

· 热点评述 ·

花粉外被蛋白B类小肽，花粉打开柱头大门的一把钥匙

王伟, 孙蒙祥*

武汉大学生命科学院, 武汉 430072

摘要 植物有性生殖过程中, 花粉-柱头间的识别作用是确保亲和花粉萌发、完成受精并保持后代遗传稳定性的重要环节, 也是农业生产上杂交育种的一个障碍。相关研究历来备受关注。然而, 经过几十年的研究, 亲和花粉如何被识别仍是未解之谜。最近, 华东师范大学李超团队的研究成果, 揭示花粉外被B类小肽PCP-Bs与柱头分泌的RALF23/33小肽竞争性地与柱头乳突细胞质膜上的ANJ-FER受体激酶复合体直接结合, 通过下游RAC/ROP-NADPH氧化酶信号途径调节柱头活性氧水平, 从而调节亲和花粉水合作用的机制。这一发现是认识花粉与柱头识别机制的重要突破。

关键词 花粉-柱头识别, 花粉外被蛋白, ANJ-FER受体激酶复合体, 小肽, 活性氧

王伟, 孙蒙祥 (2021). 花粉外被蛋白B类小肽, 花粉打开柱头大门的一把钥匙. 植物学报 56, 147–150.

受精是植物繁衍后代、作物杂交育种的前提。受精过程始于花粉落在雌蕊柱头上, 黏附并经水合后萌发产生花粉管, 将2个精细胞送入雌配子体与卵细胞和中央细胞融合, 完成双受精。由于不是所有落在柱头上的花粉都能萌发, 人们很早就意识到花粉与雌蕊柱头之间应该存在某种识别过程, 以便拒绝其它花粉的萌发, 确保自身花粉优先萌发或专属萌发机会, 从而保证种群繁衍并保持种属的遗传稳定性。雌蕊的柱头犹如一道封闭的门, 只有那些持有钥匙的花粉, 即亲和花粉才能萌发并进入。那些没有钥匙的花粉, 即所谓不亲和花粉, 则久叩不开, 始终被拒之门外。掌握了这把钥匙, 对克服远源杂交障碍, 无疑是一个巨大的进步。那么, 在进化过程中植物形成了怎样的花粉-柱头交流机制, 以便识别彼此? 亲和花粉又持有怎样的钥匙? 这些有趣而重要的科学问题困扰了几代植物学家。

20世纪70年代前后, 以Heslop-Harrison教授为代表的植物学家对各种植物花粉-柱头相互作用进行了长期细致的观察。经过研究, 形成了对花粉落到柱头上后, 通过黏附、水合和萌发等具体过程的基本认识; 形成了对不同柱头和柱头表面“接受”与“拒绝”花粉时形态结构特征的基本认识(图1); 也形成了

花粉和柱头表面的某些蛋白可能是两者间识别位点的认识(Mattsson et al., 1974; Heslop-Harrison, 1975, 1977)。这些成果奠定了此后该领域研究的必要基础和基本格局。随着电镜技术和生化分析技术的广泛应用, 科学家对花粉外壁结构、柱头表面结构、花粉外壁蛋白和外被(pollen coat)蛋白有了更细致且准确的了解; 对柱头在亲和与不亲和反应中的动态变化, 包括同工酶、各种水解酶和表皮细胞角质层的动态变化有了全新的认识。20世纪90年代, 分子生物学技术快速发展, 给该领域研究带来了生机。在80年代研究的基础上, 自交不亲和机制的研究取得了重要进展。到21世纪初, 该研究已渐成系统, 明确了不同类型的自交不亲和系统的作用方式和主要作用机制(Schopfer et al., 1999; Takayama et al., 2000; Cabrillac et al., 2001; Nasrallah et al., 2002; Wheeler et al., 2009; Lin et al., 2015)。相比之下, 关于花粉-柱头亲和和作用机制的研究则缺乏实质性突破(Chapman and Goring, 2010; Doucet et al., 2016)。甚至进入21世纪, 尽管借助转录组和蛋白质组学分析手段, 获得了大量授粉前后差异表达基因与蛋白的信息, 研究者仍然感到困惑。一方面因为缺乏有效的分析手段, 很难快速锁定密切相关的基因或蛋白, 用

收稿日期: 2021-03-15; 接受日期: 2021-03-24

基金项目: 国家自然科学基金(No.31800264)

* 通讯作者。E-mail: mxsun@whu.edu.cn

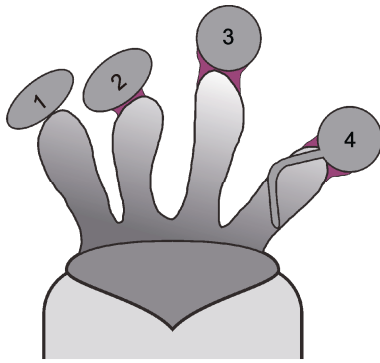


图1 拟南芥花粉与柱头的相互作用

1: 花粉落到柱头上; 2, 3: 花粉黏附与水合; 4: 花粉萌发。花粉黏附到柱头上之后, 形成花粉足(红色部分), 花粉足是花粉与柱头之间信号交流的通道。目前已知在花粉中参与水合的因子包括花粉外壁脂质以及相关的脂质酶、脂质结合蛋白和PCP-Bs小肽等。柱头中涉及水合的因子包括钙离子和Exo 70A1(囊泡运输)等。

Figure 1 Pollen-stigma interaction in *Arabidopsis*

1: Pollen landing on the stigma; 2, 3: Pollen adhesion and hydration; 4: Pollen germination. After pollen adhesion a foot structure (red) established, which bridges pollen and papillar cells for the signaling between them. Currently, the known pollen factors involved in its hydration include pollen exine lipid and relevant lipase, lipid binding proteins, and PCP-Bs, etc. The stigma factors involved in the hydration include calcium ion and Exo70A1 (vesicle trafficking), etc.

以探讨其在花粉-柱头识别中的作用; 另一方面, 由于截至目前对花粉-柱头相互作用的了解仍很肤浅, 对其大致过程和途径都不甚了解, 因此难以判断这些数据对花粉-柱头相互作用研究的价值和有效性, 加之单基因突变常常没有明显表型, 需要经过长时间测试多基因的组合效应后才有可能做出明确判断。以致研究者即使坐拥丰富的数据库仍步履艰难。可以形象地说, 几十年来, 我们虽然明确地知道花粉-柱头在热烈的交谈, 也采用了各种技术手段企图聆听它们的谈话, 然而, 除了满耳似是而非的单词, 迄今为止仍未能清晰地听懂一句符合逻辑的对答。

令人兴奋的是, 由于一项突破性研究进展, 这种尴尬的局面即将成为过去。近期, 国际权威杂志 *Science* 在线发表了华东师范大学生命科学学院李超团队撰写的研究论文“PCP-B peptides unlock a stigma 1 peptide-receptor kinase gated mechanism for pollination” (Liu et al., 2021), 该文解析了第一句花粉-柱头间清晰的对答。

他们发现了植物中一个调控花粉水合的门控机制, 并揭示了一条来自花粉的小肽与柱头表面受体直接相互作用, 调控亲和花粉水合作用的分子机制。该研究团队发现, 授粉后柱头乳突细胞的活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平明显下降, 并证实了ROS水平的下降可促进花粉水合。同时, 他们发现落在柱头上的花粉发出的信号是一个已知的花粉外被蛋白的B类小肽(POLLEN COAT PROTEIN B-class peptides, PCP-Bs) (Wang et al., 2017)。而柱头应答的关键是位于其顶端乳突细胞质膜上的受体激酶复合体(ANJEA-FERONIA (ANJ-FER) receptor kinase complex)。柱头中ROS的产生依赖于ANJ-FER受体激酶介导的RAC/ROP-NADPH氧化酶信号途径, 该通路上的相关突变体都有水合加快的表型。研究者证实, 花粉的PCP-Bs可以直接与ANJ-FER结合, 从而通过RAC/ROP-NADPH氧化酶信号途径使柱头乳突细胞ROS水平下降, 促进花粉在柱头上水合。需要指出的是, 能与ANJ-FER结合的还有柱头自身的一个小肽RALF23/33。RALF23/33与ANJ-FER结合, 诱导ROS产生, 而PCP-Bs可竞争性抑制RALF23/33与ANJ-FER的结合, 这正是PCP-Bs与ANJ-FER结合能降低柱头ROS水平并促进花粉水合的原因。据此研究者提出了一个花粉-柱头对话的分子模型。

该项工作提供了花粉小肽与柱头表面受体激酶直接相互作用, 并通过柱头的应答机制促进花粉水合的明确例证, 解释了一个长期悬而未决的问题, 即亲和花粉如何在柱头上得以水合。自然状态下, 花粉在柱头上能否水合是判断其亲和性最显而易见的特征。而水合作用是发生在花粉-柱头识别之后的事件, 依赖于识别的结果。该研究不仅明确了花粉能发出什么信号给柱头及柱头如何接收信号, 也明确了柱头如何反馈亲和花粉以促进其水合。这无疑是该领域多年来所期待的一项突破性进展, 开启了花粉与柱头相互作用研究的新篇章。

此外, 该项研究也引发了我们进一步思考, 由于CrRLK1L、RALFs、PCP-Bs、RAC/ROPs以及NADPH氧化酶在植物界普遍存在, 这套调控亲和花粉水合的门控机制是否可能是保守的? 那些近缘种的花粉是由于不具有PCP-B而被柱头拒绝接受, 还是不同种植物PCP-Bs与ANJ-FER协同进化出特异的结合关系以确保本种花粉-柱头的识别? PCP-Bs的作用是否

与花粉管的形成有关, 或以此为前提? 小肽竞争性抑制的结构模型是怎样的? 诸多问题仍有待验证。另外, 从该工作所分析的相关突变体水合速度减弱, 但并非完全不能进行的表型看, PCP-Bs与ANJ-FER绝非花粉-柱头对话的唯一途径。可能存在多种途径、多层次的机制, 把控完整的识别过程。或者说, 需要多把钥匙打开多重大门才能确保只有亲和花粉可畅通无阻地进入柱头。这些问题亦值得后续研究。因而, 兴奋之余, 我们仍需勉励前行。

参考文献

- Cabrillac D, Cock JM, Dumas C, Gaude T** (2001). The S-locus receptor kinase is inhibited by thioredoxins and activated by pollen coat proteins. *Nature* **410**, 220–223.
- Chapman LA, Goring DR** (2010). Pollen-pistil interactions regulating successful fertilization in the Brassicaceae. *J Exp Bot* **61**, 1987–1999.
- Doucet J, Lee HK, Goring DR** (2016). Pollen acceptance or rejection: a tale of two pathways. *Trends Plant Sci* **21**, 1058–1067.
- Heslop-Harrison J** (1975). Incompatibility and the pollen-stigma interaction. *Annu Rev Plant Physiol* **26**, 403–425.
- Heslop-Harrison Y** (1977). The pollen-stigma interaction: pollen-tube penetration in *Crocus*. *Ann Bot* **41**, 913–922.
- Lin Z, Eaves DJ, Sanchez-Moran E, Franklin FCH, Franklin-Tong VE** (2015). The *Papaver rhoeas* S determinants confer self-incompatibility to *Arabidopsis thaliana* in planta. *Science* **350**, 684–687.
- Liu C, Shen L, Xiao Y, Vyshedsky D, Peng C, Sun X, Liu Z, Cheng L, Zhang H, Han Z, Chai J, Wu HM, Cheung AY, Li C** (2021). PCP-B peptides unlock a stigma 1 peptide-receptor kinase gated mechanism for pollination. *Science* doi: 10.1126/science.abc6107
- Mattsson O, Knox RB, Heslop-Harrison J, Heslop-Harrison Y** (1974). Protein pellicle of stigmatic papillae as a probable recognition site in incompatibility reactions. *Nature* **247**, 298–300.
- Nasrallah ME, Liu P, Nasrallah JB** (2002). Generation of self-incompatible *Arabidopsis thaliana* by transfer of two S locus genes from *A. lyrata*. *Science* **297**, 247–249.
- Schopfer CR, Nasrallah ME, Nasrallah JB** (1999). The male determinant of self-incompatibility in *Brassica*. *Science* **286**, 1697–1700.
- Takayama S, Shiba H, Iwano M, Shimosato H, Che FS, Kai N, Watanabe M, Suzuki G, Hinata K, Isogai A** (2000). The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 1920–1925.
- Wang LD, Clarke LA, Eason RJ, Parker CC, Qi BX, Scott RJ, Doughty J** (2017). PCP-B class pollen coat proteins are key regulators of the hydration checkpoint in *Arabidopsis thaliana* pollen-stigma interactions. *New Phytol* **213**, 764–777.
- Wheeler MJ, de Graaf BHJ, Hadjosif N, Perry RM, Poulter NS, Osman K, Vatovec S, Harper A, Franklin FCH, Franklin-Tong VE** (2009). Identification of the pollen self-incompatibility determinant in *Papaver rhoeas*. *Nature* **459**, 992–995.

POLLENCOAT PROTEIN B-class Peptides (PCP-Bs), a Key of Compatible Pollen to Open the Gate of Stigma

Wei Wang, Mengxiang Sun*

College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

Abstract During sexual plant reproduction, pollen-stigma recognition is a critical step for the germination of compatible pollen to ensure successful fertilization and genetic stability of offspring. It is also the first barrier for interspecific hybridization in crop breeding. Thus, great efforts have been made in relevant investigations during past decades. However, how the compatible pollen is recognized by the stigma remains a mystery. Recently, Chao Li's group from East China Normal University published their work in *Science*, which reveals that POLLEN COAT PROTEIN B-class peptides (PCP-Bs) could compete with stigma RALF23/33 for binding to the ANJ-FER complex on stigma surface, resulting in a decline of stigmatic reactive oxygen species (ROS) that facilitates compatible pollen hydration. This finding represents a breakthrough in the field.

Key words pollen-stigma recognition, pollen coat protein, ANJ-FER receptor kinase complex, peptide, reactive oxygen species (ROS)

Wang W, Sun MX (2021). POLLENCOAT PROTEIN B-class peptides (PCP-Bs), a key of compatible pollen to open the gate of stigma. *Chin Bull Bot* **56**, 148–150.

* Author for correspondence. E-mail: mxsun@whu.edu.cn

(责任编辑: 孙冬花)