

细胞壁连接的类受体激酶(WAK): 植物细胞壁与细胞质联系的重要蛋白

张素巧 孙颖 郭毅 孙大业*

(河北师范大学生命科学学院, 分子细胞生物学省重点实验室, 石家庄 050016. * 联系人, E-mail: dysun@heinfo.net)

摘要 细胞壁连接的类受体激酶(WAK)是一类特殊的植物类受体激酶, 与细胞壁中的果胶共价交联. 在结构上, WAK 分为胞外域、跨膜域和胞内激酶结构域, 胞外域中存在保守的 EGF 重复序列. WAK 以多基因家族形成存在, 其表达模式具有组织特异性, 主要在叶、茎中表达, 在功能上参与病原菌反应、细胞伸长调控、铝胁迫反应等. WAK1 在细胞外与富含甘氨酸的蛋白质 AtGRP3 特异结合, 在胞内与蛋白磷酸酶 KAPP 结合并形成约 500 kD 的 AtGRP3-WAK1-KAPP 复合体. 植物中还存在着与 WAK 结构相似的类 WAK 蛋白(WAKL)家族. 本文结合 WAK 结构特点和作用机制认为 WAK/WAKL 可能是植物细胞壁与细胞质进行联系和通讯的重要蛋白.

关键词 类受体激酶 WAK 细胞壁 信号转导

植物类受体激酶(receptor-like kinase, RLK)基因是利用分子生物学手段从植物细胞中鉴定的与动物细胞受体激酶(receptor protein kinase, RPK)同源的基因, 因其编码产物多数在植物细胞中未证实具有受体功能, 其天然配基多数没有被找到而被称为类受体激酶^[1], 其中很少一部分类受体激酶的配基已经被找到, 如CLV1, SRK等, 因此这些类受体激酶也可以被称为植物受体激酶(plant receptor kinase, PRK). 典型的类受体激酶一般由胞外结构域、跨膜结构域和具有激酶活性的胞内域组成^[1,2]. 各种环境信号和生物体自身产生的胞外信号分子对生物体的生长发育共同起着调控作用. 胞外信号分子除一些小分子(如甾类激素等)可以直接穿过细胞膜进入胞内以外, 多数只能在被质膜上的受体识别后, 通过膜上的信号转换系统转换为胞内信号, 位于细胞质膜上的受体是信号转换途径的关键组分. 根据信号转导的机理和受体分子的特点, 胞外信号的跨膜转导可以通过G蛋白偶联受体、离子通道受体和具有酶活性的受体来实现^[1]. 在动物中, 细胞外信号传递到细胞内最主要的途径是通过位于细胞质膜上的G蛋白偶联受体完成的, 这个事实不仅得到大量实验的支持, 而且在基因组中G蛋白偶联受体基因的大量存在也很好说明了这一点. 例如, 人基因组中存在超过1000个G蛋白偶联基因, 占基因组1%以上; 而低等动物线虫中也有1100种之多, 占总基因组5%^[3,4]. 在动物细胞中存在数目相对较少的受体激酶(人类仅含

有58种酪氨酸受体激酶和12种丝/苏氨酸受体激酶), 在植物细胞中反而大量存在, 亦屡屡被发现参与了生长、发育与分化、自交不亲和、抗病、抗逆等多种生理过程. 而到目前为止, 在植物仅有一种G蛋白偶联受体被克隆, 即拟南芥GCR1^[5]. 1990年第一个植物类受体激酶在玉米中被发现^[6], 随后人们在多种植物中都发现类受体激酶的大量存在, 如拟南芥基因组中存在超过600个类受体蛋白激酶, 占基因组2.5%; 水稻中也有超过1131个类受体激酶存在^[7]. 因此可以推测在动物中广泛存在的G蛋白偶联受体介导的信号转导途径在植物中并非主要途径, 而类受体激酶介导的信号转导途径可能才是植物进行信号传递的主要途径.

近几年, 植物类受体激酶的研究已逐渐成为热点研究领域之一, 已有20多种植物类受体激酶被发现参与调控生长、发育、抗逆等生理过程, 然而对多数植物类受体激酶来说功能仍然未知^[8]. 本研究室近几年已经开始对植物类受体激酶, 特别是水稻中的类受体激酶展开研究, 我们利用水稻芯片的信息找到一些表达量高或在水稻不同发育时期表达差异大的类受体激酶, 应用RNAi等技术研究其功能, 同时对一些功能已知的基因利用酵母双杂交等技术了解类受体激酶的配基及上游和下游的结合蛋白.

植物类受体激酶根据其胞外域的结构特点可以分为含S-结构域类(SRK)、富含亮氨酸类(LRR-RLK)和细胞壁连接类(WAK)等类型. 与细胞壁连接的类

受体激酶(wall associated kinase, WAK)是其中比较特殊的一类,它的胞外域与细胞壁成分直接相连,具有一个跨膜域和具有丝/苏氨酸蛋白激酶活性的胞内域^[2]。作为跨膜蛋白的植物类受体激酶本身具有将信号进行跨膜传递的潜在受体功能,而细胞壁作为一个具有动态结构特征的重要细胞组成部分,不仅维持植物细胞形状,而且在细胞的生长调节和防御及胁迫反应等方面发挥着重要作用^[10],这样WAK作为一个直接将细胞壁与细胞质相连接,并可能具备受体功能的蛋白激酶,就成为一个研究细胞壁信号分子跨膜传递到细胞质的很好的模型。

1 WAK 和 WAKL 的发现

1996年,He等人^[9]在对其先前发现的一个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(pro25)进行生化特性分析时发现,该蛋白与细胞壁紧密相连,因此将该蛋白由pro25更名为WAK1(wall-associated kinase1),由此首次提出了细胞壁连接的蛋白激酶的概念。他们将其定名为细胞壁连接的蛋白激酶(WAK)的证据包括:() WAK1只有在去垢剂SDS和强还原剂DTT共同存在并加以煮沸才能从细胞壁上溶解下来,因而应是和细胞壁紧密相连;()应用免疫电子显微镜和免疫荧光技术观察到WAK1定位于细胞膜和细胞壁;()对叶原生质体进行破裂和用蛋白酶消化处理后,在膜成分中仍能用抗体检测到WAK1的存在,证明WAK1是一个跨细胞质膜的蛋白激酶。以后的研究还表明,WAK1与细胞壁中的果胶共价连接^[11]。WAK1的特性使人们大胆推测WAK可能担当细胞壁与细胞膜及细胞质之间信息传递纽带,从而可能直接介导细胞外与细胞内的信息转换和对细胞进行调控。

Verica和He^[12]用WAK1的cDNA和蛋白序列通过对拟南芥基因数据库进行搜索又发现了一个与WAK结构非常相似的含有21个成员的基因家族,他们把它命名为WAK样基因(WAK like genes, WAKLs)。

通过生物信息学分析发现,另一个模式植物水稻的基因组同样存在与拟南芥WAK和WAKL结构类似的基因,数目远多于拟南芥,其中类似WAK的有96个基因,水稻特异WAKL-Os有48个基因^[7]。水稻中WAK基因数目的扩增暗示,在单子叶模式植物水稻和双子叶模式植物拟南芥中,WAK的功能可能存在差异。然而水稻WAK和WAKL的研究目前还几乎是空白。

本研究室目前已开始对水稻中一部分WAK样基因进行研究,采用超表达和RNAi技术发现WAK样基因表达水平的变化可以影响转基因植物的生长,应用定量PCR发现在盐、干旱等非生物逆境条件下有些WAK样基因的表达表现出明显上调等。初步结果表明,水稻WAK样基因与拟南芥WAK有相似之处,但也有不同,还需要更多的实验来了解水稻WAK样基因的功能和生化特性。

2 WAK 和 WAKL 的结构特点及分类

WAK由胞外域、跨膜域和具激酶活性的胞内域组成,其中胞外域在靠近跨膜域附近具有表皮生长因子样重复序列(EGF like repeats),内含12个保守的半胱氨酸残基^[13]。EGF样结构域被认为在某些动物蛋白中直接参与了蛋白与蛋白间的相互作用^[14,15]。在后生动物中EGF重复序列常用于钙离子介导的受体等蛋白的二聚体形成^[16],所以推测WAK中的EGF重复序列可能与其他蛋白或细胞壁的结合等功能有关,但仍有待证实。

拟南芥WAK是一个含5名成员的基因家族,分别为WAK1~5,位于拟南芥1号染色体上一个约30 kb的区域。5名成员呈串连分布,依次为WAK4, WAK5, WAK3, WAK1和WAK2,并且转录方向相同^[13],均含有约20个氨基酸的信号肽(N端)、EGF重复序列、跨膜域和位于细胞内的激酶域,在EGF样区域和跨膜域中含有两个插入位置和插入长度保守的内含子,长度分别是80和76碱基。正如人们预料的那样,5个WAKs的差别主要体现在胞外域。胞内激酶域具有86%的同源性,说明此家族比较保守,在胞内可能介导相似的信号途径;然而胞外域同源性较低,只有40%~64%^[13],暗示胞外域可以结合大量不同的配基,来接收不同的环境信号刺激。

WAKL大都具有WAK的典型结构,即具有EGF结构域、跨膜域、胞内丝/苏氨酸激酶域和两个插入位置保守的内含子。个别基因缺少某些序列,如WAKL7缺少跨膜域和激酶域等。与WAK类似,此21个基因大多成簇串连分布于拟南芥5条染色体上^[12]。在WAKLs基因之间,胞内域存在着65%~88%的同源性,胞外域则只有51%~77%,这些差异与WAKs类似。然而,在对WAK和WAKL进行比较后发现二者之间在胞内域只有40%~45%的同源性,胞外域则仅有18%~22%的同源性,说明尽管WAK和WAKL各

自家成员之间保守性较高,两个家族之间还是存在较大差异^[17]。

3 WAK 和 WAKL 的表达模式

对拟南芥中WAKs的表达模式进行研究,发现WAKs的表达具有组织特异性,且各自的表达模式不同。应用RNA印迹技术发现,在拟南芥中,WAK1、3和5主要在叶和茎中表达,而WAK4只在长角果中被检测到,WAK2在叶子和茎中有高表达,但在花和长角果中只有较低的表达。在表达量上5个基因也存在差异,WAK1和WAK2相对表达较强^[13]。在拟南芥的生长过程中,GUS染色和原位杂交实验都表明,WAK1和WAK2在器官的连接处、茎和根的顶端分生组织以及正在生长的叶片中都有表达,WAK3在子叶、叶片和茎中常以斑点形式存在,多位于叶脉附近^[11]。

WAKL的表达模式与WAK主要在绿色营养组织表达所不同,在mRNA水平上,WAKLs在拟南芥根和花中有较高表达,如WAKL1、WAKL3和WAKL5等。WAKL的表达在不同发育时间上有差异,如WAKL2和WAKL4在拟南芥正在发育的种子中表达而在成熟种子中不表达,WAKL5则只在幼嫩的叶片中表达。当然也有情况相反的,如WAKL6在成熟叶片中的表达要比幼叶高^[17]。这些基因不同的表达模式说明不同的WAK/WAKL成员在植物不同部位或不同发育时期可能有不同的功能。

外部环境的生物和非生物刺激也可以诱导WAK和WAKL表达,如病原菌侵染、伤害及铝处理都可以诱导WAK1表达^[11,18,19]。在WAKL中,水杨酸(SA)和水杨酸类似物二氯异烟酸(INA)也可诱导WAKL5和WAK7等的表达^[17]。这说明WAK/WAKL与防御反应相关。

对WAK和WAKL基因的表达调控现在还知道的很少。对二家族基因的上游序列分析后发现WAK和WAKL基因都含有TATA盒和CAAT盒,WAKL基因上游序列中还存在共同的调控元件,如AS-1元件(TGACG),这个元件此前被证明是表达水杨酸诱导的抗性蛋白PR-1所必需,所以这些基因的表达调控存在某种共性,如都可以被水杨酸或其类似物诱导表达^[17]。另外,WAK/WAKL基因家族成员多成簇串连分布,如WAK1-5和WAKL1-7,WAK5个基因间距在1.95~3.24 kb之间^[17],而WAKL的成员之间间距在0.50~1.9 kb之间。那么这些串连分布的成员之间在表达调控上是否有关?其上游更远的地方是否

存在共有的调控序列,如增强子等,以及他们之间的表达是协同还是拮抗仍有待进一步研究。

4 WAK 生物学功能

近几年对WAK的功能已有了一些初步研究,已有的资料表明WAK是一类具有多种功能的类受体激酶,参与了诸如病原菌反应、细胞伸长调控、金属胁迫反应等多种生理过程。Shiu和Bleeker^[20]曾将植物类受体激酶按照生物学功能分为两大类,一类是调控植物生长和发育的类受体激酶,另一大类是参与植物与微生物相互作用和防御反应的类受体激酶。WAK在功能上在两大类中都有存在。

() 参与病原菌反应。WAK1可能参与了病原菌反应。当病原菌侵染或用水杨酸(SA)和其类似物二氯异烟酸(INA)处理拟南芥时可以诱导WAK1表达增强;SA诱导WAK1的表达需要NPR1的参与。NPR1是在病原菌诱导的系统抗性(SAR)反应中位于SA信号途径下游的,被认为是活化PR基因的一个正调节因子,说明WAK1可能是一个病原菌相关基因(pathogen related, PR),即PR基因;用致死剂量的SA处理拟南芥时,转入全长WAK1或WAK1激酶域的转基因植株较对照表现出明显抗性,而转入反义WAK1或有显性失活(dominant negative)作用的WAK1片段的转基因植株,对SA和INA处理表现得更为敏感,表明诱导WAK1基因的表达有助于植物在病原菌侵染反应中的存活^[18]。这些结果表明WAK1很可能参与了植物病原菌反应,并且在由于SA水平升高产生的对细胞毒害的过程中可能发挥着某种保护作用。WAK1的这种功能使得细胞壁中的信号可以与细胞内发生的病原菌反应事件通过它而直接联系起来。然而具体WAK如何与细胞壁信号(化学信号分子或细胞壁结构变化等物理信号)识别及与细胞内病原菌相关蛋白(PR)的关系仍需进一步研究。

() 参与细胞伸长调控。WAK可能参与了细胞伸长的调控。杜克大学的Kohorn领导的课题组和旧金山州立大学He的课题组分别利用转入反义基因的方法,发现在拟南芥中转入WAK反义基因后伴随WAK蛋白表达的明显下降,植株生长发育迟缓而表现为矮小,在不同时期诱导反义基因表达可导致莲座叶变小、花梗和长角果变短、根的伸长受到抑制等现象,通过扫描电子显微镜还发现细胞变小但细胞总数目没有明显改变,表明WAK在细胞的伸长

过程而非增殖过程中发挥着重要作用^[11,21]。有意思的是, Wagner等人^[11]转入的是WAK2的片段而Lally等人^[21]转入的是WAK4全长反义基因, 而结果导致所有WAKs蛋白的表达下降, 因此是1种还是5种WAK调控了细胞的伸长过程尚不清楚。为什么转入一种反义基因会导致所有基因表达受到抑制? 一种推测是, WAKs在体内可能以复合物的形式发挥作用, WAK4的缺少会导致复合物不稳定而被降解^[21], 但有待进一步验证。在实验中, 研究者选用了糖皮质激素诱导的表达系统来诱导反义基因表达, 因为用组成型启动子(如35S)表达反义基因在实验中不能得到转化植株, 表明WAK的抑制可能影响了种子的早期萌发而产生致死^[11]。Lally等人^[21]的实验还表明, 在拟南芥发育的不同时期诱导反应基因表达会导致不同的表型, 如在早期会出现最严重的发育迟缓的表型, 植株非常矮小, 而当植株的各个器官已经形成后, 反义基因的表达通常只影响器官的正在活性生长的部位^[21]。

植物的生长和细胞伸长调控非常复杂, 多种植物激素, 如赤霉素^[22]、油菜素内酯^[23]、生长素^[24]、乙烯^[25]和某些细胞壁蛋白, 如expansin^[26]等都有关, 因此WAK与他们之间的关系的研究将有助于我们深入了解细胞伸长的调控机制。

() 参与金属离子胁迫反应。WAK可能参与金属离子的胁迫和耐受反应。Sivaguru等人^[19]报道, 铝可以诱导拟南芥WAK1的表达, 铝处理3h根中WAK1的mRNA水平达到最高随后下降, 蛋白表达高峰则出现在铝处理6h, 所以认为WAK1是受铝诱导的一个早期反应基因。将WAK1转入拟南芥超表达后, 由于铝胁迫引起的根生长抑制被明显减弱了, 说明WAK1的增加有助于植物对铝的耐受性。他们还发现, 铝可以诱导气孔关闭, 应用免疫荧光技术观察到铝处理6h后, 根伸长区和分生区细胞的WAK表达明显增加, 且铝处理9h导致微管解聚^[19], 但WAK的表达与微管解聚是否有关还不清楚。

我们知道WAK1可以作为PR蛋白参与病原菌反应^[18], 包括铝在内的很多胁迫反应上调的基因都与病原菌反应相关蛋白(PR)高度同源, 所以很可能包括铝离子在内的胁迫反应、病原菌反应、伤害反应等在体内的调控途径存在重叠、交叉或交谈(crosstalk), 而WAK可能是研究各途径之间关系的一个很好的交叉点。

5 WAK的作用机制

一种蛋白质参与多种生理反应并不少见, 关键是它如何参与多种生理反应。已知病原菌的侵染开始于对细胞壁的破坏, 而细胞在伸长过程中往往伴随细胞壁结构和成分的调整^[27,28], 两个过程都涉及细胞壁的变化, 而WAK/WAKL的分子结构特点是胞外域与细胞壁紧密相连, 胞内域具有激酶活性可以将胞外信号通过磷酸化的方式进行传递, 所以一种可能的解释是细胞伸长或外部刺激(如病原菌侵染)等引起细胞壁产生某种相似的变化被WAK/WAKL感知并将信息传递到细胞内, 引发相应生理反应, 如合成和分泌细胞壁组分来适应细胞伸长或修复病原菌侵染造成的细胞壁损伤。WAK的胞外域与细胞壁成分果胶共价交联, 具备感知细胞壁变化的分子基础, 因而有可能将细胞壁的结构或成分变化跨膜传递到细胞内。那么, WAK应该能在细胞外结合一种或几种信号分子, 将信息跨膜传递给胞内的靶蛋白, 引发相应生理反应。

WAK在胞外是否存在配基? 2001年, Park等人^[29]发现一个富含甘氨酸的细胞壁蛋白AtGRP3与WAK1能特异性结合, AtGRP3属于一类富含甘氨酸的蛋白质家族, 存在于细胞壁, 生理功能未知。AtGRP3与WAK1结合后可以再与质膜内侧的一种激酶相关的蛋白磷酸酶KAPP结合形成一个约500kD的复合物, AtGRP3和WAK1的结合对形成完整的复合物是非常必要的。与WAK1相似, AtGRP3也能被水杨酸诱导, 外加AtGPR3也能上调WAK1的表达, 因此作者认为AtGRP3与WAK1的结合具有生理意义, AtGRP3可能通过与WAK1结合调节WAK1在病原菌反应中的功能^[29]。目前的实验证据表明AtGRP3是WAK1的胞外结合蛋白, 但是否作为配基发挥作用仍需更深入的实验来证实。Park等^[29]还发现, AtGRP3与WAK1, 3和5结合而不与WAK2和WAK4结合, 由此也表明不同的WAK成员具有不同的功能。所以必然存在更多的WAK胞外结合蛋白需要人们去了解。

果胶是目前发现的另一个与WAK结合的细胞壁分子, 且它们之间被认为是共价结合^[11]。Decreux等人^[30]的进一步研究发现, WAK1与果胶的结合需要细胞壁中存在适当浓度的钙离子, 且在钙离子间形成所谓“钙桥(calcium bridge)”, 即“蛋盒(egg box)”结构, 这种钙离子结构的对形成GRP3-WAK1-KAPP复合物非常重要, 而有可能启动了信号传递过

程。果胶与WAK的结合也许并非只是结构性的结合,可能更具有生理意义,如在病原菌侵染位点发现细胞壁中的果胶明显减少^[31],在根的分生细胞中果胶可以内化而在细胞板中富集,并可能被用于新细胞壁的形成^[32]。因而果胶作为细胞壁的主要成分之一,不仅能维持细胞壁结构完整,而且在细胞壁参与调控的植物形态建成、分化、病原菌侵染等生理反应中作为主要信号成分发挥作用^[33]。此外,果胶与WAK的结合被发现与胞外钙离子有关,一些环境刺激会导致胞外钙离子的变化,钙离子作为信号物质可以调控多种生理反应,因而可以推测WAK与果胶的结合可能具有特殊的生物学意义,与一种不同于传统受体——配基的方式感知外界刺激导致的细胞壁变化,如钙离子浓度、果胶的组成和结构等的变化并将之传递到细胞内。这些只是简单的推测,仍需要大量的实验证据帮助我们了解WAK与果胶结合的意义。

WAK和WAKL虽然都含有激酶域序列,然而它们是否具备激酶活性对于确定它们通过磷酸化胞内靶蛋白进行信号转导的作用机制是非常必要的。Anderson等人^[34]对WAK1的激酶域进行体外表达,发现表达产物具有激酶活性,并发现激酶域中保守的第298位赖氨酸对激酶活性是非常关键的,它的突变会导致激酶活性丧失。

对WAK在细胞内的靶蛋白目前还所知甚少。Yang等人^[35]报道发现一个叶绿体中的氧相关增强蛋白2(OEE2)能够与WAK的激酶域结合,且能够以WAK1/GRP3依赖的方式被磷酸化,说明OEE2可能是WAK1-GRP3在细胞内调节的靶蛋白之一。

WAK在细胞内能与KAPP相互作用并形成500 kD的GRP3-WAK1-KAPP复合物^[29,34]。KAPP被发现能与CLV1, SRK, SERK1, HAESA等多种植物类受体激酶的胞内域结合,并可能以负调节因子的方式对受体激酶介导的信号转导途径起调控作用^[36-39],说明KAPP可能是受体激酶在细胞内通用的调节因子, WAK可能是受其调节的靶蛋白之一。

综上所述,对WAK作用机制也许可以做出这样的假设:病原菌侵染、细胞分化等导致细胞壁变化, WAK通过与果胶的结合直接或间接感受细胞壁结构变化,进而与不同的细胞壁蛋白或其他成分结合,形成具有特定功能复合物,将信号传递到胞内,使相应的靶蛋白磷酸化,从而完成信号由胞外传递到

细胞内。总之,对WAK的作用机制目前所知道的事实还很少,实验还不深入,相信今后越来越多的证据会帮助我们了解WAK的功能和作用机制。

6 讨论

细胞壁在植物的生长过程以及在遭受病原菌侵染或其他胁迫处理时发挥着重要作用,所以细胞壁与细胞质之间的通讯联系是保证协调发育的重要手段。然而目前在植物中对细胞壁与细胞质之间信号传递途径还了解的很少。植物细胞壁在功能上相当于动物细胞外基质(ECM)。在动物中,细胞外基质与细胞质之间的通讯联系研究的较植物清楚,被认为在二者之间起着桥梁作用的连接分子中研究的最清楚的是整合素(integrin)。整合素是位于细胞表面的跨膜蛋白,由 α 和 β 亚基组成异二聚体,在胞外可以结合纤连蛋白、胶原、蛋白聚糖等多种细胞外基质成分,在胞内与细胞骨架的微丝结合蛋白结合。在功能上整合素不仅介导细胞附着到细胞外基质上,更重要的是提供了一种细胞外环境调控细胞活性的渠道。除整合素外,在细胞外基质和细胞骨架之间可能起连接作用的分子还有钙粘着蛋白^[40]、免疫球蛋白超家族^[41]等,但其作用机制尚不清楚。同时,在植物中虽然用动物整合素抗体在植物中检测到了多个能产生免疫交叉反应的类整合素蛋白的存在^[42],但其在功能和作用方式上是否类似动物整合素不清楚。随着拟南芥等测序的完成,人们发现高等植物似乎不存在整合素的同源基因,并且也缺乏整合素在细胞内相互作用的骨架结合蛋白如踝蛋白(talin)、纽蛋白(vinculin)、细丝蛋白(filamin)等^[43]。因此植物中可能存在不同于动物整合素的信号途径来完成细胞壁和细胞质间的信号传递,但具体是什么在介导这个传导过程还不知道。参照动物整合素可以推测能够担当此任务的分子也许应该具有这样的条件:()是跨膜蛋白;()胞外域与细胞壁成分相连;()胞内与细胞骨架相连或者能活化胞内的信号分子;()能执行一种或多种生理功能。如此,植物中最有可能的分子当是WAK。WAK作为跨膜的类受体激酶在胞外与果胶紧密相连,胞内域具激酶活性从而能够通过磷酸化将信号传递,功能上具有调节细胞伸长、参与病原菌反应等多种生理功能^[9,11,21,32]。但在细胞内是否与细胞骨架结合还不知道。另外,植物类受体激酶中另一类含凝集素样结构的类受体激酶也可以

作为候选分子^[44], 该类分子被推测能结合果胶, 并发现其激酶活性能被果胶寡聚物激活^[45]. 植物细胞壁信号, 包括机械信号传递到细胞质的过程很复杂, 也许通过不止一条途径来实现, WAK提供了一个研究此过程的很好的候选对象, 相信深入解析WAK的作用机制将有助于我们了解细胞壁信号如何传递到胞内并发挥调控作用, 也为我们了解植物细胞在生长发育和对环境刺激应答过程中的调控提供帮助.

致谢 本工作为国家重点基础研究发展规划(批准号: 2006CB100100)和国家高技术研究发展计划(批准号: 2002AA2Z1001)资助项目.

参 考 文 献

- 1 孙大业, 郭艳林, 马力耕, 等. 细胞信号转导. 北京: 科学出版社, 2001. 178
- 2 Geer P, Hunter T, Lindberg R A. Receptor protein-tyrosine kinase and their signal transduction pathways. *Annu Rev Cell Biol*, 1994, 10: 251~337[DOI]
- 3 Bockaert J, Pin J P. Molecular thinking of G protein-coupled receptors: An evolutionary success. *EMBO J*, 1999, 18: 1723~1729[DOI]
- 4 Bargmann C. Neurobiology of the *Caenorhabditis elegans* genome. *Science*, 1998, 282: 2028~2033
- 5 Josefsson L. Evidence for kinship between diverse G-coupled receptors. *Gene*, 1999, 293: 333~340[DOI]
- 6 Walker J C, Zhang R. Relationship of a putative receptor protein kinase from maize to the S-locus glycoproteins of Brassica. *Nature*, 1990, 345: 743~746[DOI]
- 7 Shiu S H, Karlowski W M, Pan R, et al. Comparative analysis of the receptor-like kinase family in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16: 1220~1234[DOI]
- 8 Haffani Y Z, Silva N F, Goring D R. Receptor kinase signalling in plants. *Can J Bot*, 2004, 82: 1~15[DOI]
- 9 He Z H, Fujiki M, Kohorn B D. A cell wall-associated receptor-like kinase. *J Biol Chem*, 1996, 271: 19789~19793[DOI]
- 10 Brownlee C. Role of the extracellular matrix in cell-cell signaling: Paracrine paradigm. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5: 396~401[DOI]
- 11 Wagner T A, Kohorn B D. Wall-associated kinases are expressed throughout plant development and are required for cell expansion. *Plant Cell*, 2001, 13: 303~318[DOI]
- 12 Verica J A, He Z H. The cell wall-associated kinase (WAK) and WAK-like kinase gene family. *Plant Physiol*, 2001, 129: 455~459[DOI]
- 13 He Z H, Cheeseman I, He D, et al. A cluster of five cell wall-associated receptor kinase genes, Wak1-5, are expressed in specific organs of *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 1999, 39: 1189~1196[DOI]
- 14 Appella E, Robinson E A, Ullrich S J, et al. The receptor-binding sequence of urokinase: A biological function for the growth-factor module of protease. *J Biol Chem*, 1987, 262: 219~230
- 15 Rebay I, Fleming R J, Fehon R G, et al. Specific EGF repeats of Notch mediate interaction with Delta and Serrate: Implications for Notch as a multifunctional receptor. *Cell*, 1991, 67: 687~699[DOI]
- 16 Zhang Y, Brown R J, West C. Two proteins of the *Dictyostelium* spore coat bind to cellulose *in vitro*. *Biochemistry*, 1998, 37: 10766~10779[DOI]
- 17 Verica J A, Chae L, Tong H Y, et al. Tissue specific and developmentally regulated expression of a cluster of tandemly arrayed cell wall-associated kinase-like kinase genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2003, 133: 1732~1746[DOI]
- 18 He Z H, He D, Kohorn B D. Requirement of the induced expression of a cell wall associated receptor kinase for survival during the pathogen response. *Plant J*, 1998, 14: 55~63[DOI]
- 19 Sivaguru M, Ezaki B, He zh-h, et al. Aluminum-induced gene expression and protein localization of a cell wall-associated receptor kinase in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2003, 132: 2256~2266[DOI]
- 20 Shiu S H, Bleecker A B. Receptor-like kinases from *Arabidopsis* form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(19): 10763~10768[DOI]
- 21 Lally D, Ingmire P, Tong H Y, et al. Antisense expression of a cell wall-associated protein kinase, Wak4, inhibits cell elongation and alters morphology. *Plant Cell*, 2001, 13: 1317~1331[DOI]
- 22 Sun T P, Kamiya Y. The *Arabidopsis* GA1 locus encodes the cyclase ent-kaurene synthetase A of gibberellin biosynthesis. *Plant Cell*, 1994, 6: 1509~1518[DOI]
- 23 Fujioka S, Li J, Choi Y H, et al. The *Arabidopsis* deetiolated2 mutant is blocked early in brassinosteroid biosynthesis. *Plant Cell*, 1997, 9: 1951~1962[DOI]
- 24 Jones A M. Auxin transport: Down and out and up again. *Science*, 1998, 282: 2201~2203
- 25 Bleecker A B, Estelle M A, Somerville C, et al. Insensitivity to ethylene conferred by a dominant mutation in *Arabidopsis thaliana*. *Science*, 1988, 241: 1086~1089
- 26 Caderas D, Muster M, Vogler H, et al. Limited correlation between expansin gene expression and elongation growth rate. *Plant Physiol*, 2000, 123: 1399~1413[DOI]
- 27 Cosgrove D J. Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1997, 13: 171~201[DOI]
- 28 Grant M, Mansfield J. Early events in host-pathogen interactions. *Curr Opin Plant Biol*, 1998, 2: 312~319[DOI]
- 29 Park A R, Cho S K, Yun U J, et al. Interaction of the *Arabidopsis* receptor protein kinase Wak1 with a Glycine-rich protein, AtGRP3. *J Biol Chem*, 2001, 276: 26688~26693[DOI]
- 30 Decreux A, Messiaen J. Wall-associated kinase WAK1 interacts with cell wall pectins in a calcium-induced conformation. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46: 268~278[DOI]
- 31 Boudjeko T, Andeme-Onzighi C, Vicre M, et al. Loss of pectin is an early event during infection of cocoyam roots by *Pythium myriotylum*. *Planta*, 2005, 14: 1~12
- 32 Baluska F, Liners F, Hlavacka A, et al. Cell wall pectins and xy-

- loglucans are internalized into dividing root cells and accumulate within cell plates during cytokinesis. *Protoplasma*, 2005, 225: 141~55[DOI]
- 33 Ridley B L, O'Neill M A, Mohnen D. Pectins: Structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 2001, 57: 929~967[DOI]
- 34 Anderson C M, Wagner T A, Peter M, et al. WAKs: Cell wall-associated kinases linking the cytoplasm to the extracellular matrix. *Plant Mol Biol*, 2001, 47: 197~206[DOI]
- 35 Yang E J, Oh Y A, Lee E S, et al. Oxygen-evolving enhancer protein 2 is phosphorylated by glycine-rich protein3/wall-associated kinase 1 in *Arabidopsis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 305: 862~868[DOI]
- 36 Williams R W, Wilson J M, Meyerowitz E M. A possible role for kinase-associated protein phosphatase in the *Arabidopsis* CLAVATA1 signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 10467~10472[DOI]
- 37 Stone J M, Trotochaud A E, Walker J C, et al. Control of meristem development by CLAVATA1 receptor kinase and kinase-associated protein phosphatase interactions. *Plant Physiol*, 1998, 117: 1217~1225[DOI]
- 38 Braun D M, Stone J M, Walker J C. Interaction of the maize and *Arabidopsis* kinase interaction domains with a subset of receptor-like protein kinases: Implications for transmembrane signaling in plants. *Plant J*, 1997, 12: 83~95[DOI]
- 39 Shah K, Russinova E, Gadella T W, et al. The *Arabidopsis* kinase-associated protein phosphatase controls internalization of the somatic embryogenesis receptor kinase 1. *Genes Dev*, 2002, 16: 1707~1720[DOI]
- 40 Adams C L, Nelson W J. Cytomechanics of cadherin-mediated cell-cell adhesion. *Curr Opin Cell Biol*, 1998, 10: 572~577[DOI]
- 41 Hynes R O. Cell adhesion: Old and new questions. *Trends Cell Biol*, 1999, 9: M33~M37[DOI]
- 42 孙颖, 孙大业. 植物类整合素研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2001, 28: 283~286
- 43 Hussey P J, Allwood E G, Smertenko A P. Actin-binding proteins in the *Arabidopsis* genome database: Properties of functionally distinct plant actin-depolymerizing factors/cofilins. *Philos Trans R Soc Lond B*, 2002, 357: 791~798[DOI]
- 44 Baluska F, Samaj J, Wojtaszek P, et al. Cytoskeleton-plasma membrane-cell wall continuum in plants, Emerging Links Revisited. *Plant Physiol*, 2003, 133: 482~491[DOI]
- 45 Riou C, Hervé C, Pacquit V, et al. Expression of an *Arabidopsis* lectin kinase receptor gene, lecRK-a1, is induced during senescence, wounding and in response to oligogalacturonic acids. *Plant Physiol Biochem*, 2002, 40: 431~438[DOI]
- (2005-09-23 收稿, 2005-11-02 接受)