

# 茄科植物 ROP 类基因细胞信号调节的生物学信息研究

梁秋霞<sup>1</sup>, 黄群策<sup>1</sup>, 曹刚强<sup>2</sup>, 应芳卿<sup>3</sup>, 刘艳波<sup>3</sup>, 黄文<sup>3</sup>

(1. 郑州大学 河南省离子束生物工程重点实验室, 河南 郑州 450052; 2. 郑州大学 生物工程系, 河南 郑州 450001; 3. 郑州市蔬菜研究所, 河南 郑州 450000)

**摘要:** 植物在生长发育过程中, 不仅受到外界环境的影响, 同时也有自身的调节系统对外界信号做出相应的应急反应, 这种反应就是细胞的信号反应系统适应外界环境的过程, 适者生存, 不适者淘汰。ROP 类基因属于植物体特有的细胞信号调节基因。现就目前茄科植物关于 ROP 类基因的相关研究进展进行综述, 以期为 ROP 基因的进一步研究提供参考。

**关键词:** 应急反应; 细胞; ROP 类基因

**中图分类号:** Q 945.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)07-0112-04

## 1 ROP 类基因含义

植物体内存在高度保守的 Rho-like GTPase, 并且构成了 GTPase 的 Rho 家族独特的亚家族, 它不同于动物和酵母中大量存在的一类 Rho 类蛋白<sup>[1]</sup>, 具有 Rho 家族的基本调控功能。拟南芥植物基因组测序结果表明, 在植物体内存在一种具有独特功能的小 G 蛋白, 被称为 Rops(Rho-related GTPases from plants)或者 Rac 蛋白(因为此蛋白与动物 Rac 和 Rho 家族的序列具有高度的相似性<sup>[2-4]</sup>。

## 2 ROP 类基因的功能与作用

在植物体内 Rop 基因多种多样, 并且具有独特的功能, 相关研究表明只有 Rops 是植物体内真正的参与信号传导的小 G 蛋白<sup>[5]</sup>。其编码的基因在植物界以多基因形成一个独特的家族, 其家族成员有着特定的功能, 同一个基因也可能与多种不同的蛋白互相作用控制不同的信号反应, 参与植物细胞的生长、分化, 发育成新的组织, 形成不同的形态, 同时在植物的逆境适应性方面发挥着重要的作用, 抗击逆境环境的适应能力, 包括调解组织缺氧, 促进或抑制生长激素的调控起到协同作用, 以便细胞信号作出变化适应其生长。

## 3 ROP 基因在细胞信号传导中的作用方式

植物体中的这些小 G 蛋白在生物膜上具有“双重分子调控开关作用”, 能够根据外界环境的作用接受和输出相应的信号, 在细胞信号的传导中起着重要作用, 大

多数小 G 蛋白循环是在膜结合形式和胞质结合形式循环中进行(如图 1)。

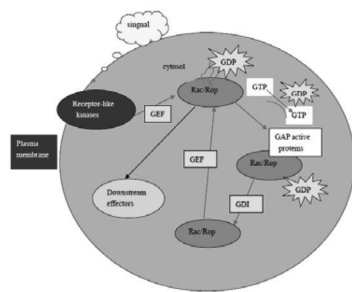


图1 Rac/Rop 蛋白在植物细胞中的调节作用模式

当外界的信号传到质膜上时, 质膜上的 ROP GTPase 的受体激酶(Receptor kinase)就会在鸟苷酸交换因子( GEF, Guanine nucleotide exchange factor)催化作用下与之结合为 RopGEF, 这样 GTP 就会被激活, 变成有活性的 GTPase 酶, 就可以参与下游效应物的相互作用, 调节相应基因的表达, 引发一系列的生理生化反应。相反, 在 GAP(GTPase activation protein)作用下, 活化的 Rac/Rop 蛋白本身的 GTP 酶活性被激活, Rac/Rop 蛋白结合的 GTP 在胞质中通过鸟苷酸解离抑制因子(GDI)结合解离为 GDP, 从而调控这些小 G 蛋白的 GTPase 活性又恢复到原来的失活状态。因此 Rops 被誉为真核细胞的信号网络“汇集器”<sup>[2]</sup>。

## 4 ROP 类基因在烟草作物中的研究进展

Tao L Z 的研究表明<sup>[6]</sup>, 植物的一系列 Rac/Rop GTPases 起着调节生长素信号传递到下游反应基因的作用。生长素刺激 Rho-like GTPases, 反过来它们又刺激生长素反应基因的表达。野生型烟草超量表达 Rac/Rop GTPases 的组成性活性突变体激活生长素反应基

第一作者简介: 梁秋霞(1971-), 女, 在读博士, 讲师, 研究方向为离子束生物技术。E-mail: liangqx.ok@163.com。

基金项目: 国家“十五”科技攻关资助项目(2001BA302B); 农业部公益性行业科研专项资金资助项目(200803034)。

收稿日期: 2009-12-14

因的表达。另一方面超表达的显性负调控 NtRac1 抑制生长素诱导基因的表达。而且,超表达的 NtRac1 活性或者转基因幼苗诱导表现型和生长素相关的缺陷相同。

Klahre U 的研究发现<sup>[7]</sup>,烟草花粉管的 GFP 标记 Nt-RopGAP1 位于质膜的顶点以下区域支持 RopGAP 在 ROP 活性的后期抑制作用。

Sousa E 研究小组<sup>[8]</sup>发现 PIP5K4( phosphatidylinositol-4-monophosphate 5-kinase) 荧光标记蛋白使烟草长花粉管短暂的变形揭示了荧光蛋白位于顶点附近的质膜,特别是在顶点以下的位置。超量表达的 PIP5K4-GFP 降低蛋白趋于质膜的顶点区域,花粉管的生长紊乱,引起顶点细胞壁的变厚,说明 PIP5K4 在调节花粉管的极性生长中起着重要的作用。

Zonia and Munnik 的试验表明<sup>[9]</sup>在烟草的花粉管顶点接近顶点的区域有大多数分泌的胞囊和膜的修复,其胞外分泌物的产生在花粉管接近顶点区域。

曹扬荣等<sup>[10]</sup>从烟草中克隆得到了编码 NtRop1 基因的基因组序列,并研究了该基因在不同胁迫处理下的表达情况及转基因植物在盐胁迫下的反应。该项研究表明,NtRop1 基因的基因组中含有 7 个外显子和 6 个内含子,其表达受到 NaCl, 甲基紫精(MV)和 L-氨基环丙烷-L-羧酸(ACC)的诱导,但是脱落酸(ABA)会抑制该基因的表达。与野生型拟南芥相比,在盐胁迫下,转基因拟南芥植株根的长度明显比对照短,并且相对电导率也明显比对照高。在研究信号分子传递的过程中,过氧化氢可以被 Rop 类小 G 蛋白通过调节 NADP 氧化酶而产生,这些信号分子可以调控根毛的生长、植物对病原菌的反应、以及植物对低氧胁迫的反应等。在烟草中,Ntrac5 被认为是负责通过调控 NrbohD 活性释放活性氧物质的关键组分<sup>[11]</sup>。转 NtRop1 基因拟南芥的过氧化氢的含量比对照高。这表明 NtRop1 基因可能是通过增加植物体内过氧化氢含量从而导致植物对盐胁迫的敏感性。ROP 类基因是众所周知的调节细胞极性生长,细胞形态发生,激素的刺激信号,防御功能和氧胁迫反映的信号因子。

据报道烟草中的 Nt-Rac 是调节包括 IAA/AUX 蛋白、SCF-E3 泛素连接复合体, COP9 信号体、26S 蛋白酶体的核蛋白体的生长素诱导、组配。ROP10 是植物激素 ABA 应急反应的负向调控因子。ROP11/ AtRac10 也调节植物细胞内吞和细胞膜的循环。

5 ROP 类基因在茄科中的研究进展

官德义等从经过 UV 处理的辣椒叶片的 cDNA 文库中分离获得 1 个 cDNA 阳性克隆,测序和序列分析结

果表明,其长度为 1141,含有 1 个长度为 197 的开放阅读框架,与烟草等植物的 Rop 有较高的同源性,推测可能参与了辣椒倍半萜植保素受 UV 的诱导合成因素,是重要的分子开关,具有一定的防御反应调控<sup>[12]</sup>。

有关番茄 RopGEF 类似物在早些时候报道通过酵母双杂交在体外 pulldown assays 和免疫沉淀试验被证实作为花粉特殊受体激酶(LePRK1 和 LePK2) 的伴侣蛋白(KPP,kinase parter protein)<sup>[13]</sup>,暗含了 RopGEF 的活性可以通过受体激酶调节。当 LeKPP 超量表达时,就诱导花粉管的去极化,伴随着胞质运动引起细胞骨架结构的变体与分配,这些效应与研究拟南芥花粉管极性的生长与 RopGEF1 的活性相互关联<sup>[14]</sup>。同时,番茄 LePRKs 的相关研究<sup>[15]</sup>表明来自番茄的 2 种特征受体激酶 LePPK1 和 LePPK2 的结构和免疫定位模式,LePPK2 的脱磷酸化显示这些激酶可能在胞外基质与信号分子相互作用,这就证实了细胞表面信号的接收和转导。在番茄的花粉蛋白中 LeSHY 富含亮氨酸重复蛋白和雌蕊中蛋白 LeSTIG1,富含胱氨酸蛋白存在 LePPK1 和 LePPK2 的胞外域,它们之间的现相互作用支持 LePPK1 和 LePPK2 在花粉与雌蕊之间的协调作用<sup>[16]</sup>。同时 Rac/ Rop 是激素 ABA 信号的调控因子的功能也进一步证实 RLK-RopGEF-Rac/ Rop 可能是 Rac/ Rop 参与细胞调控作用的早期复合体。

6 植物体内 Rac/ Rop 基因的序列同源性分析

根据植物基因序列分析表明: Rac/ Rop 基因在植物各种属之间的氨基酸序列存在同源性,其同源性在 79% 以上。目前拟南芥作为模式植物,其全基因组序列的测序已经完成,根据资料中报道的拟南芥中的 11 个 ROP 基因序列在 NCBI 数据库进行 BLAST 比对搜索,通过同源性,结构域的比较,我们已经筛选到茄科相关的 20 个可能编码 Rac/ Rop 基因的全长的或部分全长的核苷酸序列相关的基因(见表 1)。

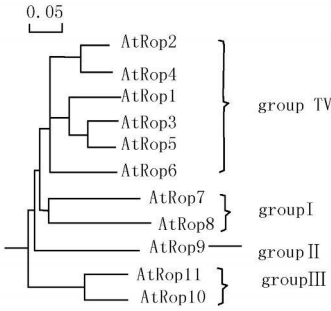


图 2 利用 DNAMAN 软件对拟南芥相关的 11 个 Rop 基因作序列同源性比较

表 1 茄科相关的 24 个可能编码 Rac/ Rop 家族基因

Genbank No.	Gene name( AtRopx, x= 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 1, 0, 11)	Description
AY029330. 1	1, 2, 4, 5, 6	Nicotiana tabacum Rae like GTPase 1 mRNA, complete cds
AJ250174. 1	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11	Nicotiana tabacum mRNA for putative rac protein(rac gene)
AJ222545. 2	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	Nicotiana tabacum mRNA for Rop subfamily GTPase
U64923. 1	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	Nicotiana tabacum geranylgeranylated protein NTGP2 mRNA, complete cds
AK322386. 1	1, 2, 4, 5, 6, 9, 11	Solanum lycopersicum cDNA, clone LEFL1037BC07, HTC in leaf
AK324083. 1	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	Solanum lycopersicum cDNA, clone LEFL1071AH11, HTC in leaf
AK329394. 1	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9	Solanum lycopersicum cDNA, clone LEFL3141A20, HTC in root
AK325596. 1	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9	Solanum lycopersicum cDNA, clone LEFL1098CC05, HTC in leaf
DQ257288. 1	1, 2, 3, 4, 5, 9	Capsicum annuum Rho mRNA, complete cds
AK323507. 1	2, 3, 5, 6, 8, 9	Solanum lycopersicum cDNA, clone LEFL1058BF12, HTC in leaf
AK327463. 1	2, 3, 5, 6, 8, 9	Solanum lycopersicum cDNA, clone LEFL2030C22, HTC in fruit
BT012810. 1	2, 3, 5, 6, 8, 9	Lycopersicon esculentum done 113830F, mRNA sequence
DQ450841. 1	2, 3, 5, 6, 9	Solanum chacoense Rae like GTP binding protein(RAC1) mRNA, complete cds
AJ496226. 1	2, 3, 4, 5, 6, 8, 9	Nicotiana tabacum mRNA for putative rac protein(rac2 gene)
U64924. 1	2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11	Nicotiana tabacum geranylgeranylated protein NTGP3 mRNA, complete cds
AK328696. 1	7, 8, 9	Solanum lycopersicum cDNA, clone LEFL3032D19, HTC in root
AK319400. 1	8	Solanum lycopersicum cDNA, clone LEFL1020DE02, HTC in leaf
AJ496227. 1	8	Nicotiana tabacum partial mRNA for putative rac protein(rac3 gene)
AK325103. 1	9, 11	Solanum lycopersicum cDNA, clone LEFL1091CE07, HTC in leaf
AJ496228. 1	11	Nicotiana tabacum mRNA for putative rac protein(rac4 gene)

利用 DNAMAN 软件根据已经报到的拟南芥的 11 个 Rop/ Rac 蛋白的氨基酸序列和已经筛选到与茄科相关的 20 个可能编码 Rac/ Rop 蛋白的氨基酸序列作序列同源性比较, 构建进化树( 见图 2、3)。

由此表明拟南芥的 11 个 Rop/ Rac 蛋白的氨基酸序列可以分为 4 大类, group i( 包括 AtRop7, AtRop8), group ii( 包括 AtRop9), group iii( 包括 AtRop10, AtRop11), group iv( 包括 AtRop1, AtRop2, AtRop3, AtRop4, AtRop5, AtRop6)。它们都共同存在 AATGT、TGGGA 和 AAGTGG 碱基重复。但是在拟南芥的氨基酸序列比对中作者发现除了 AATGT、TGGGA 和 AAGTGG 外, 还有 CAGGG、TTTGA、AGCAA 碱基重复。由此推断茄科植物中还存在有不同于拟南芥的氨基酸所编码的蛋白质, 显示出不同物种之间的差异性。

可见在 group i 第一大类中 ak328696. 1 与 AtRop7 亲缘关系较近; Aj496227. 1 和 ak319400. 1 与 AtRop8 亲缘关系较近。在 group ii 第二大类中 ak325103. 1 与 AtRop9 亲缘关系较近。在 group iii 第三大类中 aj496228. 1 与 AtRop10, AtRop11 亲缘关系较近。在 group iv 中茄科有 16 类相关的 Rop/ Rac 蛋白存在, U64924. 1, AJ496226. 1, DQ450841. 1, ak323507. 1, ak327463. 1, bt012810. 1 与 AtRop3, AtRop5 亲缘关系较近。

7 讨论

Rops 信号在茄科植物中的作用与其它植物应该类似, RLKs 参与植物个体的形成、抵抗外来因素的侵害和

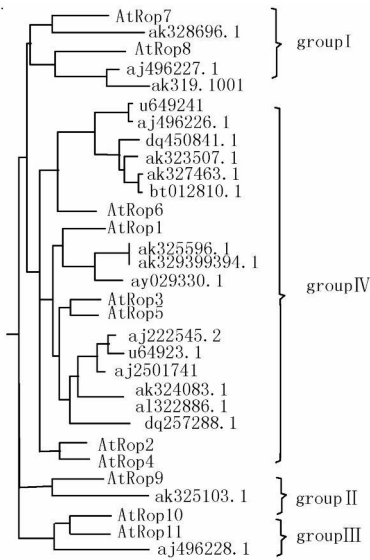


图 3 利用 DNAMAN 软件对茄科和拟南芥相关的 Rop 基因作序列同源性比较

调节激素的表达。在番茄的 Rops 研究中, 在花粉管的质膜(PM) 中, 受体激酶 RLKsLEPK1 和 LEPK2 被发现<sup>[15]</sup>。PRKs 与 Rops 之间的连接是通过胞质的 LEPK1 和 LEPK2 相互连接对 RopGEF KPP 进行特征化, 可能包含在 KPP 的多样化的 C 末端<sup>[13]</sup>。资料报道 PRKs 的传导途径是否依靠花粉或者雌蕊上的信号通过 RopGEF 到 Rop 再影响花粉的发芽和花粉管的生长还是有争议的<sup>[18]</sup>。在传导途径中, 磷酸化作用可能是重要的作用,

因为在花粉中 LePRKs 和 KPP 的磷酸化被发现<sup>[13,19]</sup>。磷酸部分是否影响 RopGEF 的催化活性或者影响传导通路上各组成成分的相互作用还需进一步通过实验检测。但是 Rops 在拟南芥的研究中发现, 它们干扰质膜上生长素的接收机制<sup>[6]</sup>。有关报道富含亮氨酸的受体激酶(RPK1)被发现包含在 ABA 早期的信号调解中起作用<sup>[20]</sup>。表明 RLKs 和 Rops 通过 RopGEFs 影响茄科植物激素信号的表达式值得进一步探索的, 目前在拟南芥、水稻和玉米等作物上关于 Rop 蛋白的作用已经研究的比较多, 但是在茄科植物上只是做了有限的探索, 该分析亟待为茄科植物特别是番茄有关 Rop 蛋白的作用提供参考。

### 参考文献

- [1] Meier I. A novel link between ran signal transduction and nuclear envelope proteins in plants[J]. Plant Physiol, 2000(124): 1507-1510.
- [2] Winge P, Brembu T, Krlstensen R, et al. Genetic sturture and evolution of RAG GTPase in Arabidopsis thaliana[J]. Genetics, 2000, 156: 1959-1971.
- [3] Yang Z B. Small GTPase: Versatile signaling switches in plants[J] (Supplement). Plant Cell, 2002: 375-388.
- [4] Christensen T M. Conserved subgroups and developmental regulation in the monocot rop gene family[J]. Plant Physiol, 2003, 133: 1791-1808.
- [5] Zheng Z L, Yang Z. The Rop GTPase: an emerging signaling switch in plants[J]. Plant Molecular Biology, 2000, 44: 1-9.
- [6] Tao L Z, Cheung A Y, Wu H M. Plant Rax-like GTPases are activated by auxin and mediate auxin-reponsive gene expression[J]. Plant Cell, 2002(14): 2745-2760.
- [7] Klahre U, Kost B. Tobacco RhoGTPase Activating Protein1 spatially restricts signaling of RAC/Rop to the apex of pollen tubes[J]. Plant Cell, 2006(18): 3033-3046.
- [8] Sousa E, Kost B, Malh R. Arabidopsis phosphatidylinositol 4-monophosphate 5-kinase 4 regulates pollen tube growth and polarity by modulating membrane recycling[J]. The Plant Cell, 2008(20): 3050-3064.

- [9] Zonia L, Munnik T. Vesicle trafficking dynamics and visualization of zones of exocytosis and endocytosis in tobacco pollen tubes[J]. J. Exp. Bot., 2008, 59: 861-873.
- [10] 曹扬荣, 李志刚, 陈涛, 等. 过量表达 NtRop1 基因增加了植物对盐胁迫的敏感和过氧化氢的含量[J]. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2008, 38(4): 311-318.
- [11] Morel J, Fromentin J, Blein J P, et al. Rac regulation of NtrbohD, the oxidase responsible for the oxidative burst in elicited tobacco cell[J]. Plant J., 2004(37): 282-293.
- [12] 官德义, 陈雄, 邱爱莲, 等. 辣椒 Rop cDNA 分离及其序列分析[J]. 热带作物学报, 2008, 29(4): 439-442.
- [13] Kaothien, P, Ok, S H. Kinase partner protein interacts with the LePRK1 and LePRK2 receptor kinases and plays a role in polarized pollen tube growth[J]. Plant J, 2005, 42(4): 492-503.
- [14] Gu Y, Li S D, Lord E M, et al. Members of a novel class of Arabidopsis Rho guanine nucleotide exchange factors control Rho GTPase-dependent polar growth[J]. Plant Cell, 2006, 18: 366-381.
- [15] Wengier D. The receptor kinases LePRK1 and LePRK2 associate in pollen and when expressed in yeast, but dissociate in the presence of style extract[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2003, 100: 6869-6865.
- [16] Tang W H. LeSTIG1, an extracellular binding partner for the pollen receptor kinases LePRK1 and LePRK2, promotes pollen tube growth in vitro[J]. Plant J., 2004, 39(3): 343-353.
- [17] Ridley A J. Rho GTPases and actin dynamics in membrane protrusions and vesicle trafficking[J]. Trends Cell Biol, 2006, 1(6): 522-529.
- [18] Shichnur K, Yalovsky S. Turning ON the switch - RhoGEFs in plants[J]. Trends Plant Sci, 2006(11): 57-59.
- [19] Muschietti J, Eyal Y, McCormick S. Pollen tube localization implies a role in pollen-pistil interactions for the tomato receptor-like protein kinases LePRK1 and LePRK2[J]. Plant Cell, 1998(10): 319-330.
- [20] Osakabe Y, Maruyama K, Seki M, et al. Leucine-rich repeat receptor-like kinase1 is a key membrane-bound regulator of abscisic acid early signaling in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2005(17): 1105-1119.

## Study in Bioinformatics of the Cell Signals Regulation of ROPs Gene in *Solanaceae*

LIANG Qian-xia<sup>1</sup>, HUANG Quan-ce<sup>1</sup>, CAO Gang-qiang<sup>2</sup>, YING Fang-qing<sup>3</sup>, LIU Yan-Bo<sup>3</sup>, HUANG Wen<sup>3</sup>

(1. Henan Province Key Laboratory of Ion Beam Bioengineering, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052; 2. Department of Bioengineering, Zhengzhou, Henan 450001; 3. Zhengzhou City Institute of Vegetable, Zhengzhou, Henan 450000)

**Abstract:** The plant suffered not only the effector of external environment condition during the growth, but also the SOS response to the outside of signals by itself the system of regulation. These are the signaling response system of the cell adapting to itself surroundings. Only those cells are best able to live in the environment for surviving, conversely nobody can change it. Rops gene belong to the special signaling modulation gene of the cell in plant. This paper introduce the research progress of Rops gene in solanaceae for the present.

**Key words:** SOS response; cell; gene