

专题介绍

芸苔属自交不亲和细胞信号转导的研究进展^①

蓝兴国 解莉楠 李玉花^②

(东北林业大学花卉生物工程研究所 哈尔滨 150040)

摘要 在芸苔属植物的自交不亲和细胞信号转导过程中, 信号分子-SCR配体是由花粉粒产生的, 被柱头乳突细胞SRK受体识别后, 进行细胞内信号转导。这对受体-配体是两个由S位点编码的且高度多态的蛋白质, 它们决定着自交不亲和反应。配体是位于花粉粒表面的一个小的胞被蛋白, 由SCR基因编码; 受体是位于柱头乳突细胞原生质膜上的跨膜的蛋白质激酶, 由SRK基因编码。在自交授粉过程中, 配体SCR和受体SRK的相互作用激活了受体SRK, 被激活的SRK通过其下游组分ARC1介导底物的泛肽化, 然后泛肽化的底物在蛋白酶体/CSN中被降解, 从而导致了自交不亲和性反应。这些降解的底物可能是促进花粉水合、萌发和花粉管生长的雌蕊亲和因子。主要针对芸苔属自交不亲和细胞信号转导作一综述。

关键词 芸苔属, 自交不亲和性, SCR, SRK, ARC1, 信号转导

Progress in Study on Cell Signal Transduction of Self-incompatibility in *Brassica*

LAN Xing-Guo XIE Li-Nan LI Yu-Hua^②

(Research Institute of Flower Biotechnology, Northeast Forestry University, Harbin 150040)

Abstract On signal transduction of self-incompatibility in *Brassica*, the signal molecule-SCR ligand is produced by the pollen grain, recognized by SRK receptor in stigmatic papillae, and transduced into a cellular response. The receptor-ligand pairs are two S locus-encoded highly polymorphic proteins that determine specificity of self-incompatibility. The ligand encoded by SCR gene is a small pollen coat protein present on the surface of pollen grains. The receptor localized to the plasma membrane of the stigmatic papillae on the surface of the pistil is encoded by SRK gene. During self-pollination, SCR interacts with its cognate receptor to activate SRK, which mediates the ubiquitination of substrates by ARC1. ARC1 functions downstream of the SRK. Ubiquitinated substrates, which may represent pistil compatible factors and normally promote pollen hydration, germination, and tube growth, are degraded by the proteasome/CSN, thereby resulting in the response of self-incompatibility. In this paper, we give a detailed review about signal transduction of self-incompatibility in *Brassica*.

①国家自然科学基金面上项目“通过干扰花粉与柱头上的信息传递克服自交不亲和性”(30371189)的资助。

②通讯作者。Author for correspondence. E-mail: lanxingguo@china-flower.com

收稿日期: 2003-07-15 接受日期: 2003-12-22 责任编辑: 白羽红

Key words *Brassica*, Self-incompatibility, SCR, SRK, ARC1, Signal transduction

自交不亲和性(self-incompatibility, SI)是高等植物生殖系统所具有的一个特性,表现为正常可育的雌雄同花植物自交授粉后不能产生种子 (De Nettancourt, 2001)。据估计,在高等植物中有超过一半的物种表现出自交不亲和性。大多数植物的SI在遗传上受复等位基因的单一一位点或基因座(S-locus)控制,也就是说,当花粉与柱头乳突细胞携有相同S位点时,就会产生自交不亲和性反应。根据花粉不亲和表型的遗传控制方式的不同, SI分为两类:一类为配子体自交不亲和性(GSI),花粉表型由其本身的单倍体基因型决定,常表现为花粉管在花柱中生长受到抑制;另一类为孢子体自交不亲和性(SSI),花粉表型由产生花粉的植株即孢子体基因型决定,芸苔属植物的SI属于典型的孢子体SI (薛勇彪等, 2002)。

芸苔属SI反应发生在受精的早期阶段,即花粉水合、花粉代谢的激活、花粉管的形成和花粉管穿入柱头乳突细胞壁等过程中,其中任一过程的中断都可以导致植物的自交不亲和(Heslop-harrison,1975)。过去十多年的分子实验研究表明,芸苔属植物SI的研究实质上是对细胞信号转导的研究。目前,对芸苔属植物花粉中的配体信号成分与柱头乳突细胞中受体识别成分的研究是最为清楚的,而且在SI信号转导成分的鉴定上也有所突破。信号分子-SCR(S-locus cysteine-rich protein)配体是由花粉粒产生的,被柱头乳突细胞SRK (S-receptor kinase)受体识别后,进行细胞内信号转导 (Kachroo *et al.*, 2002)。受体-配体对是两个由S位点编码的且高度多态的蛋白质,它们决定着自交不亲和反应 (Kachroo *et al.*, 2001)。配体是位于花粉粒表面的一个小的胞被蛋白 (pollen coat),由SCR/SP11(S-locus protein 11)基因编码 (Schopfer *et al.*, 1999; Takayama *et al.*, 2000);受体由SRK基因编码,是一个具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性的受体,位于柱头表面乳突细胞的原生质膜上 (Giranton *et al.*, 2000; Takasaki *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2001)。花粉中的配体与柱头乳突细胞内受体特异性的相互作用引起了柱头乳突细胞SI信号转导,最终导致自交不亲和反应 (Kachroo *et al.*, 2001; Takayama *et al.*, 2001)。本文对芸苔属SI细胞信号转导的研究进展作一综述。

1 SI的信号分子——SCR配体

在芸苔属植物中,SI的信号分子是由花粉产生的SCR配体 (Kachroo *et al.*, 2001),它是由S位点编码的富含半胱氨酸的蛋白质 (Schopfer *et al.*,1999; Schopfer and Nasrallah, 2000),也叫SP11 (Suzuki *et al.*, 1999; Takayama *et al.*, 2000; Shiba *et al.*, 2001)组成,成熟蛋白是一种分子质量为8.4~8.6 kDa的碱性 (PI为8.1~8.4)分泌蛋白 (Schopfer *et al.*,1999)。

那么,如何确定SI的信号分子是由花粉产生的SCR配体呢?主要有以下几个方面的证据。首先,在甘蓝 (*Brassica oleracea*)的花粉自交亲和突变体上没有检测到SCR基因的表达 (Schopfer *et al.*, 1999)。其次,SCR转基因植株中的花粉获得了S花粉表型并获得了SI (Schopfer *et al.*, 1999; Shiba *et al.*, 2001)。此外,在授粉分析中,用自主重组的SCR预处理柱头乳突细胞之后,抑制了杂交花粉的水合(Takayama *et al.*, 2000; 2001; Kachroo *et al.*, 2001)。上述证据说明了SCR配体是花粉所携带的决定SI的雄性因子。

免疫组织化学 (Shiba *et al.*, 2001)和生物化学分馏(Kachroo *et al.*, 2001)方法证明SCR蛋白位于花粉胞被中。但SCR蛋白合成的具体位置还不明确,因为花粉胞被蛋白既可能在绒毡

层(孢子体)中合成,也可能在小孢子(配子体)内合成,而目前来自于 *SCR* 转录本的证据是在二者中都有积累 (Schopfer *et al.*, 1999; Schopfer and Nasrallah, 2000; Takayama *et al.*, 2000; Shiba *et al.*, 2001)。

芸苔属植物中的 *SCR* 是一个基因家族,在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中这个家族有 28 个成员 (Vanoosthuyse *et al.*, 2001)。与之距离相关的家族是 *PCP-A1* 基因家族,即编码花粉胞被蛋白的基因,但不知其具体的生物功能 (Dought *et al.*, 1998)。*SCR* 的进化历史是很难追寻的,因为 *SCR* 基因进化速度非常快。*SCR* 表现出高水平的序列多态性,目前在芸苔属和 *Arabidopsis lyrata* 中鉴定出的 22 个 *SCR*,只有 7 个半胱氨酸和 1 个谷氨酸残基是保守的 (Schopfer and Nasrallah, 2000; Watanabe *et al.*, 2000; Kusaba *et al.*, 2001)。

2 SI 信号的识别因子——SRK 受体

在 SI 信号转导中,花粉中产生的信号由柱头乳突细胞上的一种跨膜的蛋白激酶—SRK 识别。SRK 作为受体蛋白,是原生质膜的整合成分 (Stein *et al.*, 1996; Dixit *et al.*, 2000; Giranton *et al.*, 2000),在柱头乳突细胞内特异性地表达,是植物中类受体蛋白激酶 (PLKs) 的一种 (Shiu and Bleecker, 2001),这些 PLKs 具有相似的胞外域——S 结构域。受体 SRK 具有一个胞外域、一个跨膜域和一个具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性的胞内域 (Goring and Rothstein, 1992; Stein and Nasrallah, 1993)。SRK 基因能够表达一截短的可溶性的 SRK,对应于 SRK 的胞外域叫 eSRKs。目前,在甘蓝的 *S₃* 单元型 (Giranton *et al.*, 1995) 和转芜菁 (*Brassica rapa*) *SRK₉* 基因的烟草 (Suzuki *et al.*, 1996) 中发现了 eSRKs,它可能是由 SRK 转录本的选择性拼接产生的。

从雌蕊中分离出来的第一个 S 位点基因产物是 S 特异糖蛋白 SLG (S-locus glycoprotein) (Nasrallah, 1985),它是一种分泌型糖蛋白,主要分布在柱头乳突细胞的细胞壁和胞间区。SLG 也是一个高度多态的 S 位点基因,表达水平要比 SRK 高,SLG 与 SRK 胞外域具有高度的序列同源性。SLG 蛋白的表达时间与柱头乳突细胞自交不亲和反应的时间相关。

SRK 蛋白特异性地在柱头乳突细胞中表达,而且 SRK 转录本的积累是伴随着 SI 完成的 (Stein *et al.*, 1991; 1996)。那么,SLG 和 SRK 哪一个决定雌蕊 SI 反应呢?它们又有什么关系呢?证据主要来自于突变体实验和转基因实验。在正常的 SI 植株中发现 SLG 的表达水平很低,而 SC (self-compatibility) 突变体的 SLG 的表达水平却很高 (Gaude *et al.*, 1993; 1995);对白菜 (*B. campestris*) 和甘蓝的 SC 变异植株的实验分析表明,它们表达正常水平的 SLG,但缺乏 SRK 的转录产物或只有 eSRKs 产物 (Nasrallah *et al.*, 1994);向 SI 的芜菁中转入 *SRK₂₈* 或 *SLG₂₈* 发现,只转入 *SRK₂₈* 便可使转基因植株拒绝 *S₂₈* 的花粉,而 *SLG₂₈* 却不具备这一功能,只是促进 SI 反应的进行 (Takasaki *et al.*, 2000);SLG 有利于 SRK 的成熟和促进 SRK 在柱头乳突细胞中积累到相对生理水平 (Dixit *et al.*, 2000);在甘蓝中至少有两个具有 SI 功能的 S 单元型 (Suzuki *et al.*, 2000) 和在 *Arabidopsis lyrata* 中的两个有 SI 功能的 S 单元型 (Kusaba *et al.*, 2001) 不含有 SLG 基因。从上述这些结果得出,SRK 是雌蕊的特异性决定因子,SLG 没有此功能,但它促进 SI 反应,有利于 SRK 的成熟和它在柱头表皮中积累到相对生理水平。然而,在随后的转基因实验中发现,在表达 *SRK₉₁₀* 的转基因植株中转入 *SLG₉₁₀* 基因,却没有提高 SI 反应的能力 (Silva *et al.*, 2001)。

3 S复等位基因

芸苔属植物属于孢子体 SI, SI 的表型是由两个 S 单元型控制的。也就是说,花粉和柱头 SI 的表型由亲本所携带的两个 S 复等位基因的关系决定。现已知在芸苔属植物中 S 复等位基因的关系主要有:(1)共显性比显隐性普遍;(2)花粉中显隐性比柱头中的显隐性常见;(3)柱头中的显隐关系与花粉中的显隐关系不同;(4)显隐关系非线性(Hatakeyama *et al.*, 1998)。下面分别介绍一下柱头和花粉中 S 复等位基因的关系及其在分子水平上的调控表达,进一步了解 SI 的细胞信号转导的过程。

在柱头乳突细胞中 S 单元型的显隐性关系是 SRK 基因的一个特性,并且显隐性与 SRK 转录水平无关(Hatakeyama *et al.*, 2001)。在 *Arabidopsis lyrata* 中也得到了类似的结果, Sa 单元在杂合体 SaSb 中的活性弱与 SRK 的表达水平无关(Kusaba *et al.*, 2002)。但这些结果并没有排除显隐性与 SRK 蛋白水平有关的可能性。

在花粉中研究 S 单元型的显隐关系也取得了一些进展,但得到的结果却与柱头乳突细胞 S 单元型的显隐关系不同。在芸苔属植物中,花粉中 Sa 单元型对 Sb 单元型是隐性的, SCR_a 的 mRNA 在 Sa 纯合体中主要在绒毡层中表达,而在 SaSb 杂合体中没有表达,因此认为花粉 S 单元型的显隐性是在 mRNA 水平上调控的(Shiba *et al.*, 2002)。

4 SI信号分子的扩散及其跨膜信号转导过程

4.1 信号分子的转运及其与受体 SRK 的接触

在信号转导过程中,配体 SCR 是如何与受体 SRK 接触的呢?目前认为:SCR 是花粉胞被携带的一种可扩散的信号分子,作为位于柱头乳突细胞原生质膜上的 SRK 蛋白的配体而起作用;在自交授粉后,经过花粉胞被蛋白形成的附着区转运到柱头表面;由于柱头乳突细胞壁允许分子量小于 60 kDa 的分子扩散,这样 SCR 就可以通过柱头乳突细胞壁,与 SRK 胞外域相互作用,引起细胞内信号级联,并最终抑制自我花粉的发育(Kachroo *et al.*, 2002)。

4.2 SCR 配体与同源 SRK 的胞外域特异性结合

当信号分子与受体接触后,如何证明配体 SCR 是与同源的受体 SRK 结合的呢?这方面的证据主要来自于体外重组和授粉分析实验(Kachroo *et al.*, 2001)。在体外重组实验中,重组 eSRK₆ 以 FLAG 融合方式在烟草(*Nicotiana benthamiana*)的叶片中表达;重组 SCR₆ 和 SCR₁₃ 以真菌组氨酸标记的重组蛋白的形式在细菌周质中表达。在体外,用 pull-down 分析和酶联免疫分析证明了重组 eSRK₆ 与重组 SCR₆ 结合,而不与重组 SCR₁₃ 结合。体外重组的同源 SRK-SCR 相互作用的实验为 SI 反应中 S 单元型特异性的结合提供了很好的分子基础。在生物授粉分析实验中,用重组的自我 SCR 对柱头进行预处理,引起了亲和的非我花粉的抑制,而用非我重组 SCR₁₃ 处理 S₆S₆ 柱头,非我花粉能够正常发育。此外,重组 SCR₆ 与同源柱头 SRK₆ 微粒体部分结合而不与柱头 SRK₁₃ 结合;同样,重组 SCR₁₃ 与柱头 SRK₁₃ 结合不与 SRK₆ 结合。上述的这个实验结果说明 SCR 是与同源的 SRK 胞外域特异性结合的。

在配体与受体结合时,配体是以单体的形式存在还是以二聚体的形式存在?哪种形式在与受体结合时具有活性呢?目前还没有得出确切的结论,因为在花粉制备液和在细菌提取液中 SCR₆ 主要是以分子量约 16 kDa 的二聚体(而不是 8 kDa 的单聚体)形式存在的。这些二聚

体能否说明在体内SCR是以同源二聚体的形式和它同源的SRK相结合的呢？这个问题目前还不清楚 (Kachroo *et al.*, 2001)。而另一个来自于白菜的 S_8 单元型的蛋白质分析表明，配体是以单体的形式存在的 (Takayama *et al.*, 2001)。

4.3 受体的激活

4.3.1 SRK 受体的激活 在确定SCR与同源的SRK特异性结合后，需进一步确定这种结合是否导致SRK的激活。将合成的 S_8 -SP11 加到 S_8 柱头原生质膜部分上，诱导了 SRK_8 的磷酸化 (Takayama *et al.*, 2000)，这说明SP11单独地与SRK特异结合来激活SRK。此外，在自交授粉之后60 min内SRK显示出自动磷酸化 (Cabrillac *et al.*, 2001)，显然这种磷酸化是通过激酶转磷酸作用完成的 (Giranton *et al.*, 2000)。那么，SRK是以什么方式与配体结合的呢？在没有配体存在的情况下，SRK又是怎么保持无活性的状态的呢？目前认为：SRK的激活涉及到寡聚化作用，因为在有抗体存在下，重组SRK以依靠剂量方式与饱和方式进行磷酸化，用柱头的SRK也获得相似的结果。这些结果表明SRK的激活涉及到受体的寡聚化 (Cabrillac *et al.*, 2001)；并且在未授粉的柱头中（没有SCR的存在情况下）发现了SRK的寡聚体，这些证据支持了SRK信号可能是由SCR与先存的SRK寡聚体结合的相互作用引发的 (Giranton *et al.*, 2000)。

上述这些是目前对SRK受体激活机制的了解，很显然有许多问题还没有回答。如果SRK自动磷酸化必须以SRK寡聚化为前提，那么SRK-SCR的结合足以引起SRK磷酸化和激活下游事件吗？SRK的激活是否还需要花粉蛋白中其他的成分或乳突细胞壁的某些成分呢？为了进一步探讨受体激活的问题，我们来看一下动物受体激活的机制和植物中其他类受体激活机制的研究进展。

4.3.2 哺乳动物系统受体的激活 在哺乳动物系统中，配体的结合诱导大多数受体的二聚化，导致激酶域的转磷酸作用 (Heldin, 1995)。磷酸化的残基与特异底物的结合位点相互作用。不同配体用不同的策略诱导受体的二聚化，例如细胞因子（如生长激素和红细胞生成素）是二价的，一个配体结合两个受体。还有其他的几种因子，如液泡内皮生长因子和血小板衍生生长因子，因本身是同源二聚体从而能诱导受体的二聚化。哺乳动物的研究证明了配体的结合和受体的寡聚化不能自动导致受体的激活。在某些情况下，只有二聚体等这些形式才能保证形成合适的构型以进行磷酸化 (Lemmon and Schlessinger, 1994; Jiang and Hunter, 1999)；而其他的情况，受体的激活需要附加分子的结合，例如，配体的结合诱导了成纤维生长因子受体二聚体，而肝素硫酸蛋白聚糖的结合对受体二聚体的稳定是必需的，随后引起受体的激活 (Spivak-Kroizman *et al.*, 1994)。

4.3.3 植物系统受体的激活 在植物系统中，除了SRK-SCR外还有3个受体-配体系统属于富含亮氨酸重复区类的类受体激酶。包括BRI1（油菜素内酯不敏感蛋白）与配体油菜素内酯的结合 (Wang *et al.*, 2001)；在拟南芥中CLAVATA1 (CLV1) 蛋白与其配体CLV3的结合 (Trotochaud *et al.*, 2000) 调控分生组织的发育 (Clark *et al.*, 1996)；鞭毛蛋白受体FLS2与细菌的鞭毛蛋白相结合 (Gómez-Gómez and Boller, 2000)。虽然这些受体-配体系统的生化研究最近已经开展了，但植物受体激活的机制还是知之甚少。

植物受体激活的机制很可能不同于动物受体激活机制，而且不同受体激活的机制虽有相同点但也存在着差别。比较SRK-SCR和CLV1-CLV3受体-配体就会发现，如同SRK的积累和熟

化需要SLG一样,CLV1受体复合物的正确积累需要CLV2; CLV2是一个受体蛋白,类似CLV1,含有一个富含亮氨酸重复区胞外域和一个跨膜域,与CLV1不同的是缺少激酶域(Jeong *et al.*, 1999)。此外,SCR和CLV3在植物中都以高级结构复合体形式存在,功能型配体CLV3是以多聚体的形式存在的(Trotochaud *et al.*, 1999),而目前认为在植物胞被蛋白中发现的SCR是以16 kDa的二聚体形式存在的(Kachroo *et al.*, 2001),然而最大的不同是CLV3仅结合有活性的CLV1复合体,而SCR却能结合没有激酶域功能的SRK胞外域(Kachroo *et al.*, 2001)。在这点上,SRK-SCR的相互作用与油菜素内酯和其受体的结合相似,都不需要有功能的激酶域(He *et al.*, 2000),而CLV1及FLS2与受体的结合则需要有功能的激酶域(Trotochaud *et al.*, 2000;Gómez-Gómez *et al.*, 2001)。

5 SRK的下游组分

利用酵母双杂交系统鉴定与SRK激酶域相互作用的蛋白质来分离SRK信号途径中的下游成分,得到THL1、THL2和ARC1 3个蛋白(Bower *et al.*, 1996; Gu *et al.*, 1998)。THL1和THL2是h-硫氧还蛋白家族中的成员,ARC1是含U-box结构的蛋白并且具有E3泛素蛋白连接酶活性。下面分别论述它们在信号转导中的作用。

5.1 硫氧还蛋白——SRK可能的一种负调控因子

在体外重组实验中,重组型的SRK在体外表现组成型磷酸化(Giranton *et al.*, 2000),但磷酸化作用可以被硫氧还蛋白或柱头提取液中的可溶性蛋白抑制。体外重组THL1抑制SRK的活性,随后证明在没有SCR/SP11的情况下THL1是作为SRK的抑制子起作用的(Bower *et al.*, 1996; Cabrillac *et al.*, 2001)。配体与SRK的结合导致THL1从SRK的分离,激活SRK的激酶域。此外用S₃的花粉蛋白可以缓解硫氧还蛋白抑制SRK的磷酸化。这些结果说明,硫氧还蛋白可能与SRK激酶域相结合来阻止SI途径的激活(Cabrillac *et al.*, 2001)。但用高度提纯的原生质膜部分(不含有硫氧还蛋白)进行的实验结果说明SP11激活SRK与硫氧还蛋白的负调控无关(Takayama *et al.*, 2001)。

5.2 ARC1在SI信号转导中起胞内第二信使的作用

ARC1转录本在柱头中特异性地表达,这支持它在授粉过程中起SI信号转导的作用。体外实验证明,ARC1通过C末端的臂重复区与有活性的SRK激酶域相互作用,导致了ARC1的磷酸化(Gu *et al.*, 1998)。更重要的证据来自于转基因实验,导入反义基因的植株在柱头中有SI的部分打破,这种不亲和的部分打破可能是由于ARC1残基在柱头表达的结果,并且认为ARC1仅是SRK的底物之一(Stone *et al.*, 1999)。尽管如此,这些结果确立了ARC1在SI信号转导中起胞内第二信使的作用。

6 ARC1介导底物的泛肽化和在蛋白酶体/CSN中泛肽化底物的降解

ARC1是含U-box结构的蛋白并且具有E3泛素蛋白连接酶活性,含有不同的几种基元并影响它的亚细胞定位。当ARC1在烟草悬浮培养的BY-2细胞中表达时,它能够在核、细胞溶胶和蛋白酶体/CSN(COP9 signalosome)之间穿梭;在不亲和授粉的雌蕊中,发现泛肽水平特异性地增加的现象,在ARC1反义抑制的植株雌蕊中其泛肽水平却没有变化。此外,抑制ARC1蛋白酶体的水解活性干扰了自交不亲和反应;在雌蕊细胞中ARC1启动亲和因子的泛

肽化, 这些泛肽化的亲和因子被运到蛋白酶体中后降解, 导致了自交不亲和反应(Stone *et al.*, 2003)(图 1)。

7 SI信号转导存在的问题及展望

自交不亲和是高等植物具有的一种重要的现象, 是在进化过程中形成的一种有利于异花授粉的机制, 促进了种内的遗传变异, 被认为在被子植物早期进化中起到了重要的作用(薛勇彪等, 2002)。自交不亲和是由花粉和柱头乳突细胞之间的相互作用引起的生理反应, 花粉和乳突细胞的接触是由受空间和时间限制的授粉行为引起的, 远不同于其他细胞间的信号转导。因此, 这种独特的细胞信号转导体系已成为当前研究的热点。目前, 芸苔属 SI 体系是通过蛋白质泛肽化在蛋白酶体进行降解这个途径进行的反应。同样地, Qiao 等(2004)在雌蕊 S-RNase 为基础的配子体 SI 体系中认为 S-RNase 的降解是通过这个途径, 在亲和授粉中 S-RNase 是作为底物非特异性地被泛肽化, 通过泛肽化/26S 蛋白酶体进行了降解, 而在不亲和授粉中

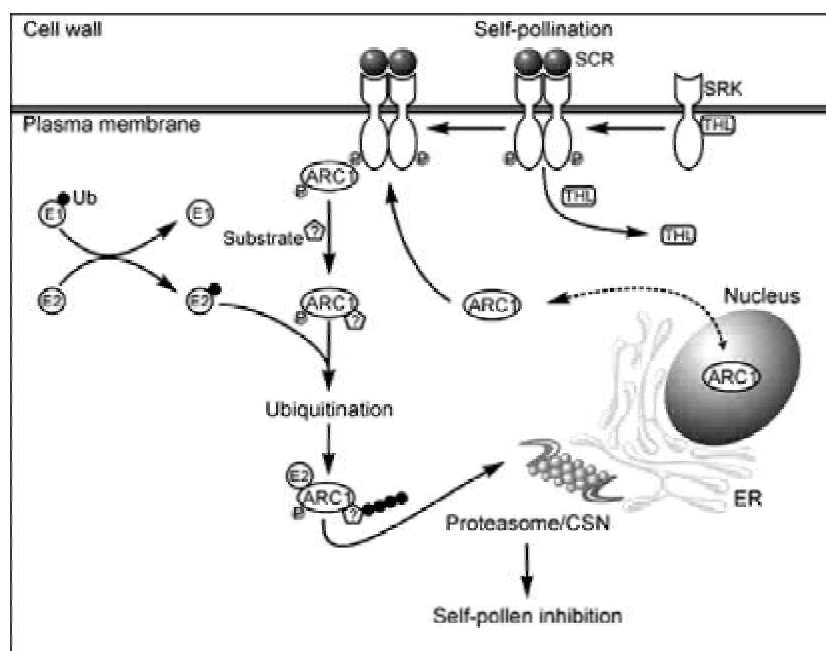


图 1 芸苔属自交不亲和反应的模型 (Stone *et al.*, 2003)

不亲和花粉不存在时, SRK 被 THL1 抑制。虽然 ARC1 能够在核和胞质中穿梭, 但由于存在着核输出信号 (NES), 所以 ARC1 主要位于胞质内。在自交授粉期间, 花粉配体 SCR 的结合使受体 SRK 激活, THL1 游离下来, 并且促进 SRK 的磷酸化。磷酸化的 SRK 与胞质内的 ARC1 结合, 导致 ARC1 磷酸化。ARC1 可以通过 N 末端亮氨酸拉链 (leu zipper) 和/或卷曲螺旋结构域 (coiled-coil domain) 与核、胞质中的底物和/或从 ER 中输出的底物结合。结合底物的 ARC1 通过 U-box 结构与泛肽携带蛋白同源的 E₂ 酶作用, 使底物泛肽化, 并共同运输到 ER 膜表面的蛋白酶体/CSN (COP9 signalosome)。在蛋白酶体/CSN 中, ARC1 介导的泛肽化的底物被降解, 导致了自交不亲和性反应的发生。尽管这些与 ARC1 结合的底物目前还不清楚, 但它们可能是促进花粉水合、萌发和花粉管生长的雌性亲和因子。

Fig.1 Model for the role of ARC1 in Protein degradation in the self-incompatibility response

S-RNase 与花粉 S 蛋白的特异结合使 S-RNase 保持核酸酶的活性, 降解花粉管生长所需要的 RNA, 最终导致 SI 反应。

虽然 SI 细胞信号转导的基本框架已经建立, 但仍有许多问题尚待解决。如 SCR 配体是以单体还是二聚体形式与受体结合的呢? SRK 激活的机制具体如何? 除了 ARC1 是 SRK 的下游事件外还有没有其他的? ARC1 的底物被认为是促进花粉水合、萌发和花粉管生长的雌蕊因子, 但它们具体是什么物质等等许多问题。但我们相信随着人们对细胞、蛋白质和核酸等研究水平的深入, 这些问题都会渐渐浮出水面。

参 考 文 献

- 薛勇彪, 崔海洋, 赖钊, 2002. 不亲和性和自交不亲和性及其分子生物学基础. 见: 胡适宜, 杨弘远主编. 被子植物受精生物学. 北京: 科学出版社, 128~148
- Bower M S, Matias D D, Fernandes-Carvalho E, Mazzurco M, Gu T, Rothstein S, Goring D R, 1996. Two members of thioredoxin-h family interact with the kinase domain of a *Brassica* S locus receptor kinase. *Plant Cell*, **8**: 1641~1650
- Cabrillac D, Cock J M, Dumas C, Gaudé T, 2001. The S-locus receptor kinase is inhibited by thioredoxins and activated by pollen coat proteins. *Nature*, **410**: 220~223
- Clark S E, Jacobsen S E, Levin J Z, Meyerowitz E M, 1996. The CLAVATA and SHOOT MERISTEMLESS loci competitively regulate meristem activity in *Arabidopsis*. *Development*, **122**: 1567~1575
- De Nettancourt D, 2001. Incompatibility and Incongruity in Wild and Cultivated Plants. Berlin: Springer-Verlag
- Dixit R, Nasrallah M E, Nasrallah J B, 2000. Post-transcriptional maturation of the S receptor kinase of *Brassica* correlates with co-expression of the S-locus glycoprotein in the stigmas of two *Brassica* strains and in transgenic tobacco plants. *Plant Physiol*, **124**: 297~312
- Doughty J, Dixon S, Hiscock S J, Willis A C, Parkin I A P, Dickinson H G, 1998. PCP-A1, a defensin-like *Brassica* pollen coat protein that binds the S locus glycoprotein, is the product of gametophytic gene expression. *Plant Cell*, **10**: 1333~1347
- Gaudé T, Friy A, Heizmann P, Mariac C, Rougier M, Fobis I, Dumas C, 1993. Expression of a self - incompatibility gene in a self-compatible line of *Brassica oleracea*. *Plant Cell*, **5**: 57~86
- Gaudé T, Rougier M, Heizmann P, Ockendon D J, Dumas C, 1995. Expression level of the SLG gene is not correlated with the self-incompatibility phenotype in the class II S haplotypes of *Brassica oleracea*. *Plant Mol Biol*, **27**: 1003~1014
- Giranton J L, Ariza M J, Dumas C, Cock J M, Gaudé T, 1995. The S locus receptor kinase gene encodes a soluble glycoprotein corresponding to the SRK extracellular domain in *Brassica oleracea*. *Plant J*, **8**: 827~834
- Giranton J L, Dumas C, Cock J M, Gaudé T, 2000. The integral membrane S-locus receptor kinase of *Brassica* has serine/threonine kinase activity in a membranous environment and spontaneously forms oligomers in planta. *Proc Natl Acad Sci USA*, **97**: 3759~3764
- Gómez-Gómez L, Boller T, 2000. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, **5**: 1003~1011
- Gómez-Gómez L, Bauer Z, Boller T, 2001. Both the extracellular leucine-rich repeat domain and the kinase activity of FLS2 are required for flagellin binding and signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **13**: 1155~1163
- Goring D R, Rothstein S J, 1992. The S-locus receptor kinase gene in a self-incompatible *Brassica napus* line encodes a functional serine/threonine kinase. *Plant Cell*, **4**: 1273~1281
- Gu T, Mazzurco M, Sulaman W, Matias D D, Goring D, 1998. Binding of an arm repeat protein to the kinase domain

- of the S-locus receptor kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**: 382~387
- Hatakeyama K, Watanabe M, Takasaki T, Ojima K, Hinata K, 1998. Dominance relationships between S-alleles in self-incompatible *Brassica campestris* L. *Heredity*, **80**: 241~247
- Hatakeyama K, Takasaki T, Suzuki G, Nishio T, Watanabe M, Isogai A, Hinata K, 2001. The S receptor kinase gene determines dominance relationships in stigma expression of self-incompatibility in *Brassica*. *Plant J*, **26**: 69~76
- He Z, Wang Z Y, Li J, Zhu Q, Lamb C, Ronald P, Chory J, 2000. Perception of brassinosteroids by the extracellular domain of the receptor kinase BRI 1. *Science*, **288**: 2360~2363
- Heldin C H, 1995. Dimerization of cell surface receptors in signal transduction. *Cell*, **80** : 213~223
- Heslop-Harrison J, 1975. Incompatibility and the pollen-stigma interaction. *Annu Rev Plant Phys*, **26**:403~425
- Jiang G, Hunter T, 1999. Receptor signaling: when dimerization is not enough. *Curr Biol*, **9**: R568~R571
- Jeong S, Trotochaud A E, Clark S E, 1999. The *Arabidopsis* CLAVATA2 gene encodes a receptor-like protein required for the stability of the CLAVATA1 receptor-like kinase. *Plant Cell*, **11**: 1925~1934
- Kachroo A, Schopfer C R, Nasrallah M E, Nasrallah J B, 2001. Allele-specific receptor-ligand interactions in *Brassica* self-incompatibility. *Science*, **293**: 1824~1826
- Kachroo A, Nasrallah M E, Nasrallah J B, 2002. Self-incompatibility in the Brassicaceae: receptor-ligand signaling and cell-to-cell communication. *Plant Cell*, **14**: S227~S238
- Kusaba M, Dwyer K, Hendershot J, Vrebalov J, Nasrallah J B, Nasrallah M E, 2001. Self-incompatibility in the genus *Arabidopsis*: characterization of the S locus in the out-crossing *A. lyrata* and its autogamous relative *A. thaliana*. *Plant Cell*, **13**: 627~643
- Kusaba M, Tung C-W, Nasrallah M E, Nasrallah J B, 2002. Monoallelic expression and dominance interactions in anthers of self-incompatible *Arabidopsis lyrata*. *Plant Physiol*, **128**: 17~20
- Lemmon M A, Schlessinger J, 1994. Regulation of signal transduction and signal diversity by receptor oligomerization. *Trends Biochem Sci*, **19**: 459~463
- Nasrallah J B, Kao T H, Goldberg M L, Nasrallah M E, 1985. A cDNA clone encoding an S-locus-specific glycoprotein from *Brassica oleracea*. *Nature*, **318**: 263~267
- Nasrallah J B, Rundle S J, Nasrallah M E, 1994. Genetic evidence for the requirement of the *Brassica* S-locus receptor kinase gene in the self-incompatibility response. *Plant J*, **5**: 373~384
- Qiao H, Wang H, Zhao L, Zhou J, Huang J, Zhang Y, Xue Y, 2004. The F-box protein AhSLF-S2 physically interacts with S-RNases that may be inhibited by the ubiquitin/26S proteasome pathway of protein degradation during compatible pollination in *Antirrhinum*. *Plant Cell*, **16**: 582~595
- Schopfer C R, Nasrallah M E, Nasrallah J B, 1999. The male determinant of self-incompatibility in *Brassica*. *Science*, **286**: 1697~1700
- Schopfer C R, Nasrallah J B, 2000. Self-incompatibility: prospects for a novel putative peptide-signal molecule. *Plant Physiol*, **124**: 935~940
- Shiba H, Takayama S, Iwano M, Shimosato H, Funato M, Nakagawa T, Che F S, Suzuki G, Watanabe M, Hinata K, Isogai A, 2001. A pollen coat protein, SP11/SCR, determines the pollen S-specificity in the self-incompatibility of *Brassica* species. *Plant Physiol*, **125**: 2095~2103
- Shiba H, Iwano M, Entani T, Ishimoto K, Shimosato H, Che F S, Satta Y, Ito A, Takada Y, Watanabe M, Funato M, Isogai A, Takayama S, 2002. The dominance of alleles controlling self-incompatibility in *Brassica* pollen is regulated at the RNA level. *Plant Cell*, **14**: 491~504
- Shiu S H, Bleecker A B, 2001. Receptor-like kinases from *Arabidopsis* form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, **98**: 10763~10768
- Silva N F, Stone S L, Christie L N, Sulaman W, Nazarian K A P, Burnett L A, Arnoldo M, Rothstein S J, Goring D R,

2001. Expression of the S receptor kinase in self-incompatible *Brassica napus* cv Westar leads to the allele-specific rejection of self-incompatible *Brassica napus* pollen. *Mol Genet Genomics*, **265**:552~559
- Spivak-Kroizman T, Lemmon M A, Dikic I, Ladbury J E, Pinchasi D, Huang J, Jaye M, Crumley G, Schlessinger J, Lax I, 1994. Heparin-induced oligomerization of FGF molecules is responsible for FGF receptor dimerization, activation, and cell proliferation. *Cell*, **79**: 1015~1024
- Stein J C, Nasrallah J B, 1993. A plant receptor-like gene, the S-locus receptor kinase of *Brassica oleracea* L., encodes a functional serine/threonine kinase. *Plant Physiol*, **101**: 1103~1106
- Stein J C, Howlett B, Boyes D C, Nasrallah M E, Nasrallah J B, 1991. Molecular cloning of a putative receptor protein kinase gene encoded at the self-incompatibility locus of *Brassica oleracea*. *Proc Natl Acad Sci USA*, **88**: 8816~8820
- Stein J C, Dixit R, Nasrallah M E, Nasrallah J B, 1996. SRK, the stigma-specific S locus receptor kinase of *Brassica*, is targeted to the plasma membrane in transgenic tobacco. *Plant Cell*, **8**: 429~445
- Stone S L, Anderson E M, Mullen R T, Goring D R, 2003. ARC1 is an E3 ubiquitin ligase and promotes the ubiquitination of proteins during the rejection of self-incompatible *Brassica* pollen. *Plant Cell*, **15**: 885~898
- Stone S L, Arnoldo M, Goring D R, 1999. A breakdown of *Brassica* self-incompatibility in ARC1 antisense transgenic plants. *Science*, **286**: 1729~1731
- Suzuki G, Kai N, Hirose T, Fukui K, Nishio T, Takayama S, Isogai A, Watanabe M, Hinata K, 1999. Genomic organization of the S locus: identification and characterization of genes in SLG/SRK region of S9 haplotype of *Brassica campestris*(syn. *rapa*). *Genetics*, **153**: 391~400
- Suzuki G, Watanabe M, Toriyama K, Isogai A, Hinata K, 1996. Expression of *SLG9* and *SRK9* genes in transgenic tobacco. *Plant Cell Physiol*, **37**: 866~869
- Suzuki T, Kusaba M, Matsushita M, Okazaki K, Nishio T, 2000. Characterization of *Brassica* S-haplotypes lacking S-locus glycoprotein. *FEBS Lett*, **482**: 102~108
- Takasaki T, Hatakeyama K, Suzuki G, Watanabe M, Isogai A, Hinata K, 2000. The S receptor kinase determines self-incompatibility in *Brassica* stigma. *Nature*, **403**: 913~916
- Takayama S, Shiba H, Iwano M, Shimosato H, Che F S, 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
- Takayama S, Shimosato H, Shiba H, Funato M, Iwano M, Che F S, Watanabe M, Iwano M, Isogai A, 2001. Direct ligand-receptor complex interaction controls *Brassica* self-incompatibility. *Nature*, **413**: 534~538
- Trotochaud A E, Hao T, Wu G, Yang Z, Clark S E, 1999. The CLAVATA1 receptor-like kinase requires CLAVATA3 for its assembly into a signaling complex that includes KAPP and a Rho-related proteins. *Plant Cell*, **11**: 393~406
- Trotochaud A E, Jeong S, Clark S E, 2000. CLAVATA3, a multimeric ligand for the CLAVATA1 receptor-kinase *Science*, **289**: 613~617
- Vanoosthuyse V, Mieg C, Dumas C, Cock J M, 2001. Two large *Arabidopsis thaliana* gene families are homologous to the *Brassica* gene superfamily that encodes pollen coat proteins and the male component of the self-incompatibility response. *Plant Mol Biol*, **46**: 17~34
- Wang Z Y, Seto H, Fujioka S, Yoshida S, Chory J, 2001. BRI 1 is a critical component of a plasma-membrane receptor for plant steroids. *Nature*, **410**: 380~383
- Watanabe M, Ito A, Takada Y, Nihomiya C, Kakizaki T, Takahata Y, Hatakeyama K, Hinata K, Suzuki G, Takasakv T, Satta Y, Shiba H, Takayama S, Isogai A, 2000. Highly divergent sequences of the pollen self-incompatibility (S) gene in class-I S haplotypes of *Brassica campestris* (syn. *rapa*) L. *FEBS Lett*, **473**: 139~144