Nettancourt D. Incompatibility in Angiosperms. Heidelberg, Berlin, New York: Springer Verlag, 1977
- 2 薛勇彪, 孟金陵. 高等植物自交不亲和性的分子生物学. 生物工程进展, 1995, 15(1): 32~42
- 3 Stein JC, Howlett B, Boyes DC. Molecular cloning of a putative receptor protein kinase gene encoded at the self-incompatibility locus of *Brassica oleracea*. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(19): 8816~8820
- 4 Goring DR, Rothstein SJ. The S-locus receptor kinase gene in a self-incompatible *Brassica napus* line encodes a functional serine/threonine kinase. Plant Cell, 1992, 4(10): 1273~280
- 5 朱利泉, 王晓佳. 自交不亲和植物 S-位点特异性糖蛋白. 生命的化学, 1998, 18(3): 13~15
- 6 Stein JC, Nasrallah JB. A plant receptor-like gene, the S-locus receptor kinase of *Brassica oleracea* L, encodes a functional serine/threonine kinase. Plant Physiol, 1993, 101(3): 1103~1106
- 7 Takayama S, Shiba H, Iwano M et al. The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(4): 1920~1925
- 8 Takasaki T, Hatakeyama K, Suzuki G et al. The S receptor determines self-incompatibility in *Brassica stigma*. Nature,

- 2000, 403: 913~916
- 9 Boyes DC, Nasrallah ME, Vrebalov J et al. The self-incompatibility (S) haplotypes of *Brassica* contain highly divergent and rearranged sequences of ancient origin. *Plant Cell*, 1997, 9: 237~247
- 10 Au Brace J, King GJ, Ockendon DJ et al. A molecular approach to the identification of S-alleles in *Brassica oleracea*. *Sex Plant Reprod*, 1994, 7(4): 203~208
- 11 Cabrillac D, Cock JM, Dumas C et al. The S-locus receptor kinase is inhibited by thioredoxins and activated by pollen coat proteins. *Nature*, 2001, 410(6825): 220~223
- 12 Gu T, Mazzurco M, Sulaman W et al. Binding of an arm repeat protein to the kinase domain of the S-locus receptor kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(1): 382~387
- 13 Murase K, Shiba H, Iwano M et al. Membrane-anchored protein kinase involved in *Brassica* self-incompatibility signaling. *Science*, 2004, 303(5663): 1516~1519
- 14 Bower MS, Matias DD, Fernandes-Carvalho E et al. Two members of the thioredoxin-h family interact with the kinase domain of a *Brassica* S locus receptor kinase. *Plant Cell*, 1996, 8: 1641~1650
- 15 Delorme V, Giranton JL, Hatzfeld Y, et al. Characterization of the S locus genes, SLG and SRK, of the *Brassica* S3 haplotype: Identification of a membrane-localized protein encoded by the S locus receptor kinase gene. *Plant J* 1995, 7(3): 429~440
- 16 Tantikanjana T, Nasrallah ME, Stein JC et al. An alternative transcript of the S-locus glycoprotein gene in a class II pollen recessive self-incompatibility haplotype of *Brassica oleracea* encodes a membrane anchored protein. *Plant Cell*, 1993, 5: 657~666
- 17 Galvin TL, Goring DR, Schafer U et al. Features of the extracellular domain of the S-locus receptor kinase from *Brassica*. *Mol Gen Genet*, 1994, 244: 630~637
- 18 Pastuglia M, Roby D, Dumas C et al. Rapid induction by wounding and bacterial infection of an S gene family receptor-like kinase gene in *Brassica oleracea*. *Plant Cell*, 1997, 9: 49~60
- 19 Pastuglia M, Ruffio-Châble V, Delorme V et al. A functional S locus anther is not required for the self-incompatibility response in *Brassica oleracea*. *Plant Cell*, 1997, 9: 2065~2076
- 20 于澄宇, 胡胜武, 郭蔼光. 芸苔属植物S受体蛋白激酶的研究. *生物技术*, 2002, 12(1): 44~45
- 21 Suzuki G, Kai N, Hirose T et al. Genomic organization of the S locus identification and characterization of genes region in SLG/SRK of S<sup>9</sup> haplotype of *Brassica campestris* (syn. *rapa*). *Genetics*, 1999, 153: 391~400
- 22 Schopfer CR, Nasrallah ME, Nasrallah JB et al. The male determinant of self-incompatibility in *Brassica*. *Science*, 1997, 286: 1697~1700
- 23 Schopfer CR, Nasrallah JB. Self-incompatibility: Prospects for a novel putative peptide-signal molecule. *Plant Physiol*, 2000, 124(3): 935~940
- 24 Takayama S, Shiba H, Iwano M et al. The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 1920~1925
- 25 崔海洋, 赖钊, 薛勇彪. 值得的十五年——从 SLG 到 SCR/SP11. *植物学报*, 2001, 43(1): 1~5
- 26 Doughty J, Dixon S, Hiscock SJ et al. PCP-A1, a defensin-like *Brassica* pollen coat protein that binds S locus glycoprotein is the product of gametophytic gene expression. *Plant Cell*, 1998, 10(8): 1333~1347
- 27 Stone SL, Anderson EM, Mullen RT et al. ARC1 is an E3 ubiquitin ligase and promotes the ubiquitination of proteins during the rejection of self-incompatible *Brassica* pollen. *Plant Cell*, 2003, 15: 885~898
- 28 Hinata K, Okazaki K, Nishio T. Gene analysis of self-compatibility in *Brassica campestris* var. Yellow Sarson (a case of recessive epistatic modifier). Proceedings of the 6th International Rapeseed Conference, Paris, 1983. 354~359
- 29 Goring DR, Walker JC. Self-rejection — a new kinase connection. *Science*, 2004, 303: 1474~1475
- 30 Stone SL, Arnoldo M, Goring DR. A breakdown of *Brassica* self-incompatibility in ARC1 antisense transgenic plants. *Science*, 1999, 286: 1729~1731
- 31 Ikeda S, Nasrallah JB, Dixit R et al. An aquaporin-like gene required for the *Brassica* self-incompatibility response. *Science*, 1997, 276: 1564~1566
- 32 Marin-Olivier M, Chevalier Y, Fobis-Loisy I et al. Aquaporin PIP genes are not expressed in the stigma papillae in *Brassica oleracea*. *Plant J*, 24: 231~240
- 33 Fukai E, Nishio T, Nasrallah ME. Molecular genetic analysis of the candidate gene for MOD, a locus required for self-incompatibility in *Brassica rapa*. *Mol Genet Genomics*, 2001, 265(3): 519~525
- 34 Hanks S, Quinn AM. Protein kinase catalytic domain sequence database: Identification of conserved features of primary structure and classification of family members. *Methods Enzymol*, 1991, 200: 38~62
- 35 Shiu SH, Bleecker AB. Receptor-like kinases from *Arabidopsis* form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(19): 10763~10768
- 36 Tantikanjana T, Nasrallah ME, Stein JC et al. An alternative transcript of the S-locus glycoprotein gene in a class II pollen recessive self-incompatibility haplotype of *Brassica oleracea* encodes a membrane anchored protein. *Plant Cell*, 1993, 5(6): 657~666
- 37 Torii KU. Receptor kinase activation and signal transduction in plants: an emerging picture. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, 3: 361~367
- 38 Takayama S, Sakagami Y. Peptide signalling in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5(5): 382~387