

文章编号: 1000 - 582X(2006)03 - 0116 - 03

应力刺激在植物细胞防卫反应中的作用

赵欢¹,王伯初¹,赵虎成²,席葆树²,戴传云¹

(1. 重庆大学 生物工程学院 生物力学与组织工程教育部重点实验室,重庆 400030;

2. 清华大学 工程力学系 生物力学实验室,北京 100084)

摘要:在病原菌与植物初步接触并企图定植期间,有一系列的识别活动,其中包括物理学和生化识别等。二者的相互关系,将直接影响以后的侵染。在病原真菌侵染过程中,不仅对植物细胞有一个酶解的过程,还有一个物理挤压的过程。后者的应力刺激几乎总是能够引起细胞壁相关的防卫反应,诸如细胞外超氧化物的产生和胼胝质的沉积等。化学信号和力学信号诱导的有机结合才能引发完整的细胞防卫反应。和哺乳动物细胞相似,植物细胞对于力学信号的感知和传导依赖于细胞壁和细胞膜之间的粘附,该粘附是由包含 RGD (Arg-Gly-Asp) 序列多肽特异介导的,并且该粘附为植物细胞壁相关防卫基因表达所必需。

关键词:应力刺激;病原真菌;防卫反应;类整合素;力学信号传导

中图分类号: Q947.8

文献标识码: A

在以往的研究中,大多把目光集中在病原菌分泌的毒素和酶类等化学信号对植物的刺激方面。然而仔细探究病原菌的侵染过程,特别是研究非亲和互作诱导的植物系统抗性,在植物被病原菌侵染的整个过程,不仅有酶解过程,在病原菌最初入侵阶段,对细胞壁的物理挤压而产生力学信号也会引起细胞壁相关的防卫反应。对于这些力学信号的感知,越来越多的研究表明,在植物细胞内存在类似哺乳动物细胞的整合素蛋白和胞外粘附性蛋白,并且二者之间的相互作用,产生了细胞膜-细胞壁之间的粘附,感受力学信号,并和细胞壁相关的防卫反应相关^[1]。那么,在植物细胞中,力学信号是怎样被感知和传递的?真菌入侵植物时引起的应力刺激对植物防卫反应发生有何重要意义?笔者就针对这些问题做出总结和探讨。

1 应力刺激引起的细胞防卫反应

在病原菌与植物初步接触并企图定植期间,有一系列的识别活动,其中包括物理学和生化识别等,二者的相互关系,将直接影响以后的侵染^[2]。以活体营养的植物病原真菌为例,真菌孢子萌发产生芽管,在真菌侵染植物企图定植的最初阶段,芽管会对植物细胞壁造成一定的物理挤压,感应这些物理信号足以引发植物细胞防卫反应的发生,例如诱导植物体内活性氧的迸发和细胞质的重排等。随着芽管的进一步深入,穿透细胞壁时才会引起细胞壁增厚以及乳突的形成,这和

刺伤细胞形成侵入栓相似。一旦真菌的侵染丝接触到植物细胞膜,寡糖或多肽类生化激发子才会起作用。Sabine等^[1]利用微管吸吮技术模拟并放大真菌入侵植物细胞的过程,并用钨针对欧芹的悬浮培养细胞进行局部的机械刺激,将化学信号和物理信号分开,分别考察各自产生的效应。试验结果表明,病原菌在试图入侵时,植物细胞不仅感知化学信号,而且还感知机械信号,这两种信号的有机结合才使得细胞作出完整的防卫效应(见表1),二者的作用具有时序性。这种诱导产生的植物自我防卫反应具有对机械刺激和化学刺激(主要是酶类)的非特异性和广谱性。

表1 植物细胞壁相关的防卫效应

细胞形态学变化 (由真菌侵染诱导)	生理生化变化 (由真菌侵染或激发子诱导)
胞质环流增加	质膜的离子流
细胞骨架重排	活性氧产生
细胞核迁移	蛋白质磷酸化状态的改变
胞壁物质附着(如木质素沉积)	基因活性变化
超敏细胞死亡	产物积累(植保素等)
细胞壁增厚 胼胝质物质沉积	防卫相关酶活的变化

2 植物类整合素蛋白在力信号传导中的作用

哺乳类动物细胞的研究揭示了细胞膜上的整合素蛋白在细胞力学信号传导上具有重要作用。整合素蛋白是跨质膜的蛋白,由 α 、 β 亚基组成的异二聚体。它

* 收稿日期: 2005 - 11 - 12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270354)

作者简介: 赵欢(1980 -),女,河北石家庄人,重庆大学硕士,主要从事生物力学及植物病理学研究。

的胞外域结合胞外基质 (ECM),胞内域与细胞骨架相连接.整合素可参与细胞与胞外基质、细胞与细胞之间的粘连、机械力的感受,并可通过酪氨酸蛋白激酶系统和丝氨酸蛋白激酶系统介导细胞的信息传递^[3-4].所以,整合素是力在细胞外基质与细胞骨架之间双向传递的分子连接^[5].许多研究表明,在哺乳类动物细胞的胞外基质和植物细胞壁之间存在许多共同点,因此,植物细胞壁可看作是高等植物细胞的胞外基质^[6-7].细胞对力学信号的感受和传递系统可描述为“细胞外基质-整合素-细胞骨架(微丝,微管)”,由于细胞核位于微丝网中,整合素信号引起的细胞骨架的重组可能直接修饰了染色质的结构,从而使基因表达发生变化.生物学家认为,活细胞线性的硬化以响应通过细胞表面受体传递的机械应力,机械信号再通过细胞骨架的几何形状或分子结构依赖于力的变化而转化为生化响应,这一过程就称为力化学信号的传导过程^[8].也许在植物细胞中存在的信号传导系统和动物细胞中的“ECM-整合素-细胞骨架”的信号传导系统不尽相同,在植物细胞中细胞壁和细胞膜之间的粘附结构在传导信号方面有着非常重要的作用^[9].

随着研究的不断深入和扩展,人们推测在植物细胞中,也存在类似整合素蛋白的结构.Schindler等^[10]首次报导从植物中检测出类整合素,近几年来,对植物类整合素的存在、定位、功能、结构、组成、基因等研究也迅速增多^[11].Anne-Marie等利用人的 $\alpha_5\beta_1$ 整合素抗体在玉米愈伤组织中进行免疫检测,发现了类整合素蛋白^[12].此外,在大豆根尖悬浮细胞中,豌豆上胚轴细胞,高盐胁迫下西红柿悬浮细胞,洋葱表皮细胞等都发现有类整合素存在^[10,13-15].张爱华等人利用人整合蛋白($\alpha_5\beta_3$)的多克隆抗体证明类整合素蛋白存在于蚕豆保卫细胞的质膜上,并利用共聚焦激光扫描显微镜观察表明,类整合素蛋白主要分布在背壁的细胞膜上,这与保卫细胞和表皮细胞之间的信号传导是一致的^[16].Caunat等^[17]在纯化的拟南芥细胞膜上还发现了 RGD 肽的结合位点,且每个细胞约有 40~200 个,并且从拟南芥中克隆了和真菌、昆虫和人类相似的整合素的部分序列^[18].在植物中,细胞膜和细胞壁之间的粘附,花粉管的伸长,植物对盐胁迫的适应性以及对重力的感知都被认为是由 RGD 相关的类整合素蛋白和 ECM 之间的连接介导的^[19-21].所有的发现表明,无论是动物系统还是植物系统,至少在质膜和 ECM 之间都存在着相互作用及信息交流.所以,整合素分子不仅是一个粘附相关的功能装置,还具有传递信号的作用.对于这些系统所具有的相似性的进一步的证据都是通过包含 RGD 序列的多肽处理植物观察得出的结果.

3 RGD 特异介导的粘附在力信号传导中的作用

研究表明,防卫基因的表达依赖于细胞壁和细胞膜之间的粘附.而包含 RGD 序列的多肽可以特异的干

扰细胞壁和细胞膜之间的粘附,从而阻断了二者之间的信息流,结果使得真菌的侵染效率增高^[22-23].Kiba 等^[24]在豌豆的质膜和细胞壁上分别检测到了类整合素蛋白和玻璃纤连蛋白,并且它们之间的连接是 RGD 肽,而非 RGE 肽.但 RGD 肽并不直接影响豌豆细胞壁中的 ATP 酶活性和超氧化物的产生.可见,植物细胞壁对真菌侵染信号的识别以及假定的第二信使的传递都是通过 RGD 相关的质膜-胞壁之间的粘附介导的.但究竟是如何作用的,还需要进一步研究.

Margaret 研究酵母细胞时发现,一些酵母菌和丝状真菌通过 RGD 介导的相互作用粘附在寄主细胞上^[25].而只有通过 RGD 介导的细胞间的相互识别,真菌才能成功地粘附在寄主细胞表面,为进一步入侵寄主细胞奠定了必要的基础.可见 RGD 相关的粘附在植物抗病信号的传导中具有举足轻重的作用.这为进一步认识病原物-寄主之间的互作提供了新的思路.

4 结束语

综上所述,植物细胞外基质 ECM,除了构成细胞壁的功能外,还具有信号通道的功能,各种信号分子汇集于此.此外还担当质膜上受体的胞外连接域,使得胞外信号畅通无阻地传递到胞内.而跨质膜的整合素分子的聚集和构型改变是细胞响应各种机械应力的起始,并由此导致一系列胞内信号事件的级联反应.由 RGD 介导的细胞壁和细胞膜之间的粘附,使得病原微生物在企图入侵植物时,植物细胞能很快感受到因病原物对植物细胞壁表面的物理挤压而产生的力学信号,并通过力信号传导迅速而准确地传递到细胞内部,使得防卫基因活化,细胞作出防卫反应.

植物在识别“自身”和“异己”,信号传递、防卫反应的产生等方面都显示了与动物免疫应答的对应性.在哺乳动物中,整合素和细胞骨架在细胞力传导中的作用已经研究得较为深入.也许植物类整合素在结构上或基因上与动物整合素有差异,但这些分子可能通过相似的机制介导植物细胞对体内外环境信号的感知和传导.如能将动物和植物的防御功能和机制的研究结合起来,全面考察各种信号对细胞自身防卫反应的贡献,就可以完善信号传递网络,进而探讨应用于农业生产防治植物病害的可能性,这也是植物抗病生理和分子生物学研究的热点之一,而物理诱导抗病性的研究,必将为植物保护和植物病害治理开辟一个崭新的领域.

参考文献:

- [1] SAB NE GM, BEATR IX N. Local Mechanical Stimulation Induces Components of the Pathogen Defense Response in Parsley[J]. *Plant Biology*, 1998, 95: 8 398 - 8 413.
- [2] 许志刚. 普通植物病理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [3] 孙大业, 郭艳林, 马力耕. 信号细胞传导 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [4] 周建明, 朱群, 白永延. 高等植物防卫反应的信号传导 [J].

- 植物学通报, 1999, 16(3): 1 - 9.
- [5] 杨芬, 李莹辉. 整合素和细胞骨架在细胞力传导中的作用[J]. 航天医学与医学工程, 2002, 15(4): 309 - 312
- [6] 尹增芳, 樊汝汶. 植物细胞壁的研究进展[J]. 植物研究, 1999, 19(4): 407 - 414.
- [7] LNGBER D. Integrins as Mechanochemical Transducers[J]. Curr Opin in Cell Biol, 1991, 3: 841 - 848.
- [8] 张惠静. 整合素在细胞响应机械应力中的作用[J]. 生物化学与生物物理进展, 2002, 29(3): 359 - 361.
- [9] COB N B. Role of the Extracellular Matrix in Cell-cell Signaling: Paracrine Paradigms[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2002, 5: 396 - 401.
- [10] SCHNDLER S, MENER S. RGD-dependent Linkage Between Plant Cell and Plasma Membrane: Consequence for Growth[J]. Cell Biol, 1989, 1089(7): 1955 - 1965.
- [11] 孙颖, 孙大业. 植物类整合素蛋白研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2001, 28(3): 283 - 286
- [12] ANNE M, AHMED F, PAUL M. RGD-dependent Growth of Maize Calluses and Immunodetection of an Integrin-like Protein[J]. FEBS Letters, 1999, 442: 123 - 128.
- [13] DENNY G, MICHELE C. Plasma Membrane-cell Wall Adhesion is Required for Expression of Plant Defense Responses During Fungal Penetration[J]. Plant Cell, 2001, 13: 413 - 424.
- [14] ZHU J K, SHIJ, SINGH U, et al. Enrichment of Vitronectin and Fibronectin-like Proteins in NaCl-adapted Plant Cells and Evidence for Their Involvement in Plasma Membrane-cell Wall Adhesion[J]. Plant, 1993, 3: 637 - 646.
- [15] GENS S J, REUZEAU C, DOOLITTLE KW, et al. Covisualization by Computational Optical-sectioning Microscopy of Integrin and Associated Proteins at the Cell Membrane of Living Onion Protoplasts[J]. Protoplasma, 1996, 194: 215 - 230.
- [16] 张爱华, 黄荣峰, 王学臣, 等. 蚕豆保卫细胞中类整合蛋白的鉴定[J]. 科学通报, 2001, 46(2): 126 - 128
- [17] CAUNUT H, CARRASCO A, GALAND I P, et al. High Affinity RGD Binding Sites at the Plasma Membrane of Arabidopsis Thaliana Links the Cell Wall[J]. Plant, 1998, 16(1): 63 - 71.
- [18] NAGPA P, QUATRANO R S. Isolation and Characterization of a cDNA Clone from Arabidopsis Thaliana with Partial Sequence Similarity to Integrins[J]. Gene, 1999, 23: 33 - 40.
- [19] WYATT S E, CARPITA N C. The Plant Cytoskeleton-cell-wall Continuum[J]. Trend Cell Biol, 1993, 3: 412 - 417.
- [20] LAVAL V, CHABANNES M. A Family of Arabidopsis Plasma Membrane Receptors Presenting Animal - integrin Domains[J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 1435: 61 - 70.
- [21] BARTHOU H, PETITPREZ M. RGD-mediated Membrane-matrix Adhesion Triggers Agarose-induced Embryoid Formation in Sunflower Protoplasts[J]. Protoplasma, 1999, 206: 143 - 151.
- [22] 曹立环, 查锡良. 整合素研究新进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 1995, 22(5): 390 - 393.
- [23] KRANKUMAR S, RYU C M. Nonhost Resistance: How Much Do We Know[J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(2): 97 - 04.
- [24] KBA A, SUGMOTO M, TOYODA K. Interaction Between Cell Wall and Plasma Membrane via RGD motif is Implicated in Plant Defense Responses[J]. Plant Cell Physiol, 1998, 39(11): 1245 - 1249.
- [25] MARGARET K, HOSTETTER G. RGD-mediated Adhesion in Fungal Pathogens of Humans, Plants and Insects[J]. Current Opinion in Microbiology, 2000, 3: 344 - 348.

Role of RGD-mediated Adhesion in Signal Transduction of Plant Resistance

ZHAO Huan¹, WANG Bo-chu¹, ZHAO Hu-cheng², XIBao-shu², DAICHuan-yun¹

(1. Key Laboratory for Biomechanics and Tissue Engineering Under the State Ministry of Education, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China;

2 Laboratory for Biomechanics, Department of Engineering Mechanics, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: During the period of the primary contact time, there are series of recognition between the Fungal pathogens and the plant cell, which include physical and biochemical recognition. The results affect the infection directly. In the process of penetrating plant cell walls, there is not only an enzymolysis to plant cell wall, but also a mechanical squeeze to the cell wall. The latter almost trigger cell-associated defense response, such as extracellular hydrogen peroxide generation and callose deposition. The complete cell wall-related defence response will be induced by mechanical signal and chemical signal together. Being to with the mammalian cell, in plant cell wall integrin-like proteins have response to perceive the mechanical signal, which is via RGD (Arg-Gly-Asp) motif, and the plasma membrane-cell wall adhesion is required for expression of plant defense responses during fungal penetration.

Key words: stress stimulate; fungal pathogens; defence response; integrin-like; signal transduction

(编辑 李胜春)