

专论与综述 Reviews

植物细胞周期及其调控

刘姜瑾 姜孝成*

湖南师范大学生命科学院, 长沙 410081

Plant Cell Cycle and Its Regulation

LIU Jiang-Jin, JIANG Xiao-Cheng*

College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081

提要 概述了植物细胞周期的特点及其调控。**关键词** 植物; 细胞周期; 调控

细胞周期即细胞增殖过程。此过程中的主要事件是DNA复制成2份拷贝,通过有丝分裂方式平均分配到2个子代细胞中去。细胞周期可以划分为DNA合成期(S期)和有丝分裂期(M期)。M期结束后和S期开始前的间隙称为G₁期, S期结束后和M期开始前的间隙期则称为G₂期^[1]。细胞周期是所有活的生物体的基本特征。在真核生物的细胞周期中,在S期和M期的入口似乎由一类称之为周期因子(cyclin, Cyc)的蛋白质与其依赖激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)形成的复合物控制着,且调控的机制是保守的。另一方面,由于存在多种Cyc/CDKs复合物,加之真核生物的细胞分裂还能对内外信号做出适当的反应,因此其调控机制必然存在多样性。对细胞周期及其调控机制进行研究,将能揭示真核生物生长发育的本质,并从多个水平上对其进行调控。

在高等真核生物的进化过程中,极为重要的是生物体生长过程中细胞分裂的协调性,以及多细胞组织中不同细胞类型的分化。高等动植物复杂的机体结构进化决定于细胞分裂的G₁期,受细胞周期起点到有丝分裂的转折期或在此之前发挥主要作用的控制因素所调节(图1)。越来越多的证据表明,哺乳动物和植物在此时期中的调控机制出乎意料地相似,比如都涉及成视网膜细胞瘤蛋白(Rb)、转录因子E2F、D型Cycs及其依赖激酶的参与等等^[2~5]。在真菌和酵母中却不存在这些蛋白。极有可能的是,正是由于G₁期调节途径中多个因子的参与,才保证了高等多细胞生物体结构的复杂性和协调性^[4]。

从植物细胞周期的模式图(图1)可以看出,和其他真核生物一样,植物细胞周期中某些基本的调控因子是保守的;但植物细胞周期的调控机制、调控因子种类的多样性及其在生长和发育过程中所起的作用在很大程度上是植物特有的^[6,7]。

从植物中已经分离出多种周期因子和CDKs的同源物,已鉴定的基因数目以不可思议的速度在增加。人们已经采用Northern blot、原位杂交和启动子/GUS融合技术对这些序列的细节进行了研究。但对这类复合物在植物细胞周期中的作用还知之甚少,人们对这方面的认识主要来自研究它们在其他真核生物中的作用所积累的资料。

1 CDKs

CDKs是一类含特征性丝氨酸/苏氨酸的激酶,在所有真核细胞中控制细胞周期的整个进程。CDKs的活性既受与之相结合的周期因子调节亚基的调节,又与特异的磷酸化/去磷酸化反应有关。CDKs含有特异性的结构域,其中有周期因子和ATP结合区以及保守的磷酸化调控位点^[8,9]。

在酵母中,一个CDK就足以驱动细胞周期的各个时期。但在多细胞生物体中则需要一个CDK家族,其中每个CDK成员发挥特定的功能^[10]。从大量单子叶植物和双子叶植物中已分离出多种CDKs的同源物^[7,11,12]。植物的CDKs大致分为2种类型:(1)PSTAIRE型。这一类型包含PSTAIRE

收稿 2003-06-09 修定 2004-03-08

资助 湖南省自然科学基金项目(03JJY3026)。

* 通讯作者(E-mail: jxc1c@hunnu.edu.cn, Tel:0731-8872451)。

氨基酸序列, 位于十分保守的含有16个氨基酸残基的周期因子/ATP结合区中。裂殖酵母的 *cdc2* 基因同源物与植物中编码 *cdc2* 或者 *cdc2a* 蛋白质的基因相似。最近, 有人建议将植物的 PSTAIRE-CDK 命名为 CDK-a。(2) 非 PSTAIRE 型。这一类型在与 PSTAIRE 对应的位点含有不同的结构域, 最初确认的是植物特有的 PPTALRE 或者 PPTTLRE 序列, 最近重新命名为 CDK-b 族^[7]。事实上, 表达和序列同源性分析表明存在着2种不同的 CDK-b 亚类: CDK-b1 和 CDK-b2 (表1)。在植物中, CDK-b 族基因的 mRNA 和蛋白质产物只在 S 期到 M 期间出现, 其对 G₂ 期到 M 期转化的调控作用比 CDK-a 族基因更重要; 而 CDK-a 族基因在调控 G₁ 期到 S 期和 G₂ 期到 M 期的转化中都有作用^[7, 9-13]。到目前为止, 在拟南芥中已经鉴定了1种 CDK-a 和4种 CDK-b^[10]。在紫花苜蓿中分离到了 CDK-b 型 CDKs 基因, 其中包括与人类胆碱酯酶活性相关的类 CHED 蛋白激酶的基因, 还鉴定到1种 E 型 CDKs (在拟南芥中尚未找到对应物)^[12, 14]。与拟南芥 *cdc2aAt* (CDK-a) 和 *cdc2bAt* (CDK-b1) 的广泛表达相比, 类 CHED 基因 *cdc2cAt* 仅在花期表达。植物中的同源产物与人类 CHED 蛋白相似, 也可

能出现在细胞系的分化或细胞分裂的特定时期, 并不控制细胞周期的全过程^[14]。

除以上两大类型以外, 还存在 C 型 CDKs 和 CDK 活化激酶 (CDK-activating kinases, CAKs)。迄今, C 型 CDKs 的功能还不清楚; 而 CAKs 的作用是调节 CDK-a 类的活性。在有些生物体如哺乳动物中, CAKs 不仅活化 CDKs, 而且还通过催化 RNA 聚合酶-II 的羧基末端区 (CTD) 磷酸化而使之活化。在另一些生物体如酵母中, 则由不同的激酶执行这些截然不同的功能。在植物体中则可能包括了这两种情况, 如: 拟南芥的 *cak1At* 不能使拟南芥 RNA 聚合酶-II CTD 磷酸化, 但能使人类的 CDK2 磷酸化^[15]。而水稻的 CAK (OsR2) 既能使人类的 CDK2 和水稻的 *cdc20s1* (CDK-a) T 环上的苏氨酸残基磷酸化, 也能催化 RNA 聚合酶-II CTD 磷酸化^[16]。在拟南芥中存在两类功能不同的 CAKs。一类有3种: CDKD;1、CDKD;2 和 CDKD;3, 它们与从水稻中分离得到的 CAK (OsR2) 在蛋白质水平上分别有75%、68%和79%的序列相似性; 另一类即是早已报道的 *cak1At*, 后被重新命名为 CDKF;1, 它的序列同源性和功能与前一类以及水稻的 OsR2 都截然不同^[10]。深水区

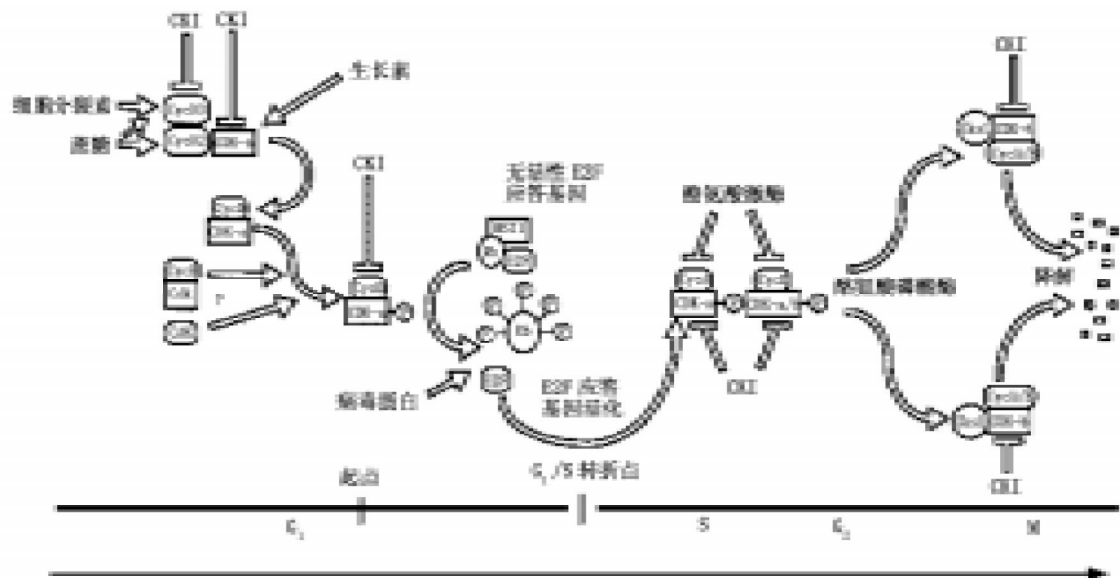


图1 植物细胞分裂周期进程模式^[13]

在 G₁ 期, 细胞分裂素和蔗糖诱导的 D 型周期因子与可能由生长素诱导的 CDK-a (Cdc2a) 形成复合体, 此种复合体的活性受 CAKs 和 CKIs 调节。活化的复合体促进 Rb 磷酸化并从 Rb-E2F 蛋白复合体中释放出来, 从而活化进入 S 期所必需的 E2F 转录因子应答基因。某些病毒的复制蛋白如双子座病毒的 RepA 可直接与 Rb 相互作用并启动 S 期。在 S 期, A 型周期因子 (CycA) 与 CDK-a 形成复合体。到了 G₂ 期, 合成 B 型周期因子 (CycB), B 型 CDKs 被活化, 此时 CycA 和 CycB 都可能与 CDK-a 和 CDK-b 形成复合体。CDK 活性受 CKIs 和酪氨酸 (Thr14 和 Thr15) 磷酸化的抑制。进入有丝分裂时, 此种激酶复合体必须与 Cks1 结合, 从酪氨酸磷酸酶脱去复合体上的磷酸基团。有丝分裂期末期, 周期因子趋于降解。

表1 植物细胞周期调节因子

类型	被验证的植物	特性或作用	文献
CDKs			
CDK-a (PSTAIRE)	已被广泛证实	作用于 G ₁ /S 和 G ₂ /M	7, 9
CDK-b1 (PPTALRE)	拟南芥、金鱼草、烟草、苜蓿	在 S 期至 M 期表达	7, 9~12
CDK-b2 (PPTTLRE)	拟南芥、金鱼草、水稻、苜蓿	可能只在 G ₂ 期和 M 期表达	7, 9~12
CAK	水稻、拟南芥	通过 T-loop 磷酸化活化 CDKs	15, 16
CHED-like	拟南芥、苜蓿	可能参与细胞分化, 而与细胞周期无关	12, 14
cyclins			
CycA1	玉米、烟草、水稻		24
CycA2	拟南芥、玉米、烟草、苜蓿	从 S 期至 M 期表达	24
CycA3	长春花、烟草、金鱼草		
CycB1	拟南芥	在 G ₂ /M 转化期表达	24
CycB2	苜蓿	在 G ₂ /M 转化期表达	24
CycD1	拟南芥、金鱼草、菊芋		
CycD2	拟南芥、烟草	与蔗糖诱导的 G ₁ /S 期转化有关	13, 24
CycD3	已被广泛验证	参与 G ₁ /S 期转化, 拟南芥的 CycD3; 1 由细胞分裂素诱导, 按不同诱导特性可分为几个亚组	24, 32
CycD4	拟南芥	与蔗糖诱导有关	33
其它			
Rb	玉米、烟草	参与 G ₁ /S 期转化, 在体外 CDK-a/ CycD3 激酶磷酸化	2~5, 41, 42
E2F	小麦、苜蓿	在早 S 期被上调, 在扩增的培养细胞和已分化组织中表达; 与 Rb 结合, 且可能由它活化	40, 42
CKI	拟南芥	ICK1 与 CDK-a 和 CycD3 结合, 脱落酸处理时被诱导	7, 47
Cks1	拟南芥	作用于有丝分裂和核内复制周期	33
Ms11	拟南芥、番茄	Rb 结合蛋白, 可能参与组氨酸脱乙酰基转移酶复合体组成, 与 G ₁ /S 有关	43

稻的不定根受乙烯刺激后, OsR2 即伴随着细胞周期的活化而被诱导产生^[17]。

CDKs 的活性不仅需要周期因子, 而且需要 CAKs 催化 CDK T 环上的苏氨酸残基 (Thr161) 磷酸化; 但 Thr14 和 Tyr15 的磷酸化却会使 CDKs 失去活性。CDKs 完全活化需要由 cdc25 磷酸酶除去 Thr14 和 Tyr15 上的磷酸基团^[13, 18]。一种能抑制 CDK 活性的玉米 wee1 同源物 (能使 cdc2 的 Tyr15 磷酸化) 已得到分离鉴定^[19], 悬浮培养细胞群在缺乏细胞分裂素时会停滞在 G₂ 期, 但是酵母 *cdc25* 基因的诱导表达产物能诱导这些静止细胞重新进入分裂期^[20, 21]。John^[20] 的实验结果表明, CDKs 中 Tyr15 的磷酸化在植物细胞有丝分裂调控中起着非常重要的作用, 而细胞分裂素在烟草细胞培养物中的唯一作用就是控制 CDKs 的去磷酸化。这一结论是否只局限于特殊的细胞培养物或特定的细胞种类还不能断定, 因为另有研究表明, 在拟南芥细胞分裂的 G₁/S 转折期, 细胞分裂素也通过激活

周期因子 CycD3 而起作用^[22]。

2 周期因子

单体 CDKs 是没有激酶活性的, 必须与特的调节蛋白即周期因子结合才被激活。在细胞周期中周期因子含量的波动变化是 CDKs 在不同时相呈现活性的主要决定因素^[10]。与 *cdc2* 有相似序列的同源物一样, 在大量单子叶植物和双子叶植物中分离出了与动物 A 型和 B 型周期因子高度同源的序列, 并且证实它们在某些情况下与动物周期因子有对等功能, 如注入植物周期因子的 RNA 可以破坏卵母细胞中的胚泡和卵母细胞的成熟^[18]; 此外, 已证实, 从植物中分离出来的几种 D 型周期因子能够促进酵母菌株的成熟^[23, 24]。

2.1 周期因子的分类及其作用 周期因子可以划分为有丝分裂周期因子 (包括高等真核生物中的 A 型和 B 型周期因子以及芽殖酵母中 CLBS) 和 G₁ 期周期因子 (包括哺乳动物中的 D 型周期因子和芽殖酵母中的 CLNS); 另外, 还有调控 CAKs 活性的 H 型

周期因子。在植物中已经鉴定出 A、B、D 和 H 型 4 类周期因子, 同源分析表明, 它们大多数有类周期因子的对应物^[24]。Vandepoele 等^[10]用已知的植物周期因子作探针, 在拟南芥基因组中检测到 30 个周期因子, 其中 19 个找到了 EST(表达序列标记)。

每一类型的周期因子都可能包含多个成员。如 A 型周期因子可分为 3 个亚类: A1、A2、A3^[25]。已发现这 3 个亚类的 10 个周期因子均存在于拟南芥中, 其中有 2 个 A1 型基因 (*CYCA1;1* 和 *CYCA1;2*)、4 个 A2 型基因 (*CYCA2;1*、*CYCA2;2*、*CYCA2;3* 和 *CYCA2;4*) 以及 4 个 A3 型基因 (*CYCA3;1*、*CYCA3;2*、*CYCA3;3* 和 *CYCA3;4*)。B 型周期因子可分为 2 个亚类: B1 和 B2。拟南芥中包含了 9 个 B 型周期因子, 其中, 4 个属于 B1 亚类 (*CYCB1;1*、*CYCB1;2*、*CYCB1;3* 和 *CYCB1;4*), 4 个属 B2 亚类 (*CYCB2;1*、*CYCB2;2*、*CYCB2;3* 和 *CYCB2;4*), 但还有 1 个 B 类周期因子既不能归于 B1 亚类, 也不能归于 B2 亚类, 尽管它明显有一个类似 B 型周期因子盒 (B-type-like cyclin box) 与 B 型特异性的 HxKF 信号序列相连接, 但在其上未检测到任何类似的 B1 或 B2 破坏盒基序 (destruction box motif) 结构, 因此, Vandepoele 等^[10]建议将它设定为一个新的亚类: B3。植物 D 型周期因子显示出与哺乳动物 D 型周期因子相似的结构特征, 包括 N 末端和 / 或 C 末端的 PEST 基元 (motif), 以及 Rb 结合基元 (LxCxE)^[18]。基于在系统演化上的位置, D 型周期因子可以细分成多个亚类^[10], 目前已鉴定和确认分类的基因有: *CYCD1;1*、*CYCD2;1*、*CYCD3;1*、*CYCD3;2*、*CYCD3;3*、*CYCD3;4*、*CYCD4;1*、*CYCD4;2*, 余下的新的 D 型周期因子可细分为 *CYCD5*、*CYCD6* 和 *CYCD7* 等。值得注意的是, *CYCD4;2* 和 *CYCD6;1* 没有 LxCxE Rb 结合基元, 而 *CYCD5;1* 在 N 末端有一个 FxCxE Rb 结合基元, 目前还不清楚缺失保守 Rb 结合基元的周期因子的生物学功能。有关 H 型周期因子的报道尚少, 在拟南芥中已经发现了一个周期因子与白杨和水稻的 H 周期因子有高度的序列相似性 (分别为 71% 和 60%)^[10]。

不同类型的植物周期因子在表达方式及功能

上存在差异^[18]。通常不同的周期因子在细胞周期的不同时期表达。例如, *CycA* 和 *CycB* 在表达方式上有细微区别 (*CycB* 仅在 G₂/M 表达, 而 *CycA* 则在 S 期到 G₂ 期或 G₂/M 期表达)。大豆周期因子 *cyc5Gm* (B 型周期因子) 在 G₂ 期和 M 期表达, *cyc3Gm* (A 型周期因子) 在 S 晚期和 G₂ 期表达, *cyc1Gm* (A 型周期因子) 在 S 期表达。此外, 某些特定的组织中不同周期因子的表达方式也不一样, 如 *cyc1Gm* 和 *cyc5Gm* 在大豆茎尖组织中表达水平最高, 而 *cyc3Gm* 在根尖和根瘤组织中表达水平最高^[26]。

植物周期因子的基因表达与细胞增殖的关系密切, 因为在已成熟的细胞或处于静止期的悬浮培养细胞中, 植物周期因子的基因一般是不表达的^[27]。但也有例外, 如, 在拟南芥的休眠腋芽 (推测这些腋芽是由于顶端分生组织的影响而没有分化, 且是处于休眠期) 和静止的甜菜细胞中, A 型周期因子的基因表达与细胞分裂的停滞无关^[28]。Doerner 等^[29]的实验指出, 植物的周期因子的基因表达水平限制细胞分裂的速度。通过 *cdc2At* 启动子调控的 *cyc1At* 表达能加速植物的生长。

D 型周期因子的表达与组织的增殖状态并不直接相关, 而与细胞在组织中所处的位置有关。在同步培养的细胞中, 不同的 D 型周期因子有不同的表达方式。如拟南芥的周期因子 D2 在细胞周期的各个时段均表达, 而 D3 则与组蛋白 H4 的形成期相似, 仅在 S 期和 S 期之前表达^[30]。

2.2 周期因子的作用机制 周期因子与 CDKs 结合后可以控制 CDKs 活性、CDKs 与底物的结合及其在亚细胞中的定位。Reichheld 等^[31]的研究表明, 在植物细胞中, *CycA* 和 *CycB* 的基因在细胞周期中的表达呈现出周期依赖性, 大约在 G₂ 期向 M 期转折时达到最高值 (*CycA* 比 *CycB* 出现稍早), 即使编码 *CycA* 的不同亚类基因之间也存在不同的表达时序。

植物中 *CycD* 的基因表达与动物细胞中的一样显现出独立的细胞周期特性, 其转录可受促细胞分裂素 (mitogens) 诱导。在分裂活跃的细胞中, 此类基因在细胞分裂周期的某些特定时期可诱导出来, 但其表达一般维持在稳定水平上。但在同步

培养的BY-2烟草细胞中,有2种周期因子 *CycD2;1* 和 *CycD3;1* 的转录产物在有丝分裂期积累,这对D型周期蛋白来说是不寻常的^[32]。De Veylder等^[33]从拟南芥中分离出一个新基因,其所编码的周期因子 *CycD4* 与 *CycD2* 类周期因子有关,并且在侧根原基形成时期表达。

周期因子受基因表达和蛋白质翻转(turnover)的双重调控。对于有丝分裂期的 *CycB* 基因来说,特定的Myb结合位点是其在M期表达时必不可少的,烟草(*Nicotiana glauca*) *CycB1* 在整个M期的表达需要5个启动子,其中一个就是Myb结合元件^[34]。这些M期特有的活化子(M-specific activators, MSA)的共有序列是顺式作用元件,也存在于G₂期和M期表达的其他基因的启动子中^[35]。

CycA 和 *CycB* 在M期的特定时期降解,依赖于一个破坏盒基序,此基序可调节泛肽依赖性蛋白质水解;而大多数的 *CycD* 含有PEST(脯氨酸-谷氨酸盐-丝氨酸-苏氨酸)序列,认为这是许多蛋白质快速水解的信号。编码 *CycA* 或 *CycB* N末端的DNA连接上一个报告基因后,报告基因编码的蛋白质即产生细胞周期所特有的蛋白质翻转现象;而降解盒中保守氨基酸残基的突变可削弱这种报告基因蛋白的翻转^[36]。

植物生长调节因子,如生长素和细胞分裂素,也在植物细胞周期中起调控作用。最近,对其调控模式的阐释已取得进展,但应该注意的是,在植物细胞周期中植物生长调节因子的作用通常表现出高度的系统特异性或物种特异性,尤其是在悬浮培养细胞中更是如此。有研究表明,在烟草BY2细胞由G₂期转入M期时需要玉米素^[37];在烟草(*N. plumbaginifolia*)的悬浮培养细胞中,生长素对细胞分裂过程中从G₁期晚期转入S期有促进作用,生长素和细胞分裂素是G₂/M期转折时所需要的。但是,也有证据表明,诱导静止的细胞或组织进入分裂时,细胞分裂素主要在G₁/S期转折时起作用^[38]。不论是在拟南芥的体外细胞培养物还是完整植物体中,拟南芥 *CycD3* 均受细胞分裂素诱导。另外,在没有细胞分裂素的情况下,转基因拟南芥叶片外植体的 *CycD3* 过度表达可启动并维持细胞分裂。这说明由细胞分裂

素诱导的 *CycD3* 表达在拟南芥细胞分裂的G₁到S期转折时起作用^[22]。

蔗糖也被认为与细胞周期基因的调控有关。拟南芥 *CycD4;1* 的转录可受蔗糖诱导^[33], *CycD2* 在G₁早期以及 *CycD3* 在G₁晚期的转录均受蔗糖诱导;这些证据显示植物D型周期因子在细胞周期中的主要作用是传递外界环境刺激,而不像哺乳动物细胞中的D型周期因子主要是传导血清生长因子信号。

3 相互作用的蛋白质

除周期因子外,植物中能与CDKs相互作用的其它蛋白质已经分离出来。拟南芥的 *cks1At* 基因与酵母 *Suc1* 和人类 *Cks1* 基因同源,此种基因编码一个骨架蛋白,可加强CDKs与其他调控因子之间的相互作用。*Cks1At* 与 *cdc2aAt* 及 *cdc2bAt* 结合后在有丝分裂期及核内复制期表达^[39]。此外,CDKs的蛋白激酶抑制剂(CKIs)在调节CDKs活性中也有重要作用,拟南芥中至少含有4个CKI基因;但迄今只有1个基因 *ICK1* 得到鉴定,它所编码的蛋白质与哺乳动物中CKIp27^{kip1}的羧基末端有些相似,并且受脱落酸诱导,可导致CDKs的活性降低^[40]。*ICK1* 与 *cdc2a* (CDK-a) 及 *CycD3* 都能相互作用。

4 Rb蛋白与G₁/S期调控

动物细胞周期的G₁期主要受视网膜细胞瘤(retinoblastoma, Rb)蛋白调控。从G₁期进入S期需要E2F转录因子的活化;在G₁期,E2F与Rb蛋白结合,导致组蛋白脱乙酰基转移酶(deacetylases)附着在E2F调节基因启动子上,从而关闭E2F应答基因的转录。周期因子D依赖性激酶促使Rb蛋白磷酸化后从E2F复合物中释放出来,从而活化E2F应答基因。

植物体中这一调控途径的组成正一步步地得到揭示。植物D型周期因子(*CycD*)在前面已提到过:植物的Rb蛋白同源物已从玉米^[2,3]、烟草^[41]和拟南芥^[10]中分离得到,它与哺乳动物的细胞周期调控因子一样也是高度保守的。玉米Rb蛋白(ZmRb1)在体外与拟南芥 *CycD3* 相互作用时,也需具备与哺乳动物同源物一样的特征。天然的烟草 *cdc2-CycD3* 表达产物同源物在昆虫细胞中也可

以检测到, 此种复合物可在体外磷酸化 NtRb1^[41]。ZmRb 含量与玉米叶片细胞的分化状态有关, 靠近叶片顶部的分化细胞增殖区中的 ZmRb 量比近基部的更丰富; 与哺乳动物细胞周期调控一样, ZmRb1 与人类及果蝇的 E2F 基因相结合后, 能够抑制人类 E2F 基因的转录活性^[4]。Inzé 等^[40]和 Gutierrez^[42]报道, 小麦和紫花苜蓿的植物 E2F 也能与 ZmRb1 相互作用。由于 RbAp48 (MSI1) 蛋白影响人类的 Rb 蛋白与组蛋白脱乙酰基转移酶的相互作用, 对植物 MSI1 同源物的鉴定结果暗示植物的 Rb 蛋白的作用方式类似于人类的 Rb 蛋白^[43]。

5 细胞周期与生长发育

细胞周期调控在植物生长发育过程中的重要性已越来越受到重视。在特定的植物组织或细胞以及植物生长对调节因子的反应中, 调控某些细胞周期基因的实验表明, 细胞周期过程影响植物细胞的分化和发育^[4, 11, 22], 分生组织中细胞发育模式的转变明显与细胞周期的持续时间及活跃分裂细胞的比例有关; 而且, 植物生长还可对外界条件, 如 CO₂ 水平做出反应。

Laufs 等^[44]对拟南芥茎顶端分生组织做了详实的分析, 他们测量了整个分生组织的二维结构、细胞大小和数目、分生组织中有丝分裂指数以及有丝分裂的空间分布。结果发现顶端分生组织可以划分为中央区(跨度 4~6 个细胞)和周边区, 并证实 *CLAVATA3 (CLV3)* 基因是细胞从中央区过渡到周边区所必需的, 此基因的突变导致中央区的扩大, 而另一个基因 *MGO2* 的突变 (*mgo2*) 导致周边区细胞增殖速度提高, 从而使周边区扩大。但他们的实验未对细胞周期因子如何与这些基因相联系协同调控分生组织的细胞分裂做出解释。

6 哺乳动物与植物的细胞周期调控的比较

证明植物和动物一样存在细胞周期调控机制的证据最早是来自从植物中分离出与其他真核生物的周期因子和 CDKs 同源的序列, 如应用 CDKs 保守区间(如 PSTAIRE 基元)制作的抗体通过免疫沉淀法证实植物中也存在类似的蛋白质。序列的保守性显示了功能的保守性, 如植物中某些这样的序列可以修复酵母突变体或促进卵母细胞成熟^[18]。

但是, 植物分子生物学家至今尚未完全确定

哪些保守残基是植物 CDKs 活性所必需的, 也不知道植物 CDKs 的活性是否必须与周期因子结合(或者说哪个周期因子必须与哪个 CDKs 结合)。至今也不十分清楚植物中 CDKs 的活化与失活是否与磷酸化作用有关。此外, 植物周期因子 /CDKs 复合物的天然底物范围也有待弄清楚。但以上这些问题在一定程度上暗示植物细胞周期的运作和调控模式与其他真核生物的不同。

当然, 科学家们正在针对这些问题进行研究。如: Magyar 等^[12]已证实周期因子 /CDKs 复合物在植物细胞中可以产生, 并且在细胞周期的特定阶段起作用。Bogre 等^[45]研究了酵母 *cdc2* 基因在控制植物细胞周期中的作用, 他们认为植物细胞周期可能在 G₁ 期转入 S 期和 G₂ 期转入 M 期时被 1 个或 2 个与 *cdc2* 密切相关的蛋白控制着(酵母细胞周期中是由 *cdc2*/CDC28 控制着这两个转折位点)。但植物从 G₂ 期转入 M 期时还涉及别的与 *cdc2* 序列相似的同源物作用^[12]。Grafi 和 Larkins^[46]发现在玉米核内复制的调控中, *cdc2* 抑制蛋白 (CKI) 阻碍 M 期的形成; Wang 等^[47]从拟南芥中分离得到了第一个植物 CKI 基因 (*CKI1*)。以上的研究者还发现在细胞的不同区域中 *cdc2* 的形式不同, 比如无活性的 *cdc2*, 与 CKI 同源物结合, 存在于 S 期的细胞质中; 有活性的 CDKs 则位于 S 期和 G₂ 期的细胞核中或 G₂ 晚期和有丝分裂期的细胞质中。因此推测, CDKs 与 CKIs 分离后进入细胞核而激活 S 期。

由于尚未弄清植物中各种可能的周期因子 /CDKs 相互作用的特征, 因此 CDKs 如何在植物细胞中起作用还不清楚。此外, 提取的激酶在体外呈现活性并不能反映活体中的真实情况; 某些周期因子 /CDKs 复合物还可能参与细胞周期从 G₀ 期到 S 期的转化或某些更为特化的细胞周期活动如核内再复制和核内有丝分裂, 使植物在正常发育过程中的某一时段出现多倍体现象, 如禾谷类作物胚乳的发育早期。某些 CDKs 可能并不与周期因子结合, 其功能更接近于 CHED 或 PCTAIRE 序列, 在细胞周期调控中不起直接作用, 而且可能参与细胞程序性死亡过程和信号转导。借助已在植物中得到鉴定的 CHED、MAK 和 PCTAIRE 同

源序列为模板, 植物特有的几个 CDKs 也已得到了确认^[12, 48]。

目前, 植物周期因子 /CDKs 复合物作用的底物正在鉴定之中, 已发现在细胞分裂时早前期带 (pre-prophase base, PPB) 的位置上存在 *cdc2*, 因此推测 *cdc2* 极有可能参与 PPB 的形成和发育^[49]。Rb-E2F 无疑是植物周期因子 /CDKs 复合物的底物。从图 1 可以看出, 在晚 G₁ 期转入 S 期时, Rb 解除与 E2F 的结合依赖于 Rb 的磷酸化, 而 Rb 的磷酸化又依赖于 CDKs^[50]; 前面也已经述及, 从玉米中分离的 Rb 同源物 (ZmRb1) 可与拟南芥的 D 型周期因子结合。

7 结束语

近年来, 人们已经了解到, 与哺乳动物细胞周期的调控机制一样, 植物细胞周期的调控机制也相当的复杂, 对植物细胞周期的研究也已取得了突破性进展。一方面, 植物与哺乳动物细胞中 G₁/S 期调控因子的保守性程度确实是惊人的, 而且暗示植物谱系和动物谱系分离之前 Rb 蛋白途径就有所进化; 另一方面, 人们对植物细胞分裂及其调控的特异性方面有了更多的认识。今后的工作将是对数目如此庞大的细胞周期调控基因进行功能分析, 以确认它们在植物发育中调控细胞周期时是否有精细的功能差异或者哪些是多余的; 特别还要将细胞周期的调控基因与由于细胞周期活动的诱导而表达的基因区分开来。

参考文献

- 1 吴家睿. 细胞周期的驱动及其调控. 科学通报, 2002, 47: 805~811
- 2 Ach RA, Durfee T, Miller AB et al. *RRB1* and *RRB2* encode maize retinoblastoma-related proteins that interact with a plant D-type cyclin and geminivirus replication protein. *Mol Cell Biol*, 1997, 17: 5077~5086
- 3 Grafi G, Burrnett RJ, Helentjaris T et al. A maize cDNA encoding a member of the retinoblastoma protein family— involvement in endoreduplication. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 8962~8967
- 4 Hutley RP, Healy S, Freeman D et al. The maize retinoblastoma protein homologue ZmRb-1 is regulated during leaf development and displays conserved interactions with G₁/S regulators and plant cyclin D (CycD) proteins. *Plant Mol Biol*, 1998, 37: 155~169
- 5 Xie Q, Sanz-Burgos AP, Hannon GJ et al. Plant cells contain a novel member of the retinoblastoma family of growth regulatory proteins. *EMBO J*, 1996, 15: 4900~4908
- 6 Bursens S, Van Montagu M, Inze D. The cell cycle in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem*, 1998, 36: 9~19
- 7 Mironov V, De Veylder L, Van Montagu M et al. Cyclin-dependent kinases and cell division in plants—the nexus. *Plant Cell*, 1999, 11: 509~521
- 8 Jeffrey PD, Russo AA, Polyak K et al. Mechanism of CDK activation revealed by the structure of a cyclin A-CDK2 complex. *Nature*, 1995, 376: 313~320
- 9 Segers G, Rouze P, Van Montagu M et al. Cyclin dependent kinases in plants. In: Bryant JA, Chiatante D (eds). *Plant Cell Proliferation and its Regulation in Growth and Development*. Chichester: Wiley, 1998. 1~19
- 10 Vandepoele K, Raes J, De Veylder L et al. Genome-wide analysis of core cell cycle genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2002, 14: 903~916
- 11 Fobert PR, Gaudin V, Lunness P et al. Distinct classes of *cdc2*-related genes are differentially expressed during the cell division cycle in plants. *Plant Cell*, 1996, 8: 1465~1476
- 12 Magyar Z, Meszaros T, Miskolczi P et al. Cell cycle phase specificity of putative cyclin-dependent kinase variants in synchronized alfalfa cell. *Plant Cell*, 1997, 9: 223~235
- 13 Huntley RP, Murray JAH. The plant cell cycle. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, 2: 440~446
- 14 Lessard P, Bouly JP, Jouannic S et al. Identification of *ded2cAt*: a new cyclin-dependent kinase expressed in *Arabidopsis thaliana* flowers. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1445: 351~358
- 15 Umeda M, Bhalerao RP, Schell J et al. A distinct cyclin-dependent kinase-activating kinase of *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 5021~5026
- 16 Yamaguchi M, Umeda M, Uchimiya H. A rice homolog of CDK7/M015 phosphorylates both cyclin-dependent protein kinase and the carboxy-terminal domain of RNA polymerase II. *Plant J*, 1998, 16: 613~619
- 17 Lorbiecke R, Sauter M. Adventitious root growth and cell-cycle induction in deepwater rice. *Plant Physiol*, 1999, 119: 21~29
- 18 Fowler MR, Eyre S, Scott NW et al. The plant cell cycle in context. *Mol Biotech*, 1998, 10: 123~153
- 19 Sun YJ, Dikes BP, Zhang CS et al. Characterization of maize (*Zea mays L.*) *weel* and its activity in developing endosperm. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 4180~4185
- 20 John PCL. Cytokinin stimulation of cell division: essential signal transduction is via Cdc25 phosphatase. *J Exp Bot*, 1998, 49 (suppl): 91
- 21 Zhang K, Letham DS, John PCL. Cytokinin controls the cell cycle at mitosis by stimulating the tyrosine dephosphorylation and activation of p34^{cdc2}-like H1 histone kinase. *Planta*, 1996, 200: 2~12

- 22 Riou-Khamlichi C, Huntley RP, Jacquard A et al. Cytokinin activation of *Arabidopsis* cell division through a D-type cyclin. *Science*, 1999, 283: 1541~1544
- 23 Hata S, Kouchi H, Suzuka I et al. Isolation and characterization of cDNA clone for plant cyclins. *EMBO J*, 1991, 10: 2681~2688
- 24 Renaudin JP, Colasanti J, Rime H et al. Cloning of four cyclins from maize indicates that higher plants have three structurally distinct groups of mitotic cyclins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 7375~7379
- 25 Renaudin JP, Doonan JH, Freeman D et al. Plant cyclins: a unified nomenclature for plant A-, B- and D-type cyclins based on sequence organization. *Plant Mol Biol*, 1996, 32: 1003~1018
- 26 Kouchi H, Sekine M, Hata S. Distinct classes of mitotic cyclins are differentially expressed in the soybean shoot apex during the cell cycle. *Plant Cell*, 1995, 7: 1143~1155
- 27 Hirt H, Mink M, Pfosser M et al. Alfalfa cyclins: differential expression during the cell cycle and in plant organs. *Plant Cell*, 1992, 4: 1531~1538
- 28 Fowler MR, Kirby MJ, Scott NW et al. Polyamine metabolism and gene regulation during the transition of autonomous sugar beet cells in suspension culture from quiescence to division. *Physiol Plant*, 1996, 98: 439~446
- 29 Doerner P, Jørgensen J-E, You R et al. Control of root growth and development by cyclin expression. *Nature*, 1996, 380: 520~523
- 30 Dahl M, Meskiene I, Bogre L et al. The D-type alfalfa cyclin gene *cycMs4* complements G_1 cyclin-deficient yeast and is induced in the G_1 phase of the cell cycle. *Plant Cell*, 1995, 7: 1847~1857
- 31 Reichheld JP, Chaubet N, Shen WH et al. Multiple A-type cyclins express sequentially during the cell cycle in *Nicotiana tabacum* BY-2 cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 13819~13824
- 32 Sorrell DA, Combettes B, Chaubet-Gigot N et al. Distinct cyclin D genes show mitotic accumulation or constant levels of transcripts in tobacco Bright Yellow-2 cells. *Plant Physiol*, 1999, 119: 343~351
- 33 De Veylder L, de Almeida Engler J, Burssens S et al. A new D-type cyclin of *Arabidopsis thaliana* expressed during lateral root primordia formation. *Planta*, 1999, 208: 453~462
- 34 Trehin C, Glab N, Perennes C et al. M-phase-specific activation of the *Nicotiana sylvestris* cyclin B1 promoter involves multiple regulatory elements. *Plant J*, 1999, 17: 263~273
- 35 Ito M, Araki S, Matsunaga S et al. G_2/M -phase-specific transcription during the plant cell cycle is mediated by c-Myb-like transcription factors. *Plant Cell*, 2001, 13: 1891~1905
- 36 Genschik P, Criqui MC, Parmentier Y et al. Cell cycle dependent proteolysis in plants: identification by the proteasome inhibitor MG1432. *Plant Cell*, 1998, 10: 2063~2075
- 37 Laureys F, Dewitte W, Witters E et al. Zeatin is indispensable for the G_2 -M transition in tobacco BY-2 cells. *FEBS Lett*, 1998, 426: 29~32
- 38 Cooke R, Meyer Y. Hormonal control of tobacco protoplast nucleic-acid metabolism during *in vitro* culture. *Planta*, 1981, 152: 1~7
- 39 De Velder L, Segers G, Glab N et al. The *Arabidopsis* cks1A protein binds the cyclin-dependent kinases cdc2aAt and cdc2bAt. *FEBS Lett*, 1997, 412: 446~452
- 40 Inzé D, Gutiérrez C, Chua NH. Trends in plant cell cycle research. *Plant Cell*, 1999, 11: 991~994
- 41 Nakagami H, Sekine M, Murakami H et al. Tobacco retinoblastoma-related protein phosphorylated by a distinct cyclin-dependent kinase complex with Cdc2/cyclin D *in vitro*. *Plant J*, 1999, 18: 243~252
- 42 Gutiérrez C. The retinoblastoma pathway in plant cell cycle and development. *Curr Opin Plant Biol*, 1998, 1: 492~497
- 43 Ach RA, Taranto P, Gruijssem W. A conserved family of WD-40 proteins binds to the retinoblastoma protein in both plants and animal. *Plant Cell*, 1997, 9: 1595~1606
- 44 Laufs P, Grandjean O, Jonak C et al. Cellular parameters of the shoot apical meristem in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1998, 10: 1375~1389
- 45 Bögre L, Zwerger K, Meskiene I et al. The cdc2Ms kinase is differentially regulated in the cytoplasm and the nucleus. *Plant Physiol*, 1997, 113: 841~852
- 46 Grafi G, Larkins BA. Endoreduplication in maize endosperm: involvement of M phase-promoting factor inhibition and induction of S phase-related kinases. *Science*, 1995, 269: 1262~1264
- 47 Wang H, Fowke LC, Crosby WL. A plant cyclin-dependent kinase inhibitor gene. *Nature*, 1997, 386: 451~452
- 48 Fowler MR, Kirby MJ, Scott NW et al. Induction of cell division-related genes in quiescent (G0) sugar beet cells. *Physiol Plant*, 1998, 102: 61~70
- 49 Minyuki Y, Yamashita M, Nagahama Y. p34cdc2 kinase homologue in the preprophase band. *Protoplasma*, 1991, 162: 182~186
- 50 Eckardt NA. Ins and Outs of E2Fs. *Plant Cell*, 2002, 14: 2977~2980