

· 热点评述 ·

柳暗花明：胞外生长素信号感受的新突破

孔祥培, 张蒙悦, 丁兆军^{*}

山东大学生命科学学院, 植物发育与环境适应生物学教育部重点实验室, 青岛 266237

摘要 生长素在植物生长发育过程中发挥重要作用, 其信号转导机制一直是植物学领域关注的热点。前期研究表明, ABP1-TMK分子模块参与胞外生长素信号感受, 但ABP1作为生长素受体备受争议。近期, 福建农林大学徐通达团队和杨贞标团队鉴定到ABL蛋白作为生长素结合蛋白参与胞外生长素信号感受。与传统的功能冗余不同, ABL和ABP1通过蛋白结构的相似性实现功能补偿效应, 进而与TMK在细胞膜上形成复合体, 作为胞外生长素的共受体介导生长素信号驱动的快速反应。该研究深入解析了胞外生长素信号感受的重要机制, 是生长素研究领域的重大突破。

关键词 生长素, 生长素受体, ABL1, ABL2, ABP1, TMK

孔祥培, 张蒙悦, 丁兆军 (2023). 柳暗花明: 胞外生长素信号感受的新突破. 植物学报 58, 861–865.

生长素作为最早被发现的植物激素, 在植物生长发育过程中发挥核心作用。生长素通过调节细胞伸长、细胞分裂以及细胞分化参与一系列生长发育过程, 如胚胎极性建成、维管束分化、顶端优势, 以及向光反应和重力响应等重要生物学过程(Fendrych et al., 2016; Serre et al., 2022; Yu et al., 2022)。

生长素的功能依赖于其信号被感知后经由信号转导途径转换为下游复杂多样的反应。细胞核内生长素信号转导通路为: 细胞内的生长素被其受体TIR1 (TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1)及其同源受体蛋白AFBs (AUXIN SIGNALING F-BOX PROTEINS)识别后, 促进共受体AUX/IAA转录抑制因子的泛素化降解, 从而释放被抑制的生长素响应因子ARFs (AUXIN RESPONSE FACTORS), 调控基因转录, 并介导生长素信号的传递(Dharmasiri et al., 2005; Kepinski and Leyser, 2005)。

核内信号通路TIR1/AFB-Aux/IAA-ARF清晰地解释了生长素的感受、转导和响应过程。然而, 细胞内存在生长素快速响应, 如细胞膜去极化、离子跨膜流动、细胞快速增大、根部钙信号振荡, 这些响应过程往往发生在生长素处理后数分钟内(Li et al., 2021; Cui et al., 2023)。此外, 研究发现生长素可以非常迅

速地诱导约1 000种蛋白质的磷酸化(Friml et al., 2022)。上述生长素调控的快速响应过程很难通过核内信号通路TIR1/AFB-Aux/IAA-ARF介导的转录调控来实现, 而细胞膜上起始的生长素信号通路很可能参与这些快速响应过程。

ABP1 (AUXIN BINDING PROTEIN 1)是首个被发现的生长素结合蛋白, 广泛存在于高等和低等陆地植物的基因组中, 但其作为生长素受体一直存在争议。生化研究表明, ABP1具有较强的生长素结合能力(Woo et al., 2002), 能够与膜受体激酶TMK (TRANSMEMBRANE KINASE)结合形成复合体(Xu et al., 2014)。早期研究表明, ABP1功能缺失突变体 $abp1-1$ (T-DNA插入突变体)导致拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)胚胎致死, 说明ABP1在植物胚胎发生过程中发挥重要作用(Chen et al., 2001)。为了揭示ABP1的生物学功能, Chen等(2001)利用反义RNA沉默技术创制了ABP1沉默株系, 发现生长素对该株系细胞伸长的诱导作用几乎完全被抑制。为阐明ABP1在植物发育特定阶段的功能, Braun等(2008)和Tomas等(2009)利用乙醇诱导型反义RNA沉默技术降低ABP1的表达量, 发现ABP1在植物地上部和地下部发育中均发挥重要作用。利用这些沉默株系, Robert等(2010)发现

收稿日期: 2023-11-08; 接受日期: 2023-11-14

基金项目: 国家自然科学基金(No.32170311)和山东大学青年交叉创新群体(No.2020QNQT014)

* 通讯作者。E-mail: dingzhaojun@sdu.edu.cn

ABP1参与生长素调控PIN1蛋白的内吞过程(Robert et al., 2010)。为了进一步探明ABP1的功能, Xu等(2010)创制了1个生长素结合位点突变的弱突变体 $abp1-5$, 该突变体和反义RNA沉默株系均明显抑制生长素诱导的ROP (RHO OF PLANT)磷酸化以及叶片表皮细胞生长(Xu et al., 2010)。然而, 美国加州大学圣地亚哥分校的赵云德团队在2015年分别通过CRISPR介导的基因编辑和T-DNA插入获得了2个新的 $abp1$ 突变体 $abp1-c1$ 和 $abp1-TD1$, 但未发现突变体表现出胚胎致死和其它明显的植物生长发育缺陷表型(Gao et al., 2015)。同时 $abp1-5$ 的基因组背景复杂, 具有8 500个SNP位点, 无法确认其发育缺陷表型与突变位点是否连锁(Gao et al., 2015)。研究还表明 $abp1-1$ 突变体中胚胎致死表型并非由ABP1突变导致, 而是由于其邻近基因 $BSM/At4g02990$ 的破坏所致(Dai et al., 2015)。同时, 有报道显示转入ABP1基因无法回补 $abp1$ 突变体原有的胚胎致死表型(Grone et al., 2015)。这些研究结果挑战了ABP1在生长素信号转导和植物发育调控中的重要性。

研究表明, TMK家族蛋白在植物生长发育和生长素响应中发挥至关重要的作用, 其多突变体也具有非常强的表型(Cui et al., 2023)。2022年, 奥地利科学技术研究院Jiří Friml课题组发现, $abp1$ 和 $tmk1$ 突变体在生长素诱导的拟南芥快速磷酸化反应和管道化方面表现出类似的缺陷, 同时发现生长素与ABP1结合为这些生长素反应所必需(Friml et al., 2022)。这再次证实ABP1在TMK依赖的生长素感知/信号转导中发挥作用。虽然如此, 鉴于 $abp1$ 单突变体表型较弱, 且拟南芥中未发现其功能冗余蛋白, 是否有其它受体蛋白参与生长素胞外感知仍是一个悬而未决的重要科学问题。

近期, 福建农林大学徐通达团队与杨贞标团队合作, 通过生物化学和遗传学等分析手段深入阐明了ABL1 (ABP1-LIKE PROTEIN 1)和ABL2感受胞外生长素信号的分子机制, 解答了这一重要科学问题(图1)(Yu et al., 2023)。借助免疫沉淀偶联质谱分析, Yu等(2023)鉴定了1个与TMK1特异互作且与ABP1同属germin-like家族的蛋白, 将其命名为ABL1; 通过同源序列比对找到另一个同源蛋白ABL2。蛋白质结构预测发现这2个蛋白与ABP1相似, 均具有1个保守的生长素结合基序, 暗示ABL1和ABL2可能具有与

ABP1类似的功能。随后, 通过微量热泳动等技术证实ABL1与活性生长素直接结合, 而生长素结合基序突变的ABL1-M2不能结合生长素。有意思的是, TMK1的胞外结构域能直接结合生长素, 当TMK1胞外结构域与ABL1或ABL1蛋白混合后, 其与生长素的结合能力显著增强, 证明两者为生长素的共受体。Yu等(2023)利用免疫荧光染色和免疫金标实验证实ABL1定位于外质体, 进一步借助微流控技术结合实时荧光能量共振转移实验, 证明生长素在1分钟内诱导TMK1和ABL1在细胞膜上结合, 形成蛋白复合体。而TMK1的胞外结构域与ABL1或ABL1的混合物比ABL1或ABL1单个蛋白表现出更高的生长素结合亲和力, 进一步证实该复合体共同行使生长素受体的功能。

Yu等(2023)通过表型分析发现, $abl1/abl2$ 双突变体较 $abp1$ 单突变体具有更强的生长素缺陷表型, 而 $abp1/abl1/abl2$ 三突变体的表型更为明显且对生长素不敏感。该缺陷表型能被ABP1和ABL1分别互补, 但不能被生长素结合位点突变的ABP1-5及ABL1-M2互补。上述结果表明, ABL1和ABL2作为主要细胞外生长素受体发挥重要作用, 它们在功能上补偿了ABP1功能的不足。遗传分析表明, $abp1/abl1/tmk1-1/tmk4$ 四突变体的发育缺陷表型比 $abp1/abl1$ 和 $tmk1-1/tmk4$ 双突变体更明显。同时, $abp1/abl1/tmk1-1/tmk4$ 四突变体完全阻断了生长素诱导的ROP激活以及快速生长的表型, 且这些表型也能被ABP1和ABL1分别回补。以上结果表明, ABL1和ABP1通过TMK来调节植物发育和生长素反应。更重要的是, 磷酸化蛋白组学分析发现生长素快速诱导的蛋白磷酸化90%以上依赖于ABL1/ABL2/ABP1。

综上, Yu等(2023)揭示了ABL1和ABL2与TMK的直接协作关系, 解析了ABL1/ABL2-TMK分子模块感受胞外生长素信号的核心机制(图1), 这是生长素信号转导研究领域具有里程碑意义的重要研究成果。该研究不仅阐明了germin-like家族蛋白在生长素信号转导过程中的重要作用, 而且为解决ABP1的功能争议提供了重要证据, 同时加深了人们对生长素信号感受复杂调控机制的理解。然而ABL1/ABL2-TMK介导的生长素信号传递仍然有许多未解决的问题。例如, 生长素是否调控ABL1/ABL2的表达? ABL1/ABL2是否介导生长素诱导的TMK磷酸化以及TMK剪切(Cao et al., 2019)? ABL-TMK与ABP1-TMK模块之间

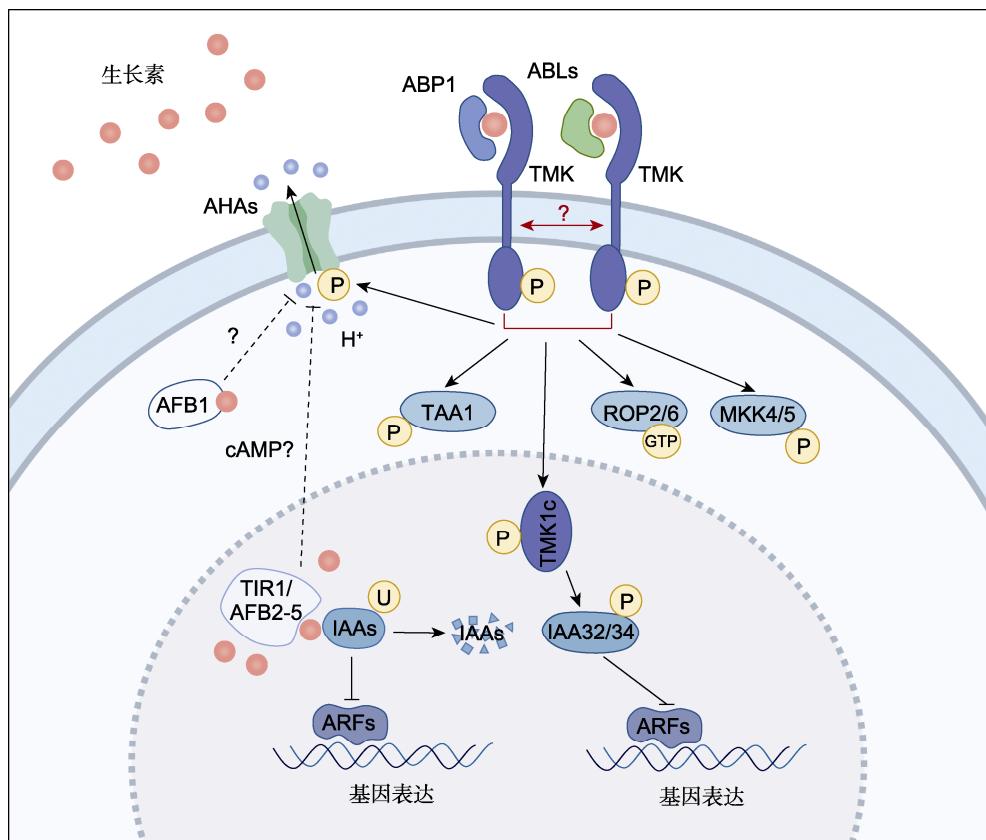


图1 ABLs/ABP1和TMKs作为胞外生长素共受体介导生长素信号驱动的快速反应模型

定位于质外体的ABLs和ABP1蛋白结合生长素之后，与TMK形成共受体复合体，进而促进TMK磷酸化，激活的TMK直接磷酸化一系列下游蛋白，调控植物生长发育。ABL/ABP1-TMK介导的胞外生长素信号转导途径通过磷酸化非典型的IAA32/34与TIR1/AFBs介导的胞内生长素信号转导途径相互作用，调控植物特定的发育过程。

Figure 1 A model of ABLs/ABP1 and TMKs acting as co-receptors of apoplastic auxin to mediate auxin driven rapid response
After binding to auxin, the apoplast-localized ABLs/ABP1 form a co-receptor complex with TMK, which further promotes the phosphorylation of TMK, and the activated TMK kinase domain directly phosphorylates a series of effectors that regulate many developmental processes. The ABL/ABP1-TMK-mediated extracellular auxin signal interacts with TIR1/AFBs mediated intracellular auxin signal transduction pathway to regulate specific developmental processes by phosphorylating non-canonical IAA32/34.

是否存在信号互作？该信号通路在其它物种中是否保守？这些问题都有待进一步解析。

生长素作为小分子化合物可以同时启动胞外和胞内信号通路来调节植物的生长发育，应存在精准的协同机制。奥地利科学技术研究院Jiří Friml团队和美国加州大学圣地亚哥分校的Mark Estelle团队同时证实生长素受体AFB1介导细胞内独立于转录调控的生长素快速反应，如质膜去极化、胞内 Ca^{2+} 峰、质外体碱化以及根的快速生长抑制过程(Chen et al., 2023; Dubey et al., 2023)。此外，最新研究表明，生长素受体TIR1/AFB具有腺苷酸环化酶活性，其产生的cAMP

作为植物第二信使参与生长素的快速反应(Qi et al., 2022)。那么TIR1/AFB介导的胞内生长素快速响应信号转导途径和ABL1/ABL2-TMK介导的胞外信号转导途径如何协同作用？cAMP作为第二信使是否参与胞外生长素的感受？对这些问题的解答将有助于深入解析生长素信号转导的分子机理，并加深人们对生长素调控植物生长发育与生长反应的认识。

参考文献

- Braun N, Wyrzykowska J, Muller P, David K, Couch D, Perrot-Rechenmann C, Fleming AJ (2008). Conditional

- repression of AUXIN BINDING PROTEIN 1 reveals that it coordinates cell division and cell expansion during postembryonic shoot development in *Arabidopsis* and tobacco. *Plant Cell* **20**, 2746–2762.
- Cao M, Chen R, Li P, Yu YQ, Zheng R, Ge DF, Zheng W, Wang XH, Gu YT, Gelová Z, Friml J, Zhang H, Liu RY, He J, Xu TD** (2019). TMK1-mediated auxin signaling regulates differential growth of the apical hook. *Nature* **568**, 240–243.
- Chen HH, Li LX, Zou MX, Qi LL, Friml J** (2023). Distinct functions of TIR1 and AFB1 receptors in auxin signaling. *Mol Plant* **16**, 1117–1119.
- Chen JG, Ullah H, Young JC, Sussman MR, Jones AM** (2001). ABP1 is required for organized cell elongation and division in *Arabidopsis* embryogenesis. *Genes Dev* **15**, 902–911.
- Cui XK, Wang JX, Li K, Lv BS, Hou BK, Ding ZJ** (2023). Protein post-translational modifications in auxin signaling. *J Genet Genomics* doi: 10.1016/j.jgg.2023.07.002.
- Dai XH, Zhang Y, Zhang D, Chen JL, Gao XH, Estelle M, Zhao YD** (2015). Embryonic lethality of *Arabidopsis abp1-1* is caused by deletion of the adjacent *BSM* gene. *Nat Plants* **1**, 15183.
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M** (2005). The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* **435**, 441–445.
- Dubey SM, Han S, Stutzman N, Prigge MJ, Medvecká E, Platré MP, Busch W, Fendrych M, Estelle M** (2023). The AFB1 auxin receptor controls the cytoplasmic auxin response pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant* **16**, 1120–1130.
- Fendrych M, Leung J, Friml J** (2016). TIR1/AFB-Aux/IAA auxin perception mediates rapid cell wall acidification and growth of *Arabidopsis* hypocotyls. *eLife* **5**, e19048.
- Friml J, Gallei M, Gelová Z, Johnson A, Mazur E, Monzer A, Rodriguez L, Roosjen M, Verstraeten I, Živanović BD, Zou MX, Fiedler L, Giannini C, Groneš P, Hrtyan M, Kaufmann WA, Kuhn A, Narasimhan M, Randuch M, Rýdza N, Takahashi K, Tan ST, Teplova A, Kinoshita T, Weijers D, Rakusová H** (2022). ABP1-TMK auxin perception for global phosphorylation and auxin canalization. *Nature* **609**, 575–581.
- Gao YB, Zhang Y, Zhang D, Dai XH, Estelle M, Zhao YD** (2015). Auxin binding protein 1 (ABP1) is not required for either auxin signaling or *Arabidopsis* development. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, 2275–2280.
- Groneš P, Chen X, Simon S, Kaufmann WA, De Rycke R, Nodzyński T, Zažímalová E, Friml J** (2015). Auxin-binding pocket of ABP1 is crucial for its gain-of-function cellular and developmental roles. *J Exp Bot* **66**, 5055–5065.
- Kepinski S, Leyser O** (2005). The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* **435**, 446–451.
- Li LX, Verstraeten I, Roosjen M, Takahashi K, Rodriguez L, Merrin J, Chen J, Shabala L, Smet W, Ren H, Vanneste S, Shabala S, De Rybel B, Weijers D, Kinoshita T, Gray WM, Friml J** (2021). Cell surface and intracellular auxin signaling for H⁺ fluxes in root growth. *Nature* **599**, 273–277.
- Qi LL, Kwiatkowski M, Chen HH, Hoermayer L, Sinclair S, Zou MX, del Genio CI, Kubeš MF, Napier R, Jaworski K, Friml J** (2022). Adenylate cyclase activity of TIR1/AFB auxin receptors in plants. *Nature* **611**, 133–138.
- Robert S, Kleine-Vehn J, Barbez E, Sauer M, Paciorek T, Baster P, Vanneste S, Zhang J, Simon S, Čovanová M, Hayashi K, Dhonukshe P, Yang ZB, Bednarek SY, Jones AM, Luschnig C, Aniento F, Zažímalová E, Friml J** (2010). ABP1 mediates auxin inhibition of clathrin-dependent endocytosis in *Arabidopsis*. *Cell* **143**, 111–121.
- Serre NBC, Kralík D, Yun P, Slouka Z, Shabala S, Fendrych M** (2022). AFB1 controls rapid auxin signaling through membrane depolarization in *Arabidopsis thaliana* root. *Nat Plants* **8**, 1317.
- Tromas A, Braun N, Müller P, Khodus T, Paponov IA, Palme K, Ljung K, Lee JY, Benfey P, Murray JAH, Scheres B, Perrot-Rechenmann C** (2009). The AUXIN BINDING PROTEIN 1 is required for differential auxin responses mediating root growth. *PLoS One* **4**, e6648.
- Woo EJ, Marshall J, Baully J, Chen JG, Venis M, Napier RM, Pickersgill RW** (2002). Crystal structure of auxin-binding protein 1 in complex with auxin. *EMBO J* **21**, 2877–2885.
- Xu TD, Dai N, Chen JS, Nagawa S, Cao M, Li HJ, Zhou ZM, Chen X, De Rycke R, Rakusová H, Wang WY, Jones AM, Friml J, Patterson SE, Bleeker AB, Yang ZB** (2014). Cell surface ABP1-TMK auxin-sensing complex activates ROP GTPase signaling. *Science* **343**, 1025–1028.
- Xu TD, Wen MZ, Nagawa S, Fu Y, Chen JG, Wu MJ, Perrot-Rechenmann C, Friml J, Jones AM, Yang ZB** (2010). Cell surface- and Rho GTPase-based auxin signaling controls cellular interdigititation in *Arabidopsis*. *Cell* **143**, 99–110.
- Yu YQ, Tang WX, Lin WW, Zhou X, Li Y, Chen R, Zheng R, Qin GC, Cao WH, Pérez-Henríquez P, Huang RF, Ma J, Qiu QQ, Xu ZW, Zou AL, Lin JC, Jiang LW, Xu TD, Yang ZB** (2023). ABLs and TMKs are co-receptors for

extracellular auxin. *Cell* doi: 10.1016/j.cell.2023.10.017.
Yu ZP, Zhang F, Friml J, Ding ZJ (2022). Auxin signaling:

research advances over the past 30 years. *J Integr Plant Biol* **64**, 371–392.

There Is a Way Out-new Breakthroughs in Extracellular Auxin Sensing

Xiangpei Kong, Mengyue Zhang, Zhaojun Ding*

Key Laboratory of Plant Development and Environmental Adaptation Biology, Ministry of Education, College of Life Sciences, Shandong University, Qingdao 266237, China

Abstract Auxin plays an important role in plant growth and development and its signal transduction has always been the focus of attention in the field of plant biology. AUXIN BINDING PROTEIN 1 (ABP1)-TRANSMEMBRANE KINASE (TMK) molecular module is involved in the extracellular auxin perception. In recent years, ABP1 has been controversial as an auxin receptor. Recently, Tongda Xu's team and Zhenbiao Yang's team from Fujian Agriculture and Forestry University identified ABP1-LIKE PROTEIN (ABL) as the auxin binding proteins involved in the extracellular auxin perception. Different from traditional functional redundancy, ABL and ABP1 achieve functional compensation effect through protein structure similarity, and then form complex with TMK at the plasma membrane, acting as co-receptors of apoplastic auxin to mediate auxin driven rapid response. This study deeply dissects the mechanism of extracellular auxin sensing, which is a breakthrough in the field of auxin signaling transduction.

Key words auxin, auxin receptor, ABL1, ABL2, ABP1, TMK

Kong XP, Zhang MY, Ding ZJ (2023). There is a way out-new breakthroughs in extracellular auxin sensing. *Chin Bull Bot* **58**, 861–865.

* Author for correspondence. E-mail: dingzhaojun@sdu.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)