

## 植物异三聚体 G 蛋白

周索<sup>1,2</sup> 杨振<sup>1</sup> 刘婷<sup>1</sup> 李素娟<sup>1</sup> 尚忠林<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050016; <sup>2</sup>南阳师范学院生物系, 河南南阳 473061

### Heterotrimeric G-Protein in Plants

ZHOU Suo<sup>1,2</sup>, YANG Zhen<sup>1</sup>, LIU Ting<sup>1</sup>, LI Su-Juan<sup>1</sup>, SHANG Zhong-Lin<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China; <sup>2</sup>Department of Biology, Nanyang Teachers College, Nanyang, Henan 473061, China

**提要** 对近年来植物异三聚体 G 蛋白的结构和功能的研究进展作了简单评述。

**关键词** 植物; 异三聚体 G 蛋白

植物细胞的生长、发育和分化受植物内部因素和外界环境刺激控制, 相当一部分调控因素并不进入细胞内起作用, 而是通过跨膜信号转导途径转化为细胞内信号, 再由胞内信号分子调控有关的基因表达或代谢变化。在跨膜信号转导途径中, 质膜上的信号传递组分起着至关重要的作用, 异三聚体 GTP 结合蛋白 (heterotrimeric GTP-binding proteins, G 蛋白) 就是其中的一种<sup>[1]</sup>。G 蛋白信号转导途径是一种保守的跨膜信号转导机制, 这一途径主要涉及 3 个关键的组成成分: (1) 质膜受体, 一般称为 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptor, GPCR); (2) 质膜内侧的异三聚体 G 蛋白; (3) 质膜上或质膜内表面的效应器。当细胞受到某些胞外信号刺激时, 质膜表面的 GPCR 与之相结合, 活化的受体激活质膜内侧的 G 蛋白, 后者再去调控其下游的效应器, 产生胞内第二信使。

异三聚体 G 蛋白在动物和简单真核生物细胞中的功能研究较早, 已积累了非常丰富的资料, 包括 G 蛋白的结构、G 蛋白受体及其与效应器之间的作用机制等都已有了较为清楚的认识<sup>[2]</sup>。植物异三聚体 G 蛋白的研究起步较晚, 但近年来也取得了不少进展。

#### 1 植物异三聚体 G 蛋白的结构

异三聚体 G 蛋白由  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  3 个亚基组成, 分子结构的多型性是 G 蛋白亚基组成的显著特征。在哺乳动物中已经发现的  $G\alpha$  超过 20 种, 这些  $G\alpha$  亚基上有以下功能位点: GTP/GDP 结合位点、GTPase 活性位点、ADP-核糖基化位点、质

膜受体识别与结合位点和胞内效应器结合位点等。由于这些功能位点与 G 蛋白负责的生理功能关系极为密切, 所以一般认为  $G\alpha$  是 G 蛋白的功能亚基<sup>[3]</sup>。

以哺乳动物 G 蛋白  $\alpha$  亚基序列同源物为基础, 已经用生化手段从拟南芥<sup>[4]</sup>、水稻<sup>[5,6]</sup>、野燕麦<sup>[7]</sup>、番茄<sup>[4]</sup>、大豆<sup>[8,9]</sup>、豌豆<sup>[10]</sup>、菠菜<sup>[11]</sup>和莲<sup>[12]</sup>中分离出  $G\alpha$  亚基的 cDNA 序列。这些 cDNA 编码的所有蛋白质的预测氨基酸序列与哺乳动物  $\alpha$  亚基上鉴定出的有功能的功能域相似, 如十四烷基化位点, 4 个 GTP 结合位点, 霍乱毒素结合位点, 3 个效应器结合位点, 1 个受体结合位点等。通过比较发现,  $G\alpha$  亚基的效应器结合位点在植物、动物和酵母中是高度保守的, 说明这 3 种有机体中 G 蛋白下游的效应器可能很相似; 而来自不同有机体的  $G\alpha$  亚基受体结合域的序列同源性较低, 说明不同物种 G 蛋白上游的偶联受体分子可能存在较大差异<sup>[4~10]</sup>。

哺乳动物中, 有 5 种不同的  $G\beta$  亚基以及至少 12 种不同的  $G\gamma$  亚基。 $G\beta$  亚基具有 WD-40 结构域 (由 7~8 个重复的  $\beta$ -片层结构组成的 Trp-Asp 结构域), WD-40 重复被认为是  $\beta$  亚基与其效应器相互作用的特异结构域。在天然状态下,  $\beta$  和  $\gamma$  亚基以非共价键紧密结合在一起形成二聚体。

收稿 2005-01-24 修定 2005-07-11

资助 国家自然科学基金 (30370728) 和河北省自然科学基金 (C200500173)。

\*通讯作者 (E-mail: shangzhonglin@mail.hebtu.edu.cn, Tel: 0311-86269814)。

G $\beta\gamma$  曾被认为是调节 G $\alpha$  活性的调节亚基, 但越来越多的证据表明 G $\beta\gamma$  除可以调节 G $\alpha$  活性外, 还可以直接调节胞内某些效应器的活性<sup>[3]</sup>。预测编码  $\beta$  亚基的 cDNA 或基因也已经从玉米和拟南芥<sup>[13]</sup>、水稻<sup>[14]</sup>、烟草<sup>[12, 15]</sup>等植物中分离出来。这些 cDNA 编码的蛋白序列中有 2 个在哺乳动物  $\beta$  亚基中观察到的特有结构: 1 个 N 端序列和 7 个重复的  $\beta$ -片层结构(即 WD-40 结构域), 因而有人认为是植物细胞中的 G $\beta$  亚基基因。

预测编码 G $\gamma$  亚基的 cDNA 也已经从拟南芥中分离出来。Mason 和 Botella<sup>[16]</sup>用酵母双杂交系统, 以烟草 G $\beta$  作诱饵筛选到拟南芥 G $\gamma$  亚基基因 (*AGG1*); 在酵母体内实验中, *AGG1* 和在烟草、拟南芥中编码 G $\beta$  亚基的基因 *AGB1* 能强烈发生相互作用, 体外实验的结果进一步证实了这一点。预测的 *AGG1* 蛋白具有与动物 G $\gamma$  相似的特征: 分子量小、C 末端有与细胞质膜锚定有关的 CAAX-box 序列、N 末端的  $\alpha$ -螺旋结构可与 G $\beta$  亚基 N 端形成紧密结合的共价键。

与哺乳动物基因组包含大量异三聚体 G 蛋白亚基的多基因家族相比, 每一种植物基因组仅仅包含 1 个或 2 个相对应的亚基基因, 这使人联想异三聚体 G 蛋白参与的信号转导途径可能是有限的<sup>[17]</sup>。

## 2 植物异三聚体G蛋白的偶联信号

**2.1 与 G 蛋白相关的胞外环境信号** 有实验证明, 与植物细胞内 G 蛋白相关联的胞外信号主要有植物激素、光、病原激发子、干旱刺激、O<sub>3</sub> 和胞外钙调素等, 这些信号与植物生长、发育和抗性形成密切相关<sup>[1, 3, 18]</sup>。

**2.2 GPCR** 哺乳动物中, 存在 1 000 多种含有 7 次穿越胞膜结构的受体蛋白, 其中, GPCR 是膜整合蛋白家族的主要成员。GPCR 有一条多肽链, 形成 7 个跨膜的  $\alpha$  螺旋结构, 它们的 N 端暴露在细胞外, C 端位于细胞内部, 有 3 个胞外环和 3 个胞内环, 其中较大的第三胞内侧环(C3)与 C 端都具有亲水性, 是与 G 蛋白相互作用的区域。GPCR 嵌合体构建及定点突变研究表明, 跨膜固定(transmembrane spanning, TMS)区是与配体结合的部位, 不同 GPCR 亚型间的 TMS 区均相当保守。

Josefsson 和 Rask<sup>[19]</sup>首先从拟南芥中克隆到了

GPCR 基因(*GCR1*)的 cDNA 序列; Plakidou-Dymock 等<sup>[20]</sup>也在拟南芥中分离出与动物中的 GPCR 高度同源的 *GCR1*。他们同时发现, *GCR1* 和盘基网菌属(*Dictyostelium*) cAMP 受体(CAR)的同源性最高, 这促使人们思考 GCR1 参与环核苷酸信号转导机制的可能性问题。在低等真核和动物细胞中, 已发现有的 7TMS 样受体可以不依赖 G 蛋白的形式转导胞外信号<sup>[21]</sup>, 最近又有报道植物中的 GCR1 同样可以在不依赖于 G 蛋白的条件下直接介导赤霉素和油菜素内酯的信号转导<sup>[22]</sup>, 所以, 目前还不能确定 GCR1 就是植物 G 蛋白偶联的受体。

Colucci 等<sup>[23]</sup>研究超表达 *GCR1* 的转基因烟草和拟南芥时发现, 拟南芥中唯一已知的这种 G 蛋白偶联的受体(至今仍是推测)参与植物发育和细胞周期的调节。转基因烟草细胞系中 *GCR1* 超表达可促进细胞的有丝分裂; 转基因拟南芥中 *GCR1* 的超表达可有两种显著表型: 种子休眠期丧失和花期提前。与种子萌发和开花有关的标记基因的表达水平在 *GCR1* 超表达植株中也相应提高。这些结果表明, *GCR1* 可能参与植物细胞周期的调控。2004 年, Pandey 和 Assmann<sup>[24]</sup>用免疫共沉淀技术发现 *GCR1* 与 G $\alpha$  可以在体外结合, 提示 G $\alpha$  和 *GCR1* 的结合可能参与了 ABA 调控气孔运动的信号传递过程。

与哺乳动物中大量存在的 GPCR 相比, 迄今只从植物中克隆了 1 种 *GCR1*, 拟南芥的基因组分析其数量为 27 个, 也与动物体中的难以相比, 因此推测植物细胞和动物细胞 G 蛋白在功能上可能有极大差异。

**2.3 与异三聚体G蛋白作用的效应器** 在哺乳动物中, G $\alpha$  调节的下游效应器有环腺苷酸(cAMP)、cGMP 磷酸脂酶、磷酸肌醇-3-激酶、PI-PLC $\beta$ 、Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 泵、转录因子、离子(K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>)通道等<sup>[3]</sup>。

目前, 磷脂酶 D(phospholipase D, PLD)、钾通道和钙通道是植物 G 蛋白信号途径中已知的 3 个效应器<sup>[25]</sup>。在水稻糊粉层, 赤霉素(GA<sub>3</sub>)诱导的  $\alpha$ -淀粉酶合成在 G $\alpha$  缺失突变体中大大减少, 提示 G 蛋白偶联了赤霉素(GA)/脱落酸(ABA)信号交叉途径<sup>[26]</sup>。Ritchie 和 Gilroy<sup>[27]</sup>在糊粉层膜提取物中发现, 非水解的 GTP 类似物 GTP $\gamma$ S (能够与 G $\alpha$

结合并使其活化)能够明显增强PLD活性,表明PLD可能作为G蛋白的下游效应器。Lein和Saalbach<sup>[28]</sup>进一步提供了G $\alpha$ 与PLD体外相互作用的证据。Wang等<sup>[29]</sup>发现野生型拟南芥中常见的由ABA抑制K<sup>+</sup>内流的效应在G $\alpha$ 亚基基因缺失突变体*gpa1*中消失,表明K<sup>+</sup>离子通道可能与有活性的G $\alpha$ 相关联。另一种在生长素信号转导中发挥主要作用的磷脂酶PLA<sub>2</sub>在也可受到G蛋白的影响<sup>[30]</sup>。在动物中,PLA<sub>2</sub>作用产生脂类激活K<sup>+</sup>通道,其活性通过与释放的G $\beta\gamma$ 相互作用产生,这一点用已获得的突变体很容易验证<sup>[31]</sup>。最后,还有证据表明,G蛋白可能激活植物细胞Ca<sup>2+</sup>信号。Gelli等<sup>[32]</sup>的工作表明,番茄对真菌激发子反应中GTP $\gamma$ S和肥大细胞脱粒肽(mastoparan,从黄蜂毒液中提取)可以模仿真菌激发子在Ca<sup>2+</sup>通道活性调控中的效应,而GDP $\beta$ S则消除这种效应。这些结果表明,G蛋白可能激活Ca<sup>2+</sup>通道。Aharon等<sup>[33]</sup>进一步用野生型和重组体TG $\alpha$ 1以及膜片钳技术研究G蛋白在番茄细胞质膜Ca<sup>2+</sup>通道调节中的作用时发现,TG $\alpha$ 1促进通道的开放,说明G蛋白参与调节番茄质膜Ca<sup>2+</sup>通道。

### 3 异三聚体G蛋白在植物细胞信号中的作用

目前,对于G蛋白在植物细胞信号转导过程中的作用,主要围绕检测G蛋白的存在及外界信号对G蛋白活性的影响等问题展开研究。(1) G蛋白存在及其活性的检测:主要采用生化手段,包括GTP结合试验、细菌毒素诱导的核糖基化实验、免疫转移电泳试验、GTPase活性测定等。(2) G蛋白活性变化对生理功能的影响:主要采用效应剂调节G蛋白活性并观察其对生理效应影响。在药理学方法中,主要使用的有G蛋白活化剂[包括使G蛋白的GTPase活性丧失从而长久处于活性状态的霍乱毒素(cholera toxin, CTX)、非水解的GTP类似物GTP $\gamma$ S和通过模仿有活性受体构造而激活G蛋白作用的肥大细胞脱粒肽]和抑制剂[包括百日咳毒素(pertussis toxin, PTX)、非水解的GTP类似物GDP $\beta$ S等]两大类。(3) 采用分子生物学方法研究G蛋白生理功能:包括基于保守序列的基因克隆以寻找更多的G蛋白相关基因;采用已知的G蛋白保守序列做诱饵,在酵母双杂交系统中筛选cDNA文库寻找能够与G蛋白相互作用

的蛋白(G蛋白偶联受体、亚基、下游效应器);G蛋白缺失突变体的功能分析;转基因植株功能分析;酵母突变体功能互补实验等<sup>[1,3]</sup>。用上述方法已发现G蛋白参与许多与植物生长发育相关的生理过程,如激素信号转导、光控发育、病原信号转导、顶端细胞生长,气孔开关等。

**3.1 光信号** 光信号转导一直是植物细胞信号转导最活跃的领域。早在1987年,Hasunuma和Fundera<sup>[34]</sup>就发现浮萍蛋白提取物GTP结合活性能为红光或远红光抑制,暗示G蛋白可能参与光信号转导。药理学实验结合显微注射技术的研究表明,G蛋白活化剂(CTX、GTP $\gamma$ S)和抑制剂(PTX、GDP $\beta$ S)可以专一性的调节光敏色素调控的基因表达<sup>[35]</sup>。周君莉等<sup>[36]</sup>发现G蛋白可能参与光敏色素调控的尾穗苋苋红素合成,鸟苷酸环化酶可能是G蛋白的下游效应器。Calenberg等<sup>[37]</sup>还发现G $\alpha$ 参与绿鞭毛藻的趋光性信号转导。

Okamoto等<sup>[38]</sup>的工作又从分子水平上为上述问题提供了直接证据,他们的实验结果显示G蛋白参与拟南芥发育过程中的光调节。他们构建了转基因拟南芥植株,发现超表达G $\alpha$ 亚基基因的突变体(wG $\alpha$ 和cG $\alpha$ )幼苗下胚轴伸长调节表现出对光(远红光、红光、蓝光)的超敏感反应。但Jones等<sup>[39]</sup>用功能缺失的方法再次研究了G蛋白在红光、远红光调控下胚轴伸长生长中的作用,他们的结果表明,编码GPA1、AGB1的异三聚体G蛋白的单突变体(*gpa1-1*, *1-2*, *1-3*, *1-4*; *agb1-1*, *1-2*)和双突变体(*gpaagb*)对红光和远红光的敏感性与野生型的相同,G蛋白 $\alpha$ 亚基和 $\beta$ 亚基的超表达对可逆的红光和远红光反应中不同等级的作用没有影响,这就排除了异三聚体G蛋白在拟南芥发育过程中直接参与光调节发育过程的可能性。目前,G蛋白在光信号中是否以及如何发挥作用,还需要进一步研究。

### 3.2 激素信号

**3.2.1 生长素信号** Zaina等<sup>[40,41]</sup>观察到,在水稻胚芽鞘中,吲哚乙酸可以促进细胞组分与GTP $\gamma$ S的结合和GTP水解,这与预测的生长素激活G蛋白循环一致。Nato等<sup>[42]</sup>以生化检测等手段测定的结果表明,G蛋白在小麦体细胞胚中表达,且对生长素反应敏感。而Ullah等<sup>[43]</sup>用GPA1的缺失突变

体进行的研究也发现,不再表达G $\alpha$ 蛋白的拟南芥突变株(*gpa1-1*和*gpa1-2*)的叶和茎中,细胞周期G<sub>1</sub>期延长,有丝分裂频率降低;而转基因的烟草培养系中*GPA1*过量表达后,细胞周期即缩短,而细胞分裂频率也相应增加。这与外源植物生长素处理野生型细胞系所产生的性状相同,这些证据直接表明G蛋白参与植物生长素信号转导。Ullah等<sup>[43]</sup>对*GPA1*的功能缺失和过表达的研究结果表明,至少生长素作用的信号转导途径之一需要G $\alpha$ 参与。

目前,在拟南芥中只发现了唯一的1种GPCR,它对细胞分裂素刺激有一定的反应,而对生长素刺激没有任何反应<sup>[20]</sup>。迄今,还不清楚植物体感受到生长素信号后是如何将其与质膜内侧的G $\alpha$ 联系在一起,从而进一步调节细胞周期的。已知动物细胞中游离的G $\beta\gamma$ 可以激活分裂素激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK),而Kovtun等<sup>[44]</sup>发现植物体中活化的MAPK参与受生长素诱导的基因转录的调节,因此可以推测,植物生长素信号转导途径中G蛋白的下游可能是通过MAPK来调节基因表达的。

**3.2.2 ABA信号** ABA可以调控气孔的开关过程,目前,已经发现在此信号转导过程中有很多信号组分参与,如蛋白激酶、蛋白磷酸酶、磷酸脂酶、细胞内Ca<sup>2+</sup>、pH、磷酸肌醇等,但还不清楚的是,细胞外的ABA信号如何与这些下游效应器之间发生联系。Wang等<sup>[45]</sup>的实验表明,拟南芥G $\alpha$ 的缺失突变体*gpa1*植株中,ABA不能再抑制内流型K<sup>+</sup>通道的活性,因而不抑制气孔的开放,从而证实G $\alpha$ 参与ABA调节的气孔运动。但ABA仍然能促进*gpa1*植株气孔的关闭过程,研究证实,ABA诱导胞浆H<sup>+</sup>水平下降,后者激活阴离子通道活性,从而引起气孔关闭。看来,在ABA的信号转导途径中,部分途径是不依赖G $\alpha$ 的。

最近,Pandey和Assmann<sup>[24]</sup>发现,在ABA信号转导中,异三聚体G蛋白可能还参与拟南芥根生长的调节。当用ABA处理时,主根伸长受抑和(或)主根生长方向改变,*gpa1*、*agbl*、*gcr1*的单突变体以及它们的双突变体和三突变体的主根延伸对ABA引起的抑制比野生型敏感。

**3.2.3 GA信号转导** Jones等<sup>[7]</sup>最早发现,燕麦糊粉层细胞中,肥大细胞脱粒肽以和GA<sub>3</sub>类似的作用方式诱导糊粉层细胞原生质体的 $\alpha$ -淀粉酶基因的表达及蛋白分泌过程,GTP $\gamma$ S促进GA引起的 $\alpha$ -淀粉酶基因启动子GUS报告基因的表达,而GDP $\beta$ S则抑制上述表达。

Fujisawa等<sup>[46]</sup>将水稻异三聚体G蛋白 $\alpha$ 亚基的反义cDNA转入水稻后,发现转基因水稻表现出明显的植株矮化和种子缩小的表型,从而证实异三聚体G蛋白参与了水稻节间和种子发育的调节;限制性片段长度多态性分析(RFLP)表明,水稻G $\alpha$ 基因位于第5条染色体上,并与水稻中发现的矮化突变体*d-1*的突变体位点紧密连锁,他们将GA<sub>3</sub>不敏感的水稻突变体*dwarf-1*的基因进行克隆并作分析时发现,*dwarf-1*基因编码的蛋白质就是G蛋白 $\alpha$ 亚基,从而证实异三聚体G蛋白确实参与GA信号转导过程。

Ullah等<sup>[47]</sup>的研究也表明,异三聚体G蛋白参与拟南芥种子发育过程中的GA信号转导。他们发现,拟南芥G $\alpha$ 缺失突变体*gpa1*的种胚在萌发过程中对GA的反应下降100倍;而超表达*GPA1*的种子在萌发过程中仍需要GA参与,且对GA的敏感性至少增强上百万倍。因此他们认为,异三聚体G $\alpha$ 参与种子萌发过程中的GA信号转导途径的正调控。此外,他们在实验中还观察到,*gpa1*种子萌发对ABA和乙烯的反应与野生型种子相似,从而提示*GPA1*不直接参与种胚萌发过程中这两种激素的信号转导。

**3.2.4 胞外CaM信号传递** Polito<sup>[48]</sup>和Gong等<sup>[49]</sup>报道,CaM拮抗剂抑制花粉萌发和花粉管伸长,而外源CaM则可以促进花粉萌发和花粉管伸长。马力耕等<sup>[50]</sup>进一步证明,内源CaM启动花粉萌发和花粉管伸长,外源CaM促进花粉萌发和花粉管伸长;但是细胞外CaM在启动花粉萌发过程中与G蛋白的偶联关系仍缺少直接证据。徐小冬等<sup>[51]</sup>的实验证明,CaM在花粉质膜外侧可以激活质膜内侧异三聚体G蛋白的GTPase活性,从而表明异三聚体G蛋白可能参与细胞外CaM促进花粉萌发的跨膜信号转导。郭毅等<sup>[52]</sup>通过专一性毒素实验和质膜GTPase活性实验,认为质膜异三聚体G蛋白可能参与转基因烟草悬浮细胞外CaM对*rbcS*基

因表达调控过程中的信号跨膜途径。Chen等<sup>[53]</sup>的工作表明,胞外钙调素促进蚕豆气孔关闭;他们提出G蛋白可能通过诱导胞外 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 升高介导胞外钙调素促进气孔关闭的过程<sup>[54]</sup>。最近,Chen等<sup>[55]</sup>从分子水平上进行实验的结果表明,异三聚体G蛋白介导胞外钙调素诱导蚕豆保卫细胞的气孔关闭。他们用异三聚体G蛋白 $\alpha$ 亚基的缺失突变体 *gpa1* 和转基因超表达突变体 *cG $\alpha$*  为材料时发现, *gpa1* 对胞外CaM诱导气孔关闭不敏感,而 *cG $\alpha$*  则可增强胞外CaM诱导保卫细胞的反应。结合上述花粉体系和 *rbcS* 基因表达调控中的结果可以推断,在植物界质膜异三聚体G蛋白参与胞外CaM跨膜信号转导可能有较普遍的意义。

**3.3 病原信号** Beffa等<sup>[56]</sup>最早提供的直接证据表明异三聚体G蛋白参与植物病原信号的转导。他们将CTX的结构基因转入烟草后发现,转基因烟草对病原的抗性增强,同时引起内源水杨酸积累和一些病原相关蛋白(pathogen-related protein, PR)基因的表达;而向细胞内注射CTX或GTP $\gamma$ S时,则PR基因表达受抑。

Xing等<sup>[57]</sup>也认为病原激发子信号的早期阶段需要活化的G蛋白参与。他们发现,激发子作用于宿主(番茄)细胞后,可引起质膜上H<sup>+</sup>-ATPase的去磷酸化,这与没有激发子作用时以G蛋白活化剂处理番茄细胞时产生的效应相同,而且在番茄细胞质膜上还检测到与G $\alpha$ 抗血清起交叉反应的蛋白,后者可受CTX诱导发生ADP-核糖基化反应。近年来,人们又陆续通过药理学实验,证明多种病原激发子的信号转导需要异三聚体G蛋白的参与<sup>[58]</sup>。

**3.4 顶端生长细胞** 药理学实验表明,异三聚体G蛋白参与调节豆类作物根毛对根瘤菌结瘤因子(Nod factor)的反应<sup>[3]</sup>。ENOD12基因的表达受结瘤因子刺激,肥大细胞脱粒肽刺激ENOD12-GUS的表达和能被肌动蛋白细胞骨架识别的野豌豆(*Vicia sativa*)根毛变形,生化分析表明,肥大细胞脱粒肽和根瘤菌结瘤因子刺激PLD和PLC活性<sup>[59]</sup>。

G蛋白也参与另一种顶端生长细胞——花粉管的发育<sup>[60]</sup>。马力耕等<sup>[60,61]</sup>用哺乳动物G $\alpha$ 抗体从百合花粉质膜上鉴定出1个能够被ADP-核糖基化的

41 kD的蛋白质,PTX在这个系统中抑制顶端生长,而显微注射注入的CTX和GTP $\gamma$ S刺激花粉管生长。另外,花粉质膜囊泡含有一个可被CTX刺激的GTPase活性的蛋白质,这就证实花粉细胞质膜上有异三聚体G蛋白的存在,它参与胞外CaM信号转导、花粉萌发和花粉管生长。

Ca<sup>2+</sup>在Nod反应和花粉管生长反应中是一个重要的信号组分。根瘤菌结瘤因子可激发Ca<sup>2+</sup>峰<sup>[62]</sup>和胞内Ca<sup>2+</sup>稳定上升<sup>[63]</sup>,而花粉管则表现出很有特点的Ca<sup>2+</sup>振荡。但人们对异三聚体G蛋白和花粉细胞内Ca<sup>2+</sup>之间的关系还不清楚。尚忠林等<sup>[64]</sup>的实验结果表明,异三聚体G蛋白可能在调节花粉细胞内Ca<sup>2+</sup>水平过程中发挥调节作用。

综上所述,可以看出,G蛋白参与调控细胞分化及生长发育等众多生理过程,在细胞信号转导中起一定的作用。拟南芥基因组测序工作完成后,大量的基因组序列信息表明可能有8~10种不同的G $\alpha$ ,1~2种G $\beta$ ,1种G $\gamma$ ,20种左右的GPCR,这与动物细胞无法比拟,说明动植物G蛋白的生理功能和调节机制可能有很大的差异,也许古老的异三聚体G蛋白的信号转导模式随着动植物的进化也逐渐形成了不同的作用途径<sup>[3]</sup>。

早期研究异三聚体G蛋白大多采用生化手段和药理学方法,现代分子生物学技术的发展加速了植物异三聚体G蛋白的研究进程。植物异三聚体G蛋白研究领域要做的工作还很多,如GPCR、G蛋白及其下游效应器的基因克隆,相关基因在植物细胞中的表达和对生长发育过程中的调节,在植物细胞跨膜信号转导中的作用机制等。相信随着现代分子生物学技术的发展,人们除了进一步采用原有的生化和分子生物学手段外,还可采用基因芯片分析已有的各种突变体的基因表达差异,以及采用噬菌体展示技术筛选新的相互作用的蛋白信号分子等,从而使植物异三聚体G蛋白的研究逐渐深化。

#### 参考文献

- 1 孙大业,郭艳林,马力耕. 细胞信号转导. 北京: 科学出版社, 2001. 1~9
- 2 武维华,赵云云. 植物细胞G蛋白研究进展. 植物学报, 1996, 38(5): 406~413
- 3 Assmann SM. Heterotrimeric and unconventional GTP binding proteins in plant cell signaling. Plant Cell, 2002, 14:

- S355~S373
- 4 Ma H, Yanofsky MF, Huang H. Isolation and sequence analysis of *TGA1* cDNAs coding a tomato G protein  $\alpha$  subunit. *Gene*, 1991, 107: 189~195
  - 5 Ishikawa A, Tsubouchi H, Iwasaki Y et al. Molecular cloning and characterization of a cDNA for the  $\alpha$  subunit of a G protein from rice. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36: 353~359
  - 6 Seo H-S, Kim H-Y, Jeong J-Y et al. Molecular cloning and characterization of *RGAI* encoding a G protein  $\alpha$  subunit from rice. *Plant Mol Biol*, 1995, 27: 1119~1131
  - 7 Jones HD, Smith SJ, Desikan R et al. Heterotrimeric G proteins are implicated in gibberellin induction of  $\alpha$ -amylase gene expression in wild oat aleurone. *Plant Cell*, 1998, 10: 245~254
  - 8 Gotor C, Lam E, Cejudo FR et al. Isolation and analysis of the soybean *SGA2* gene, encoding a new member of the plant G-protein family of signal transducers. *Plant Mol Biol*, 1996, 32: 1227~1234
  - 9 Kim WY, Cheong NE, Lee DC et al. Cloning and sequencing analysis of a full-length cDNA encoding a G protein  $\alpha$  subunit, *SGA1*, from soybean. *Plant Physiol*, 1995, 108: 1315~1316
  - 10 Marsh JF, Kaufman LS. Cloning and characterization of *PGA1* and *PGA2*: Two G protein  $\alpha$ -subunits from pea that promote growth in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Plant J*, 1999, 19: 237~247
  - 11 Perroud PF, Diogon T, Crevecoeur M et al. Molecular cloning, spatial and temporal characterization of spinach *SOGA1* cDNA, encoding an  $\alpha$  subunit of G protein. *Gene*, 2000, 248: 191~201
  - 12 Kaydamov D, Tewes A, Adler K et al. Molecular characterization of cDNAs encoding G protein  $\alpha$  subunit and study of their temporal and spatial expression patterns in *Nicotiana glauca*. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 149: 143~160
  - 13 Weiss CA, Garnaat CW, Mukai K et al. Isolation of cDNAs encoding GTP-binding protein  $\beta$ -subunit homologues from maize (*ZmGB1*) and *Arabidopsis* (*AGB1*). *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 9554~9558
  - 14 Ishikawa A, Iwasaki Y, Asahi T. Molecular cloning and characterization of a cDNA for the  $\beta$ -subunit of a G protein from rice. *Plant Cell Physiol*, 1996, 37: 223~228
  - 15 Kusnetsov VV, Oelmueller R. Isolation and characterization of cDNAs encoding the  $\beta$  subunit of heterotrimeric G protein from *N. tabacum*. *Plant Physiol*, 1996, 111: 948~953
  - 16 Mason MG, Botella JR. Isolation of a novel G-protein  $\gamma$  subunit from *Arabidopsis thaliana* and its interaction with  $G\beta$ . *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1520: 147~153
  - 17 Fujisawa Y, Kato H, Iwasaki Y. Structure and Function of heterotrimeric G proteins in plants. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42: 789~794
  - 18 Ma H. GTP-binding proteins in plants: new members of an old family. *Plant Mol Biol*, 1994, 26(12): 1611~1636
  - 19 Josefsson LG, Rask L. Cloning of a putative G-protein-coupled receptor from *Arabidopsis thaliana*. *Eur J Biochem*, 1997, 249: 415~420
  - 20 Plakidou-Dymock S, Dymock D, Hooley R. A higher plant seven-transmembrane receptor that influences sensitivity to cytokinins. *Curr Biol*, 1998, 8: 315~324
  - 21 Brzostowski JA, Kimmel AR. Signaling at zero G: G-protein-independent functions for 7-TM receptors. *Trends Biochem Sci*, 2001, 26(5): 291~297
  - 22 Chen JG, Pandey S, Huang JR et al. GCR1 can act independently of heterotrimeric G-protein in response to brassinosteroids and gibberellins in *Arabidopsis* seed germination. *Plant Physiol*, 2004, 135: 907~915
  - 23 Colucci G, Apone F, Alyeshmerni N et al. *GCR1*, the putative *Arabidopsis* G protein-coupled receptor gene is cell cycle-regulated, and its overexpression abolishes seed dormancy and shortens time to flowering. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 4736~4741
  - 24 Pandey S, Assmann SM. The *Arabidopsis* putative G protein-coupled receptor GCR1 interacts with the G protein  $\alpha$  subunit GPA1 and regulates ABA signaling. *Plant Cell*, 2004, 16: 1616~1632
  - 25 Jones AM. G-protein-coupled signaling in *Arabidopsis*. *Plant Biol*, 2002, 5: 402~407
  - 26 Ueguchi-Tanaka M, Fujisawa Y, Kobayashi M et al. Rice dwarf mutant d1, which is defective in the  $\beta$  subunit of heterotrimeric G-proteins, affects gibberellin signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 11638~11643
  - 27 Ritchie S, Gilroy S. Abscisic acid stimulation of phospholipase D in barley aleurone is G-protein-mediated and localized to the plasma membrane. *Plant Physiol*, 2000, 124: 693~702
  - 28 Lein W, Saalbach G. Cloning and direct G-protein regulation of phospholipase D from tobacco. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1530: 172~187
  - 29 Wang XQ, Ullah H, Jones AM et al. G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in *Arabidopsis* guard cells. *Science*, 2001, 292: 2070~2072
  - 30 Scherer GF. Phospholipid signaling by phospholipase  $A_2$  in plants. The role of mastoparan and lysophospholipids as 'weak' auxin-like agonists. *Symp Soc Exp Biol*, 1994, 48: 229~242
  - 31 Jelsema CL, Axelrod J. Stimulation of phospholipase  $A_2$  activity in bovine rod outer segments by the beta gamma subunits of transducin and its inhibition by the alpha subunit. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 3623~3627
  - 32 Gelli A, Higgins VJ, Blumwald E. Activation of plant plasma membrane  $Ca^{2+}$ -permeable channels by race-specific fungal elicitors. *Plant Physiol*, 1997, 113: 269~279
  - 33 Aharon GS, Gelli A, Snedden WA et al. Activation of a plant plasma membrane  $Ca^{2+}$  channel by TG $\alpha$ 1, a heterotrimeric G protein  $\alpha$ -subunit homologue. *FEBS Lett*, 1998, 424: 17~21
  - 34 Hasunuma K, Funadera K. GTP-binding protein(s) in green plants *Lemna paucicostata*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1987, 143(3): 908~912
  - 35 Neuhaus G, Bowler C, Ken R et al. Calcium/calmodulin-dependent and -independent phytochrome signal transduction pathways. *Cell*, 1993, 73: 937~952

- 36 周君莉, 马力耕, 孙大业. G蛋白和cGMP在光敏色素调控的尾穗苋莧红素合成中的作用. 中国科学(C), 1998, 28: 143~147
- 37 Calenberg M, Bronhsonn U, Zedlacher M et al. Light- and  $Ca^{2+}$ -modulated heterotrimeric GTPase in the eyespot apparatus of a flagellate green alga. *Plant Cell*, 1998, 10: 91~103
- 38 Okamoto H, Matsui M, Deng XW. Overexpression of the heterotrimeric G protein  $\alpha$ -subunit enhances phytochrome-mediated inhibition of hypocotyl elongation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2001, 13: 1639~1651
- 39 Jones AM, Ecker JR, Chen JG. A reevaluation of the role of the heterotrimeric G protein in coupling light responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2003, 131: 1623~1627
- 40 Zaina S, Reggial R, Bertani A. Preliminary evidence for involvement of GTP-binding protein(s) in auxin signal transduction in rice coleoptile. *J Plant Physiol*, 1990, 136: 653~658
- 41 Zaina S, Mapelli S, Reggial R et al. Auxin and GTPase activity in membranes from aerobic and anaerobic rice coleoptile. *J Plant Physiol*, 1991, 138: 760~762
- 42 Nato A, Mirshahi A, Tichtinsky G et al. Immunological detection of potential signal-transduction proteins expressed during wheat somatic tissue culture. *Plant Physiol*, 1997, 113: 801~807
- 43 Ullah H, Chen JG, Youg JC et al. Modulation of cell proliferation by heterotrimeric G protein in *Arabidopsis*. *Science*, 2001, 292: 2066~2069
- 44 Kovtun Y, Chiu WL, Zeng W et al. Suppression of auxin signal transduction by a MAPK cascade in higher plants. *Nature*, 1998, 393: 718~720
- 45 Wang XQ, Ullah H, Jones AM et al. G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in *Arabidopsis* guard cells. *Science*, 2001, 292: 2070~2072
- 46 Fujisawa Y, Kato T, Ohki S et al. Suppression of the heterotrimeric G protein causes abnormal morphology, including dwarfism, in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 7575~7580
- 47 Ullah H, Chen JG, Wang S et al. Role of a heterotrimeric G protein in regulation of *Arabidopsis* seed germination. *Plant Physiol*, 2002, 129: 897~907
- 48 Polito VS. Calmodulin and calmodulin inhibitors: effect on pollen germination and tube growth. In: Mulyshy DL, Ottaviano E. *Pollen: Biology and Implications for Plant Breeding*. New York: Elsevier Press, 1983. 53~60
- 49 Gong M, Yang ZH, Cao ZX. Involvement of calmodulin in pollen germination and pollen tube growth. *Acta Phytophysiol Sin*, 1994, 20(3): 240~247
- 50 马力耕, 徐小冬, 崔素娟等. 细胞外CaM对花粉萌发和花粉管伸长的影响. 科学通报, 1997, 42: 2648~2652
- 51 徐小冬, 马力耕, 孙颖等. 钙调素在细胞外对花粉质膜异三聚体G蛋白的激活效应. 科学通报, 1998, 43: 2463~2464
- 52 郭毅, 马力耕, 张璐等. 异三聚体G蛋白在细胞外CaM调控 *rbcS*基因表达中的作用. 科学通报, 2000, 45: 2195~2200
- 53 Chen YL, Zhang XQ, Chen J et al. Existence of extracellular calmodulin in lower epidermis of *Vicia faba* L. and its role in regulation of stomatal movements. *Acta Bot Sin*, 2003, 45(1): 40~46
- 54 陈玉玲, 肖玉梅, 陈珈等. G蛋白参与细胞外CaM促进蚕豆气孔关闭的过程. 自然科学进展, 2004, 13(4): 343~349
- 55 Chen YL, Huang RF, Xiao YM et al. Extracellular calmodulin-induced stomatal closure is mediated by heterotrimeric G protein and  $H_2O_2$ . *Plant Physiol*, 2004, 136: 4096~4103
- 56 Beffa R, Szell M, Meuwly P et al. Cholera toxin elevates pathogen resistance and induces pathogenesis-related gene expression in tobacco. *EMBO J*, 1995, 14: 5753~5761
- 57 Xing T, Higgins VJ, Blumwald E. Identification of G proteins mediating fungal elicitor-induced dephosphorylation of host plasma membrane  $H^+$ -ATPase. *J Exp Bot*, 1997, 48: 229~237
- 58 Rajasekhar VK, Lamb C, Dixon RA. Early events in the signal pathways for the oxidate burst in soybean cells exposed to avirulent *Pseudomonas syringae* pv *glycinea*. *Plant Physiol*, 1999, 120: 1137~1146
- 59 den Hartog M, Musgrave A, Munnik T. Nod factor-induced phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate formation: A role for phospholipase C and D in root hair deformation. *Plant J*, 2001, 25: 55~65
- 60 Ma LG, Xu XD, Cui SJ et al. The presence of a heterotrimeric G protein and its roles in signal transduction of extracellular calmodulin in pollen germination and tube growth. *Plant Cell*, 1999, 11: 1351~1363
- 61 马力耕, 崔素娟, 徐小冬等. G蛋白在细胞外CaM启动花粉萌发和花粉管伸长中作用. 自然科学进展, 1997, 7: 751~754
- 62 Ehrhardt DW, Wais R, Long SS. Calcium spiking in plant root hairs responding to *Rhizobium* nodulation signaling. *Cell*, 1996, 85: 673~681
- 63 Gehring CA, Irving HR, Kabbara AA et al. Rapid, plateau-like increases in intracellular free calcium are associated with Nod factor-induced root hair deformation. *Mol Plant-Microbe Interact*, 1997, 10: 791~802
- 64 尚忠林, 马力耕, 王学臣等. 异三聚体G蛋白参与调节花粉细胞内钙离子浓度. 自然科学进展, 2003, 13(7): 746~749