

专题介绍

植物肽生长因子 PSK- α 的研究进展^①

关春峰 葛志强 元英进^②

(天津大学化工学院制药工程系 天津 300072)

摘要 PSK- α 是一种磺化五肽生长因子, 是植物细胞中发现的第一个肽类生长因子, 对高等植物细胞的增殖和分化具有重要的作用。近年来, 有关 PSK- α 的研究方兴未艾, 在基因水平、作用位点以及作用机制等方面取得了许多新的进展, 本文综述了这方面的研究进展。

关键词 生长因子, 植物, 肽类

Advances in Use of Plant Peptide Growth Factor PSK- α

GUAN Chun-Feng GE Zhi-Qiang YUAN Ying-Jin^②

(Department of Pharmaceutical Engineering, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072)

Abstract Phytosulfokine- α (PSK- α) is a sulfated pentapeptide promotive factor of cell proliferation found in plant cells, which plays a key role in proliferation and differentiation of cells in higher-level plants. This paper summarizes the researches on the genes, binding sites and active mechanism of PSK- α .

Key words Growth factor, Plant, Peptide

PSK- α (phytosulfokine- α) 是 1996 年在芦笋叶肉细胞的条件培养基中分离出的一种磺化五肽生长因子 (Matsubayashi and Sakagami, 1996), 对促进高等植物细胞的增殖和分化具有重要的作用。PSK- α 的结构是磺氨基五肽 [Tyr(SO₃H)-Ile-Tyr(SO₃H)-Thr-Glu], 去掉其 C 末端的 Glu 就成为只有 4 个氨基酸的 PSK- β , 但其活性很低, 说明 C 端的 Glu 对 PSK- α 生物活性的维持是非常重要的。研究发现, 水稻中 PSK- α 的前体 PP-PSK 含有 89 个氨基酸残基, 在 N 末端有一段由 22 个氨基酸残基组

成的疏水信号肽与动物多肽激素类似 (Yang *et al.*, 1999), 说明其作用机制可能具有普遍性。目前在十几种双子叶及单子叶植物细胞培养体系中均发现了 PSK- α , 而且在整株植物中的叶、顶端分生组织和胚轴中也发现了 PSK- α 的表达, 说明 PSK- α 在高等植物中是广泛存在的。近年来国外研究者对 PSK- α 的研究逐渐深入, 在作用机制、编码基因以及前体肽氨基酸序列方面都有一些新进展。因此本文将就近年来有关 PSK- α 研究的最新进展做一简要综述。

① 国家自然科学基金重点项目 (20236040) 资助。

② 通讯作者。Author for correspondence. E-mail: yjyuan@tju.edu.cn

收稿日期: 2004-06-02 接受日期: 2004-12-08 责任编辑: 白羽红

1 PSK- α 的功能及其他因子的辅助作用

1.1 PSK- α 的功能

PSK- α 最基本的作用就是促进细胞分裂和增殖。例如,分散细胞的增殖是严格依赖于细胞密度的,只有在特定条件下低密度培养细胞才会生长,而PSK- α 在 $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度下就可以使低密度芦笋单叶肉细胞进行有丝分裂。此外,PSK- α 还可以促进植物形态细胞的形成。众所周知,种子植物的生长包含有胚胎开始和胚后发育,即在受精之后受精卵要经过细胞分化来产生胚胎组织,而高等植物胚后发育是通过根和叶的顶点分化组织产生新细胞而进行的。研究发现,PSK- α 可以促使一些高等植物,如百日草叶肉细胞的分化,还可以促使从百日草培养细胞中分离出来的叶肉细胞木质部的分化(Matsubayashi *et al.*, 1999),促使黄瓜胚轴组织不定根的形成(Yamakawa *et al.*, 1998b),以及在特定的培养基中还可促进胡萝卜肉体胚芽的形成(Hanai *et al.*, 2000a),当在胡萝卜肉体形成胚胎体系中加入PSK- α ,则可以增加肉体晶胚形成的数量(Kobayashi *et al.*, 1999)。近来研究还发现,PSK- α 在聚乙二醇存在下还可以强烈地刺激日本雪松肉体胚芽的形成(Ujino *et al.*, 2003)。PSK- α 除了促使植物细胞增生和分化以外,还有其他的一些生物活性。例如,可以强化黄瓜子叶中叶绿素的合成(Yamakawa *et al.*, 1998a),还可促使在黑暗和高温培养条件下拟南芥幼苗的生长和叶绿素含量的提高(Yamakawa *et al.*, 1999)。PSK- α 对花粉种群效应也有一定的作用,即对促进依赖花粉密度的体外花粉的萌芽有一定的作用(Matsubayashi and Sakagami, 2000a)。PSK- α 对有些植物次级代谢产物的产生也是有利的,如PSK- α 可以使*Atropa belladonna*毛根培养体系中产生的胆碱量增加,以及促进天仙子胺量的增多(Ishise *et al.*, 2002)。但是,PSK-

α 的这些生物活性并不是其单一作用的结果。最近研究发现植物生长素及细胞分裂素等因子在PSK- α 发生作用的同时起到了必要的辅助作用。

1.2 其他因子的辅助作用

植物生长素在植物的生长和进化过程中起到很关键的作用。在正常情况下,细胞分裂和愈伤组织的诱导均需要生长素和细胞分裂素同时存在。在悬浮培养的芦笋叶肉细胞中,如果除去1-萘乙酸和6-苄基腺嘌呤则检测不到PSK- α 表达,说明在正常情况下生长素对PSK- α 的产生是必需的。另外,分离出来的芦笋叶肉细胞很快停留在 G^0/G 期,只有当1-萘乙酸、6-苄基腺嘌呤和PSK- α 三种因子齐全时,细胞周期才能继续循环,说明PSK- α 的生物效应可能与传递生长素信号紧密相关(Matsubayashi *et al.*, 1998)。但是,尽管对PSK- α 促进培养植物细胞的生长机制有一些研究,而且自从PSK- α 发现以后,它的作用机制也越来越被人们所重视,植物生长素和多肽生长因子的相互关系还不是很清楚。

近来,研究人员对PSK- α 对胡萝卜非形成胚胎细胞在添加各种浓度的植物生长素NAA和IAA时对细胞增生变化的影响做了一些研究,而且还进一步探讨了PSK- α 表达量和生长素的关系(Eun *et al.*, 2003)。结果发现,在植物生长素浓度较高的情况下,PSK- α 刺激细胞增生的作用不是很明显,这可能是由于细胞的高度分裂活动造成的,因为细胞自身可以产生足够的PSK- α 来促使细胞分裂。但是在植物生长素浓度较低的情况下PSK- α 可以促进植物细胞的增生,而在没有植物生长素的情况下PSK- α 则不能促使植物的增生。说明PSK- α 促进细胞的增生需要植物生长素的协同作用,而且植物激素对PSK- α 的合成表达是十分必要的。对于植物生长素在较高或较低的浓度下PSK- α 所产生不同作用的原因还不是很清楚。但是PSK- α 也是特异的结合到

细胞膜上的, 可能有自己一套独立的信号转导途径, 不会被外源的植物生长素和植物分裂素所影响。

2 PSK- α 受体的证实

在过去的几年里对 PSK- α 受体方面的研究已经进行很多工作, 最开始用 ^{35}S 标记的 PSK- α 处理悬浮培养的水稻细胞, 显示细胞表面存在高亲和力的和低亲和力的两种 PSK- α 特异性的结合位点 (Matsubayashi *et al.*, 1997)。随后, 用 ^3H PSK- α 研究发现在细胞膜上的这些结合位点与 PSK- α 的结合具有饱和和效应, 结合的 PSK- α 也能够脱离受体, 该可逆过程依赖于微环境的 pH 值 (Matsubayashi and Sakagami, 1999)。接着又用一种人工合成的 PSK- α 类似物作为光亲和性探针, 研究了在植物细胞增殖过程中细胞膜上是否存在一条由 PSK- α 调节的信号转导途径, 经过电泳分析发现细胞膜上有 2 种分子量分别为 120 kD 和 160 kD 的膜蛋白可被标记 (Matsubayashi and Sakagami, 2000b), 说明可能有与 PSK- α 相关联的受体存在。最近, 应用基于配体的亲和色谱技术对这一发现进行了进一步研究, 在胡萝卜细胞的质膜上提纯了 120 kD 的膜蛋白, 这是胡萝卜微粒体部分与 PSK- α 特异关联的蛋白。相应的 cDNA 编码了这个由 1 021 个氨基酸构成的受体激酶, 其分子量为 112 kD, 而且与其他一些植物和动物激素受体的特征相似。这个受体激酶含有一个 N 末端信号肽, 一段富含亮氨酸重复序列 (LRR), 一个单一的跨膜区, 一个细胞质激酶区 (Matsubayashi *et al.*, 2002)。其中分布在胞外的 21 个富含亮氨酸重复序列 (LRR) 对蛋白之间相互作用是极其重要的, 而且 LRR 序列受体激酶 (LRR-RKs) 在植物中包含很大一类的跨膜类受体激酶, 可以调节植物细胞的增殖等许多生理过程 (Torii, 2004)。而在第 17 位和第 18 位的 LRR 被一段 36 位残基的弧状区域所隔开, 在受

体 BRI1 中也有这段弧形区域, 经过证实这个区域对受体的作用是十分重要的。细胞质激酶区含有几乎在所有的真核丝氨酸-苏氨酸激酶中都含有的 12 个子区域, 而且与已知的植物激素受体 BRI1 和 CLV1 含有大部分相同的序列。对这个受体激酶的过量表达可以促进愈伤组织细胞对 PSK- α 的响应而使生长加快。这些实验结果表明, PSK- α 和这个受体激酶的作用是一种配体-受体对的关系, 这是 PSK- α 受体存在的最好证据。此外, 在拟南芥中也发现一种 LRR-受体激酶 *At2g02220*, 胡萝卜的 PSK- α 受体有大部分的氨基酸序列与 *At2g02220* 相同 (Matsubayashi, 2003), PSK- α 受体的发现为研究其作用机制奠定了物质基础。

3 编码 PSK- α 前体的基因

3.1 PSK- α 前体的合成

与大多数动物和酵母中具有的生物活性的肽类物质相似, 目前发现的多肽类植物生长因子都是先以没有活性的大分子前体形式被合成的, 随后在分泌小泡中通过一系列翻译后加工成为活性形式, 经诱导分泌到细胞外, PSK- α 的形成也是这样的。研究发现, 水稻 PSK- α cDNA 编码的 PSK- α 前体 (PP-PSK) 含有 89 个氨基酸残基, 经水解加工后, PP-PSK 即能转变为 PSK- α 。但植物多肽生长因子的加工又与动物多肽激素的加工有一定区别。研究人员曾克隆出了编码单子叶植物水稻细胞 PSK- α 的前体物的基因 *OsPSK* (Yang *et al.*, 2000), 这种基因的表达不仅在体外培养中发现, 在完整植株体系中同样发现了这种基因的表达。在完整植株中, *OsPSK* 基因的转录主要集中在叶和根的分生组织中, 这些地方细胞的增生是非常迅速的。

3.2 编码 PSK- α 前体的基因的特点

近年来, 将已知的 PSK- α 区的氨基酸序列与 BLAST 文库进行序列对比研究, 从拟南芥中找到了 4 种编码 PSK- α 前体的基因, 即

AtPSK1、*AtPSK2*、*AtPSK3* 和 *AtPSK5*, 分别存在于拟南芥染色体 I、II、III 和染色体 V 上, 这些基因都含有 2 个外显子和 1 个内含子。所预测编码的前体在 N 末端也有信号肽, 而且只有一个单一 PSK- α 序列定位接近于羧基末端。与动物和酵母的激素原十分相似, 这两种前体在 PSK- α 序列侧位都有二元取代加工位点。通过对 *AtPSK2* 或 *AtPSK3* cDNA 转基因突变体的研究, 发现在拟南芥细胞中有非自然产物[serine-4]PSK 的分泌与表达, 确认了 *AtPSK2* 和 *AtPSK3* 都编码 PSK- α 的前体。事实上, 通过突变 *AtPSK2* 或 *AtPSK3* cDNAs 产生的[Ser-4]PSK- β 的量要比内生基因产生 PSK- β 的量要多, 这可能是由于对外部基因的高水平表达的结果。而且还有很重要的一点是在这些基因的序列中, 有一个由 8 个氨基酸组成的高度保守序列, 这个保守的 8 氨基酸区域包含有 PSK- α 序列本身和天门冬氨酸残基, 而且被证明对 -1 位酪氨酸磷酸化和 PSK- α 的第一位磷酸化有重要作用。因此, 这个被称作 PSK 域的部分可能对 PSK- α 前体翻译后修饰和 PSK- α 的产生具有重要作用。

尽管在 PSK 域包含有 PSK- α 的序列, 而且其包含有 3 种很保守的氨基酸, 但拟南芥和水稻前体在氨基酸序列水平上的比较表明了 *AtPSK2* 和 *AtPSK3* 只有很小的相似性, 而且与编码水稻 PSK- α 前体的基因 *OsPSK* 也只有很小的相似性。用水稻的 PSK- α 前体 cDNA 作为探针来克隆拟南芥的前体基因并没有得到成功, 说明这两种植物的 PSK- α 前体基因的相似性很低。同时也就说明了在植物体系中, 加工同一种多肽的基因编码存在明显的差异, 这是在动物细胞和酵母中所没有的现象。

第一个 *AtPSK2* 基因外显子包含一个编码大约有半个 PSK- α 前体的区域, 并含有 N 末端区域, 该区域在蛋白分泌过程中起信号肽的

作用, 与动物肽激素作用性质相同。第二个基因外显子有一个编码区, 而且 5 个氨基酸的 PSK- α 序列只是在靠近 C 末端出现一次, 这和水稻 *OsPSK* 的研究是一样的, *AtPSK3* 同样有这些性质。尽管 GT-AG 内含子边缘序列在拟南芥和水稻 PSK 前体中都是保守的, 但是, 编码拟南芥 PSK- α 前体基因(*AtPSK2* 和 *AtPSK3*)的内含子和 *OsPSK* 相比只有 13% 和 22% 的相似性。*OsPSK* cDNA 在 5' 端未转录区域有 16GA 的重复序列, 而 *AtPSK2* cDNA 在未转录 3' 端区域有两个 35 bp 的重复, *AtPSK3* cDNA 则没有这样的重复区域。*AtPSK2* 编码前体包含有 87 个氨基酸, 而且还被推测有 9.6 kD 分子量的分子, 这与水稻 PSK- α 前体是十分相似的。但是, *AtPSK3* 编码前体由 79 个氨基酸构成, 推测带有 8.9 kD 分子量的分子, 因此要小于水稻 PSK- α 的前体和 *AtPSK2* 编码的前体。*AtPSK2* 和 *AtPSK3* 不仅在培养的细胞中被表达, 在整株植物中同样有其表达, 这就表明了 PSK- α 对体外和体内的细胞增殖都起到关键的作用(Yang *et al.*, 2001)。

4 PSK- α 前体氨基酸的同源性

PSK- α 的同源物是一些拥有分泌蛋白作用的 N 末端疏水信号序列特性的小蛋白, 而且在蛋白中间部分有一个酸性区域和一个 C 末端基础区域。基于对蛋白数据库中所有与 PSK- α 相关蛋白序列的分析, 建立了许多前体蛋白的保守特性, 而且这些特性可以和 PSK- α 相关的蛋白的特性进行共享。对 PSK 相关的肽生长因子前体基因的 PSK- α 家族 14 个种属 36 种植物进行了详细的原始序列分析和次级结构的分析, 表明在双子叶和单子叶植物中 PSK- α 都有一些小的基因簇具有同源性(Lorbiecke and Sauter, 2002)。

在原始序列分析中, 找出了序列[E/D/Q]x Cx(2)RRx(3-4)AH[T/L/V]DYIYTQ, 称其为主

要特征序列, 其中大写字母的氨基酸为在所有 PSK 相关蛋白中都不会改变的, x 代表可以改变的氨基酸。特征序列的一部分与以前所识别的 *OsPSK* 生长因子前体是有共同区域的, 即包含 PSK 区 HTDYIYTQ。其中的五肽 YIYTQ 是产生 PSK- α 生长因子活性的主要部分。多数的蛋白都有一个酸性区, 而且还有额外的与 PSK- α 区邻近的保守的氨基酸残基, 其中包括一对在 H[T/L/V]DYIYTQ 特征序列之前的精氨酸和这个特征序列 C 端的第二个基本残基对。对 PSK- α 相关蛋白的次级结构分析表明, 相应蛋白都含有二级结构特征的一致性, 其生物化学性质也有高度保守性。酪氨酸磷酸化是膜蛋白和分泌蛋白的翻译后共同的修饰过程, 五肽 YIYTQ 的 Tyr1 和 Tyr3 的磷酸化对其生物活性是至关重要的 (Hanai *et al.*, 2000b), 而这两个酪氨酸残基在所有的 PSK- α 同源物的序列中都是保守的。磷酸化的酪氨酸通常在一个酸性氨基酸之后, 但也含在酸性区域里。在所有蛋白中, 五肽 YIYTQ 的 -1 位都有一个天冬氨酸, 其对酪氨酸的磷酸化起到一定的作用。研究中还发现在 *OsPSK* 5' 端的未转录区域 (UTR) 有重复的 GAGA 序列, 而 5' 端 *OsPSK2* 的 5'UTR 有 CTC 的重复序列, *OsPSK4* 在 5'UTR 有 AAG 的重复序列。一些来自于其他种属植物的 PSK 基因, 如来自于玉米细胞的 *ZmPSK2*, 高粱细胞的 *SpPSK1*, 拟南芥细胞的 *AtPSK5*, 大豆的 *GmPSK1* 和 *GmPSK3*, 番茄的 *LePSK1*, 马铃薯的 *StPSK1*, 松叶菊的 *McPSK1*, 在它们的 5'UTR 末端都有重复序列, 说明不同植物种属 PSK- α 基因在 5'UTR 末端的重复序列可能对 PSK- α 的生物活性有决定性作用。

5 小结与展望

从以上的研究结果可以得出以下结论。

1) PSK- α 是在植物体系中第一个被发现的磺化肽生长因子, 而且在各种不同种属的植物体系中都有 PSK- α 的发现, 它广泛地存在于植物界里; 2) PSK- α 促进细胞分裂和增殖, 还可以促进植物形态细胞的形成, 有利于次级代谢产物的产生, 其特殊作用越来越为人们所重视和利用; 3) PSK- α 受体得到证实; 4) 编码 PSK- α 前体的基因及其前体的同源性得到进一步研究。同时, 由于 PSK- α 可以很容易的通过化学方法合成得到, 所以可以得到广泛的应用。

目前, 我国应用悬浮细胞培养来生产次级代谢产物已成为代替依赖天然植物生产药物的必然趋势, 如利用悬浮培养红豆杉细胞生产紫杉醇来代替砍伐生长周期很长的且数量有限的天然红豆杉, 但是在悬浮体系中其生长发育的调控机理以及初生代谢和次生代谢的关系还不是十分清楚, 这对优化培养条件和提高目标产物产量方面是十分不利的。鉴于 PSK- α 的一些独特作用以及对其基因和受体的已有研究结果, 使其必然成为研究悬浮细胞培养方面的植物生物学和生物工艺学过程中的一个强有力的工具。而且 PSK- α 促进细胞分裂和增殖和利于次级代谢产物的产生的特点可以用来优化原有的细胞培养的培养基, 这样更有利于我们对原有体系的完善。此外, 对 PSK- α 的进一步深入研究也将为其他信号肽的研究提供一定的借鉴。因此, 我们对 PSK- α 已有研究的应用以及对其进行更深入的研究是十分必要的, 这一崭新领域也必将焕发出巨大的生命力。

参 考 文 献

- Eun CH, Ko SM, Matsubayashi Y, Sakagami Y, Kamada H (2003) Phytosulfokine- α requires auxin to stimulate carrot non-embryogenic cell proliferation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41: 447-452
- Hanai H, Matsuno T, Yamamoto M, Matsubayashi Y, Kobayashi T, Kamada H, Sakagami Y (2000a) A

- secreted peptide growth factor, phytosulfokine, acting as a stimulatory factor of carrot somatic embryo formation. *Plant Cell Physiology*, **41**: 27-32
- Hanai H, Nakayama D, Yang H, Matsubayashi Y, Hirota Y, Sakagami Y (2000b) Existence of a plant tyrosylprotein sulfotransferase: novel plant enzyme catalyzing tyrosine O-sulfation of preprophytosulfokine variants *in vitro*. *FEBS Letters*, **470**: 97-101
- Ishise T, Shimomura K, Kobayashi T, Matsubayashi Y (2002) Effects of phytosulfokine α on growth and tropane alkaloid production in transformed roots of *Atropa belladonna*. *Plant Growth Regulation*, **26**: 87-90
- Kobayashi T, Eun CH, Hanai H, Matsubayashi Y, Sakagami Y, Kama H (1999) Phytosulfokine- α , a peptidyl plant growth factor, stimulates cell division that leads to somatic embryogenesis in carrot. *Journal of Experimental Botany*, **50**: 1123-1128
- Lorbiecke R, Sauter M (2002) Comparative analysis of PSK peptide growth factor precursor homologs. *Plant Science*, **163**: 321-332
- Matsubayashi Y (2003) Ligand-receptor pairs in plant peptide signaling. *Journal of Cell Science*, **116** : 3863-3870
- Matsubayashi Y, Morita A, Matsunaga E, Furuya A, Hanai N, Sakagami Y (1998) Physiological relationships between auxin, cytokinin, and a peptide growth factor, phytosulfokine- α , in stimulation of asparagus cell proliferation. *Planta*, **207**: 559-565
- Matsubayashi Y, Ogawa M, Morita A, Sakagami Y (2002) An LRR receptor-like kinase involved in perception of a peptide plant hormone, phytosulfokine. *Science*, **296**: 1470-1472
- Matsubayashi Y, Sakagami Y (1996) Phytosulfokine, sulfated peptides that induce the proliferation of single mesophyll cells of *Asparagus officinalis* L. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **93**: 7623-7627
- Matsubayashi Y, Sakagami Y (1999) Characterization of specific binding sites for a mitogenic sulfated peptide, phytosulfokine- α , in the plasma-membrane fraction derived from *Oryza sativa* L. *European Journal of Biochemistry*, **262**: 666-671
- Matsubayashi Y, Sakagami Y (2000a) Peptide growth factor phytosulfokine- α contributes to the pollen population effect. *Planta*, **211**: 752-755
- Matsubayashi Y, Sakagami Y (2000b) 120- and 160-kD receptors for endogenous mitogenic peptide, phytosulfokine- α , in rice plasma membranes. *Journal of Biological Chemistry*, **275**: 15520-15525
- Matsubayashi Y, Takagi L, Omura N, Morita A, Sakagami Y (1999) The endogenous sulfated pentapeptide phytosulfokine- α stimulates tracheary element differentiation of isolated mesophyll cells of *Zinnia*. *Plant Physiology*, **120**: 1043-1048
- Matsubayashi Y, Takagi L, Sakagami Y (1997) Phytosulfokine- α , a sulfated pentapeptide, stimulates the proliferation of rice cells by means of specific high- and low-affinity binding sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **94**: 13357-13362
- Torii KU (2004) Leucine-rich repeat receptor kinases in plants: structure, function, and signal transduction pathways. *International Review of Cytology-A Survey of Cell Biology*, **234**: 1-46
- Ujino IT, Matsubayashi Y, Sakagami Y (2003) Phytosulfokine stimulates somatic Embryogenesis in *Cryptomeria japonica*. *Plant and Cell Physiology*, **44**: 1412-1416
- Yamakawa S, Matsubayashi Y, Sakagami Y, Kamada H, Satoh S (1998a) Promotion by a peptidyl plant growth factor, phytosulfokine- α , of chlorophyll formation in etiolated cotyledons of cucumber. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **62**: 2441-2443

- Yamakawa S, Matsubayashi Y, Sakagami Y, Kamada H, Satoh S (1999) Promotive effects of the peptidyl plant growth factor, phytosulfokine- α , on the growth and chlorophyll content of *Arabidopsis* seedlings under high night-time temperature conditions. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **63**: 2240-2243
- Yamakawa S, Sakurai C, Matsubayashi Y, Sakagami Y, Kamada H, Satoh S (1998b) The promotive effects on a peptidyl plant growth factor, phytosulfokine, on the formation of adventitious roots and expression of a gene for a root-specific cystatin in cucumber hypocotyls. *Journal of Plant Research*, **111**: 453-458
- Yang H, Matsubayashi Y, Hanai H, Nakamura K, Sakagami Y (2000) Molecular cloning and characterization of *OsPSK*, a gene encoding a precursor for phytosulfokine- α , required for rice cell proliferation. *Plant Molecular Biology*, **44**: 635-647
- Yang H, Matsubayashi Y, Nakamura K, Sakagami Y (1999) *Oryza sativa* PSK gene encodes a precursor of phytosulfokine- α , a sulphated peptide growth factor found in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **96**: 13560-13565
- Yang H, Matsubayashi Y, Nakamura K, Sakagami Y (2001) Diversity of *Arabidopsis* genes encoding precursors for phytosulfokine, a peptide growth factor. *Plant Physiology*, **127**: 842-851