

非豆科植物共生受体样蛋白激酶研究进展

Advance of Plant Symbiosis Receptor-like Kinase in Nonlegumes

朱先灿^{1,2}, 胡鸞雷^{1*}, 谭之京¹, 祝建波², 林忠平^{1,2}

ZHU Xian-Can^{1,2}, HU Yuan-Lei^{1*}, TAN Zhi-Jing¹, ZHU Jian-Bo² and LIN Zhong-Ping^{1,2}

1 北京大学生命科学学院, 北京 100871

2 新疆石河子大学绿洲生态农业重点实验室, 石河子 832003

1 College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

2 Key Laboratory of Oasis Eco-Agriculture, Shihezi University, Shihezi 832003, China

摘 要 植物根部能够与微生物形成相互依存、互惠互利的共生关系,非豆科植物根系主要与内生真菌形成菌根的共生体。共生受体样蛋白激酶(symbiosis receptor-like kinase, SYMRK)是植物识别菌根真菌诱导而产生的特异分子,它的蛋白结构由三个部分组成,即:包含3个富含亮氨酸重复序列(LRRs)的胞外受体结合域、跨膜区和胞内蛋白激酶域。*Symrk*是控制共生形成的一个关键组分,该基因所编码的蛋白在植物识别和应答菌根真菌早期信号转导途径中是必需的。对*Symrk*基因的研究为进一步弄清植物-真菌共生的功能和作用机理打下了坚实的基础。

关键词 共生,共生受体样蛋白激酶,菌根

中图分类号 Q55 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2007)03-0363-04

Abstract Most plants can form a symbiosis in root with microorganisms for mutual benefit, Nonlegumes mainly form the symbiotic mycorrhiza with arbuscular fungi. The interaction is initiated by invasion of arbuscular mycorrhiza(AM) fungi into the plant root, and follows by production of several special signal molecules, such as the symbiosis receptor-like kinase(SYMRK) from plant. SYMRK has an extracellular domain comprising three leucine-rich repeats(LRRs), a transmembrane domain and an cytoplasmic protein kinase domain. *Symrk* is required for a symbiotic signal transduction pathway from the perception of microbial signal molecules to the rapid symbiosis-related gene activation. Study of *symrk* may set up a solid foundation for giving further insight on the function and mechanism of plant-fungi symbiosis.

Key words symbiosis, SYMRK, mycorrhizal

在自然界中,许多植物和微生物相互受益而能在恶劣的环境中生长,比如说共生关系:微生物从土壤中吸取丰富的养分,与植物中的糖分交换,从而互惠互利,促进彼此生长。丛枝菌根(arbuscular mycorrhizal, AM)和根瘤(root nodule)共生是两种最重要的植物-微生物共生体^[1]。菌根是一种非常古老(>4亿年)的共生类型,在植物向陆地迁移中发挥

重要作用,大多数(80%~90%)陆生植物能和AM真菌形成共生关系^[2,3,4]。而根瘤共生关系只局限在豆科植物和根瘤菌(rhizobial bacteria)之间^[5]。

豆科植物的固氮共生是一系列基因和信号分子相互作用的结果。根瘤菌趋化性入侵植物根毛后,引起结瘤基因(*nod*)的表达,*nod*基因的激活受宿主植物专一的黄酮类物质的调节^[6]。根瘤菌的*nod*基

因表达后,将合成并分泌一类脂壳寡糖(lipo-chitooligosaccharides),即结瘤因子,结瘤因子反过来诱导宿主植物的应答,包括快速的离子流动、细胞膜的去极化、钙峰的形成、根毛的变形及卷曲、宿主基因的表达和细胞分裂等^[7-8]。这些生理和形态上的变化最终导致根瘤的形成。在根瘤形成的早期,一些重要的蛋白激酶在植物识别和应答AM真菌和根瘤菌的信号转导途径中发挥重要作用。人们相继在苜蓿(*Medicago truncatula*)、百脉根(*Lotus japonicus*)和山豆(*Lathyrus sativus*)等豆科植物中克隆了共生受体样蛋白激酶(symbiosis receptor-like kinase, SYMRK)基因^[9]。研究表明,在百脉根 *symrk* 基因突变株系中,结瘤因子不会诱导根毛卷曲,致使植物在早期就不能和AM真菌或根瘤菌建立共生关系^[9]。

非豆科植物主要与AM真菌形成共生关系。Giczey等在欧洲柃木(*Alnus glutinosa*)、旱金莲(*Tropaeolum majus*)和番茄(*Lycopersicon esculentum*)等非豆科植物中克隆出了 *symrk* 基因。本文就非豆科植物中 SYMRK 的研究现状和进展做一简单概述。

1 共生受体样蛋白激酶结构分析

SYMRK属于富含亮氨酸重复序列(Leucine-rich repeat, LRR)型植物类受体蛋白激酶,是一类包含胞外受体结构域、跨膜域和胞内蛋白激酶结构域的蛋白分子,其结构如图1所示。它们通过胞外结构域与胞外信号分子,如离子、小分子或多肽等的特异结合来激活胞内激酶域的自磷酸化和互磷酸化活性,完成跨膜传递信号的功能。

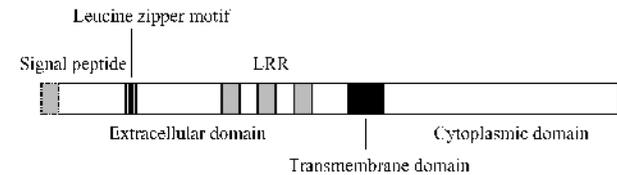


图1 共生受体样蛋白激酶结构示意图
Fig. 1 Structure of symbiosis receptor-like kinase
LRR: Leucine-rich repeat

1.1 胞外 LRR 基序

SYMRK胞外结构域含有3个LRRs基序,每个LRR基序一般含有23~25个氨基酸,并且具有保守的序列:LxxLxLxxNxLxGxxIP。LRRs基序参与蛋白质-蛋白质相互作用,在分子识别过程,如信号转导、细胞粘附、细胞发育、DNA修复和RNA加工等过程中起重要作用^[10]。每一个LRR基序包含一个β-折叠和一个α-螺旋,由一个环连接。其保守的疏水氨基

酸残基位于立体结构的外表面,可能与受体区结构形成有关^[11]。SYMRK每个LRR基序中都插入了一个内含子,和其它许多蛋白激酶一样,内含子的插入点相对固定。

1.2 胞内蛋白激酶结构域

植物类受体激酶域具有相似的功能区,均由11个保守的亚结构域组成。根据2个亚结构域氨基酸组成不同,可以将蛋白激酶分为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶和酪氨酸蛋白激酶。共生受体样蛋白激酶属于丝/苏氨酸蛋白激酶^[12]。

另外,在SYMRK的N端含有一段短的疏水信号小肽,一般由25~30个氨基酸组成,在蛋白质合成过程中,可能锚定蛋白质于内质网上。SYMRK跨膜区由29个疏水氨基酸组成,跨膜区通过碱性氨基酸与C端连接,这种碱性氨基酸可能起“阻止转移信号”的作用^[13]。

2 SYMRK 的信号转导

菌根的形成是一个十分复杂的过程。AM真菌趋化性地接近植物根毛细胞,并在植物根际繁殖,进入内皮层形成附着胞(appressorium),进一步发育成多分支的真菌菌丝——丛枝(arbuscules)^[14]。同时AM真菌在根外也形成胞外菌丝,因而内外菌丝协调发展,共同促进植物从土壤中吸收养分,特别是对磷的吸收。

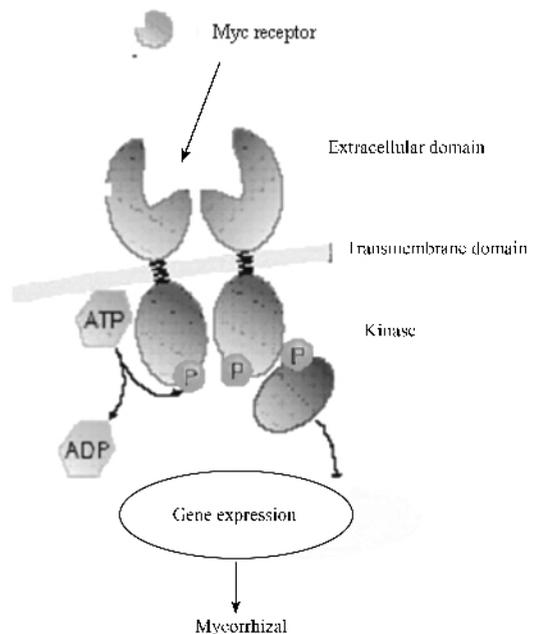


图2 SYMRK 信号转导示意图^[16]

AM 真菌感染植物后会诱导一些共生相关的基因的表达,同时植物根系也会分泌一些活性物质激活和调节基因的表达,引起真菌产生一类称为“Myc 因子”的信号分子^[14,15]。Myc 因子与 SYMRK 的胞外受体结构域结合后,激活胞内蛋白激酶域。蛋白激酶对其底物蛋白质所特定的氨基酸残基进行磷酸化修饰,从而引起相应的生理反应。共生相关的基因得到表达,最终形成菌根共生体。蛋白质磷酸化修饰是细胞信号传递过程中几乎所有信号传递途径的共同环节,也是中心环节,由蛋白激酶和蛋白磷酸酶完成。当蛋白质磷酸化后,ATP 的 γ -磷酸被转移到激酶上,然后级联传递到下一个中间蛋白。而蛋白磷酸酶可以使磷酸化的蛋白质去磷酸化,使得蛋白激酶完成信号接收或传递后及时失活,不至于造成细胞内出现持续性激活或失活的现象。此外,由于蛋

白激酶的底物既可以是酶,也可以是转录因子,因而它们既可以直接通过对酶的磷酸化修饰来改变酶的活性,也可以通过修饰转录因子而激活或抑制基因的表达,从而使细胞对外来信号作出相应的反应。

3 SYMRK 生物信息学分析

利用 DNAMAN 序列分析软件对非豆科植物欧洲柃木(GENBANK 登陆号:AAY22386,AAY22387)、旱金莲(AAY22388)和番茄(AAY22055)的 SYMRK 氨基酸序列进行序列分析。四种 *symrk* 基因(欧洲柃木有 2 个 *symrk* 等位基因)核苷酸序列的相似度为 80.96% 具有较高的相似性;氨基酸序列的相似度为 76.24% 图 3 显示的是 4 种 *symrk* 基因氨基酸序列比对结果,从图中可以看出胞内激酶结构域的相似性很高,而胞外结构域的同源性较低。

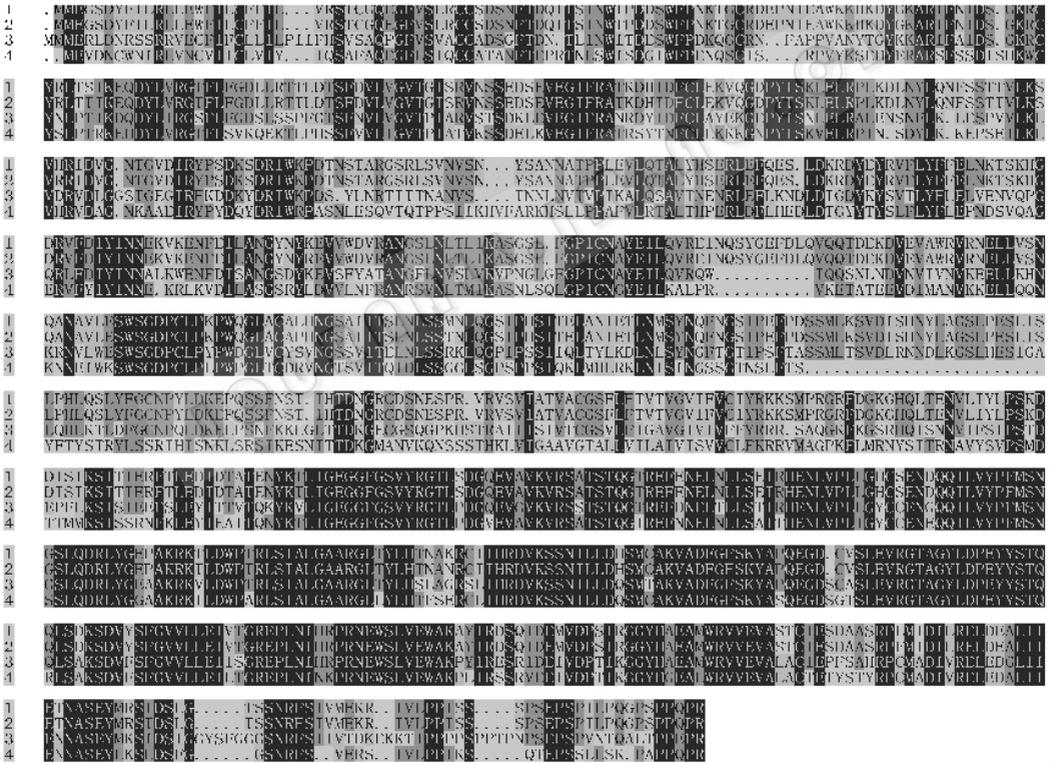


图 3 SYMRK 氨基酸序列比对图

Fig. 3 Blastp of symbiosis receptor-like kinase

1 2 : *Alnus glutinosa* SYMRK 3 : *Tropaeolum majus* SYMRK ; 4 : *Lycopersicon esculentum* SYMRK.

将非豆科植物 SYMRK 蛋白序列与豆科植物 SYMRK 和与 SYMRK 相似性最近的水稻(*Oryza sativa*) LRR 蛋白激酶(GENBANK 登陆号:ABA95578)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) LRR 蛋白激酶(GENBANK 登陆号:NP-564904)蛋白序列进行多重比对,并构建系统发育进化树(见图 4)。从图中可以看出水稻和拟南芥的 LRR 蛋白激酶的进化独

立于 SYMRK 蛋白之外,豆科植物中 SYMRK 之间的进化关系较为密切。

4 展望

植物-微生物共生在农业生产上具有十分重要的作用。菌根能促进植物对土壤中矿质营养特别是对无机磷的吸收,还可以提高植物抗旱、抗盐碱、抗

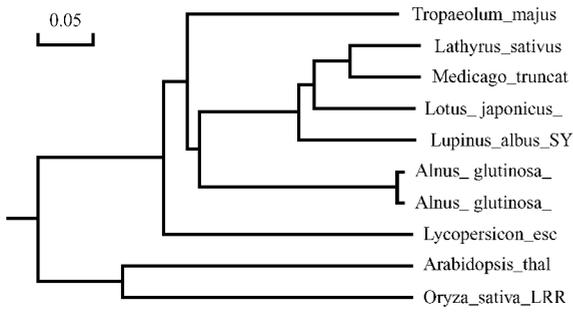


图4 10种LRR型蛋白激酶的系统发育树状图

Fig. 4 Phylogenetic tree of plant LRR protein kinase

病等抵御外界不良环境条件的能力,促进植物生长并改善其品质,并且菌根在生态系统中是一种普遍存在的共生类型,大多数陆生植物都能形成菌根,因此,菌根在农林生产中具有广阔的应用前景,对于提高粮食作物的产量,解决全球人口的温饱问题具有不可忽视的作用。

共生关系的建立涉及3个重要的因素:内生真菌共生所需的植物基因,如 *symrk* 基因;由宿主根部产生的信号分子的变化对真菌的激活作用和环境因素的作用。人们对豆科植物 SYMRK 的研究比较多,SYMRK 在根瘤及菌根形成过程中的作用了解得比较清楚。我们从山豆中分离出了 *symrk* 基因,并对其进行了功能分析。但是在非豆科植物中,人们对 SYMRK 的研究很少,因此,怎样从非豆科植物中,特别是从禾本科植物中分离 *symrk* 基因,研究 SYMRK 在菌根中的功能和对植物生长发育的作用尤为重要。

目前,我们实验室的一个研究重点是由内生菌共生所引起的草类植物与环境的相关关系的变动。它不仅涉及植物氮素、磷素等营养成分的供应,还涉及草类对环境胁迫的适应性的增强,草类植物生育期的调整等。当我们不仅关注单株植物的发育,更多关注草类植物群体系统的兴衰动态时,研究内生菌的调控作用就更加重要。然而目前我们对这种调控的分子机理所知甚少。一些相关知识来自豆科植物与根瘤菌的相互关系,探讨非豆科植物中 *symrk* 基因的激活过程可能是研究内生菌共生理的关键所在。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Zhu H, Riely BK, Burns NJ, et al. Ane tracing nonlegume orthologs of legume genes required for nodulation and arbuscular mycorrhizal symbioses. *Genetics*, 2006, **172** (4): 2491–2499.
- [2] Heckman DS, Geiser DM, Eidell BR, et al. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science*, 2001 **293**: 1129–1133.
- [3] Redecker D, Kodner DR, Graham LE. Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*, 2000 **289**: 1920–1921.
- [4] Remy W, Taylor TN, Has H, et al. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**: 11841–11843.
- [5] Soltis PS, Soltis DE, Chase MW. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *Nature*, 1999 **402**: 402–404.
- [6] Peters NK, Vermet DPS. Penolic compounds as regulators of gene expression in plant-microbe interaction. *Plant-Microbe Interact*, 1990 **3** (3): 4–8.
- [7] Downie JA, Walker SA. Plant responses to nodulation factors. *Curr Opin Plant Biol*, 1999 **2**: 483–489.
- [8] Oldroyd GE, Downie JA. Calcium, kinases and nodulation signalling in legumes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004 **5**: 566–576.
- [9] Stracke, Kistner SC, Yoshida S, et al. A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis. *Nature*, 2002, **417**: 959–962.
- [10] Kobe B, Deisenhofer J. A structural basis of the interaction between leucine-rich repeats and protein ligands. *Nature*, 1995 **374**: 183–186.
- [11] Staskawicz BJ, Ausukel FM, Backer BJ, et al. Molecular genetics of plant disease resistance. *Science*, 1995 **268**: 661–667.
- [12] Hanks SS, Quinn AM, Hunter T. The protein kinase family: conserved feature and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science*, 1988 **241**: 42–52.
- [13] Walker JC. Structure and function of receptor-like protein kinase of higher plants. *Plant Mol Biol*, 1994 **26**: 1599–1609.
- [14] Harrison MJ. Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annu Rev Microbiol*, 2005, **59**: 19–42.
- [15] Genre A, Chabaud M, Timmers T, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *Plant Cell*, 2005 **17**: 3489–3499.
- [16] Shiu SH, Bleeker AB. Plant receptor-like kinase gene family: diversity, function, and signalling. *Science's STKE*, 2001, **113**: RE22.