

文章编号:1000-582X(2006)03-0112-04

植物对机械刺激信号的感受和转导途径*

周菁,王伯初,段传人,朱鑫庆

(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)

摘要:植物的新陈代谢和生长发育主要受遗传信息和环境信息的调节控制,获得对复杂环境的适应性,调节生长发育进程,成为植物维持生存的主要手段。细胞对机械刺激响应包括信号感受、信号转导和最终引起细胞生物化学反应的过程。综述了近年来在植物对机械刺激信号的感受和转导途径的研究领域中一些重要结果,其中包括整合素及其类似物介导的机械-化学信号转化,质膜流动性对机械刺激的响应,机械信号的转导途径——钙信号系统等,并对该领域的研究重点和方向进行了展望。

关键词:植物细胞;机械刺激;感受;转导途径

中图分类号:Q947.8

文献标识码:A

植物的新陈代谢和生长发育主要受遗传信息和环境信息的调节控制,然而由于其在个体发育过程中位置固定,因而难以逃避各种环境因素变化的影响。因此获得对复杂环境的适应性,调节生长发育进程,成为植物维持生存的主要手段。植物对环境信息的响应可以分为3个主要的阶段^[1]:植物对刺激的感受,细胞信号转导(信号的产生、传递和转换),以及随后在下游生物化学过程方面的变化(蛋白质的可逆磷酸化及通过一系列分子途径对相关基因的表达调控等)。机械刺激信号主要指那些通过机械应力作用于植物并产生应答反应的刺激,是一种非生物的环境因素,包括触摸、风吹、敲击、摩擦和重力等。人们很早就认识到机械刺激会对植物的生长发育产生明显影响,近10年来在植物生物力学和信号转导方面更取得了许多重要进展。笔者综述了近年来在植物对机械刺激信号的感受和转导途径的领域中一些重要研究结果,并对未来的研究方向进行了展望。

1 植物感受机械信号的可能机制

1.1 整合素及其类似物参与机械-化学信号的转化

动物细胞感受机械刺激的机制为植物的研究提供了参考模式,植物和动物一样要对机械刺激信号做出生理响应。植物组织的生长发育受到一些可溶性细胞因子、不可溶性粘附分子和机械应力相互作用的控制,这3种类型的信号汇集于细胞表面的粘附受体,这些受体将胞外的锚定骨架(如胞外基质等)偶联到胞内的细胞骨架^[2]。细胞外基质-原生质、质膜-细胞骨架这2种连续体系对植物细胞感受位置信息和环境信

号的重要性已引起了广泛关注。目前,许多人认为在植物中可能存在整合素或整合素的类似物。机械应力施加于这种细胞表面的粘附受体,活化细胞内的信号转导途径并诱导相应的基因转录^[2]。

整合素作为细胞外基质(ECM)受体存在,是一种跨质膜的糖蛋白,包括 α 和 β 亚基,至今已发现至少22种不同的亚基结合型。整合素分子由胞外的N-端部分和胞浆中的尾部通过跨膜区域连接而成,其中,胞浆一侧与中间纤维等细胞骨架相连^[3],或分别与多种细胞结构相关连性的蛋白结合。而细胞外侧则连接到ECM粘附蛋白上的Arg-Gly-Asp(RGD)序列,仅有少数的整合素通过其配体连接到其它的相关序列^[4]。许多游动的动物细胞具有聚焦粘附位点,通过它们把自己附着于细胞外的基质上。在粘附位点,整合素特别集中,并在此充当那些从位点出发并散布在细胞内的细胞骨架网络(应力纤维)构造的聚焦点。粘附的细胞骨架网络处于紧张状态,这使得细胞具有一定的形态或形状。如果聚焦粘附位点解体,细胞将会变成球形并处于静息状态。整合素可参与细胞与ECM的连接,细胞与细胞之间的粘连,在ECM和细胞骨架之间直接介导机械应力,并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号传递^[5]。虽然近10年来并没有关于植物中存在整合素的确凿证据,但是陆续有人在植物细胞中发现了RGD受体^[3]。首先是Schindler等^[6]报道,在大豆根细胞悬浮培养液中添加GRGDSP肽段(包含RGD序列)能够显著提高其生长率并导致异常的质膜交互作用。随后Wayne等^[7]在轮藻的节间细胞中获得了RGD的结合蛋白,发现将RGDS肽段

* 收稿日期:2005-11-10

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10272121)

作者简介:周菁(1978-),女,重庆人,重庆大学博士研究生,主要从事植物生物力学和组织工程方面的研究。

添加到该细胞培养液中影响了由重力调节的细胞质的流动性。Canut 等^[8]在拟南芥原生质体悬浮培养液中加入了包含13个RGD序列的多肽(72 ku),观察到原生质体发生聚集;经纯化的拟南芥质膜对碘化了的含RGD的七肽呈现出特定的结合点,这种结合是可饱和、可逆的,并且还鉴定出了2类高亲和性的结合位点。对植物中类整合素cDNA序列的研究因为整合素序列不是高度保守的而更富挑战性。最近, Nagpal 等^[9]用一种脊椎动物的抗 β_1 整合素抗体筛选表达文库,从拟南芥中获得了At14a的完整cDNA,它编码一个43 ku的蛋白质,该蛋白部分地定位于细胞膜上并与整合素具有同源性。不久前,Laval 等^[10]从拟南芥中找到了另一个包含 β -整合素的cDNA克隆,即AtELP1。AtELP1 cDNA编码一个70 ku的蛋白质,它主要是固定在质膜上,包括对 β -整合素特异的半胱氨酸富集区域、一段可能的整合素结合序列和一个跨膜区域。关于植物中存在整合素类似物的假设经越来越多的实验研究得到证明,人们逐渐相信,类整合素可能在植物对机械-化学信号的转换中发挥了非同寻常的作用。

1.2 机械刺激信号对质膜流动性的影响

质膜的流动性是基于膜脂流动性、膜蛋白流动性以及膜甾醇的运动相互作用下进行的,是膜结构行使其功能的基础。膜脂的磷脂分子中脂肪酸链的不饱和程度越高,膜脂的流动性就越大。膜甾醇可以插入磷脂单分子层中,可沿分子长轴摆动和作旋转运动,对膜脂流动性有一定的调控作用^[11]。质膜流动性与植物细胞对温度胁迫、渗透压胁迫等环境应力的响应存在紧密联系这一理论现已得到了广泛的认可^[12]。是否可以推测,质膜流动性与植物细胞对机械刺激信号的感受有关? Mathieu 等^[13]以一种欧薯蕨属植物 *Bryonia dioica* 为材料研究了在其向触性形态建成反应期间质膜流动性与机械刺激的关系:以1,6-二苯基-1,3,5-己三烯为探针用稳态荧光偏振法测量了此种植物的节间细胞在摩擦刺激后的膜流动性,可以看到应力信号导致了膜脂流动性的显著增强,以及醯化脂肪酸链不饱和指数的显著提高,这可能与磷脂酰胆碱、磷脂酰甘油和磷脂酰丝氨酸等磷脂的相对富集有关;游离的甾醇和蛋白的含量在该过程中没有明显变化;而在刺激后48 h,刺激组细胞膜脂的流动性低于对照组。席葆树等^[14]采用圆二色光谱(CD)、傅里叶红外光谱(FT-IR)、差式扫描量热仪(DSC)等生物物理技术研究了交变应力对植物质膜结构和功能的影响,结果表明:植物细胞膜蛋白结构变化与声波的频率和强度密切相关,表现为 α -螺旋的增加和 β -转角的减少,其振动模式和波数也发生明显的变化;一定频率和强度范围内的声波作用能使烟草细胞的相变点明显降低,反映了机械刺激后烟草细胞膜流动性的增强;从而反映了膜脂和膜蛋白分子相互作用的增强、膜流动性的增加和细胞生理活动的旺盛。

虽然目前还不清楚质膜流动性感受机械信号的机制,但上述实验结论已表明,质膜流动性的变化可能介导了机械信号在植物体内的转导过程。在此需指出,人们似乎更有兴趣关注动物细胞膜流动性与机械刺激信号的关系,而基于动物细胞与植物细胞的相似性,有理由借鉴对动物细胞的方法技术研究植物细胞以寻找进一步的证据。

2 机械刺激信号的转导途径——钙信号系统

钙离子(Ca^{2+})已被许多研究工作证实是植物细胞信号转导过程中重要的第二信使之一。 Ca^{2+} 和钙调蛋白(CaM)信号系统是植物中研究得最多,了解也最清楚的一个,近年来,在钙信号系统对机械刺激信号的传递和转化方面又取得了一些突破性的进展。

作为细胞的第二信使的一个重要条件就是该因子能响应胞外刺激信号的作用而发生变化,且这种变化可以调节细胞的生理活动。研究指出,各种不同的胞外刺激信号都可能引起胞内游离 Ca^{2+} 浓度的变化,还会引起 Ca^{2+} 在细胞内的梯度分布或分布区域化以及 Ca^{2+} 浓度的周期上升与回落,其变化的幅度、频率都不相同。不同刺激信号的特异性可能是靠 Ca^{2+} 浓度变化的不同形式而体现的。胞内 Ca^{2+} 信号也可通过钙受体蛋白转导信号调节细胞生理功能。植物细胞钙信使受体蛋白中的CaM与 Ca^{2+} 高度专一性结合,通过直接与靶酶结合或活化依赖 Ca^{2+} ·CaM的蛋白激酶而发挥作用。

Ca^{2+} 信使转导环境刺激的直接证据是要测出胞质中自由 Ca^{2+} 浓度的变化,这种测定恰恰是细胞 Ca^{2+} 信使研究中的难点。荧光指示剂由于其与 Ca^{2+} 亲和力高,对 Ca^{2+} 变化响应快,以及有可能非伤害性地进入细胞的特点,成为了胞内 Ca^{2+} 测定较普遍应用的方法^[15]。采取酸化导入以及电激法、去污剂或微注射法导入使此法得以在植物细胞上使用,特别是将荧光指示剂与激光共聚焦显微术相结合,得到了许多有价值的 Ca^{2+} 测定结果^[16]。植物细胞内 Ca^{2+} 测定的一个突破性进展是成功地采用了 Ca^{2+} 水母发光蛋白转基因测定法^[17]。水母发光蛋白是一种从水母中提取的对 Ca^{2+} 敏感的绿色荧光蛋白(GFP),Chalfie 等^[18]于1994年证明GFP能基因转移到其它物种且发荧光。该方法将有可能得到广泛应用甚至用来测定细胞器内的 Ca^{2+} 浓度。基于方法学的进步,自20世纪90年代以来,已能监测到由外界环境刺激(如光照、低温、激素、触摸、重力等)引起的胞内溶质 Ca^{2+} 的变化。

Knight^[19]和Trewavas 等^[20]为研究机械信号对植物形态发育的影响,运用了转水母发光蛋白的烟草植株,观察了触摸和风吹等机械刺激过程中其幼苗的胞内 Ca^{2+} 浓度的变化。通过实验发现,当幼苗被触摸时,可用荧光光度计观察到 Ca^{2+} 依赖的荧光迸发。为进一步探明 Ca^{2+} 浓度的增加是由于植株受到触摸产生运动引起的还是由于触摸损伤了植株表皮毛状物和表皮

细胞引起的,还采用了避免触摸的手段形成的机械刺激。用一个注射器吹出的一阵空气模拟风来刺激植株,这种刺激引起植株在下胚轴/根的毗邻部位的轻微运动,当风的强度超过一个阈值时,就观察到一个瞬时的荧光迸发。当风的强度增加时,幼苗摇动的周期相应变长,并且荧光也平行地增强。Haley等^[21]提取了转水母发光蛋白烟草植株的叶肉细胞原生质体,并对其悬液施以旋转的机械应力造成涡流,观察到胞内 Ca^{2+} 浓度迅速增长并瞬时到达 $10\ \mu\text{mol}$ 且不受溶液中过剩EGTA的影响,这种瞬态效应的大小与涡流的强度有关。仅包含活的保卫细胞和毛状物的表皮在受到涡流刺激时反应与叶肉原生质体一致。Haley等还发现转水母发光蛋白的小立碗藓(一种基因同源重组频率较高的苔藓)与转基因烟草表现相似,胞内 Ca^{2+} 浓度瞬时增长至 $5\ \mu\text{mol}$,说明在不同的植物和不同的细胞类型间都存在机械刺激引起的 Ca^{2+} 浓度变化。另外,有证据显示CaM参与了机械信号的转导。Jones和Mitchell^[22]指出,对大豆施以机械应力后24 h,其下胚轴的伸长受到了抑制,而使用氯丙嗪等CaM拮抗剂后这种抑制得到了部分缓解,暗示机械刺激诱导的生长缓慢效应至少部分需要CaM的参与。Braam和Davis^[23]发现,拟南芥对喷水、地下灌溉、风、触摸、伤害或黑暗等刺激作出反应时,至少受到4种触摸基因(TCH)的表达调控。在刺激后的10~30 min后,mRNA的水平提高到原来的100倍。TCH 1 cDNA编码的CaM与小麦的CaM仅有一个氨基酸不同,而TCH 2和TCH 3的cDNA编码的蛋白与CaM的氨基酸序列则分别有44%和70%的同源性。Cormack等^[24]更从拟南芥中分离到6个CaM基因(编码3个CaM异型)和50个CaM类似物的基因。上述证据显示钙信号系统很可能参与了机械刺激引起的信号转导过程。

3 展望

机械应力这种逆境条件对植物生长发育和形态发生的影响,一直是植物生物力学和植物生理学领域一个倍受关注的课题,而分子生物学技术的发展则为该课题深入到细胞和分子水平提供了方法学上的保证。研究植物对机械刺激信号的感受和转导作为一个新的研究方向,近年来更取得了重要的进展,但要为基于现阶段实验的假设提供足够的证据支持并彻底弄清其作用机理,还有大量的工作有待完成。笔者概括了目前该领域对将来研究工作的展望,主要有以下几点:

1) 植物信号转导途径间的交互作用和相互关系研究。信号系统的级联通常被视作因果事件的线性链,但通过细胞生物学、分子和基因手段的运用,人们逐渐认识到,植物信号转导过程实际上是不同信号途径交互作用和相互影响所形成的信号网络^[1],因而更多地采用“cross-talk”而不是“interaction”来描述这种关系。多种信号相互联系和平衡决定一个特异的细胞反应,植物通过这种方法对从环境获得的信息进行调节

和整合,最终对刺激信号做出适当的响应。例如对于虫咬、撕裂、灼伤等伤害性刺激,其刺激信号除单纯的机械力作用外,还包括化学物质和极端温度等刺激源的参与,从而使信号转导过程中涉及了茉莉酸类、寡聚糖、系统素、脱落酸、茉莉酸、乙烯和电信号^[25-26]等信号分子,不同信号系统间通过交互作用共同响应环境应力的改变,使植物能够对不同的胁迫进行调节和适应。以整合的观点运用多种平行的技术研究信号途径间的关系将为对植物的力学信号转导提供新的思路。

2) 结合遗传学和生物化学方法对植物信号转导的研究。各种突变株的使用成为了鉴别信号转导途径中基因编码组分的有力工具,而在蛋白质组和基因组方面的技术进步与突变株筛选等经典的生物化学方法相结合,将对目前关于植物感受和响应复杂信号的认知产生根本的影响^[27]。水母发光蛋白转基因测定植物细胞内自由 Ca^{2+} 浓度就是以基因工程手段研究信号转导分子途径的典型例子。以方法学的进步寻求更大的突破也是今后工作的重点。

3) 其它可能的机械信号转导途径的研究。基于细胞结构的复杂性,可能存在多种机械信号转导的分子中介,如张力敏感型离子通道、信号分子、细胞骨架和整合素等。细胞可被视作一种无一定尺寸限制的结构体系来对机械应力做出反应^[28]。另有报道存在细胞骨架-质膜-细胞壁的连接体系^[29],机械刺激可能通过此体系引起细胞骨架蛋白变构从而引起生理反应。并且理论上,一些初生壁组分能够与稳定的跨膜蛋白结合,这些蛋白也可能用于机械感受^[5]。这些设想有待进一步的证实。

参考文献:

- [1] MOLLER S G, CHUA N H. Interactions and Intersections of Plant Signaling Pathways[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1999, 293(2): 219-234.
- [2] INGBER D. Mechanical Signaling[J]. *Ann N Y Academic Science*, 2002, 961(6): 162-163.
- [3] CLARK G B, THOMPSON G J, ROUX S J. Signal Transduction Mechanisms in Plants: An Overview[J]. *Current Science*, 2001, 80(2): 170-177.
- [4] RUOSLAHTI E. RGD and Other Recognition Sequences for Integrins[J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 1996, 12: 697-715.
- [5] 孙大业, 郭艳林, 马国耕. 细胞信号转导[M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 1999. 260-266.
- [6] SCHINDLER M, MEINERS S, CHERESH D A. RGD Dependent Linkage Between Plant Cell Wall and Plasma Membrane-consequences for Growth[J]. *Cell Biology*, 1989, 108: 1955-1966.
- [7] WAYNE R, STAVES M P, LEOPOLD A C. The Contribution of the Extracellular Matrix to Gravisensing in Characean Cells[J]. *Cell Science*, 1992, 101: 611-623.
- [8] CANUT H, CARRASCO A, GALAUD J P, et al. High Affinity RGD-binding Sites at the Plasma Membrane of *Arabidopsis thaliana* Links the Cell Wall[J]. *The Plant Journal*, 1998, 16(1): 63.

- [9] NAGPAL P, QUATRANO R S. Isolation and Characterization of a cDNA Clone from *Arabidopsis thaliana* with Partial Sequence Similarity to Integrins[J]. *Gene*, 1999, 230(1): 33-40.
- [10] LAVAL V, CHABANNES M, CARRIERE M, et al. A Family of Arabidopsis Plasma Membrane Receptors Presenting Animal β -integrin Domains[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1435: 61-70.
- [11] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002. 21.
- [12] MIKAMI K, MURATA N. Membrane Fluidity and the Perception of Environmental Signals in Cyanobacteria and Plants [J]. *Progress in Lipid Research*, 2003, 42: 527-543.
- [13] MATHIEU C, MOTTA C, HARTMANN M A, et al. Changes in Plasma Membrane Fluidity of *Bryonia dioica* Internodes During Thigmomorphogenesis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Biomembranes*, 1995, 1235(2): 249-255.
- [14] 席葆树, 蔡国友, 沈子威. 交变应力对植物细胞膜结构和功能作用的研究[A]. 第六届全国生物力学学术会议论文专辑[C]. 上海: 医用生物力学编辑委员会, 2000, (2): 101.
- [15] 孙天恩, 周平, 叶梦炜. 荧光指示剂测定植物细胞内游离钙离子的研究进展[J]. *植物生理学通讯*, 1996, 32(2): 91-99.
- [16] 孙大业. 植物细胞信号转导研究进展[J]. *植物生理学通讯*, 1996, 32(2): 81-91.
- [17] KNIGHT M R, CAMPBELL A K, SMITH S M, et al. Transgenic Plant Aequorin Reports the Effects of Touch and Cold-shock and Elicitors on Cytoplasmic Calcium[J]. *Nature*, 1991, 352(6335): 524-526.
- [18] CHALFIE M, TU Y, EUSKIRCHEN G, et al. Green Fluorescent Protein as a Marker for Gene Expression[J]. *Science*, 1994, 263(5148): 802-805.
- [19] KNIGHT M R, SMITH S M, TREWAVAS A J. Wind-induced Plant Motion Immediately Increases Cytosolic Calcium[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(11): 4967-4971.
- [20] TREWAVAS A, KNIGHT M. Mechanical Signalling, Calcium and Plant Form[J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 26(5): 1329-1341.
- [21] HALEY A, RUSSELL A J, WOOD N, et al. Effects of Mechanical Signaling on Plant Cell Cytosolic Calcium[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(10): 4124-4128.
- [22] JONES R S, MITCHELL C A. Calcium Ion Involvement in Growth Inhibition of Mechanically Stressed Soybean (*Glycine Max*) Seedlings[J]. *Physiol Plant*, 1989, 76: 598-602.
- [23] BRAAM J, DAVIS R W. Rain-, Wind-, and Touch-induced Expression of Calmodulin and Calmodulin-related Genes in Arabidopsis [J]. *Cell*, 1990, 60(3): 357-364.
- [24] CORMACLE M, BRAAM J. Calmodulins and Related Potential Calcium Sensors of Arabidopsis[J]. *New Phytologist*, 2003, 159: 585-598.
- [25] 孙清鹏, 王小菁. 植物伤害反应中的茉莉酸类信号[J]. *植物学通报*, 2003, 20(4): 481-488.
- [26] 毛国红, 郭毅, 崔素娟. 伤害信号分子及其信号转导[J]. *西北植物学报*, 2002, 22(6): 1504-1511.
- [27] SKELTON T F, LINDSEY K. Signaling in Plants[J]. *Genome Biol*, 2001, 2: 1-3.
- [28] INGBER D E. Tensegrity: the Architectural Basis of Cellular Mechanotransduction[J]. *Annu Rev Physiol*, 1997, 59: 575-599.
- [29] BALUSKA F, SAMAJ J, WOJTASZEK P, et al. Cytoskeleton-plasma Membrane-cell Wall Continuum in Plants, Emerging Links Revisited [J]. *Plant Physiology*, 2003, 133: 482-491.

Mechanical Signalling in Plant: Perception and Transduction Pathway

ZHOU Jing, WANG Bo-chu, DUAN Chuan-ren, ZHU Li-qing

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

Abstract: The metabolism and development of plants are controlled through interplay between genetic and environmental cues. For optimal growth plants require the ability to coordinate complex developmental processes and at the same time sense and respond to environmental stimuli. The responses can be divided into three main events: stimulus perception, generation and transmission of a signal, and subsequent changes in downstream biochemical processes. Because of space limitation this review does not provide an exhaustive account of plant signal transduction. Rather, the authors intention is to cover new and important results in this field, including the mechanochemical transform mediated by integrin and integrin-like protein, the change of membrane fluidity respond to stimulus, and the wide accepted transduction pathway of calcium signaling system. The research emphasis and tendency are prospected.

Key words: plant cell; mechanical stimulus; perception; transduction pathway