

植物的双组分信号系统

^{1,2} 类延宝 ^{1,2} 宋松泉 ² 傅家瑞 ³ 程红焱

¹(中国科学院西双版纳热带植物园 云南勐腊 666303) ²(中山大学生命科学学院 广州 510275)

³(中国科学院植物研究所 北京 100093)

摘要 双组分系统由感受信号输入的组氨酸 (His) 蛋白激酶和调节信号输出的反应调控因子组成, 涉及许多原核生物、真菌、黏菌和植物的各种信号转导途径。在植物中, 还存在更复杂的包括杂合的His激酶、磷酸传递中间体和反应调控因子的信号系统, 称为多步骤双组分系统。最近的研究表明, 双组分系统在对环境刺激和生长调节剂(如乙烯、细胞分裂素、光和渗透胁迫)的反应中起重要作用。

关键词 双组分系统, 信号转导, 乙烯, 细胞分裂素

Two-Component Signaling Systems in Plants

^{1,2} LEI Yan-Bao ^{1,2} SONG Song-Quan ¹ FU Jia-Rui ³ CHENG Hong-Yan

¹(Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Mengla, Yuannan, 666303)

² (School of Life Science, Zhongshan University, Guangzhou, 510275)

³ (Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

Abstract Two-component systems, consisting of a histidine (His) protein kinase that senses a signal input and a response regulator that mediates the output, are involved in various signal transduction pathways in many prokaryotes, fungi, slime molds, and plants. While in plants, there also exist more complex signaling systems that include a hybrid His kinase, a phosphorelay intermediate and a response regulator, which is referred to as multiple step two component systems. Recent studies indicated that two-component systems play important roles in signal transduction in response to environmental stimuli and growth regulators (such as ethylene, cytokinin), light and osmotic stress.

Key words Two component systems, Signal transduction, Ethylene, Cytokinin

生物需要复杂而精密的信号系统感受、传导和响应外界环境的变化。蛋白磷酸化是原核和真核生物进行信号转导的主要机制。蛋白磷酸化由激酶催化, 根据对底物专一性的不同, 激酶可分为Ser/Thr激酶、Tyr激酶和His激酶等。细菌His激酶在感受趋化性因子、渗透改变和营养缺乏中起重要作用 (Parkinson and Kofoed, 1992)。该信号系统由两部分组成, 包括感受器和反应调节蛋白, 称为双组分系统 (two-component system)。感受器通常位于细胞质膜上以监测环境变化, 反应调节蛋白位于细胞质中并传递来自感受器的信号和调节基因的表达, 以响应外界的变化。

中国科学院“百人计划”和知识创新工程重要方向性项目 (KSCX2-SW-117) 资助项目。

通讯作者: Author for correspondence.

作者简介: 宋松泉, 男, 1957年生, 博士, 教授, 主要从事植物逆境生理和种子生物学的教学和研究。

收稿日期: 2003-01-13 接受日期: 2003-04-16 责任编辑: 崔郁英

双组分系统最初是由Ninfa和Magasanik (1986) 在研究大肠杆菌 (*E. coli*) 氮调节蛋白 (nitrogen regulatory protein, NR) 系统时发现的;与此同时 Nixon等 (1986)发现细菌中存在许多感应系统 (sensory system) 其组分与大肠杆菌的NR系统的组分具有相似的氨基酸序列 (Vighl et al., 1993)。双组分系统普遍存在于原核生物中, 大肠杆菌中具有30种不同的双组分系统 (Chang and Stewart, 1998)。目前, 在真核生物如酵母 (Ota and Varshavsky, 1993)、哺乳动物 (Galcheva et al., 1994) 和高等植物 (Chang and Stadel, 2001) 中也发现了双组分系统。本文介绍植物双组分信号系统的研究进展。

1 简单的双组分系统: His-Asp

简单的双组分系统由组氨酸蛋白激酶 (histidine protein kinase, HPK) 和反应调节蛋白 (response-regulator protein, RR) 组成。HPK是一种跨膜蛋白, 通常有1~2个跨膜区, 以二聚体的形式起作用, 并发生自体磷酸化 (Bourret et al., 1991)。HPK有一个能够感受外界信号的输入模件 (input module) 并与蛋白激酶的催化模件 (catalytic module) 相连接, 这一结构特点使得HPK能很灵敏地感受外界环境的变化。此外, 每个HPK分子都有一个由约250个氨基酸残基组成的传递模件 (transmitter module), 该模件是自体磷酸化的作用部位, 磷酸化的位点一般是保守的His残基 (Wurgler-Murphy and Saito, 1997)。

RR具有一个称为接受模件 (receiver module) 的结构域, 大约由110个氨基酸组成。Asp为磷酸化位点, 还有一个输出结构域 (output domain)。这样信号转导就由信号输入、HPK自体磷酸化、RR磷酸化和信号输出组成 (Appleby and Parkinson, 1996) (图1A)。有些RR是转录因子, 输出结构域作为DNA模件与DNA结合;接受模件则通过Asp的磷酸化调节其自身的活性, 从而决定它是与DNA模件结合还是与转录机器的其他组分结合。但有的RR与转录无关, 只是将外界信号继续向下传递, 仅作为整个信号级联放大系统中的一个上游组分 (邱全胜, 2000)。大肠杆菌的EnvZ-OmpR系统即为此类型的代表, 该系统在感受渗透胁迫信号、调节细胞渗透势等方面起重要的作用 (Stock et al., 1990)。EnvZ-OmpR系统通过调节OmpF和OmpC基因表达影响OmpF和OmpC两种孔蛋白在外膜上数量的多寡, 最终影响物质的跨膜运输和调节细胞对渗透胁迫的响应过程。由OmpF蛋白组成的孔的孔径较大, 而由OmpC组成的孔的孔径较小。低渗条件下, 外膜中有较多的OmpF;反之, 高渗时有较多的OmpC。OmpC和OmpF基因表达是由EnvZ-OmpR调控的。EnvZ是一种属于HPK的渗透感应器, 感受外界渗透变化后可以进行自体磷酸化, 然后将磷酸基团传递到作为RR的OmpR上, 磷酸化位点是接受模件的Asp残基。然后, 磷酸化的OmpR与OmpF和OmpC的上游序列结合, 调节这两个基因的表达。

2 复杂的双组分系统: His-Asp-His-Asp

一些组氨酸激酶结构中除了输入模件和传递模件外, 还有一个接受域模件融合到组氨酸激酶的C端, 称为杂合型组氨酸激酶 (hybrid histidine kinase)。这个接受域模件称为含有组氨酸的磷酸转移结构域 (histidine-containing phosphotransfer domain) 即Hpt结构域 (图1B)。原核生物的Hpt结构域一般连接在相应的双组分系统上, 而真核生物中的Hpt结构域是单独存在的蛋白 (Lohrmann and Harter, 2002);这样就形成了复杂的双组分系统, 磷酸基团要经过多步

骤的转移,如酵母 (yeast) 的渗透调节系统;此系统包括3个信号传递分子:SLN1、YPD1和SSK1。SLN1是杂合型组氨酸激酶,既有激酶域又有受体域。正常渗透条件下,SLN1自体磷酸化,磷酸基团转移到受体域的Asp上,再向下传递至中间分子YPD1的His,最后传递到反应调节物SSK1的Asp上;即SLN1-His 576 (H1) → SLN1-Asp1 144 (D1) → YPD1-His 64 (H2) → SSK1-Asp (D2)。磷酸化的SSK1不能激活一种渗透感受的HOG1 MAPK级联系统,不能合成甘油。高渗条件下,SLN1失活,使未磷酸化的SSK1积累,活化HOG1 MAPK途径,从而诱导gpd1 (3-磷酸甘油醛脱氢酶)的基因表达,合成甘油以调节渗透势 (Posas et al., 1996)。

此外,一些HPK还具有磷酸酶活性,即HPK可以催化RR去磷酸化,而且HPK的输入模件一般都抑制HPK的激酶活性。实验表明,缺失输入模件的HPK分子其激酶活性显著增加,输入模件可能调节HPK的磷酸酶活性 (Stock et al., 2000)。

3 高等植物中的双组分系统

已经证明植物激素受体、渗透感受器和光敏素受体都属于杂合型组氨酸激酶,植物激素的信号转导、光形态建成和渗透胁迫适应都与双组分信号系统有关。模式植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)具有约13 000个基因,其中有17个基因编码组氨酸激酶 (AHK), 5个编码Hpt蛋白 (AHP), 23个编码反应调控因子 (ARR) (Hwang et al., 2002)。

3.1 乙烯的信号转导

乙烯是一种重要的植物激素,在植物的不同生长发育阶段起调节作用,如种子萌发、根毛形成、叶片脱落、花的形成、性别分化及果实成熟衰老等。此外,乙烯还影响植物的偏上性生长,参与植物的胁迫反应,如受伤、病原体侵染、涝害等 (Hua and Meyerowitz, 1998)。

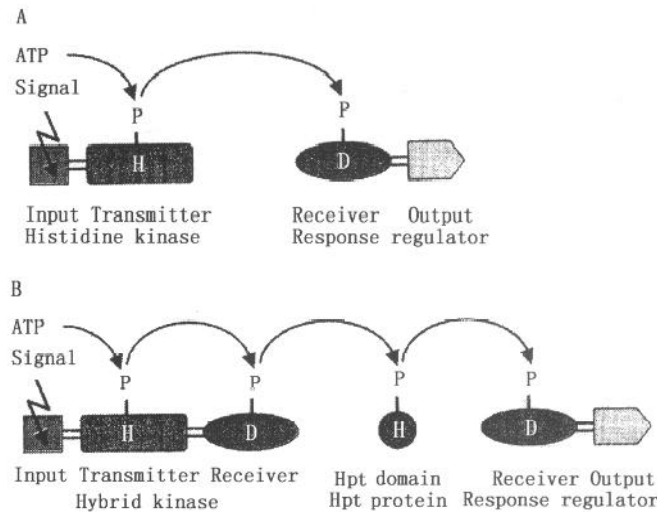


图1 简单的(A)和多步骤(B)双组分信号系统的图解和基本特征 (Lohrmann and Harter, 2002)
由组氨酸或者杂合的激酶的输入域感受信号,在保守的组氨酸残基(H)上诱导传递域的自动磷酸化。磷酸(P)被传递到保守的相同类型的反应调控因子的接受域(A),或者杂合的激酶,或者附着的接受域(B)的天冬氨酸残基上(D)。在多步骤双组分信号系统中,含有组氨酸的磷酸转移(Hpt)域在杂合激酶与反应调控因子之间作为磷酸-组氨酸的中间体

Fig.1 Schematic representation and basic features of the simple (A) and the multistep (B) two component signaling systems (Lohrmann and Harter, 2002)

到目前为止,已经鉴定了5种乙烯的受体,ETR1是最早鉴定的一种(Chang et al., 1993)。ETR1为一种跨膜蛋白,N端位于膜的外侧,有3个跨膜片段;C端结构域定位在膜的细胞质一侧,与细菌双组分系统的组氨酸激酶具有高度的同源性。ETR1通过Cys之间的二硫键形成同源二聚体,能自体磷酸化,可以直接与乙烯作用(Schaller and Bleeker, 1995)。

另外的4种乙烯受体分别是ETR2、ERS1、ERS2和EIN4。通过基因敲除(gene knockout)实验已经分离了ETR1、ETR2、ERS2和EIN4的功能丧失突变株,一个基因功能丧失表现为正常的乙烯敏感性,如果4个基因功能丧失则表现为即使在无乙烯时也出现组成性的乙烯反应,表明这些乙烯受体是乙烯响应的负调节物(Timan and Klee, 1999)。5种受体可能有不同的乙烯亲和力,或组成异源二聚体,或组成受体复合物起作用;还可能分别在不同的响应阶段起作用;如ETR1和EIN4的mRNA在乙烯处理后数量不变,而ETR2、ERS1和ERS2的mRNA则为乙烯所增量调节(up-regulate)(Payton et al., 1998)。

根据序列相似性、结构特点和转录激活特性可将5种乙烯受体分为两类:ETR1类(包括ETR1和ERS1)和ETR2类(有ETR2、EIN4和ERS2)。两者相比,ETR2类几乎缺少组氨酸激酶的所有功能基序,且N端有较长的延伸。ERS1和ERS2没有受体域,且自体磷酸化的关键氨基酸His被Glu或Asp所替代,说明它们可能不直接感受乙烯(Timan and Klee, 1999)。

从乙烯不敏感(never-ripe)的番茄(*Lycopersicon esculentum*)突变株中克隆的NR基因是ERS1的同系物(无受体域)。从番茄中还克隆了LeETR1和LeETR2,它们是ETR1的同系物。LeETR1在各种组织中都是组成性表达;LeETR2在植株中低量表达,在吸涨的种子中大量表达。在黄瓜(*Cucumis sativus*)中也分离了CmETR1(ETR1的同系物)和CmERS1(ERS1的同系物),CmERS1的mRNA随果实发育而增加,果实成熟时降低。而CmETR1在成熟的果实中仍大量存在。所以,在植物至少是在果实跃变型植物中,有两种乙烯受体:乙烯诱导型(ERS1类)和组成表达型(ETR1类)(Zhou et al., 1996)。

在拟南芥中鉴定了许多Hpt和RR,它们是否参与乙烯的信号转导还缺乏直接的证据。而一种蛋白激酶CTR1(constitutive triple response1)在酵母中能直接与ETR1和ERS1的胞质部分作用,是乙烯信号转导的中心组分。CTR1与哺乳动物RAS(一种MAPKKK, mitogen-activated protein kinase kinase kinase)相类似(Kieber et al., 1993),所以乙烯信号转导可能通过一部分的MAPK级联系统,但是否为下游的MAPKK和MAPK仍然不清楚,这表明CTR1通过一种新的机理直接受乙烯受体的调节(Solano et al., 1998)。研究还显示CTR1是乙烯响应的负调节物,不结合乙烯时,受体直接激活CTR1而抑制乙烯反应;结合乙烯后,阻止受体激活CTR1,CTR1失活,下游信号继续传递到核内,调节基因的表达,产生生理反应(Alonso et al., 1999)。

3.2 细胞分裂素的信号转导

细胞分裂素(cytokinin, CTK)参与许多生理过程,如促进细胞的分裂和扩大,诱导芽的分化,延缓叶片衰老等(Skoog and Miller, 1957),是一种重要的植物激素,目前对其信号转导途径的研究也最为充分。

细胞分裂素的受体研究,近来在拟南芥中发现了cre1(cytokinin response 1)突变体,表现为不依赖于细胞分裂素的生理反应。它编码一种组氨酸激酶,N端是CTK的结合部位,与ETR1相同;CRE1在传递模件的下流还有一个接受域结构(Inoue et al., 2001)。Hwang和Sheen

(2001) 也用拟南芥的原生质体证明了CRE1是CTK的受体。在敲除了融合型激酶的酵母中表达植物的CRE1,即用拟南芥的CRE1来替代酵母的相关激酶,表现为细胞分裂素存在时能够使酵母已经改变的生长类型恢复。这些结果表明:(1) CRE1能够与细胞分裂素结合;(2) 结合细胞分裂素后能够诱导CRE1的激酶活性;(3) CRE1能够将磷酸基团转移给酵母固有的Hpt结构域蛋白,从而起始双组分级联系统(Inoue et al., 2001)。但CRE1并不调节所有的细胞分裂素反应,说明还有其他的细胞分裂素受体,如CKI1(Kiba et al., 1999)、AHK2和AHK3等(Mok and Mok, 2001)。

拟南芥反应调控因子(arabidopsis response regulator ARR)的分类。尽管在20世纪90年代就发现了组氨酸激酶作为细胞分裂素的受体,但大约10年后才发现了双组分的其他元件,即Hpt和RR。根据结构域的组成和序列相似性可将RR分为A型和B型。A型包括ARR3~ARR9,B型包括ARR1、ARR2、ARR10~ARR14(表1)。A型较小,有N端接受域和短的C端延伸;A型的mRNA在细胞分裂素处理后能迅速积累,即为细胞分裂素所诱导。B型的C端延伸较长,且不为细胞分裂素所诱导,一般作为转录因子起作用(Sakai et al., 2000)。

B型ARR的输出域部分有一段大约为60个氨基酸残基的高度保守序列,称为GARP(Riechmann et al., 2000)。这段基序折叠成 α 螺旋结构,与碱性区域螺旋环螺旋(basic-region helix-loop-helix bHLH)和Myb(a family of transcription factors with Trp cluster motif)等转录因子很相似。这表明GARP代表了一种新的DNA结合域形式。亚细胞定位和转录活性研究表明,B型ARR一般存在于核内,并且具有转录活性(Lohrmann et al., 1999)。B型ARR中的ARR1和ARR2参与细胞分裂素的信号转导。Arr1突变,导致对细胞分裂素的部分不敏感;而过量表达则引起超敏感,即不依赖细胞分裂素的响应。在arr1突变和超表达系统中发现,A型ARR包括ARR4的表达也对细胞分裂素的响应发生变化。Hwang和Sheen(2001)利用拟南芥的叶肉原生质体来研究细胞分裂素诱导的ARR1和ARR2(B型)对ARR6(A型)表达的影响,结果表明B型ARR调节A型的表达;有意义的是ARR2在缺乏细胞分裂素的情况下也能强烈地诱导ARR6的表达。这些发现说明还存在另外一种刺激物(stimulus)来活化ARR2,从而调节ARR2靶基因的表达(Lohrmann and Harter, 2002)。

B型ARR如何在核内、膜外或膜结合的组氨酸感受器将信号传到核内的呢?蛋白互作分析表明,感受器CKI1、CRE、ETR1都不能直接与ARR1和ARR2作用。这样Hpt蛋白就可能作为磷酸传递中间体而起作用。感受器和调节因子都能与AHP(Hpt protein)作用,所以AHP成为连接分子或者称为分子插座(molecular adaptor),而且AHP在胞质和核内均有分布。AHP的分子量较小,大约在12 kD左右,所以能通过扩散作用自由进出细胞核(Lohrmann and Harter, 2002)。

AHP的作用模式可以表示为:组氨酸激酶受体结合细胞分裂素后,发生自体磷酸化,将磷酸基团传递给AHP,AHP穿梭进入核内,进而将磷酸基团传递到核内的B型ARR,磷酸化的B型ARR作为转录因子调节目标基因如A型ARR的表达。去磷酸化的AHP返回胞质,继续转运磷酸基团,使该反应能够继续进行(图2)。

3.3 植物渗透感受器

在高等植物对水分缺乏的反应中,类似于酵母的渗透感受机制可能起作用。Urao等(1998)已经从拟南芥中克隆了ATHK1。ATHK1编码一种杂合型组氨酸激酶,在N末端的一半紧接细

表1 植物双组分信号系统
Table 1 Plant two-component signaling systems

双组分元件 Two component element	植物 Plants	输入信号 Input signals	结构 Structure
组氨酸激酶Histidine kinase			
ETR1	拟南芥 Arabidopsis	乙烯 Ethylene	TM - KD - RD
ETR2	拟南芥 Arabidopsis	乙烯 Ethylene	TM - KD (H/E) - RD
EIN4	拟南芥 Arabidopsis	乙烯 Ethylene	TM - KD - RD
ERS1	拟南芥 Arabidopsis	乙烯 Ethylene	TM - KD
ERS2	拟南芥 Arabidopsis	乙烯 Ethylene	TM - KD (H/D)
CKI1	拟南芥 Arabidopsis	细胞分裂素 Cytokinin	TM - KD — RD
ATHK1	拟南芥 Arabidopsis	渗透胁迫 Osmosis stress ?	TM - KD — RD
NR	番茄 Tamato	乙烯 Ethylene ?	TM - KD
LeETR1 (= eTAE1)	番茄 Tamato	乙烯 Ethylene ?	TM - KD - RD
LeETR2 (= TFE27)	番茄 Tamato	乙烯 Ethylene ?	TM - KD - RD
Cm-ETR1	菜瓜 Cucumis melo	乙烯 Ethylene ?	TM - KD - RD
Cm-ETR2	菜瓜 Cucumis melo	乙烯 Ethylene ?	TM - KD
RP-ERS1	沼生酸模 Rumex palustris	乙烯 Ethylene ?	TM - KD
DC-ERS1	石竹 Dianthus caryophyllus	乙烯 Ethylene ?	TM - KD
DC-ERS2	石竹 Dianthus caryophyllus	乙烯 Ethylene ?	TM - KD
磷酸传递中间体Phosphorelay intermediates			
ATHP1 (=AHP2)	拟南芥 Arabidopsis		HPt
ATHP2 (=AHP3)	拟南芥 Arabidopsis		HPt
ATHP3 (=AHP1)	拟南芥 Arabidopsis		HPt
ZmHP2	玉米 Maize		HPt
反应调控因子Response regulators			
A型 Type A			
ARR3	拟南芥 Arabidopsis		RD -
ARR4 (= ATRR1, IBC7)	拟南芥 Arabidopsis		RD -
ARR5 (= ATRR2, IBC6)	拟南芥 Arabidopsis		RD -
ARR6	拟南芥 Arabidopsis		RD -
ARR7	拟南芥 Arabidopsis		RD -
ARR8 (= ATRR3)	拟南芥 Arabidopsis		RD -
ARR9 (= ATRR4)	拟南芥 Arabidopsis		RD -
ZmRR1	玉米 Maize		RD -
ZmRR2	玉米 Maize		RD -
B型 Type B			
ARR1	拟南芥 Arabidopsis		RD - - -
ARR2	拟南芥 Arabidopsis		RD - - -
ARR10	拟南芥 Arabidopsis		RD - - -
ARR11	拟南芥 Arabidopsis		RD - - -
ARR12	拟南芥 Arabidopsis		RD - - -
ARR13	拟南芥 Arabidopsis		RD - - -
ARR14	拟南芥 Arabidopsis		RD - - -

TM. 跨膜域; KD. 激酶域; RD. 接受域; HPt. 含有组氨酸的磷酸转移域; - . 表示50~100个氨基酸的长度; H/D. 组氨酸为天冬氨酸替代; H/E. 组氨酸为谷氨酸替代 (Urao et al., 2000)

TM. Transmembrane region; KD. Kinase region; RD. Receiver domain; HPt. Histidine-containing phosphotransfer domain; - . corresponds to 50~100 amino acids in length; H/D and H/E represent the amino acid substitutions of histidine (H) to aspartate (D) and to glutamate (E), respectively (Urao et al., 2000)

胞外区域 ATHK1含有2个疏水的跨膜区域,被认为在功能上类似于酵母的渗透感受器SLN1;ATHK1能互补酵母sln1和sho1双突变体,允许缺乏渗透感受器SLN1和SHO1的酵母突变体激活HOG1的MAPK途径并合成甘油,在高渗和低渗条件下调节渗透势以正常生长(Urao et al., 1995)。但是替代磷酸化位点Asp或His后,则不能互补酵母突变体。所以ATHK1能感受和传导外界渗透势的变化,在拟南芥渗透胁迫适应中起重要作用。ATHK1的mRNA在根中的分布比在其他器官中丰富且在高盐和低温的条件下积累,所以能更有效的感受外界环境信号,例如高盐和干旱(Urao et al., 2000)。

3.4 植物光敏色素的光信号转导

高等植物至少存在3种光受体来接受光信号,即光敏色素(phytochrome),蓝光受体(blue light receptor)和紫外光受体(UV receptor)。光敏色素I是一种易溶于水的蓝绿色蛋白质,以二聚体形式存在于胞质中;单体分子的N端含有一个共价结合的线形四吡咯环发色团来吸收光线和进行光逆转,C端含有2个PAS结构和一个类似于组氨酸激酶的结构来进行信号转导(韩玉珍, 2000)。

已经从拟南芥中分离了5种不同的编码光敏色素脱辅基蛋白的基因:PHYA、PHYB、

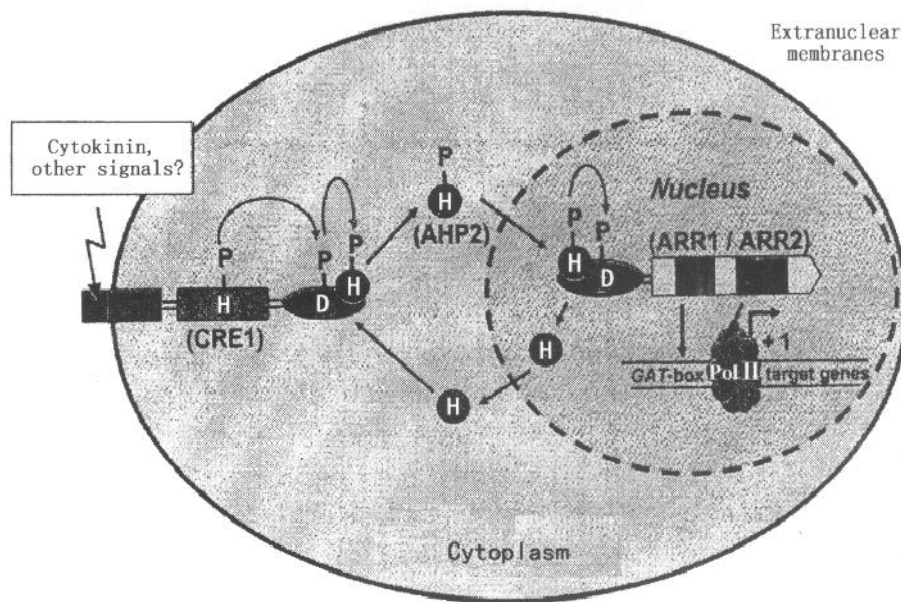


图2 拟南芥多步骤磷酸传递的模型,表明从核膜外到核内的信号转导(Lohrmann and Harter, 2002) 由膜结合的感受器组氨酸激酶(例如CRE1)的输入域感受信号,诱导传递组件的自体磷酸化。磷酸被传递到与激酶的细胞质接受组件相互作用的同类型的AHP(例如AHP2)。磷酸化的AHP穿梭进入核,并将磷酸转移到相同的B型反应调控因子(例如ARR1和ARR2)的接受域。去磷酸化的AHP穿梭回到细胞质并重新磷酸化。反应调控因子的接受域的磷酸化导致其输出域的构型变化。这种构型变化可能诱导B型ARR与它们的靶启动子顺序(例如ARR1和ARR2中的GAT盒)结合,和/或者诱导转录能力的活化。与启动子有关的、活化的反应调控因子触发它的靶基因(例如nCI基因,A型ARR基因)转录。不同的双组组件的保守氨基酸残基(H, His; D, Asp)被表明。POL,依赖于RNA多聚酶的基本的转录结构

Fig. 2 Model of an Arabidopsis multistep phosphorelay, demonstrating signal transduction from the extranuclear membranes to the nucleus (Lohrmann and Harter, 2002)

PHYC、PHYD和PHYE。作为光敏色素基本结构的氨基酸序列具有较高的保守性,如N端2/3处发色团的结合部位,决定光敏色素的光敏特性;C端区域对PhyB和PhyA的活性是共同的。PhyA对连续远红光是必需的,而PhyB则感受连续红光;两种作用相互对抗(Hwang et al., 2002)。

Schneider-Poetsch等(1991)将细菌组氨酸激酶序列与一组代表性的光敏色素的C端进行序列比较,发现在这个区域内,各种光敏色素之间的成对序列一致性为31%~64%,细菌组氨酸激酶的成对序列一致性为24%~42%。光敏色素与细菌激酶之间的成对序列一致性为15%~30%,说明至少一些光敏色素分子与细菌激酶序列的相关程度类似于细菌激酶之间的相关程度。

疏水簇(hydrophobic cluster)分析表明,光敏色素的折叠与细菌激酶蛋白类似;光敏色素分子总的结构与细菌的感受器分子相似,二者都有两个结构域,光敏色素N端负责光信号感受,相应于细菌的输入区域;C端调节光敏色素分子的二聚化和信号向下游转导,这两个功能都由发送器区域完成;所以光敏色素可能作为光调节的组氨酸激酶来转导原初信号(Quail et al., 1995)。利用酵母双杂交筛选,在拟南芥中发现了与PHYA反应的一种底物PSA1(一种碱性可溶性蛋白),这表明光敏色素可能从古老的组氨酸激酶演化为Ser/Thr激酶(Fankhauser et al., 1999);但是到目前为止还没有检测到纯化的光敏色素具有组氨酸激酶的活性。

4 双组分系统的复杂性

真核生物,特别是高等植物的双组分信号系统比较复杂,通常多于两个组分;无论是信号的输入,还是信号的转导或输出都呈现出多样化的特点。例如(1)信号识别(输入)的多样性:信号的识别和感受是由其他分子,如细胞表面受体或运输蛋白来完成,再由它们将信号传递到HPK分子。(2)信号转导的多样性:多个HPK调节一个RR;一个HPK调节多个RR;多步骤的磷酸转移过程;如融合型的HPK和AHP的参与;而且也有报道表明融合型的HPK可以不通过RR分子,直接行使效应器的功能。(3)信号输出的多样性:一方面输出模件不仅作为转录因子调节基因的表达,还可以作为蛋白质活性调节因子而起作用(邱全胜, 2000)。另一方面输出过程和输出组分的多样化。在真核生物中MAPK级联放大系统作为HPK-RR的下游组分参与信号转导。此外,还发现环腺苷酸(cAMP)系统和细胞骨架也参与下游的信号转导(Wurgler-Murphy and Saito, 1997)。(4)组分间作用的特异性:如ETR1和CRE1能同AHP1和AHP2相互作用,而CKI1只能同AHP2作用。另外,ARR和AHP间也存在这种特异性。ARR2能与AHP1和AHP2作用,ARR4只能和AHP1作用。(5)信号系统之间的交叉(cross talk),如细胞分裂素和乙烯之间既有协同作用又有拮抗作用(Riechmann et al., 2000);ARR4和ARR5的表达也对不良环境因子如干旱、盐害、低温敏感,表明逆境和细胞分裂素之间也有交叉(Urao et al., 1998)。最典型的例子是细胞分裂素和光敏色素之间通过ARR4而将激素信号和光信号整合在一起(图3)。

研究发现ARR4特异性地与植物光敏色素PhyB作用。有趣的是ARR4与PhyB的N端作用,而不与C端作用,C端才与激酶的传递模件相似。因为至今没有发现PhyB的激酶活性;以及ARR4又是细胞分裂素反应的最初响应物,因此光敏色素有可能是细胞分裂素调节的双组分系统的靶子之一(Riechmann et al., 2000)。PhyB是感受连续红光必需的,能调节红光特异的光形态建成。由失活的Pr接受红光便转换成活性的Pfr,而远红光能诱导Pfr逆转为Pr,另

外Pfr也能在不依赖光的条件下发生逆转,称为暗逆转 (dark reversion)。酵母和拟南芥中的研究都表明ARR4能通过抑制暗逆转,而稳定PhyB活性。类似于CRE1的细胞分裂素受体通过磷酸传递调节ARR4的活性,从而参与PhyB的信号转导。这种磷酸传递需要Hpt域蛋白-AHP1在ARR4和CRE1之间传递磷酸基团。AHP1和ARR4在细胞质和细胞核内都有分布。所以,AHK-AHP1-ARR4的磷酸接力和ARR4与PhyB的作用能调节细胞质内和细胞核内的依赖PhyB的光形态建成 (Sweere et al., 2001)。这样,激素信号 (细胞分裂素) 和光信号 (PHYB) 便整合在一起了。

拟南芥基因组序列的深入分析又发现了9种类ARR的家族 (ARR-like family) 称为假反应调控因子 (pseudo-response regulators, APRR) (Makino S et al., 2000)。APRR的接受域与ARR1有30%~36%的相似性。许多APRR有一个C末端基序 (CCT 基序),富含碱性氨基酸 (Arg和

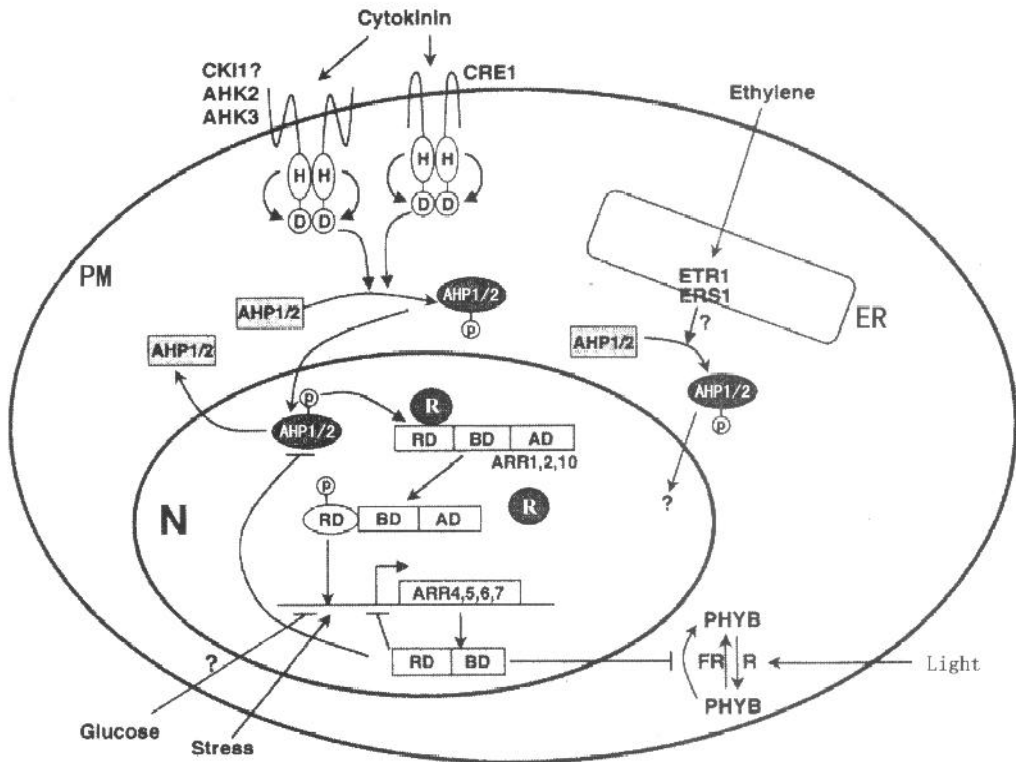


图3 拟南芥双组分信号转导途径的模型 (Hwang et al., 2002)

质膜上的多步骤组氨酸蛋白激酶感受细胞分裂素信号。当感受细胞分裂素信号时,组氨酸蛋白激酶通过传递磷酸启动一种信号级联,从而使AHP向核内转移。活化的AHP可能与游离的ARR或者ARR复合物相互作用,把磷酸转移到相同的B型ARR的接受域,使这些活化类型的ARR从核内的阻遏物中释放出来。去磷酸化的AHP穿梭回到细胞质,并在细胞质中重新磷酸化。释放的ARR与靶基因启动子中的多重顺式元件结合。阻遏类型的ARR的活化作为主要的细胞分裂素的反应基因,提供了一种负反馈机制。除了CTR1信号途径外,其他的乙烯信号途径可能被双组分组件调节。红光和细胞分裂素信号在ARR4上汇集。ARR4通过抑制暗逆转能稳定PHYB的活化形式。胁迫和葡萄糖也可能调节双组分信号。RD. 反应域;BD. DNA结合域;AD. 顺式活化域;PM. 质膜;N. 细胞核;R. 假定的阻遏物;FR. 远红光

Fig. 3 Model of the two-component signal transduction pathways in Arabidopsis (Hwang et al., 2002)

Lys), 还有核定位的信号序列。其中APRR1/TOC1定位于核内, 通过光周期调节开花时间。该基因突变将导致拟南芥昼夜节律周期 (circadian rhythm) 缩短。这些APRR转录的节律性被认为是拟南芥昼夜周期时钟的基础, 但是在植物发育过程中的生理作用还不清楚 (Makino et al., 2002)。

5 结语

已知双组分系统在连接细胞分裂素、乙烯、光、胁迫和葡萄糖 (Glc) 等刺激的植物信号网络中起重要作用 (Stock et al., 2000; Hwang et al., 2002; Lohrmann and Harter, 2002)。但关于HK和RR怎样起作用仍然存在一些问题。在许多系统中, 由HK感受的刺激没有解释清楚, 从感受域到激酶核心域的跨膜的信号转导的分子基础还没有确定。在RR中, 在调节域将磷酸化诱导的构型变化偶联到效应子区域的活化的详细机制需要阐明。

关于植物双组分系统的大部分研究结果都是以模式植物拟南芥作材料获得的 (Urao et al., 2000; Hwang et al., 2002), 是否适用于其他植物还有待证实。与酵母的渗透感受途径类似, 拟南芥的乙烯受体作为His蛋白激酶起作用并通过MAPK级联传递信号 (Clark et al., 1998; Urao et al., 1999)。His蛋白激酶活性和专一的MAPK级联对植物细胞的重要性需要确定。通过ARR基因表达的调节, Glc不敏感的突变体gin2的表型分析已经揭示了Glc和细胞分裂素信号之间的一种新的分子联系; 细胞分裂素和红光信号在ARR4汇集; 胁迫信号也可能利用双组分系统 (Hwang et al., 2002)。具有挑战性的问题是理解利用双组分元件构成不同植物信号途径的分子和生物化学机制。反应调控因子的靶基因的鉴定将有助于植物信号转导的复杂网络的分析。

参 考 文 献

- 邱全胜, 2000. 双组分系统——细胞识别渗透胁迫信号的感应器. 生物化学与生物物理进展, 27: 593-596
- 韩玉珍, 2000. 光受体与植物光周期成花诱导. 见 孟繁静主编, 植物花发育的分子生物学. 北京: 中国农业出版社, 51-83
- Alonso JM, Hirayama T, Raman G, Nourizadeh S, Ecker JR, 1999. EIN2, a bi-functional transducer of ethylene and stress response in Arabidopsis. Science, 284: 2148-2152
- Appleby JL, Parkinson RB, 1996. Signal transduction via the multi-step phosphorelay: not necessarily a road less traveled. Cell, 86: 645-648
- Bourret RB, Borkovich KA, Simon MI, 1991. Signal transduction pathways involving protein phosphorylation in prokaryotes. Annu Rev Biochem, 60: 401-441
- Chang C, Kwok SF, Bleeker AB, 1993. Arabidopsis ethylene-response gene ETR1: similarity of product to two-component regulators. Science, 262: 539-544
- Chang C, Stadel R, 2001. Ethylene hormone receptor action in Arabidopsis. Bioassays, 23: 619-627
- Chang C, Stewart RC, 1998. The two-component system of diverse signaling in prokaryotes and eukaryotes. Plant Physiol, 117: 723-731
- Clark KL, Larsen PB, Wang X, Chang C, 1998. Association of the Arabidopsis CTR1 Raf-like kinase with the ETR1 and ERS ethylene receptors. Proc Natl Acad Sci USA, 95: 5401-5406
- Fankhauser C, Yeh KC, Lagarias JC, Zhang H, Elich TD, Chory J, 1999. PKS1, a substrate phosphorylation by

- phytochrome that modulates light signaling in *Arabidopsis*. *Science*, 284 :1539-1541
- Galcheva G Z, Derijard B, Wu I H, 1994. An osmosensing signal transduction pathway in animal cells. *Science*, 265 : 806-808
- Hua J, Meyerowitz E M, 1998. Ethylene responses are regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis*. *Cell*, 94 : 261-271
- Hwang H, Chen H C, Sheen J, 2002. Two-component signal transduction pathways in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 129 : 500-515
- Hwang I, Sheen J, 2001. Two-component circuitry in *Arabidopsis* cytokinin signal transduction. *Nature*, 413 :383-389
- Inoue T, Higuchi M, Hashimoto Y, Seki M, Kobayashi M, Kato T, Tabata S, Shinozaki K, Kakimoto T, 2001. Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from *Arabidopsis*. *Nature*, 409 :1060-1063
- Kiba T, Taniguchi M, Imamura A, Ueguchi C, Mizuno T, Sugiyama T, 1999. Differential expression of genes for response regulator in response to cytokinins and nitrate in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 40 :767-771
- Kieber J J, Rethenberg M, Roman G, Feldmann K A, Ecker J R, 1993. CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the raf family of protein kinases. *Cell*, 72 :427-441
- Lohrmann J, Buchholz G, Keitel C, Sweere U, Kircher S, Bäurle I, Kudla J, Schäfer E, Harter K, 1999. Differential expression and nuclear localization of response regulator like protein from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biol*, 1 : 495-505
- Lohrmann J, Harter K, 2002. Plant Two-component signaling systems and the role of response regulators. *Plant Physiol*, 128 :363-369
- Makino S, Kiba T, Imamura A, Nakamura A, Suzuki T, Taniguchi M, Ueguchi C, Sugiyama T, Mizuno T, 2000. Genes encoding pseudo-response regulators: insight into His-Asp phosphorelay and circadian rhythm in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 41 :791-803
- Makino S, Matsushika A, Kojima M, Yamashino T, Mizuno T, 2002. The APRR1/TOC1 quintet implicated in circadian rhythm of *Arabidopsis thaliana*: I. Characterization with APRR1-overexpressing plants. *Plant cell Physiol*, 43 :58-69
- Mok D W, Mok M C, 2001. Cytokinin metabolism and action. *Annu Rev Plant Phys*, 52 :89-118
- Ninfa A J, Magasanik B, 1986. Covalent modification of the *glnG* product, NR_I , by the *glnL* product, NR_{II} , regulates the transcription of the *glnALG* operon in *E. coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 83 :5909-5913
- Nixon B T, Ronson C W, Ausubel F M, 1986. Two component regulatory systems responsive to environmental stimuli share strongly conserved domains with nitrogen assimilation regulatory genes *ntrB* and *ntrC*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 83 :7850-7854
- Ota I M, Varshavsky A, 1993. A yeast protein similar to bacterial two component regulators. *Science*, 262 :566-569
- Parkinson J S, Kofoed E C, 1992. Communication modules in bacterial signaling proteins. *Annu Rev Genet*, 26 :71-112
- Payton S, Dray R G, Brown S, 1998. Ethylene receptor expression is regulated during fruit ripening, flower senescence and ABA. *Plant Mol Biol*, 31 :1227-1239
- Posas F, Wurgter-Murphys M, Maeda T, 1996. Yeast HOG1 MAPK cascades is regulated by a multistep phosphorelay mechanisms in the *Arabidopsis* SLN1-YPD1-SSK1 two component osmosensor. *Cell*, 86 : 865-875
- Quail P H, Dioryan M T, Tarks B M, 1995. Phytochrome: photosensory perception and signal transduction. *Science*,

268:675-680

Riechmann J L, Heard J, Martin G, Reber L, Jiang L, Keddie J, Adam L, Pineda O, Ratcliffe J, Samaha R R, 2000.

Arabidopsis transcription factors: genome wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 290:2105-2110

Sakai H, Aoyama T, Oka A, 2000. Arabidopsis ARR1 and ARR2 response regulators operate as transcriptional activator. *Plant J*, 24:703-711

Schaller G E, Bleeker A B, 1995. Ethylene-binding sites generated in yeast expressing the Arabidopsis ETR1 gene. *Science*, 270:1809-1811

Schneider-Poetsch H A W, Braun B, Marx S, Schaumburg A, 1991. Photochromes and bacterial sensor proteins are related by structural and functional homologies. *FEBS Lett*, 281:245-249

Skoog F, Miller C O, 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symp Soc Exp Biol*, 11:118-131

Solano R, Stepanova A, Chao Q, Ecker J R, 1998. Nuclear events in ethylene signaling: a transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1. *Genes Rev*, 12:3703-3714

Stock A M, Robison V L, Goudreau P N, 2000. Two component signal transduction. *Annu Rev Biochem*, 69:183-215

Stock J B, Stock A M, Mottonen J M, 1990. Signal transduction in bacterial. *Nature*, 344:395-400

Sweere U, Eichenberg K, Lohrman J, 2001. Interaction of the response regulator ARR4 with phytochrome B in modulating red light signaling. *Science*, 294:1108-1111

Timan D M, Klee H J, 1999. Differential expression of two novel members of the tomato ethylene receptor family. *Plant Physiol*, 120:165-172

Urao T, Yakubov B, Satoh R, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki M, Hirayama T, Shinozaki K, 1999. A transmembrane hybrid-type histidine kinase in Arabidopsis functions as an osmosensor. *Plant Cell*, 11:1743-1754

Urao T, Yakubov B, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, 1998. Stress-responsive expression of gene for two-component response regulator-like protein of Arabidopsis. *FEBS Lett*, 427:175-178

Urao T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, 2000. Two component systems in plant signal transduction. *Trends Plant Sci*, 5:67-74

Urao T, Yamaguchi K, Urao S, 1995. An Arabidopsis thaliana myb homolog is induced by dehydration stress and its gene product binds to the conserved MYB recognition sequence. *Plant Cell*, 5:1529-1539

Vigh L, Los D A, Horváth I, Murata N, 1993. The primary signal in the biological perception of temperature: pd-catalyzed hydrogenation of membrane lipids stimulated the expression of the desA gene in Synechocystis PCC6803. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90:9090-9094

Wurgler-Murphy S M, Saito H, 1997. Two-component signal transduction and MAPK cascades. *TIBS*, 22:172-176

Zhou D, Kalaitzis P, Mattoo A K, Tucker M L, 1996. The mRNA for an ETR1 homologue in tomato is constitutively expressed in vegetative and reproductive tissues. *Plant Mol Biol*, 30:1331-1338