

· 专题论坛 ·

植物驱动蛋白：从微管阵列到生理活动调控

王韞慧, 王一帆, 蔺佳雨, 李金红, 姚士恩, 冯湘池, 曹振林, 王俊, 李美娜*

广州大学生命科学学院, 分子遗传与进化创新研究中心, 广州 510006

摘要 驱动蛋白(kinesin)是以微管为轨道的分子马达, 其催化ATP水解为ADP, 将贮藏在ATP分子中的化学能高效地转化为机械能, 在细胞形态建成、细胞分裂、细胞运动、胞内物质运输和信号转导等多种生命活动中发挥重要作用。对植物驱动蛋白的研究落后于动物和真菌, 其原因不仅由于植物进化出独有的驱动蛋白家族, 而且其家族成员数量远多于动物驱动蛋白。该文主要总结了驱动蛋白在微管阵列动态组织, 包括周质微管和有丝分裂早前期微管带、纺锤体及成膜体中的角色和功能, 以及其对植物生理活动的调控作用。同时对重要经济作物大豆(*Glycine max*)中的驱动蛋白进行了系统分析、分类及功能预测, 发现大豆驱动蛋白数量庞大。结合公共数据库中大豆转录组数据, 对部分大豆驱动蛋白进行功能预测, 以期对大豆及其它作物驱动蛋白功能研究提供线索和启示。

关键词 驱动蛋白, 微管阵列, 生理调控, 大豆

王韞慧, 王一帆, 蔺佳雨, 李金红, 姚士恩, 冯湘池, 曹振林, 王俊, 李美娜 (2022). 植物驱动蛋白: 从微管阵列到生理活动调控. 植物学报 57, 358–374.

细胞生命活动需要分子马达(molecular motor)对细胞内分子及细胞器实施精准时空调控。分子马达是将化学能转化为机械能的生物大分子。真核细胞中最常见的分子马达为动力蛋白(dynein)、肌球蛋白(myosin)和驱动蛋白(kinesin)。其中, 驱动蛋白最晚被发现, 但是目前对其功能和运动机制研究得最为深入。1985年, 研究人员分别在鱿鱼神经组织大轴突和鸡的大脑神经组织中发现了既具有ATP水解酶位点又可以沿微管移动的分子马达, 并将其命名为驱动蛋白(Brady, 1985; Vale et al., 1985)。驱动蛋白结构通常包括马达结构域或头部(motor domain/head)、颈链(neck-linker)、茎部(stalk)和尾部(tail) (图1)。马达结构域具有微管结合位点与核苷酸催化位点, 二者共同作用使驱动蛋白沿微管运输“货物”(Vale and Fletterick, 1997)。颈链连接马达结构域和茎部, 是放大机械力的重要结构(Desai et al., 1999)。茎部主要由 α 螺旋构成, 使驱动蛋白形成二聚体(de Cuevas et al., 1992)。尾部与包含“货物”的囊泡等膜性细胞器靶向连接(Lane and Allan, 1998)。

根据马达结构域位置和头部与颈链结构特征, 驱动蛋白可分为3大类: 氨基端(N terminal)驱动蛋白(KIN N)、羧基端(C terminal)驱动蛋白(KIN C)和中间(Internal)驱动蛋白(KIN I) (Vale and Fletterick, 1997)。一般而言, 氨基端驱动蛋白从微管的负极向正极运动, 称为正极向驱动蛋白(plus-end-directed kinesin); 羧基端驱动蛋白从微管的正极向负极运动, 称为负极向驱动蛋白(minus-end-directed kinesin) (Vale and Fletterick, 1997); 中间驱动蛋白不具有传统马达蛋白的运输功能, 而具有解聚微管的功能(Desai et al., 1999)。基于动物、植物、真菌和原生生物分子进化分析, 驱动蛋白分为14个家族(Kinesin-1–14)以及一类孤儿(orphan)驱动蛋白(Lawrence et al., 2004)。植物中不存在Kinesin-2, 3, 9和11家族, 但是Kinesin-7和14家族在植物中成员众多, 超过半数。植物还进化出独有的驱动蛋白KINU (kinesin ungrouped)家族, 这可能与植物细胞周期中独特的微管阵列有关。拟南芥中有61个驱动蛋白, 其中至少有23个参与有丝分裂过程(Lee et al., 2015)。植物中

收稿日期: 2022-01-12; 接受日期: 2022-02-25

基金项目: 国家自然科学基金(No.32072084)

* 通讯作者。E-mail: limeina@gzhu.edu.cn

首个被发现的驱动蛋白是从烟草(*Nicotiana tabacum*) BY-2细胞的成膜体(phragmoplast)中分离的TKRP125 (tobacco kinesin-related polypeptide of 125 kDa)。TKRP125属于Kinesin-5家族, 在细胞分裂S期其蛋白开始表达, G2期达到峰值, 可能直接参与成膜体形成及双极结构维持(Asada et al., 1997)。

驱动蛋白在动物和人类中研究得较为深入。研究表明, 哺乳动物共有45个驱动蛋白: Kinesin-1、2、3、

4、12和14家族参与细胞器转运; Kinesin-1、2、4、11和13家族与大脑神经系统发育有关; Kinesin-3和12家族与机体新陈代谢相关; Kinesin-4、8和13参与纤毛运动(Miki et al., 2005)。分子遗传学研究表明, Kinesin-2和3家族还参与大脑的高级功能, 即学习和记忆(Yin et al., 2011; Iwata et al., 2020)。大多数驱动蛋白, 如Kinesin-1、4、5、6、7、8、10、12和13主要参与细胞分裂中细胞骨架的维持(Zhu and Dixit, 2012)。细胞内物质运输是细胞发挥正常生物学功能的基础, 因此驱动蛋白表达异常与人类多种疾病, 如神经退行性疾病、糖尿病及肾病的发生和发展密切相关(Rath and Kozielski, 2012)。近10年来, 越来越多的学者关注驱动蛋白在肿瘤中的作用, 发现所有类型肿瘤均源于细胞周期失控的细胞过度增殖。驱动蛋白表达异常导致染色体行为异常、有丝分裂停滞, 造成非整倍体及遗传物质分配不均, 母细胞分裂成缺陷子细胞, 引发细胞周期失控, 形成细胞癌变, 使相应的肿瘤细胞产生恶性生物学行为。目前驱动蛋白已成为癌症治疗的新靶标(Chandrasekaran et al., 2015; Myers and Collins, 2016)。

本文对植物驱动蛋白在微管阵列动态组织中的功能及对生理活动的调控作用进行综述(表1)。同时结合公共数据库, 依据基因组织表达特异性和结构的保守性, 对重要经济作物大豆(*Glycine max*)的驱动蛋白进行了系统分析、分类和功能预测, 以为大豆等作物驱动蛋白功能研究提供理论依据。

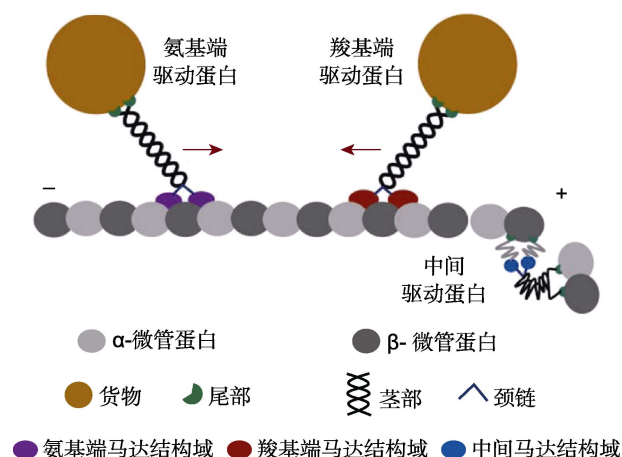


图1 氨基端驱动蛋白、羧基端驱动蛋白及中间驱动蛋白结构模型
箭头代表运动方向。

Figure 1 Domain organization of N terminal kinesin, C terminal kinesin and internal kinesin
The arrows represent the direction of movement.

表1 植物驱动蛋白的主要功能

Table1 Main functions of plant kinesin

蛋白家族	物种	基因名	基因登录号	细胞学功能	生理学功能	参考文献
KIN1	拟南芥	<i>AtKin-1/AtPSS1</i>	<i>AT3G63480</i>	减数分裂调控纺锤体形态	育性控制	Wang et al., 2014
	水稻	<i>OsPSS1</i>	<i>Os08g0117000</i>		育性控制	Zhou et al., 2011
KIN4	拟南芥	<i>AtKinesin-4A/FRA1</i>	<i>AT5G47820</i>		合成细胞壁	Zhu et al., 2015
	水稻	<i>BC2/GDD1</i>	<i>Os09g0114500</i>		合成细胞壁; 调控细胞延伸	Li et al., 2011
	苔藓	<i>Kin4-la</i>	<i>Pp3c25_8700</i>	抑制成膜体中间区的微管生长		de Keijzer et al., 2017
	苔藓	<i>Kin4-lc</i>	<i>Pp3c10_9510</i>			
KIN5	拟南芥	<i>RSW7/AtKRP125c</i>	<i>AT2g28620</i>	有丝分裂中期交联微管, 前中期稳定纺锤体两极间微管阵列		Bannigan et al., 2007
KIN7	拟南芥	<i>AtNACK1/HINKEL</i>	<i>AT1G18370</i>		育性控制	Strompen et al., 2002
	拟南芥	<i>STUD/TESA/AtNACK2</i>	<i>AT3G43210</i>		育性控制	Yang et al., 2003
	烟草	<i>NACK1</i>	<i>LOC107780313</i>	有丝分裂及减数分裂II	育性控制	Nishihama et al., 2002
	烟草	<i>NACK2</i>	<i>LOC107775653</i>	末期促进成膜体解聚	育性控制	
	大豆	<i>GmNACK2</i>	<i>Glyma.13G114200</i>		育性控制	Fang et al., 2021

表1 (续)

Table 1 (continued)

蛋白家族	物种	基因名	基因登录号	细胞学功能	生理学功能	参考文献
	拟南芥	<i>Kinesin7</i>	<i>AT3g12020</i>	有丝分裂间期促进微管组装		Moschou et al., 2016
	拟南芥	<i>MKRP1</i>	<i>AT1G21730</i>		与线粒体共定位	Itoh et al., 2001
	拟南芥	<i>MKRP2</i>	<i>AT4G39050</i>			
KIN10	拟南芥	<i>AtPAKRP2</i>	<i>AT4g14330</i>	组装细胞板		Lee et al., 2001; Gicking et al., 2019
	苔藓	<i>KINID1a</i>	<i>AB434497</i>	交联成膜体反向平行微管阵列		Hiwatashi et al., 2008, 2014
	苔藓	<i>KINID1b</i>	<i>AB434498</i>			
KIN12	拟南芥	<i>PAKRP1/Kinesin-12A</i>	<i>AT4G14150</i>	稳定成膜体反向平行微管阵列		Lee and Liu, 2000; Pan et al., 2004
	拟南芥	<i>PAKRP1L/Kinesin-12B</i>	<i>AT3G23670</i>			
	拟南芥	<i>POK1</i>	<i>AT3G17360</i>	标识周质分裂位点		Müller et al., 2006
	拟南芥	<i>POK2</i>	<i>AT3G19050</i>			
	拟南芥	<i>Kinesin-12E</i>	<i>AT3G44050</i>	有丝分裂组装纺锤体		Herrmann et al., 2021
KIN13	拟南芥	<i>AtKinesin-13A/AtMACK</i>	<i>AT3G16630</i>	有丝分裂间期解聚微管		Oda and Fukuda, 2013
KIN14	拟南芥	<i>KATA/ATK1</i>	<i>AT4G21270</i>	有丝分裂向纺锤体两极拉动微管		Chen et al., 2002; Marcus et al., 2003
	拟南芥	<i>ATK5</i>	<i>AT4G05190</i>	有丝分裂纺锤体中间区交联微管		Ambrose and Cyr, 2007
	拟南芥	<i>ATKP1</i>	<i>AT3G44730</i>		与线粒体共定位	Yang et al., 2011
	水稻	<i>OsKCH1</i>	<i>Os12g0547500</i>			Frey et al., 2009
	水稻	<i>OsKCH2</i>	未公布			Tseng et al., 2018
	拟南芥	<i>KAC1</i>	<i>AT5G10470</i>	沿微管运输微丝	介导光驱动叶绿体	Suetsugu et al., 2010
	拟南芥	<i>KAC2</i>	<i>AT5G65460</i>			
	棉花	<i>GhKCH1</i>	<i>AY695833</i>			Preuss et al., 2004
	棉花	<i>GhKCH2</i>	<i>EF432568</i>			Xu et al., 2009
	拟南芥	<i>KCBP/ZWI</i>	<i>AT5G65930</i>	有丝分裂间期交联微管微丝, 后期将成膜体外围微管拉向中间区		Tian et al., 2015
	玉米	<i>VSK1</i>	<i>Zm00001d018624</i>	有丝分裂组装纺锤体		Huang et al., 2019
	苔藓	<i>KINDR</i>	<i>KX759199–KX759203</i>	激活着丝粒		Dawe et al., 2018
	苔藓	<i>GTRC</i>	<i>Pp3c2_9150</i>	调控微丝极性	参与重力感受	Li et al., 2021
KINU	拟南芥	<i>ARK1/AtKINUc</i>	<i>AT3G54870</i>	有丝分裂间期促进微管灾变		Yang et al., 2007; Eng and Wasteney, 2014
	拟南芥	<i>ARK3/AtKINUa</i>	<i>AT1G12430</i>	有丝分裂促进早前期微管带的形成与稳定		Malcos and Cyr, 2011

1 驱动蛋白与微管阵列动态组织

微管是真核生物细胞骨架的重要组分, 在细胞形态建成、细胞分裂、囊泡运输及信号转导等生命活动中发挥重要作用(岳剑茹等, 2021)。植物周质微管(cortical microtubules, CMTs)是间期细胞特有的微

管阵列, 微管阵列方向调控细胞壁纤维素沉积方向, 进而决定细胞伸展方向, 因此在植物细胞形态建成中发挥核心作用。在微管阵列的动态转换过程中, 对微管的精准时空调控非常重要。Katanin蛋白复合体参与微管切割(microtubule severing) (沈锦波和姜里文, 2018)。高等植物驱动蛋白对微管阵列的调控主

要包括微管聚合与解聚、交联成束和易位。一般认为,在高等植物有丝分裂过程中微管主要排列成早前期微管带(pre-prophase band, PPB)、纺锤体(spindle apparatus)及成膜体(phragmoplast) 3种不同阵列。在一个细胞周期中,以上3种类型微管阵列依次向后一个转化,形成微管周期(Wick et al., 1981) (图2)。植物驱动蛋白在组织和维持不同微管阵列中发挥作用。

1.1 周质微管相关驱动蛋白

植物细胞分裂间期微管紧贴质膜并与质膜平行排列,形成二维平面的阵列,其形成是初始细胞迅速生长的标志和关键步骤(Yuan et al., 1994)。根毛细胞生长是高度动态的过程,需要微管微丝细胞骨架精准且迅速地转换,在对根毛细胞骨架的研究中发现了相关驱动蛋白。拟南芥ROP2 (Rho of plant) GTPase控制根毛细胞骨架建成(Fu et al., 2002)。后续研究发现,拟南芥KINU家族成员MRH2 (morphogenesis of root hair 2)/ARK1 (armadillo-repeat kinesin 1)是控制微管形成的重要组分,可能参与根毛极性生长期间ROP2

GTPase控制的微管和微丝协同(Jones et al., 2006; Yang et al., 2007; Eng and Wasteneys, 2014)。自身启动子驱动的ARK1-GFP在微管正极大量积累,回补 *ark1-1* 突变体根毛生长缺陷表型,瞬时过表达ARK1-GFP增加微管灾变(catastrophe)频率,表明ARK1通过促进微管灾变调控根毛极性生长(Eng and Wasteneys, 2014)。

研究得较为成熟的周质微管调控信号通路是ROP-MIDD1-Kinesin-13A。拟南芥根毛细胞Kinesin-13家族成员Kinesin-13A促进周质微管解聚,其通过ROP GTPase信号通路靶向定位到质膜,参与木质部细胞次生细胞壁形成。在体外,Kinesin-13A能够直接解聚微管,但在体内由于Kinesin-13A缺乏微管结合位点,需要与MIDD1 (microtubule depletion domain 1)微管结合蛋白相互作用才能靶向到周质微管,MIDD1又通过与激活状态的ROP11 (GTP-ROP11) 互作将其引导到质膜上,从而使Kinesin-13A在质膜上发挥解聚微管的作用,三者形成ROP-MIDD1-Kinesin-13A通路调控周质微管阵列,最终决定植物细胞的形态和功能(Oda and Fukuda, 2013)。

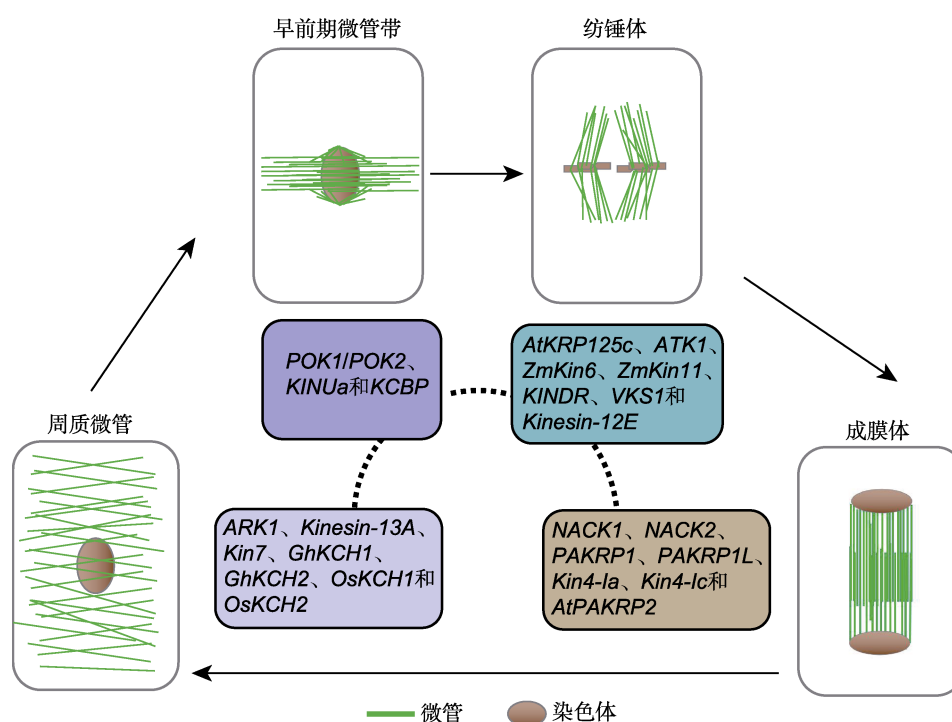


图2 植物驱动蛋白在微管阵列转换中的分子功能

Figure 2 Molecular function of plant kinesins in microtubule array conversion

与Kinesin-13A促进微管解聚相反,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) Kinesin-7家族3个成员与分离酶(separase)互作形成KISC (Kin7/Seperase complex) 复合物,通过促进微管拯救和减少微管灾变发挥稳定微管的作用(Oda and Fukuda, 2013; Moschou et al., 2016)。早期研究表明,分离酶与微管互作从而调控细胞骨架,但是分离酶并不具备微管结合活性(Moschou et al., 2013)。以分离酶的氨基端、中心段和羧基端为诱饵进行酵母双杂交,筛选到与分离酶氨基端互作的Kin7。分离酶氨基端非催化结构域与Kin7三个同源蛋白的羧基端尾部结合,导致Kin7构象改变,促进KISC复合物在微管聚集,进而发挥调控微管阵列的作用。KISC复合物对细胞极性的建立和植物发育有重要意义(Moschou et al., 2016)。

植物细胞分裂间期细胞骨架构建依赖于周质微管与微丝协同作用。棉花(*Gossypium hirsutum*) Kinesin-14家族成员GhKCH1/GhKCH2 (CH domain-containing kinesins)是最早报道能够同时与微管及微丝互作的驱动蛋白(Preuss et al., 2004)。水稻(*Oryza sativa*) OsKCH1与OsKCH2是微管与微丝作用的桥梁,通过共定位实验及体外生化实验证明二者能够沿微管运输微丝(Tseng et al., 2018)。随着显微技术的发展,通过实时成像可清楚地观测到拟南芥KCH成员KCBP (kinesin like calmodulin-binding protein) 作为整合微管与微丝的枢纽,通过交联微管微丝促进毛状体周质微管组装(Tian et al., 2015)。KCH驱动蛋白只存在于陆生植物中,其调控间期微管微丝形成正确细胞骨架的机制仍待探明。

1.2 早前期微管带相关驱动蛋白

早前期微管带由周质微管在细胞中间平面逐渐聚集成束形成,其决定体细胞未来的分裂部位(Mineyuki, 1999)。目前对于瞬时早前期微管带如何决定未来细胞分裂位点还不清楚。研究发现,在有丝分裂周质分裂位点上能够持续检测到TAN (tangled)蛋白(Walker et al., 2007)与RanGAP1 (GTPase activating protein of the small GTPase Ran)蛋白(Xu et al., 2008)。拟南芥Kinesin-12家族成员2个同源蛋白POK1 (phragmoplast orienting kinesin 1)与POK2具有微管结合位点,能够结合到早前期微管带微管阵列,对于TAN和RanGAP1在早前期微管带解聚后持续定位到周质分

裂位点至关重要(Müller et al., 2006)。

在周质微管聚集到早前期微管带的过程中,可能存在微管结合活性和早前期微管带特异性定位驱动蛋白作为枢纽同时参与完成这一细胞骨架的变化,而KINU家族成员的D-BOX (destruction box)基序可能发挥双重作用。KINUa/ARK3 (armadillo repeat kinesin 3)在氨基末端具有马达结构域,羧基末端包含Armadillo重复结构域和保守的D-BOX基序。亚细胞定位显示, KINUa在早前期微管带特异地积累(Malcos and Cyr, 2011)。Kinesin-14家族成员KCBP是另一种定位于早前期微管带的驱动蛋白,并在有丝分裂过程中于周质分裂位点持续存在(Buschmann et al., 2015)。KCBP拥有与微管、微丝结合的MyTH4-FERM结构域,且对KCBP在小立碗藓(*Physcomitrella patens*)中的同源蛋白研究表明其可以与质膜脂质互作,推测KCBP可能在质膜脂质体上修饰早前期微管带微管微丝阵列(Yamada et al., 2017)。

1.3 纺锤体相关驱动蛋白

植物细胞有丝分裂晚前期,早前期微管带解聚,纺锤体开始组装,并在中期核膜破裂后完成进一步组装和成熟(Hamada, 2014)。纺锤体动态变化以及形态建成主要依靠中央重叠区驱动蛋白提供动力: 正极向驱动蛋白主要产生将纺锤体向两极聚集以及纵向拉长纺锤体长度的力; 负极向驱动蛋白则主要产生将纺锤体沿纺锤体轴聚集和横向缩短纺锤体宽度的力。对动物的研究表明, Kinesin-5家族正极向驱动蛋白成员与Kinesin-14家族负极向驱动蛋白成员在纺锤体的组装中存在上述拮抗作用(Vale, 2003)。

拟南芥Kinesin-5家族成员AtKRP125c定位于纺锤体,并且在其突变体根细胞中可观察到大量纺锤体结构变异(Bannigan et al., 2007), 这些表型与动物及真菌的kinesin-5突变体细胞相似,表明驱动蛋白Kinesin-5在纺锤体形态建成中功能保守。Kinesin-14家族成员ATK1 (*Arabidopsis thaliana* kinesin 1)/Kinesin-14A与ATK5/Kinesin-14B均定位于纺锤体,其突变体均表现纺锤体不同程度的异常。atk1-1突变体在有丝分裂及雄性减数分裂时纺锤体两极均出现无法聚集的现象(Chen et al., 2002; Marcus et al., 2003); 而atk5-1突变体有丝分裂纺锤体出现异常伸长、加宽及频繁蜷曲现象,而在雄性减数分裂过程

中纺锤体基本正常(Ambrose et al., 2005; Ambrose and Cyr, 2007), 表明ATK1在雄性减数分裂中起主要作用, 但ATK1与ATK5调控纺锤体组装的机制仍有待进一步研究。

玉米(*Zea mays*) Kinesin-14家族多个成员参与纺锤体组装。突变体*dv1 (divergent spindle-1)*中同源基因*ZmKin6*与*ZmKin11*突变导致纺锤体组装异常、花粉活性降低, *ZmKin6*与*ZmKin11*在有丝分裂及减数分裂中期影响两极纺锤丝聚集(Higgins et al., 2016)。KINDR (*Kinesin driver*)是由8个*ZmKin11*同源基因组成的基因簇, 在减数分裂时其编码的驱动蛋白能够沿纺锤体丝激活新着丝粒位点, 拉着该着丝粒优先传递给卵细胞(Dawe et al., 2018)。VKS1 (*Varied-kernel-size phenotype 1*)与KINDR碱基序列的相似度为94%, 在胚乳发育早期高度表达, *vks1*突变体胚乳细胞有丝分裂纺锤体组装异常, 姐妹染色单体无法分离, 最终胞质分裂失败、种子变小(Huang et al., 2019)。

最新研究表明, 拟南芥Kinesin-12家族成员Kinesin-12E在核被膜破裂后促进纺锤体微管阵列组装, 并在微管重叠区域显著富集, 在中期和后期Kinesin-12E持续定位于周质分裂位点。在突变体中可观察到纺锤体大小发生变化, 推测可能通过微管滑动提供一部分纺锤体外向牵引力, 然而Kinesin-12E如何参与纺锤体组装尚不清楚(Herrmann et al., 2021)。

1.4 成膜体相关驱动蛋白

成膜体是植物细胞分裂进行胞质分裂组装细胞板的场所。在细胞分裂后期, 纺锤体逐渐缩短变为伞状结构并向两极聚集(Oh et al., 2012); 同时细胞中部平面逐渐形成2个向外扩张的双环状反向平行重叠微管阵列, 其包围区域称为成膜体。在成膜体扩张过程中, 其内部同时进行细胞板组装, 而驱动蛋白在此过程中发挥重要作用。其中研究得最为深入的是烟草Kinesin-7家族成员NACK1 (NPK1-activating kinesin-like protein 1)及其同源蛋白NACK2。研究表明NPK1 (new protein kinase 1)与成膜体形成有关(Nishihama et al., 2001)。通过酵母双杂交筛选出NPK1激活子NACK1, 亚细胞定位显示NPK1与NACK1共定位于成膜体上, *nack1*突变体因成膜体无法扩张, 进而子细胞无法形成正常的细胞板, 导致胞质分裂失败(Nishihama et

al., 2002)。研究揭示植物中调控成膜体形成的保守通路如下: NACK1和NACK2与NPK1或其它MAPK激酶互作, 通过MAPK级联通路磷酸化下游MAP65 (microtubule-associated proteins 65), 磷酸化状态的MAP65与微管结合能力降低, 促进成膜体微管动态变化(Sasabe and Machida, 2012)。

拟南芥花粉中存在Kinesin-12家族成员PAKRP1 (phragmoplast-associated kinesin 1)及PAKRP1L (phragmoplast-associated kinesin 1 like)与激酶TIO (Two-In-One)互作调控成膜体组装通路。PAKRP1和PAKRP1L单突变体没有表型变化, 可能由于它们的氨基酸序列具有74%的相似度, 从而存在功能冗余; 在双突变体有丝分裂中观察到细胞成膜体无法正常组装, 形成有缺陷的细胞板(Lee and Liu, 2000; Pan et al., 2004; Lee et al., 2007)。研究表明PAKRP1和PAKRP1L也是通过MAPK级联通路实现对成膜体的调控: PAKRP1和PAKRP1L与MAP65-3互作, 将MAP65-3定位到成膜体反向平行微管阵列上(Ho et al., 2011)。前期研究显示, MAP65动物同源蛋白PRC1 (protein required for cytokinesis 1)在有丝分裂后期结合反向平行微管阵列, 并招募Kinesin-4家族成员Xklp1 (xenopus kinesin-4)到周质分裂位点, Xklp1通过抑制微管生长调控纺锤体丝重叠程度进而影响成膜体形成(Bieling et al., 2010; Hu et al., 2011)。由此推测在拟南芥有丝分裂后期, PAKRP1和PAKRP1L先沿微管将MAP65-3运输到周质分裂位点, MAP65-3再招募Xklp1调控成膜体组装。小立碗蕨中Kinesin-4家族成员Kin4-la与Kin4-lc参与成膜体微管反向平行重叠以及细胞板形成, 导致Kin4-la/Kin4-lc双突变体微管阵列过度重叠, 从而使成膜体向外扩张速率变慢且微管重叠区变厚, 最终形成有缺陷的细胞板。体外实验表明, Kin4-lc氨基末端结构域具有解聚微管的功能, 推测Kin4-la与Kin4-lc可能通过解聚微管阵列重叠程度调控成膜体以正确的速率和厚度扩张(de Keijzer et al., 2017)。

高尔基体囊泡沿成膜体微管运输到成膜体中间区进行细胞板组装, 拟南芥Kinesin-10家族成员AtPAKRP2 (phragmoplast-associated kinesin-related protein 2)可能在此过程中起运输作用(Lee et al., 2001)。研究发现AtPAKRP2颈链异常变长, 马达结构域水解ATP酶位点效率降低, 导致AtPAKRP2在微管

上运动变缓,推测该结构可能在不影响持续进程和降低效率的前提下有利于延长搜索运输“货物”的时间(Gicking et al., 2019)。小立碗藓中*AtPAKRP2*同源基因*KINID1a*和*KINID1b*也与成膜体形成相关,*KINID1a*与*KINID1b*定位于成膜体反向平行排列微管阵列,*kinid1a/kinid1b*双突变体中反向平行微管阵列错乱导致胞质分裂失败(Hiwatashi et al., 2008)。研究发现*KINID1a*与*KINID1b*是正极向驱动蛋白,最终影响根尖端细胞生长速率与方向(Hiwatashi et al., 2014)。

2 驱动蛋白与生理功能

驱动蛋白不仅在细胞分裂中行使功能,而且在细胞运动、胞内物质运输和信号转导等生命活动中也发挥重要作用,从而影响植物的物质代谢、能量转化及生长发育。尽管驱动蛋白对植物生理活动的调控研究相对较少,但这些研究为我们了解细胞通过驱动蛋白影响植物生理机能提供了新视角。

2.1 组装细胞壁

在细胞生长过程中,坚韧而具有延展性的细胞壁决定了细胞扩张速率、方向以及植物整体形态。细胞壁主要由纤维素、半纤维素、果胶以及少量蛋白质组成。绝大部分真核生物在高尔基体中合成组装细胞壁的相关产物,然后通过分泌系统传递到胞外空间,其它产物如纤维素微纤丝(cellulose microfibrils)由纤维素合酶复合体(cellulose synthase complex, CSC)在质膜上合成(McFarlane et al., 2014)。一般认为,相关产物合成后运输到周质微管进行细胞壁组装。研究发现,拟南芥驱动蛋白Kinesin-4A/FRA1 (fragile fiber 1)调控纤维素微纤丝沉积方向,从而决定细胞壁强度,但*fra1*突变体中细胞壁成分、次生细胞壁厚度和周质微管阵列无任何改变(Zhong et al., 2002)。利用单分子荧光成像技术结合多种生物化学分析方法,研究人员发现FRA1是以二聚体形式发挥作用的正极向驱动蛋白,并具有极高的持续行进特性(processivity),至少达到一般驱动蛋白的2倍以上(Zhu and Dixit, 2012)。

近年来,对FRA1蛋白功能的研究更为细致深入。Kong等(2015)利用具有迅速伸长特征的棉纤维鉴定与细胞伸长相关的驱动蛋白,研究表明,棉花中FRA1同源蛋白GhKinesin-4A在伸长的棉纤维中显著

富集;他们还利用拟南芥进一步揭示AtKinesin-4A/FRA1和AtKinesin-4C在调控细胞壁强度、细胞伸长和各种营养与生殖器官的轴向生长方面存在功能冗余,同时发现FRA1可能运输非纤维素类物质。FRA1蛋白缺失使囊泡在高尔基体附近积累,并极大地减少果胶分泌,导致初生与次生细胞壁均受损,突变体*fra1-5*细胞壁厚度仅为野生型的一半(Zhu et al., 2015)。FRA1水稻同源蛋白BC12 (brittle culm 12)缺失使细胞壁成分改变及次生细胞壁中纤维素微纤丝异常沉积,最终导致植株变脆(Zhang et al., 2010)。IMB4 (importin β 4)与FRA1互作,对其进行时空调控从而使其在运输组装细胞壁相关产物中发挥作用。IMB4通过2种方式调控FRA1: (1) 正在组装细胞壁的初始细胞中,需要大量活化状态的FRA1运输组装细胞壁相关产物, FRA1与IMB4结合抑制蛋白酶对FRA1的降解,提高FRA1蛋白的稳定性; (2) 在细胞壁组装完成的成熟细胞中,不需要过多活性状态的FRA1,此时IMB4直接阻止FRA1马达结构域与微管结合,从而使FRA1保持非活性状态(Ganguly et al., 2018, 2020)。最新研究表明, FRA1尾部结构域与CMU (cellulose synthase-microtubule uncoupling)互作,增强周质微管的横向稳定性,揭示了周质微管稳定纤维素和基质多糖沉积位点的机制(Ganguly et al., 2020)。

2.2 调控细胞延伸

赤霉素(gibberellins, GAs)是广泛存在的植物激素,可促进茎及茎尖等组织生长。植物中存在初级赤霉素代谢途径(Hedden and Phillips, 2000; Olszewski et al., 2002),即二磷酸香甘氨酸(geranylgeranyl diphosphate)转化为贝壳杉烯(ent-kaurene),贝壳杉烯通过KO (ent-kaurene oxidase)与KAO (ent-kaurenoic acid oxidase)转化为赤霉素相关产物。水稻Kinesin-4家族成员BC12/GDD1具有参与运输组装细胞壁相关产物的功能, GDD1 (gibberellin-deficient dwarf 1)/BC12还作为转录因子参与赤霉素途径介导的细胞伸长(Li et al., 2011)。GDD1/BC12直接结合KO-启动子激活其转录, KO将贝壳杉烯转化为贝壳杉烯酸,贝壳杉烯酸再通过一系列的转化形成赤霉素相关产物调控细胞延伸,进而影响植株的生长发育(Li et al., 2011)。

2.3 叶绿体及线粒体运动

光驱动的叶绿体位置变化对植物进行高效光合作用非常重要。光驱动叶绿体移动通常依赖肌动蛋白,并由蓝光受体向光素(phototropins)介导(Kasahara et al., 2002)。拟南芥向光素通过调节叶绿体微丝(chloroplast-actin filaments)介导叶绿体移动(Kadota et al., 2009)。此外, Kinesin-14 家族成员 KAC1 (kinesin-like protein for actin-based chloroplast movement 1)/KCH1和KAC2通过与微丝互作介导叶绿体移动,使叶绿体锚定到质膜并发挥作用(Suet-sugu et al., 2010)。KAC1缺失突变体植株叶绿体因无法移动而导致大量积累,同时缺失KAC1与KAC2的植株叶绿体则完全丧失光驱动的位置变化,并与质膜分离。有趣的是, KAC1与KAC2并不具有微管结合活性,可能不是通过沿微管运动发挥二者的运输作用。因此,植物可能已经进化出驱动蛋白通过微丝调控细胞器运动的独特机制。

线粒体是细胞制造能量的细胞器。早期研究表明线粒体运动与驱动蛋白类蛋白(kinesin related proteins, KRP)有关,驱动蛋白类蛋白通过结合线粒体表面微管驱动其运动。拟南芥MKRP1 (mitochondria-targeted KRP1)和MKRP2氨基末端具有线粒体靶向信号。亚细胞定位实验表明, MKRP1和MKRP2与线粒体共定位,但其驱动线粒体运动的分子机制尚不清楚(Itoh et al., 2001)。通过抗体特异性识别和免疫荧光定位,发现拟南芥 Kinesin-14 家族成员 ATKP1 (kinesin-like protein 1)特异地定位于线粒体(Ni et al., 2005)。以ATKP1尾部结构域为诱饵,通过酵母双杂交筛选出线粒体外膜蛋白VDAC3 (voltage-dependent anion channel 3),二者互作参与种子低温萌发过程的呼吸调节(Yang et al., 2011)。

2.4 重力感受

重力是持续稳定的环境因素,调节植物生长方向和结构。在维管植物中,枝条向上生长(负重力)以获取光照和气体交换,而根系则向下生长(正重力)以固定在土壤中,吸收营养物质和水分。研究表明,微丝骨架在向地性中发挥作用(Nakamura et al., 2011; Blancaflor, 2013; Zou et al., 2016; Song et al., 2019)。在小立碗藓中,重力触发根尖细胞顶端附近的微丝骨架不对称分布,并决定顶端细胞生长方向。进一步研究

表明,重力触发微丝不对称分布依赖Kinesin-14家族成员GTRC (gravitropism group C)调控微丝极性,从而在重力刺激下触发根尖弯曲,这对小立碗藓建立正确的向地性至关重要(Li et al., 2021)。

2.5 育性控制

高等动植物中,细胞减数分裂是保持物种稳定遗传的手段。生殖细胞分裂时,染色体复制1次,细胞连续分裂2次获得单倍体雌雄配子。减数分裂伴随着细胞骨架的形态变化,驱动蛋白在该过程中发挥重要作用。

雄性不育系是重要的育种材料。随着对雄性不育研究的深入,已挖掘出多个控制雄性育性的驱动蛋白。水稻Kinesin-1家族成员PSS1为组成型表达,在花药减数分裂期表达量达到峰值,PSS1突变导致花粉活力降低和花药开裂缺陷,从而引起水稻败育(Zhou et al., 2011)。在拟南芥pss1突变体中观察到染色体联会(synapsis)异常,雄配子减数分裂时染色体分离异常,导致花粉数量减少及育性缺陷(Zhou et al., 2011)。减数分裂时同源染色体形成交叉(crossover)导致遗传多样性,拟南芥中PSS1与WIPs (WPP domain-interacting proteins)/SUNs (Sad1/UNC-84)互作,控制减数分裂联会与交叉(Duroc et al., 2014)。

烟草Kinesin-7家族NACK1的拟南芥同源基因AtNACK1/HINKEL突变导致体细胞胞质分裂失败(Nishihama et al., 2002; Strompen et al., 2002)。NACK2拟南芥同源基因AtNACK1/TETRASPORE/STUD突变使雄性减数分裂胞质分裂失败并引起败育。拟南芥中通过正反交均无法获得atnack1/atnack2双突变体,表明这2个基因在雌雄配子发生过程中不可或缺(Nishihama et al., 2002; Oh et al., 2008)。通过正向遗传学手段对大豆核雄性不育位点ms1进行精细定位和克隆,发现控制大豆MS1雄性育性的基因与烟草和拟南芥NACK2基因同源(Fang et al., 2021)。研究发现ms1突变体减数分裂后不能进行胞质分裂,导致其花粉粒变大,在体内不能萌发,雄性育性完全丧失(Brim and Young, 1971; Albertsen and Palmer, 1979)。通过烟草瞬时转化、拟南芥微管标记株系pTUB6::mCherry-TUB6共转化以及大豆花药免疫荧光等实验对MS1蛋白进行初步研究,发现MS1主要定位于细胞核中,与微管共定位,在花药减数分裂末期参与细胞板形成(Fang et al., 2021)。与拟

南芥 *nack2* 突变体只发生部分败育不同, 大豆 *ms1* 突变体雄性完全不育, 造成这种差异的原因尚不清楚。以上研究表明, *NACK2* 基因在控制植物雄性育性中功能极为保守, 为在其它物种中创制雄性不育系提供了宝贵的基因资源。

3 大豆驱动蛋白基因挖掘与功能预测

3.1 大豆驱动蛋白基因挖掘

大豆全基因组测序和组装的完成为挖掘大豆驱动蛋白基因提供了基础数据。在Phytozome网站(<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/blast-search>)利用驱动蛋白结构域pfam(00225)进行BLAST得到186个

Kinesin基因, 将其氨基酸序列通过NCBI蛋白数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)进行结构域预测, 结合已发表的拟南芥61个驱动蛋白基因数据(Lee and Liu, 2004), 构建大豆与拟南芥驱动蛋白基因聚类进化树(图3), 剔除其中差异较大的29个基因, 最终确定大豆共有157个驱动蛋白基因。与拟南芥(61个)、水稻(52个)、玉米(59个)及小立碗藓(66个)驱动蛋白基因相比, 大豆驱动蛋白基因数量显著增多, 其中Kinesin-7家族有28个成员, Kinesin-14家族有51个成员。可能的原因是由于大豆是由古四倍体演变而来的二倍体自交作物, 约有56 000个基因, 基因组庞大, 且约3/4的基因以同源基因形式出现。

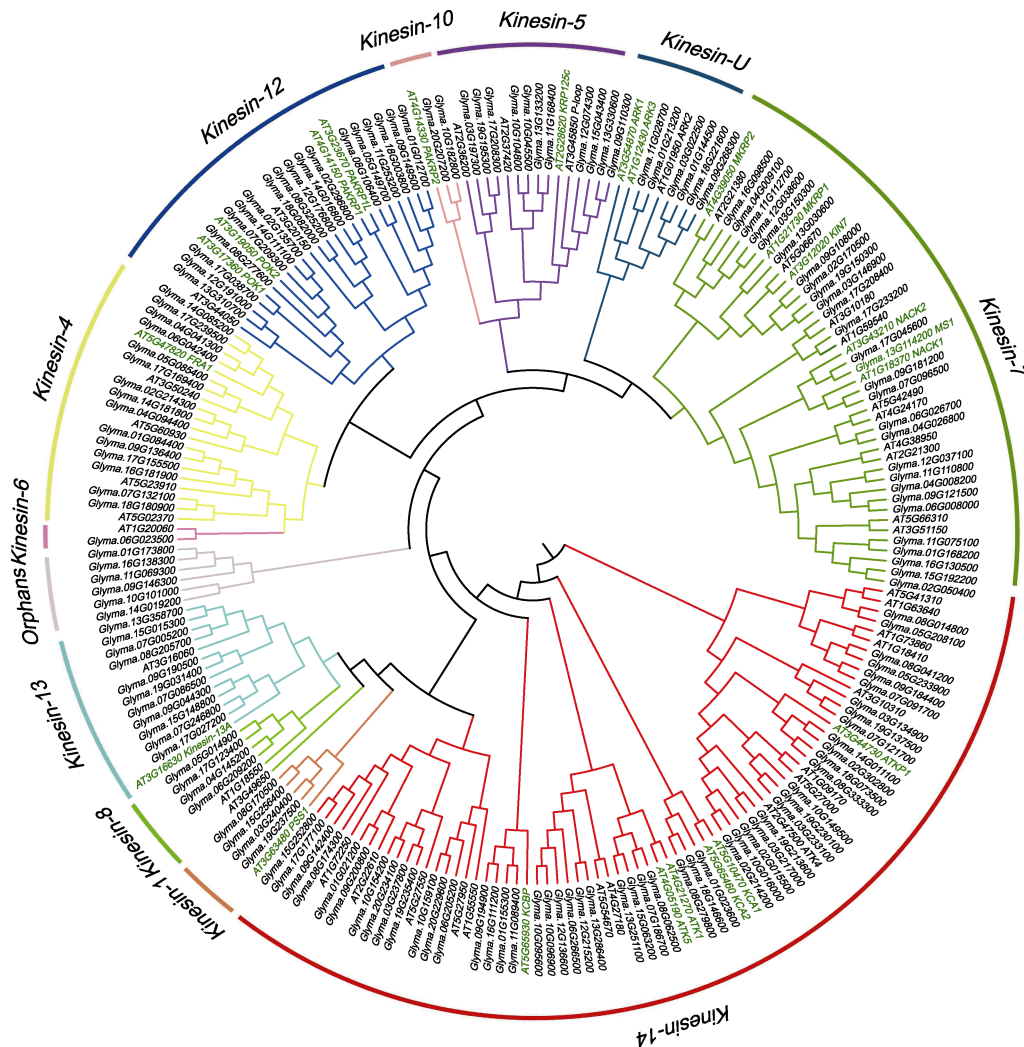


图3 大豆与拟南芥驱动蛋白基因进化关系

Figure 3 Evolutionary relationship between soybean and *Arabidopsis* kinesin genes

3.2 大豆驱动蛋白基因功能预测

驱动蛋白基因功能在开花植物中具有一定的保守性(Nebenführ and Dixit, 2018)。根据已知的植物驱动蛋白基因功能,同时结合公共数据库中大豆不同组织中的基因表达数据(<http://venanciogroup.uenf.br/resources/>),依据基因组织表达特异性,预测大豆驱动蛋白基因功能。基因表达聚类分析表明,157个基因主要聚成3个分支(I、II和III)(图4)。为方便对结果进行比较与说明,我们将3个分支分别进行展示,其中分支I分为2个子类(I-1和I-2)(图4A);分支II分为3个子类(II-1、II-2和II-3)(图4B);分支III分为III-1、III-2和III-3三个子类(图4C)。

分支I基因在绝大部分组织和部位中表达量均较低,其中分支I-2中大部分基因可能是大豆在基因组多倍化(whole-genome duplication polyploidy)进程中重复基因发生了无功能化(non-functionalization)而产生的假基因。分支II-2和II-3中的基因主要在花、荚和胚乳中高表达,可能与生殖和种子发育相关,其中包括目前唯一克隆的大豆驱动蛋白基因,即Kinesin-7家族的*GmMS1/GmNACK2*(*Glyma.13G114200*)(II-3)(Fang et al., 2021)。分支III基因的明显特征是在多数组织和部位中均有较高表达量,一些功能已知的驱动蛋白同源基因也集中在这一支,表明这组基因可能在大豆生长发育中发挥重要作用。

水稻Kinesin-1成员*PSS1*为组成型表达,在花药减数分裂时期表达量达到峰值(Zhou et al., 2011)。其大豆同源基因共有4个,其中*Glyma.03G240400*、*Glyma.08G170500*和*Glyma.15G256400*有表达数据,均在分支I-2中,*Glyma.15G256400*在花中表达量最高,该基因也是分支I-2所有基因中表达量最高的,推测其在大豆花药减数分裂中具有类似*PSS1*的功能。拟南芥Kinesin-5家族成员*AtKRP125c*的同源基因中,*Glyma.13G330600*(II-2)相比*Glyma.12G074300*(III-3)、*Glyma.09G110300*(I-2)和*Glyma.15G043400*(无表达数据)在根中优势表达,表明*Glyma.13G330600*可能在根细胞有丝分裂纺锤体组装中起重要作用。

Kinesin-10家族仅有2个成员,即*Glyma.10G182800*和*Glyma.20G207200*,二者具有非常相似的表达模式(II-2),它们与*AtPAKRP2*氨基酸序列相似度在70%以上,且在胚乳中高表达,推测*Glyma.*

*10G182800*与*Glyma.20G207200*在胚乳发育中发挥*AtPAKRP2*保守功能。Kinesin-12家族成员拟南芥*POK1/POK2*对于TAN和RanGAP1在早前期微管带解聚后持续定位到周质分裂位点至关重要,其在大豆中也有4个同源基因:*Glyma.07G209300*(I-1)、*Glyma.08G27760*(I-2)、*Glyma.17G038700*(I-1)和*Glyma.02G135700*(II-3)。基因表达数据显示*Glyma.08G277600*几乎不表达,可能是假基因;而*Glyma.07G209300*、*Glyma.02G135700*和*Glyma.17G038700*在胚乳中的表达量相似且相对较高,推测其可能在胚乳细胞分裂前期协同发挥作用。

Kinesin-13属于中间驱动蛋白,一般不具有沿微管运输的功能,而具有解聚微管的功能。组织表达数据显示,Kinesin-13家族成员在各组织和器官(包括愈伤组织),甚至在豆科植物特异组织根瘤中均有表达,且表达量明显高于其它家族成员,表明该家族在大豆生命活动中可能行使普遍的且不可或缺的功能。

Kinesin-14家族成员拟南芥*KCBP*在大豆中的同源基因包括*Glyma.01G155300*(III-2)、*Glyma.11G089400*(III-3)、*Glyma.16G111200*(III-2)和*Glyma.09G194900*(无表达数据)。其中*Glyma.01G155300*和*Glyma.16G111200*在多个组织中呈现高表达模式,蛋白质结构域预测二者均具有FERM和MyTH4结构域,说明*KCBP*在植物进化中功能保守,可能通过微管及微丝互作参与细胞分裂中微管微丝的负极向运动。玉米*VSK1*也是Kinesin-14家族成员,在胚乳早期发育过程中参与纺锤体组装,其大豆同源基因为*Glyma.06G205200*(I-2)、*Glyma.10G159100*(III-1)和*Glyma.20G229600*(III-1)。其中*Glyma.06G205200*可能是假基因,*Glyma.10G159100*和*Glyma.20G229600*在多个组织(根、叶、花、幼苗及胚乳)中表达量均较高,且表达模式相同,推测二者可能不只在大豆胚乳发育中发挥作用。

值得一提的是,多个同一驱动蛋白家族基因成对出现,除了上文提到的Kinesin-10家族仅有的2个成员,*Glyma.10G182800*和*Glyma.20G207200*(II-2),*VSK1*同源基因*Glyma.10G159100*和*Glyma.20G229600*(III-1),Kinesin-4家族*FRA1*同源基因*Glyma.04G041300*和*Glyma.06G042400*,以及*Glyma.14G085200*和*Glyma.17G239500*均在分支

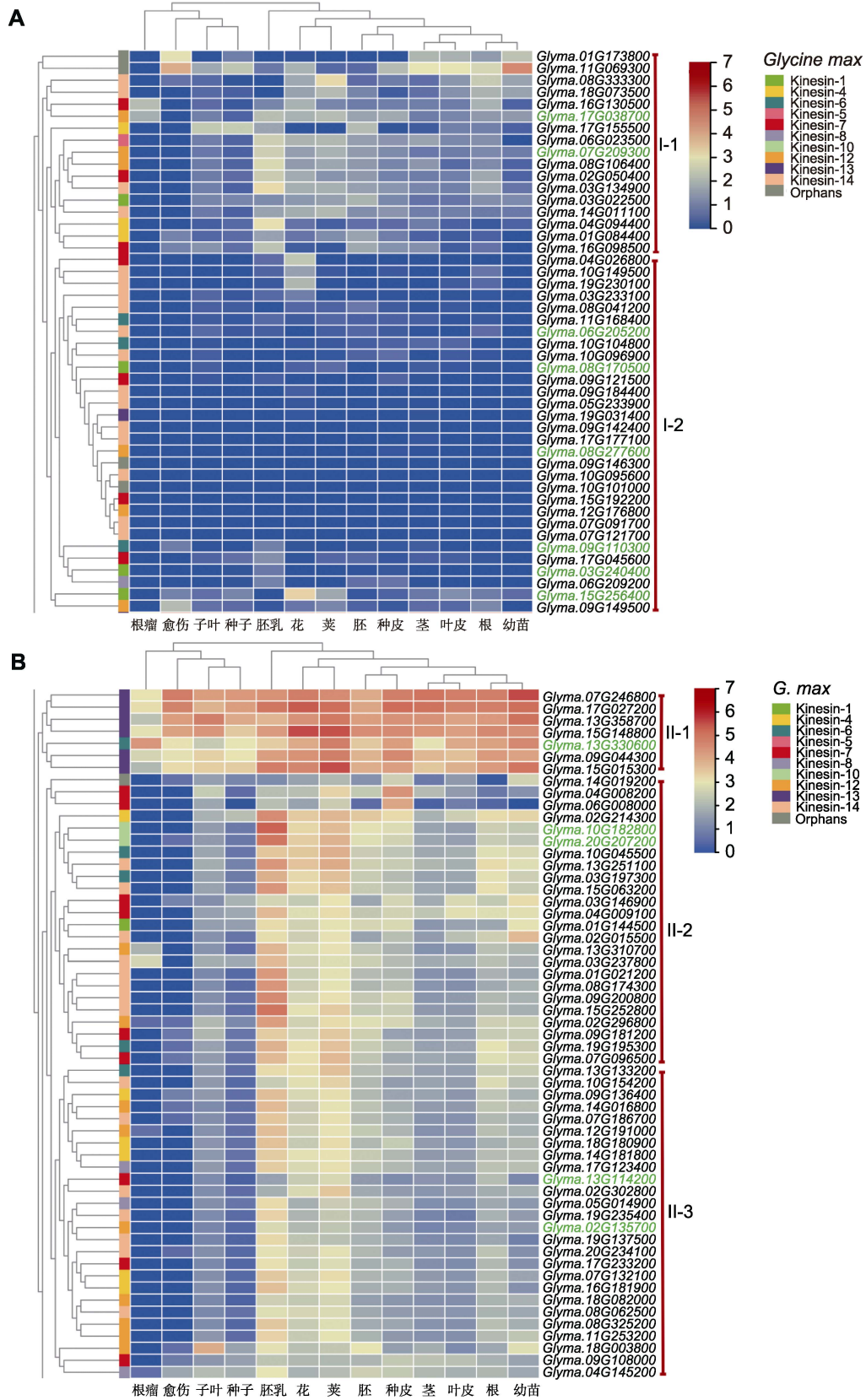


图4
Figure 4

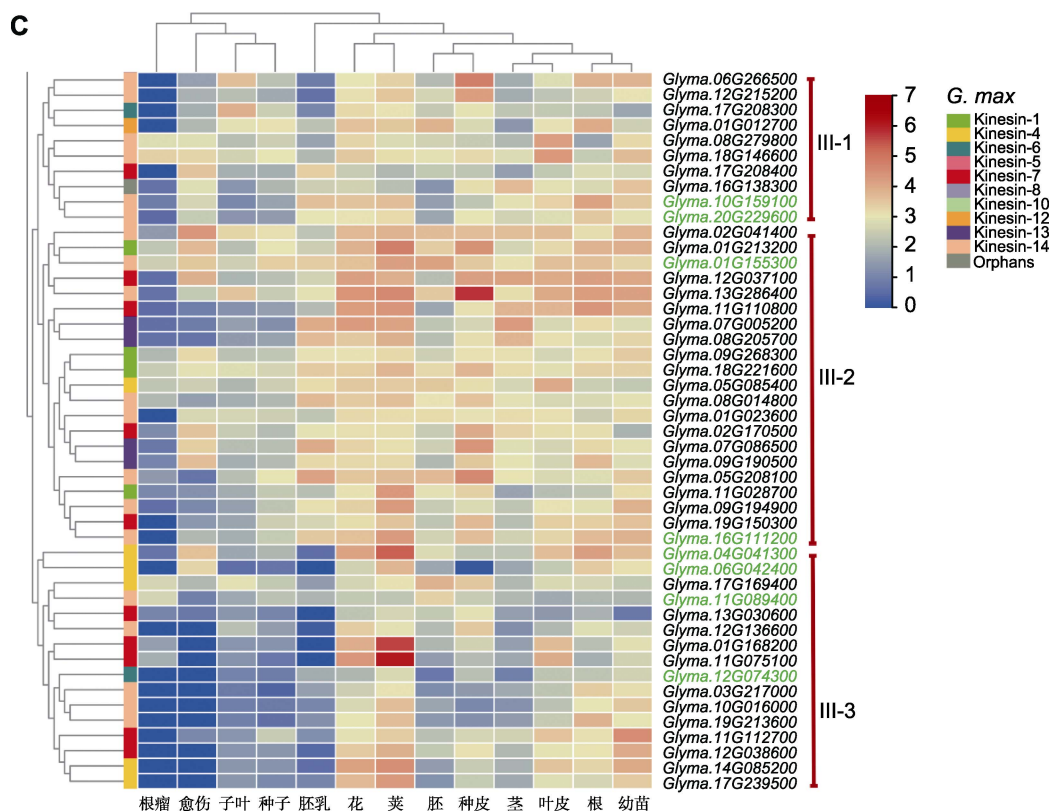


图4 大豆驱动蛋白基因在不同组织中表达聚类热图

Figure 4 Clustered heat map of expressions of soybean kinesin genes in different tissues

III-3中成对出现。Kinesin-7家族 *Glyma.01G168200* 和 *Glyma.11G075100* (III-3)是在荚中高表达的1对基因,表明这些基因可能以异源二聚体的形式发挥微管辅助蛋白功能,其功能与作用机制值得深入研究。

4 结语与展望

植物驱动蛋白参与多种生命活动。与动物及真菌相比,有些植物驱动蛋白进化出独特的功能。例如,在成膜体形成中起作用的Kinesin-7家族成员HIK和TES。陆生植物虽然缺失Kinesin-2、3、9和11家族成员,但是Kinesin-7和14家族成员数量大量增加,推测是由于植物不具有沿微管负极向运动的动力蛋白,而这部分缺失的功能在植物进化过程中可能被微管负极向驱动蛋白Kinesin-14家族所代替(Vale, 2003)。动物及真菌有丝分裂依赖中心体对纺锤体进行组装,而Kinesin-5与Kinesin-14家族成员增多可能弥补植物缺乏中心体的功能缺陷。

植物驱动蛋白研究大多以模式植物拟南芥为研

究对象,对其在其它高等植物尤其是作物中的功能知之甚少。根瘤是豆科植物特有的组织,其固氮功能对于农业生产具有重要意义,驱动蛋白在根瘤形成中的功能有待揭示。例如,Kinesin-5家族成员 *Glyma.13G330600*是大豆根瘤中表达量最高的驱动蛋白基因,表明其可能在大豆根瘤形成中发挥作用。

多种植物全基因组测序和组装的完成为全面挖掘驱动蛋白基因提供了依据,未来利用CRISPR/Cas9基因编辑技术创制相关驱动蛋白功能缺失突变体,结合超分辨率显微镜(super-resolution microscopy)以及体外实验进行相关结构与功能研究,将会更快更好地解析植物驱动蛋白的分子功能以及它们对植物细胞生命过程的调控机制。

参考文献

- 沈锦波,姜里文 (2018). 中国科学家在植物细胞骨架研究领域取得突破性进展. 植物学报 **53**, 741-744.
- 岳剑茹,赫云建,邱天麒,郭南南,韩雪萍,王显玲 (2021).

植物微管骨架参与下胚轴伸长调节机制研究进展. 植物学报 56, 363–371.

- Albertsen MC, Palmer RG** (1979). A comparative light- and electron-microscopic study of microsporogenesis in male sterile (MS_1) and male fertile soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.). *Am J Bot* **66**, 253–265.
- Ambrose JC, Cyr R** (2007). The kinesin ATK5 functions in early spindle assembly in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **19**, 226–236.
- Ambrose JC, Li WX, Marcus A, Ma H, Cyr R** (2005). A minus-end-directed kinesin with plus-end tracking protein activity is involved in spindle morphogenesis. *Mol Biol Cell* **16**, 1584–1592.
- Asada T, Kuriyama R, Shibaoka H** (1997). TKRP125, a kinesin-related protein involved in the centrosome-independent organization of the cytokinetic apparatus in tobacco BY-2 cells. *J Cell Sci* **110**, 179–189.
- Bannigan A, Scheible WR, Lukowitz W, Fagerstrom C, Wadsworth P, Somerville C, Baskin TI** (2007). A conserved role for kinesin-5 in plant mitosis. *J Cell Sci* **120**, 2819–2827.
- Bieling P, Telley IA, Surrey T** (2010). A minimal midzone protein module controls formation and length of antiparallel microtubule overlaps. *Cell* **142**, 420–432.
- Blancaflor EB** (2013). Regulation of plant gravity sensing and signaling by the actin cytoskeleton. *Am J Bot* **100**, 143–152.
- Brady ST** (1985). A novel brain ATPase with properties expected for the fast axonal transport motor. *Nature* **317**, 73–75.
- Brim CA, Young MF** (1971). Inheritance of a male-sterile character in soybeans. *Crop Sci* **11**, 564–566.
- Buschmann H, Dols J, Kopischke S, Peña EJ, Andrade-Navarro MA, Heinlein M, Szymanski DB, Zachgo S, Doonan JH, Lloyd CW** (2015). *Arabidopsis* KCBP interacts with AIR9 but stays in the cortical division zone throughout mitosis via its MyTH4-FERM domain. *J Cell Sci* **128**, 2033–2046.
- Chandrasekaran G, Tátrai P, Gergely F** (2015). Hitting the brakes: targeting microtubule motors in cancer. *Br J Cancer* **113**, 693–698.
- Chen CB, Marcus A, Li WX, Hu Y, Calzada JPV, Grossniklaus U, Cyr JR, Ma H** (2002). The *Arabidopsis* ATK1 gene is required for spindle morphogenesis in male meiosis. *Development* **129**, 2401–2409.
- Dawe RK, Lowry EG, Gent JI, Stitzer MC, Swentowsky KW, Higgins DM, Ross-Ibarra J, Wallace JG, Kanizay LB, Alabady M, Qiu WH, Tseng KF, Wang N, Gao Z, Birchler JA, Harkess AE, Hodges AL, Hiatt EN** (2018). A kinesin-14 motor activates neocentromeres to promote meiotic drive in maize. *Cell* **173**, 839–850.
- de Cuevas M, Tao T, Goldstein LSB** (1992). Evidence that the stalk of *Drosophila* kinesin heavy chain is an α -helical coiled coil. *J Cell Biol* **116**, 957–965.
- de Keijzer J, Kieft H, Ketelaar T, Goshima G, Janson ME** (2017). Shortening of microtubule overlap regions defines membrane delivery sites during plant cytokinesis. *Curr Biol* **27**, 514–520.
- Desai A, Verma S, Mitchison TJ, Walczak CE** (1999). Kin I kinesins are microtubule-destabilizing enzymes. *Cell* **96**, 69–78.
- Duroc Y, Lemhemdi A, Larchevêque C, Hurel A, Cuacos M, Cromer L, Horlow C, Armstrong SJ, Chelysheva L, Mercier R** (2014). The kinesin AtPSS1 promotes synapsis and is required for proper crossover distribution in meiosis. *PLoS Genet* **10**, e1004674.
- Eng RC, Wasteney GO** (2014). The microtubule plus-end tracking protein ARMADILLO-REPEAT KINESIN 1 promotes microtubule catastrophe in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **26**, 3372–3386.
- Fang XL, Sun XY, Yang XD, Li Q, Lin CJ, Xu J, Gong WJ, Wang YF, Liu L, Zhao LM, Liu BH, Qin J, Zhang MC, Zhang CB, Kong FJ, Li MN** (2021). *MS1* is essential for male fertility by regulating the microsporocyte cell plate expansion in soybean. *Sci China Life Sci* **64**, 1533–1545.
- Frey N, Klotz J, Nick P** (2009). Dynamic bridges—a calponin-domain kinesin from rice links actin filaments and microtubules in both cycling and non-cycling cells. *Plant Cell Physiol* **50**, 1493–1506.
- Fu Y, Li H, Yang ZB** (2002). The ROP2 GTPase controls the formation of cortical fine F-actin and the early phase of directional cell expansion during *Arabidopsis* organogenesis. *Plant Cell* **14**, 777–794.
- Ganguly A, DeMott L, Zhu CM, McClosky DD, Anderson CT, Dixit R** (2018). Importin- β directly regulates the motor activity and turnover of a Kinesin-4. *Dev Cell* **44**, 642–651.
- Ganguly A, Zhu CM, Chen WZ, Dixit R** (2020). FRA1 kinesin modulates the lateral stability of cortical microtubules through cellulose synthase-microtubule uncoupling proteins. *Plant Cell* **32**, 2508–2524.
- Gicking AM, Wang P, Liu C, Mickolajczyk KJ, Guo LJ, Hancock WO, Qiu WH** (2019). The orphan kinesin PAKRP2 achieves processive motility via a noncanonical stepping mechanism. *Biophys J* **116**, 1270–1281.

- Hamada T** (2014). Microtubule organization and microtubule-associated proteins in plant cells. *Int Rev Cel Mol Biol* **312**, 1–52.
- Hedden P, Phillips AL** (2000). Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends Plant Sci* **5**, 523–530.
- Herrmann A, Livanos P, Zimmermann S, Berendzen K, Rohr L, Lipka E, Müller S** (2021). KINESIN-12E regulates metaphase spindle flux and helps control spindle size in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **33**, 27–43.
- Higgins DM, Nannas NJ, Dawe RK** (2016). The maize *divergent spindle-1 (dv1)* gene encodes a Kinesin-14A motor protein required for meiotic spindle pole organization. *Front Plant Sci* **7**, 1277.
- Hiwatashi Y, Obara M, Sato Y, Fujita T, Murata T, Hasebe M** (2008). Kinesins are indispensable for interdigitation of phragmoplast microtubules in the Moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* **20**, 3094–3106.
- Hiwatashi Y, Sato Y, Doonan JH** (2014). Kinesins have a dual function in organizing microtubules during both tip growth and cytokinesis in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* **26**, 1256–1266.
- Ho CMK, Hotta T, Guo FL, Roberson RW, Lee YRJ, Liu B** (2011). Interaction of antiparallel microtubules in the phragmoplast is mediated by the microtubule-associated protein MAP65-3 in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **23**, 2909–2923.
- Hu CK, Coughlin M, Field CM, Mitchison TJ** (2011). KIF4 regulates midzone length during cytokinesis. *Curr Biol* **21**, 815–824.
- Huang YC, Wang HH, Huang X, Wang Q, Wang JC, An D, Li JQ, Wang WQ, Wu YR** (2019). Maize VKS1 regulates mitosis and cytokinesis during early endosperm development. *Plant Cell* **31**, 1238–1256.
- Itoh R, Fujiwara M, Yoshida S** (2001). Kinesin-related proteins with a mitochondrial targeting signal. *Plant Physiol* **127**, 724–726.
- Iwata S, Morikawa M, Takei Y, Hirokawa N** (2020). An activity-dependent local transport regulation via degradation and synthesis of KIF17 underlying cognitive flexibility. *Sci Adv* **6**, eabc8355.
- Jones MA, Raymond MJ, Smirnov N** (2006). Analysis of the root-hair morphogenesis transcriptome reveals the molecular identity of six genes with roles in root-hair development in *Arabidopsis*. *Plant J* **45**, 83–100.
- Kadota A, Yamada N, Suetsugu N, Hirose M, Saito C, Shoda K, Ichikawa S, Kagawa T, Nakano A, Wada M** (2009). Short actin-based mechanism for light-directed chloroplast movement in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 13106–13111.
- Kawahara M, Kagawa T, Oikawa K, Suetsugu N, Miyao M, Wada M** (2002). Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. *Nature* **420**, 829–832.
- Kong ZS, Ioki M, Braybrook S, Li SD, Ye ZH, Lee YRJ, Hotta T, Chang A, Tian J, Wang GD, Liu B** (2015). Kinesin-4 functions in vesicular transport on cortical microtubules and regulates cell wall mechanics during cell elongation in plants. *Mol Plant* **8**, 1011–1023.
- Lane J, Allan V** (1998). Microtubule-based membrane movement. *Biochim Biophys Acta* **1376**, 27–55.
- Lawrence CJ, Dawe RK, Christie KR, Cleveland DW, Dawson SC, Endow SA, Goldstein LSB, Goodson HV, Hirokawa N, Howard J, Malmberg RL, McIntosh JR, Miki H, Mitchison TJ, Okada Y, Reddy ASN, Saxton WM, Schliwa M, Scholey JM, Vale RD, Walczak CE, Wordeman L** (2004). A standardized kinesin nomenclature. *J Cell Biol* **167**, 19–22.
- Lee YRJ, Giang HM, Liu B** (2001). A novel plant kinesin-related protein specifically associates with the phragmoplast organelles. *Plant Cell* **13**, 2427–2439.
- Lee YRJ, Li Y, Liu B** (2007). Two *Arabidopsis* phragmoplast-associated kinesins play a critical role in cytokinesis during male gametogenesis. *Plant Cell* **19**, 2595–2605.
- Lee YRJ, Liu B** (2000). Identification of a phragmoplast-associated kinesin-related protein in higher plants. *Curr Biol* **10**, 797–800.
- Lee YRJ, Liu B** (2004). Cytoskeletal motors in *Arabidopsis*. Sixty-one kinesins and seventeen myosins. *Plant Physiol* **136**, 3877–3883.
- Lee YRJ, Qiu WH, Liu B** (2015). Kinesin motors in plants: from subcellular dynamics to motility regulation. *Curr Opin Plant Biol* **28**, 120–126.
- Li J, Jia JF, Qian Q, Yun YY, Zhang C, Xiao J, Du C, Luo W, Zou GX, Chen ML, Huang YQ, Feng YQ, Cheng ZK, Yuan M, Chong K** (2011). Mutation of rice *BC12/GDD1*, which encodes a kinesin-like protein that binds to a GA biosynthesis gene promoter, leads to dwarfism with impaired cell elongation. *Plant Cell* **23**, 628–640.
- Li YF, Deng ZG, Kamisugi Y, Chen ZR, Wang JJ, Han X, Wei YX, He H, Terzaghi W, Cove DJ, Cuming AC, Chen HD** (2021). A minus-end directed kinesin motor directs gravitropism in *Physcomitrella patens*. *Nat Commun* **12**, 4470.
- Malcos JL, Cyr RJ** (2011). An ungrouped plant kinesin accumulates at the preprophase band in a cell cycle-

- dependent manner. *Cytoskeleton* **68**, 247–258.
- Marcus AI, Li W, Ma H, Cyr RJ** (2003). A kinesin mutant with an atypical bipolar spindle undergoes normal mitosis. *Mol Biol Cell* **14**, 1717–1726.
- McFarlane HE, Döring A, Persson S** (2014). The cell biology of cellulose synthesis. *Annu Rev Plant Biol* **65**, 69–94.
- Miki H, Okada Y, Hirokawa N** (2005). Analysis of the kinesin superfamily: insights into structure and function. *Trends Cell Biol* **15**, 467–476.
- Mineyuki Y** (1999). The preprophase band of microtubules: its function as a cytokinetic apparatus in higher plants. *Int Rev Cytol* **187**, 1–49.
- Moschou PN, Gutierrez-Beltran E, Bozhkov PV, Smerthenko A** (2016). Separase promotes microtubule polymerization by activating CENP-E-related kinesin Kin7. *Dev Cell* **37**, 350–361.
- Moschou PN, Smerthenko AP, Minina EA, Fukada K, Savenkov EI, Robert S, Hussey PJ, Bozhkov PV** (2013). The caspase-related protease separase (EXTRA SPINDLE POLES) regulates cell polarity and cytokinesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **25**, 2171–2186.
- Müller S, Han SC, Smith LG** (2006). Two kinesins are involved in the spatial control of cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol* **16**, 888–894.
- Myers SM, Collins I** (2016). Recent findings and future directions for interpolar mitotic kinesin inhibitors in cancer therapy. *Future Med Chem* **8**, 463–489.
- Nakamura M, Toyota M, Tasaka M, Morita MT** (2011). An *Arabidopsis* E3 ligase, SHOOT GRAVITROPISM 9, modulates the interaction between statoliths and F-actin in gravity sensing. *Plant Cell* **23**, 1830–1848.
- Nebenführ A, Dixit R** (2018). Kinesins and myosins: molecular motors that coordinate cellular functions in plants. *Annu Rev Plant Biol* **69**, 329–361.
- Ni CZ, Wang HQ, Xu T, Qu Z, Liu GQ** (2005). AtKP1, a kinesin-like protein, mainly localizes to mitochondria in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Res* **15**, 725–733.
- Nishihama R, Ishikawa M, Araki S, Soyano T, Asada T, Machida Y** (2001). The NPK1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase is a regulator of cell-plate formation in plant cytokinesis. *Genes Dev* **15**, 352–363.
- Nishihama R, Soyano T, Ishikawa M, Araki S, Tanaka H, Asada T, Irie K, Ito M, Terada M, Banno H, Yamazaki Y, Machida Y** (2002). Expansion of the cell plate in plant cytokinesis requires a kinesin-like protein/MAPKKK complex. *Cell* **109**, 87–99.
- Oda Y, Fukuda H** (2013). Rho of plant Gtpase signaling regulates the behavior of *Arabidopsis* kinesin-13A to establish secondary cell wall patterns. *Plant Cell* **25**, 4439–4450.
- Oh SA, Allen T, Kim GJ, Sidorova A, Borg M, Park SK, Twell D** (2012). *Arabidopsis* fused kinase and the Kinesin-12 subfamily constitute a signaling module required for phragmoplast expansion. *Plant J* **72**, 308–319.
- Oh SA, Bourdon V, Das Pal M, Dickinson H, Twell D** (2008). *Arabidopsis* kinesins HINKEL and TETRASPORE act redundantly to control cell plate expansion during cytokinesis in the male gametophyte. *Mol Plant* **1**, 794–799.
- Olszewski N, Sun TP, Gubler F** (2002). Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell* **14**, S61–S80.
- Pan RQ, Lee YRJ, Liu B** (2004). Localization of two homologous *Arabidopsis* kinesin-related proteins in the phragmoplast. *Planta* **220**, 156–164.
- Preuss ML, Kovar DR, Lee YRJ, Staiger CJ, Delmer DP, Liu B** (2004). A plant-specific kinesin binds to actin microfilaments and interacts with cortical microtubules in cotton fibers. *Plant Physiol* **136**, 3945–3955.
- Rath O, Kozielski F** (2012). Kinesins and cancer. *Nat Rev Cancer* **12**, 527–539.
- Sasabe M, Machida Y** (2012). Regulation of organization and function of microtubules by the mitogen-activated protein kinase cascade during plant cytokinesis. *Cytoskeleton* **69**, 913–918.
- Song Y, Li G, Nowak J, Zhang XQ, Xu DB, Yang XJ, Huang GQ, Liang WQ, Yang LT, Wang CH, Bulone V, Nikoloski Z, Hu JP, Persson S, Zhang DB** (2019). The rice actin-binding protein RMD regulates light-dependent shoot gravitropism. *Plant Physiol* **181**, 630–644.
- Strompen G, El Kasmí F, Richter S, Lukowitz W, Assaad FF, Jürgens G, Mayer U** (2002). The *Arabidopsis* HINKEL gene encodes a kinesin-related protein involved in cytokinesis and is expressed in a cell cycle-dependent manner. *Curr Biol* **12**, 153–158.
- Suetsugu N, Yamada N, Kagawa T, Yonekura H, Uyeda TQP, Kadota A, Wada M** (2010). Two kinesin-like proteins mediate actin-based chloroplast movement in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**, 8860–8865.
- Tian J, Han LB, Feng ZD, Wang GD, Liu WW, Ma YP, Yu YJ, Kong ZS** (2015). Orchestration of microtubules and the actin cytoskeleton in trichome cell shape determination by a plant-unique kinesin. *eLife* **4**, e09351.
- Tseng KF, Wang P, Lee YRJ, Bowen J, Gicking AM, Guo LJ, Liu B, Qiu WH** (2018). The preprophase band-asso-

- ciated Kinesin-14 OsKCH2 is a processive minus-end-directed microtubule motor. *Nat Commun* **9**, 1067.
- Vale RD** (2003). The molecular motor toolbox for intracellular transport. *Cell* **112**, 467–480.
- Vale RD, Fletterick RJ** (1997). The design plan of kinesin motors. *Annu Rev Cell Dev Biol* **13**, 745–777.
- Vale RD, Reese TS, Sheetz MP** (1985). Identification of a novel force-generating protein, kinesin, involved in microtubule-based motility. *Cell* **42**, 39–50.
- Walker KL, Müller S, Moss D, Ehrhardt DW, Smith LG** (2007). *Arabidopsis* TANGLED identifies the division plane throughout mitosis and cytokinesis. *Curr Biol* **17**, 1827–1836.
- Wang HQ, Liu RJ, Wang JW, Wang P, Shen PWY, Liu GQ** (2014). The *Arabidopsis* kinesin gene *AtKin-1* plays a role in the nuclear division process during megagametogenesis. *Plant Cell Rep* **33**, 819–828.
- Wick SM, Seagull RW, Osborn M, Weber K, Gunning BES** (1981). Immunofluorescence microscopy of organized microtubule arrays in structurally stabilized meristematic plant cells. *J Cell Biol* **89**, 685–690.
- Xu XM, Zhao Q, Rodrigo-Peirís T, Brkljacic J, He CS, Müller S, Meier I** (2008). RanGAP1 is a continuous marker of the *Arabidopsis* cell division plane. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 18637–18642.
- Yamada M, Tanaka-Takiguchi Y, Hayashi M, Nishina M, Goshima G** (2017). Multiple Kinesin-14 family members drive microtubule minus end-directed transport in plant cells. *J Cell Biol* **216**, 1705–1714.
- Yang CY, Spielman M, Coles JP, Li Y, Ghelani S, Bourdon V, Brown RC, Lemmon BE, Scott RJ, Dickinson HG** (2003). *TETRASPORE* encodes a kinesin required for male meiotic cytokinesis in *Arabidopsis*. *Plant J* **34**, 229–240.
- Yang GH, Gao P, Zhang H, Huang SJ, Zheng ZL** (2007). A mutation in *MRH2* kinesin enhances the root hair tip growth defect caused by constitutively activated ROP2 small GTPase in *Arabidopsis*. *PLoS One* **2**, e1074.
- Yang XY, Chen ZW, Xu T, Qu Z, Pan XD, Qin XH, Ren DT, Liu GQ** (2011). *Arabidopsis* kinesin KP1 specifically interacts with VDACC3, a mitochondrial protein, and regulates respiration during seed germination at low temperature. *Plant Cell* **23**, 1093–1106.
- Yin XL, Takei Y, Kido MA, Hirokawa N** (2011). Molecular motor KIF17 is fundamental for memory and learning via differential support of synaptic NR2A/2B levels. *Neuron* **70**, 310–325.
- Yuan M, Shaw PJ, Warn RM, Lloyd CW** (1994). Dynamic reorientation of cortical microtubules, from transverse to longitudinal, in living plant cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**, 6050–6053.
- Zhang M, Zhang BC, Qian Q, Yu YC, Li R, Zhang JW, Liu XL, Zeng DL, Li JY, Zhou YH** (2010). Brittle Culm 12, a dual-targeting Kinesin-4 protein, controls cell-cycle progression and wall properties in rice. *Plant J* **63**, 312–328.
- Zhong RQ, Burk DH, Morrison III WH, Ye ZH** (2002). A kinesin-like protein is essential for oriented deposition of cellulose microfibrils and cell wall strength. *Plant Cell* **14**, 3101–3117.
- Zhou SR, Wang Y, Li WC, Zhao ZG, Ren YL, Wang Y, Gu SH, Lin QB, Wang D, Jiang L, Su N, Zhang X, Liu LL, Cheng ZJ, Lei CL, Wang JL, Guo XP, Wu FQ, Ikehashi H, Wang HY, Wan JM** (2011). *Pollen Semi-Sterility 1* encodes a kinesin-1-like protein important for male meiosis, anther dehiscence, and fertility in rice. *Plant Cell* **23**, 111–129.
- Zhu CM, Dixit R** (2012). Functions of the *Arabidopsis* kinesin superfamily of microtubule-based motor proteins. *Protoplasma* **249**, 887–899.
- Zhu CM, Ganguly A, Baskin TI, McClosky DD, Anderson CT, Foster C, Meunier KA, Okamoto R, Berg H, Dixit R** (2015). The Fragile Fiber 1 kinesin contributes to cortical microtubule-mediated trafficking of cell wall components. *Plant Physiol* **167**, 780–792.
- Zou JJ, Zheng ZY, Xue S, Li HH, Wang YR, Le J** (2016). The role of *Arabidopsis* Actin-Related Protein 3 in amyloplast sedimentation and polar auxin transport in root gravitropism. *J Exp Bot* **67**, 5325–5337.

Plant Kinesin: from Microtubule Arrays to Physiological Regulation

Yunhui Wang, Yifan Wang, Jiayu Lin, Jinhong Li, Shien Yao, Xiangchi Feng
Zhenlin Cao, Jun Wang, Meina Li*

*Innovative Center of Molecular Genetics and Evolution, School of Life Sciences, Guangzhou University,
Guangzhou 510006, China*

Abstract Kinesins are molecular motors that move along microtubules tracks, catalyze the hydrolysis of ATP to ADP, convert the chemical energy stored in ATP molecules into a mechanical force efficiently, and play important roles in various life activities such as cell morphogenesis, cell division, cell movement, intracellular transport, and signal transduction. Plant kinesin research lag behind that of animals and fungi, not only because plants have evolved a unique kinesin family, but also have more members than that of animals. Here we summarize the most recent advancements made towards understanding kinesin functions in the dynamic organization of microtubule arrays, including cortical microtubules and mitotic pre-prophase band, spindle apparatus and phragmoplast, and the regulation of plant physiological activities. We also performed a systematic analysis, classification and functional prediction of kinesins in soybean, the important cash crop, and found that the numbers of soybean kinesins are largely expanded. Taking advantage of the soybean transcriptome data in the public database, the functions of some soybean kinesins were predicted, to provide some clues for the study of kinesin functions in soybean and other crops.

Key words kinesin, microtubule arrays, physiological regulation, soybean

Wang YH, Wang YF, Lin JY, Li JH, Yao SE, Feng XC, Cao ZL, Wang J, Li MN (2022). Plant kinesin: from microtubule arrays to physiological regulation. *Chin Bull Bot* **57**, 358–374.

* Author for correspondence. E-mail: limeina@gzhu.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)