

· 热点评 ·

中国科学家在植物受精过程中雌雄配子体信号识别 机制研究中取得突破性进展

彭雄波*, 孙蒙祥*

武汉大学生命科学学院, 杂交水稻国家重点实验室, 武汉 430072

摘要 阐明植物雄配子体与雌配子体互作的分子机理一直是植物有性生殖研究的前沿和热点。但限于研究难度较大, 很多重要科学问题仍有待回答。关于花粉管如何感知雌配子体信号从而定向生长进入胚囊以投送精细胞就是悬疑多年的问题之一。最近, 中国科学家在解析雄配子体感知雌配子体引导信号的分子机制方面取得了突破性进展。

关键词 雄配子体, 受体样激酶, 雌配子体, 信号转导, 花粉管导向, 拟南芥

彭雄波, 孙蒙祥 (2016). 中国科学家在植物受精过程中雌雄配子体信号识别机制研究中取得突破性进展. *植物学报* 51, 1–1.

受精是被子植物产生种子的前提, 也是植物有性生殖的关键所在。广义的受精过程是指从花粉(雄配子体)落到柱头上开始, 一直到最后双受精的完成。遗传学和细胞生物学证据显示, 这一发育过程涉及雄配子体与柱头以及花柱和胚囊(雌配子体)等雌性组织细胞的相互识别, 从而确保花粉管定向生长, 准确进入胚囊, 释放精细胞, 以便完成雌、雄配子的融合(Beale and Johnson, 2013; Dresselhaus and Franklin-Tong, 2013; Higashiyama and Takeuchi, 2015)。在此过程中, 雌雄配子体之间如何感知彼此? 如何相互作用? 一直是悬疑多年但又引人入胜的问题。

直至21世纪初, 通过遗传分析和激光显微操作证实了胚囊, 即雌配子体内的助细胞是引导花粉管向珠孔生长的关键(Higashiyama et al., 2001; Kasahara et al., 2005)。进一步的实验显示, 助细胞释放的吸引花粉管的信号分子是一类富含半胱氨酸的防御素类多肽LUREs (Okuda et al., 2009; Takeuchi and Higashiyama, 2012)。Márton等(2005)的研究显示, 在玉米(*Zea mays*)助细胞和卵细胞中表达的分泌性蛋白质ZmEA1引导花粉管穿过珠孔进入胚囊。随后, Alandete-Saez等(2008)发现精子和卵细胞特异表达基因GAMETE EXPRESSED3 (GEX3)的下调表达也影响胚囊吸引花粉管。中国科学院遗传与发育生物学研究所杨维才研究组则证实中央细胞参与调

控拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)花粉管的定向生长, 并克隆了其关键基因CENTRAL CELL GUIDANCE (CCG) (Chen et al., 2007)。他们进一步的研究表明CCG可能通过调控LUREs的转录发挥作用(Li et al., 2015)。

上述研究回答了2个问题: 其一, 雌配子体释放了什么信号分子; 其二, 这些信号分子从哪里来。然而, 作为雄配子体的花粉管如何感知雌配子体释放的引导信号, 如LUREs, 从而准确地朝向珠孔生长仍然是个谜。最近, 杨维才组研究发现, 分布于拟南芥花粉管表面上的一组特殊蛋白质就是感受信号多肽LUREs的受体, 在认识植物雌雄配子体相互作用机制方面取得了重要突破(Wang et al., 2016)。

由于LUREs是一类分泌性的小分子多肽, 如果花粉管上存在其受体, 则受体必然位于质膜表面。研究者将目标锁定在一类特定的蛋白质——受体样激酶(receptor-like kinases, RLKs)上。植物受体样激酶是一类重要的植物蛋白激酶, 它们定位于细胞膜上, 作为信号分子的受体, 通过胞外结构域与胞外信号分子特异结合来激活胞内激酶域的磷酸化, 从而完成跨膜信号转导的功能。为了寻找LUREs的受体, 研究者从反向遗传学的角度出发, 利用生物信息学的方法筛选了一批在拟南芥花粉或花粉管中表达的受体样激酶进行进一步的研究。将候选RLKs的胞内激酶域替

收稿日期: 2016-02-22; 接受日期: 2016-03-01

* 通讯作者。E-mail: bobopx@whu.edu.cn; mxsun@whu.edu.cn

换成另一受体样激酶,即油菜素内酯受体BRI1突变失活的胞内激酶域(kinase-dead dominant negative, DN),导致产生的人工蛋白能够结合胞外的信号分子,但不能完成胞内的信号转导。在花粉特异的强启动子LAT52的驱动下,在野生型植株中分别表达这些人工蛋白,使其能够竞争性地抑制对应内源受体样激酶的功能。如此,通过对转基因植株后代进行表型分析,发现有一个受体样激酶MALE DISCOVERER1 (MDIS1)可能参与花粉管对雌配子体信号的感知,过表达MDIS1^{DN}植株的花粉管导向珠孔过程受阻(Wang et al., 2016)。

为了进一步揭示MDIS1的功能,研究者通过酵母双杂交实验发现,MDIS1与另外2个受体样激酶MDIS1 INTERACTING RECEPTOR LIKE KINASE1 (MIK1)和MIK2相互作用。同时,生物信息学分析表明,MDIS1还有一个高度同源的蛋白MDIS2。融合蛋白与免疫定位显示,这4个蛋白在花粉管质膜上都有分布。为了进一步探明它们在花粉管感知吸引信号过程中的作用,研究者对它们的突变体进行了分析。结果显示,4个基因的单突变都导致花粉管进入珠孔的缺陷,双突变mdis1mdis2和mik1mik2加强了这一缺陷表型,但是双突变mdis1mik1显示与单突变同样比例的缺陷表型,暗示MDIS1/MDIS2和MIK1/MIK2位于同一信号通路。此外,通过与野生型正反交表明,花粉管导向的缺陷是由雄配子突变导致的(Wang et al., 2016)。

为了研究MDIS1、MDIS2、MIK1和MIK2是否是花粉管中感知LUREs的受体,研究者用蛋白体外结合、微量热泳动和体内免疫共沉淀实验确证了MDIS1、MIK1和MIK2的胞外结构域都能与AtLURE1.2结合。竞争性结合实验表明这种结合具有特异性。包埋有AtLURE1.2的微珠能够吸引野生型的花粉管,但是不能很好地吸引突变体的花粉管。进一步的研究表明,MIK1和MIK2的胞外结构域都能与MDIS1的胞外结构域直接结合,而且AtLURE1.2能够增强它们的互作。体内免疫共沉淀实验显示,MDIS1-MIK复合物能够与AtLURE1.2结合。AtLURE1.2能够诱导MIK1的自磷酸化和诱导MIK1磷酸化MDIS1。以上结果表明,MDIS1-MIK复合物作为共受体感知花粉管吸引信号AtLURE1.2。与AtLURE1.2结合会诱导MDIS1-MIK复合物的异源二聚化并通过磷酸化传递

胞内信息(Wang et al., 2016)。

更有趣的是,利用MDIS1可以克服物种间的生殖障碍。拟南芥近亲芥菜(*Capsella rubella*)花粉中有MDIS1同源基因CrMDIS1的表达,但是其花粉管难以准确定向生长进入拟南芥胚珠的珠孔。然而,表达拟南芥MDIS1基因的芥菜花粉管能够感受到拟南芥胚珠分泌的定向信号,准确进入珠孔(Wang et al., 2016)。

上述研究发现了拟南芥花粉管感知胚囊吸引信号AtLUREs的受体和激活机制,并展示了其潜在的克服物种间生殖障碍的应用前景。与此同时,上述发现也引出亟待回答的有趣的新问题:MDIS1-MIK蛋白复合物如何激活下游信号通路引导花粉管定向生长?双突变mdis1mdis2和mik1mik2的花粉管仍然有很大比例能够感知AtLURE1.2,暗示花粉管中可能还存在其它的受体。这些受体何在?其作用有何不同?此外,早期北京大学瞿礼嘉研究组在拟南芥花粉管中找到的2个类受体激酶Pollen tube guidance 1 (LIP1)和LIP2(Liu et al., 2013)与MDIS1-MIK复合体的关系是什么?对上述问题的回答无疑将有助于更深入地解析花粉管感知胚囊信号的分子机制。

杨维才及其合作者的工作首次明确了雌、雄配子体相互作用的具体方式与途径,为探讨雄配子体如何接受和转导雌配子体信号提供了切实可行的切入点。他们的发现实际上打开了可借以窥见受精机制研究新热点的一扇窗口。无疑,对推动该领域的研究具有开创性的重要意义。

参考文献

- Alandete-Saez M, Ron M, McCormick S (2008). GEX3, expressed in the male gametophyte and in the egg cell of *Arabidopsis thaliana*, is essential for micropylar pollen tube guidance and plays a role during early embryogenesis. *Mol Plant* 1, 586–598.
- Beale KM, Johnson MA (2013). Speed dating, rejection, and finding the perfect mate: advice from flowering plants. *Curr Opin Plant Biol* 16, 590–597.
- Chen YH, Li HJ, Shi DQ, Yuan L, Liu J, Sreenivasan R, Baskar R, Grossniklaus U, Yang WC (2007). The central cell plays a critical role in pollen tube guidance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19, 3563–3577.
- Dresselhaus T, Franklin-Tong N (2013). Male-female

- crosstalk during pollen germination, tube growth and guidance, and double fertilization. *Mol Plant* **6**, 1018–1036.
- Higashiyama T, Takeuchi H** (2015). The mechanism and key molecules involved in pollen tube guidance. *Annu Rev Plant Biol* **66**, 393–413.
- Higashiyama T, Yabe S, Sasaki N, Nishimura Y, Miyagishima S, Kuroiwa H, Kuroiwa T** (2001). Pollen tube attraction by the synergid cell. *Science* **293**, 1480–1483.
- Kasahara RD, Portereiko MF, Sandaklie-Nikolova L, Rabiger DS, Drews GN** (2005). MYB98 is required for pollen tube guidance and synergid cell differentiation in Arabidopsis. *Plant Cell* **17**, 2981–2992.
- Li HJ, Zhu SS, Zhang MX, Wang T, Liang L, Xue Y, Shi DQ, Liu J, Yang WC** (2015). Arabidopsis CBP1 is a novel regulator of transcription initiation in central cell-mediated pollen tube guidance. *Plant Cell* **27**, 2880–2893.
- Liu J, Zhong S, Guo X, Hao L, Wei X, Huang Q, Hou Y, Shi J, Wang C, Gu H, Qu LJ** (2013). Membrane-bound RLCKs LIP1 and LIP2 are essential male factors controlling male-female attraction in Arabidopsis. *Curr Biol* **23**, 993–998.
- Márton ML, Cordts S, Broadhvest J, Dresselhaus T** (2005). Micropylar pollen tube guidance by egg apparatus 1 of maize. *Science* **307**, 573–576.
- Okuda S, Tsutsui H, Shiina K, Sprunck S, Takeuchi H, Yui R, Kasahara RD, Hamamura Y, Mizukami A, Susaki D, Kawano N, Sakakibara T, Namiki S, Itoh K, Otsuka K, Matsuzaki M, Nozaki H, Kuroiwa T, Nakano A, Kanaoka MM, Dresselhaus T, Sasaki N, Higashiyama T** (2009). Defensin-like polypeptide LUREs are pollen tube attractants secreted from synergid cells. *Nature* **458**, 357–361.
- Takeuchi H, Higashiyama T** (2012). A species-specific cluster of defensin-like genes encodes diffusible pollen tube attractants in Arabidopsis. *PLoS Biol* **10**, e1001449.
- Wang T, Liang L, Xue Y, Jia PF, Chen W, Zhang MX, Wang YC, Li HJ, Yang WC** (2016). A receptor heteromer mediates the male perception of female attractants in plants. *Nature* doi:10.1038/nature16975.

Chinese Scientists Made Breakthrough Progresses in Studies on Signaling Between Male and Female Gametophytes During Fertilization in Plants

Xiongbo Peng*, Meng-Xiang Sun*

State Key Laboratory of Hybrid Rice, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

Abstract The investigations on molecular mechanism of male and female gametophyte interaction have been a hot topic and frontier in the field of sexual plant reproduction. However, due to the great difficulties, many essential questions still remain to be answered. How does the pollen tubes sense the signals from female gametophyte is one of the suspense questions. Recently, Chinese scientists have presented a clear answer to the question and open a new window to seek the mechanism that regulates male gametophyte response to the female gametophyte and ensures successful fertilization.

Key words male gametophyte, receptor-like kinases, female gametophyte, signaling, pollen tube guidance, Arabidopsis

Peng XB, Sun MX (2016). Chinese scientists made breakthrough progresses in studies on signaling between male and female gametophytes during fertilization in plants. *Chin Bull Bot* **51**, 1–1.

* Authors for correspondence. E-mail: bobopx@whu.edu.cn; mxsun@whu.edu.cn