

# 阿拉伯半乳糖蛋白在高等植物中的分布及功能

包 晗, 郑 国 琦

(宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

**摘 要:**阿拉伯半乳糖蛋白(arabinogalactan-proteins, AGPs)是一类含有丰富羟脯氨酸或脯氨酸的结构复杂的糖蛋白,其广泛分布在细胞壁、原生质体和质膜上。在植物的根部、花粉管、花粉以及柱头、花柱等组织中均有表达,AGPs 在被子植物营养生长和生殖发育均起着非常重要的作用,可能参与了根形态建成与发育,根系与土壤微生物互相作用,并影响花粉管的生长、花粉粒的成熟和柱头上萌发等。现就其分子结构、分类以及主要研究方法,对植物根组织以及花粉、花粉管、柱头部位 AGPs 的分布和可能功能进行了综述。

**关键词:**阿拉伯半乳糖蛋白;分布;功能

**中图分类号:**Q 946.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)01-0185-07

阿拉伯半乳糖蛋白(arabinogalactan-proteins, AGPs)是一种广泛存在于植物组织和细胞的糖蛋白,是富含羟脯氨酸的糖蛋白(Hyp-rich glycoproteins, HRGPs)家族的成员之一。阿拉伯半乳糖蛋白是由 90%以上分支糖链以-O-糖苷键与核心蛋白组成的复杂大分子,它的糖基骨架是由阿拉伯糖和半乳糖等寡聚糖以  $\beta$ -1,3-连接的主链和 1,6-连接的支链组成<sup>[1-2]</sup>。AGPs 的蛋白骨架上一

般具有 1 个或多个阿拉伯半乳糖侧链以及 Ala-Hyp 重复序列,且富含羟脯氨酸或脯氨酸、丝氨酸、丙氨酸和苏氨酸<sup>[3-5]</sup>。根据 AGPs 构成形式的不同,可分为典型 AGPs 和非典型 AGPs。典型 AGPs 一般有 3 个区域:N 端的信号肽,这段信号序列对于蛋白分泌到胞外是必需的,在成熟后被切除;一段含有丰富脯氨酸或羟脯氨酸,赖氨酸,丝氨酸和苏氨酸且长度可变的中间区域;C 端的疏水跨膜区,通常存在于 AGPs 前体中,之后被 GPI 锚所取代。除了典型 AGPs,在拟南芥中还发现一些不属于以上结构的 AGPs,如富含赖氨酸的 AGPs<sup>[6]</sup>,包含 1 个或 2 个泛素结构域的 FLAs(fasciclin-like AGPs)<sup>[7]</sup>、AG 多肽<sup>[8]</sup>,含有 GPI 锚但缺乏  $\text{Cu}^{2+}$  结合位点的 PCNL

**第一作者简介:**包晗(1986-),女,硕士,实验师,现主要从事植物发育学等研究工作。E-mail:18795209024@163.com.

**基金项目:**宁夏大学自然科学基金资助项目(ZR1448)。

**收稿日期:**2015-09-24

## Floral Scent Biosynthesis and Its Regulation in *Petunia*

LIU Lu, XIAO Zhina, LIU Fei, LIU Juanxu, YU Yixun

(College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642)

**Abstract:** Plant fragrances consist of terpenoids, benzenoids, and fatty acid derivatives. Floral scent is the important character for ornamental plant and has become one of hot points of research field. *Petunia* is the model plant in many research fields, including flower scent. *Petunia* 'Mitchell' predominantly emits volatile phenylpropanoid/benzenoids. The shikimate pathway links carbohydrate metabolism to the synthesis of aromatic amino acids, which could in turn act as precursors for various primary and secondary metabolites, such as benzenoids. In *Petunia*, some enzymes of the volatile phenylpropanoid/benzenoid pathway have been shown to mainly be present in the epidermal cells of petals. Synthesis of floral scent in *petunia* is typical circadian rhythm and is regulated by ethylene. In addition, recent reports show that some R2R3 MYB transcription factor play important roles in regulation synthesis of floral scent in *petunia*. In this paper, the characters and the key enzymes of flower scent biosynthesis, and the trans-factors of its regulation were reviewed in order to contribute to improving the traits of the floral scent in ornamental plants.

**Keywords:** *Petunia hybrida*; floral scent biosynthesis; transcription factor; MYB gene family; shikimate pathway

(plastocyanin-like) 区域的 ENODLs(early nodulin-like proteins)<sup>[9]</sup>等,这些统称为非典型 AGPs。AGPs 是一种高度异质性的蛋白,即使是来自同一植株不同组织的 AGPs,其蛋白质含量和组成,糖链的数量、长度、组成以及在核心蛋白链上的定位和分布都有很大的差异。

从植物的花器官包括子房、胚珠、花药以及花粉管,到根冠和根毛结构都有 AGPs 分布。在亚细胞的水平上,AGPs 存在于细胞壁、原生质体、或者通过 C 端的 GPI 锚定位在质膜上。另外,AGPs 也以水溶大分子的形式在植物根部的分泌液中存在,并且出现在体外悬浮培养细胞的培养基中<sup>[5]</sup>。近年来 AGPs 已被证实在植物的形态发生、器官生成以及有性繁殖过程中起了重要的作用<sup>[6]</sup>,最为常用的是用  $\beta$ -葡萄糖基-Yariv( $\beta$ -D-glucosyl Yariv)试剂来特异性识别 AGPs(产生棕红色沉淀),也可用来分离和纯化 AGPs。该试剂可以特异性与细胞壁中 AGPs 结合从而抑制根部细胞的伸长以及花粉管的生长<sup>[10-11]</sup>。另一种主要的研究手段是使用特异针对 AGPs 的单克隆抗体定位,大部分抗体都是针对 AGPs 糖基骨架上的寡糖残基,也有很少一部分针对 AGPs 的蛋白骨架<sup>[6]</sup>。在使用化学试剂和单克隆抗体对 AGPs 进行定位基础上,对单个 AGPs 的基因改造产生基因突变株有助于其基因功能的研究<sup>[12-13]</sup>,借助生物信息学手段可以模拟在某种特定的试验条件下对指定器官和组织中某种 AGPs 的表达,并对其功能进行预测。

### 1 AGPs 在根中的分布及功能

一些应用实验室制备的针对 AGPs 的单克隆抗体定位的 AGPs 被发现在拟南芥根的次生生长中与形成层细胞分化相关。例如 JIM14 识别的抗原表位出现在根的次生结构中韧皮部的筛管,而 JIM13 识别的部位在新分化的木质部细胞。另外 JIM13 可以特异识别拟南芥幼苗根冠和根部边缘细胞的 AGPs,而 JIM4 也作为另一种有效识别质膜上分布的 AGPs 的单克隆抗体,常用于根组织的定位<sup>[14]</sup>。在胡萝卜根中,JIM4 识别的表位最早出现在未来形成微管组织区域,也作为在发育中中柱鞘细胞识别的标志<sup>[15]</sup>。在玉米根中,由 LM2 识别的 AGPs 表位定位在生长中的根毛顶端,而由  $\beta$ -(1,6)-半乳糖基识别的 AGPs 则遍及整个根表面包括根毛<sup>[16]</sup>。综上所述,由抗体识别的 AGPs 在植物根部的分布随着发育进程改变。伴随着 AGPs 的发现,其它 HRGPs 家族成员如伸展蛋白和 chimeric AGPs 也大量出现在生长和分化中的组织细胞表面<sup>[15]</sup>,被认为在植物细胞形态建成中起了一定的作用。

大量研究表明,AGPs 在根的发育过程中起重要作用。使用活性 Yariv 试剂对拟南芥幼苗处理后发现根生长的抑制和不正常形态的形成,主要影响根表皮细胞,表现在径向膨胀。而根冠和分生组织细胞并没有对外

理产生反应<sup>[17]</sup>,说明不同组织对活性 Yariv 试剂的效果的差异可能取决于不同 AGPs 对试剂的反应。在拟南芥突变体 *reb1-1*(root epidermal bulger)表现出来的根的形态类似于活性 Yariv 试剂处理过的情况。这种突变体比正常的野生型明显缺少一些 AGPs 的表达<sup>[18]</sup>,可以说明 AGPs 在伸长的根中控制细胞的膨胀方向的定位的能力是必需的。

尽管 AGPs 和构成细胞骨架的大分子之间的关系尚未证实,但已有报告发现细胞壁和胞质之间有大量信息的交流,AGPs 可能与某种作为信号分子,比如与某种激酶受体相连以完成细胞壁到胞质的信号交流<sup>[19-20]</sup>。以拟南芥幼苗作为材料,使用活性 Yariv 试剂或抗 AGPs 的抗体进行处理。在处理 30 min 后,发现位于皮层的微管表现出失去横向排列的能力,并与质膜内部分离。同时,在质膜外侧的 AGPs 分布也随之发生改变<sup>[18]</sup>。其微管的排列能迅速对 Yariv 试剂的处理产生反应,也证实了 AGPs 和细胞骨架分子的密切关系。而对烟草 BY-2 悬浮培养细胞在 Yariv 试剂处理后也表现出微管和肌动蛋白网络的失序现象。SARDAR 等<sup>[21]</sup>认为磷酸酶 D、其它与细胞壁相关的激酶以及某些凝集素受体激酶作为可能的 AGPs 和微管之间的联结者来介导细胞壁,质膜和胞质之间信息交流。

很多 AGPs 编码基因在拟南芥和水稻的根中表达,这些基因的表达受到很多因素的调控也包括植物激素。AGP30 是一种在根中特异表达的非典型 AGPs。这种富含组氨酸的 AGPs 在根的再生和种子发芽起了一定的作用<sup>[22]</sup>。而胡萝卜中的 AGP1 (*DcAGP1*)是 *AtAGP30* 的同系物,也在根中特异表达,并在体外悬浮培养基的细胞中大量存在<sup>[23]</sup>。缺少 *AtAGP30* 的拟南芥突变体使用活性 Yariv 试剂处理后,根表面较野生型会呈现较松散的表型,这种突变体也表现出脱落酸含量的降低。推测 *AtAGP30* 可能作为位于细胞表面的细胞壁相关激酶途径<sup>[24]</sup>或者富含亮氨酸受体激酶<sup>[25]</sup>的信号途径的成员之一。*AtAGP30* 在位于根分生组织和伸长区的无根毛的外表皮细胞内表达,或许参与保持这些细胞排列形状,使用 *GLABRA2* 的共定位支持了根表皮细胞早期建成是依赖脱落酸模式的;也在成熟根部的皮层、内表皮以及维管束内表达<sup>[26]</sup>。*AtAGP31* 是 *AtAGP30* 同族物,也是一种非典型的 AGPs,由富含半胱氨酸 C 末端 PAC 域、富含脯氨酸域和富含组氨酸域组成。在韧皮部和初生木质部的维管组织中大量表达<sup>[27]</sup>,被证实在根的发育中起了一定的作用。而 *AtAGP31* 基因在受到损伤压力或者损伤相关的因素如茉莉酸甲酯会抑制表达,证明了其对非生物压力的应激反应。另外其它的 chimeric AGPs, the FLA 也在控制形态生成起了作用。在盐胁迫下,缺乏 *SOS5/FLA4* 基因的 *sos5/fla4* 突变体表现出根

的生长量降低以及表皮、皮细胞和根毛中较少出现。这是一种与质膜相关的 AGP,有 2 个类似泛素结构域和 C 末端的 GPI 锚。SOS5 突变体与野生型相比有更薄和松散的根细胞壁,于是推测 SOS5 蛋白在盐胁迫下通过泛素结构域聚集或与其它细胞壁成分相连构成网络保持细胞壁的结构和适当的细胞伸长<sup>[28]</sup>。AtFLA1 是一种 FLA,在侧根成熟的脉管组织和初生根的伸长区表达。虽然 AtFLA1 基因功能尚不明确,但是它可能参与调控了新生侧根细胞的分化和伸长<sup>[29]</sup>。

## 2 AGPs 在根系与土壤微生物的相互作用中起的作用

除了影响根的发育,根部分泌的边界细胞和类似边界细胞以及分泌液的 AGPs 在植物和微生物的相互作用中也起了重要的作用,可表现为菌根和土壤微生物的共生或者表现为植物被寄生以及发病。在植物根部分泌液可以有效改变周围微生物环境而吸引特定的微生物种群<sup>[30]</sup>。最早在豇豆和玉米根分泌粘液中含有包括 AGPs 在内的大量高分子的细胞壁成分<sup>[31]</sup>。GASPAR 等<sup>[32]</sup>发现在缺少 AtAGP17/RAT1 基因表达的突变体中抑制了农杆菌在拟南芥根部的定位,而在使用农杆菌处理之前使用活性 Yarrow 试剂也可以抑制其在根的定位。根据这些现象,他们提出了 AtAGP17 的缺失不仅影响了在侵染初期根表皮层与细菌的互作,也干扰了 AtAGP17 作为诱发因子的细胞转导通路。其它富含赖氨酸 AGPs 的基因如 LeAGP-1 和 NaAGP4<sup>[33]</sup>,在植物受到机械损伤和病原体攻击时会做出相应的响应,这些基因的表达可以使得依赖伸展蛋白的细胞壁交联或者加强起到防御的功能。

在豆科植物和根瘤菌的互生关系中,一种 chimeric AGPs(阿拉伯半乳糖蛋白-伸展蛋白,AGPE)被认为是侵入线的主要成分之一,使用 MAC265 抗体进行免疫定位发现 AGPE 定位在根表面以及侵入线,可以与过氧化物酶交联反应。推测 AGPE 可能会影响根瘤的形成以及根瘤菌在细胞的定位,也许通过周围菌群的影响侵染线或者调控侵染线本身的生长。豌豆(*Pisum sativum*)的共生缺陷突变株则不能形成侵入线。为了区分野生型和共生缺陷型在侵入区新形成的侵入线和已经形成根瘤的固氮区成熟的侵入线,使用 MAC265 发现野生型的 AGPs 定位在根瘤组织的细胞内部,而共生缺陷型定位在小囊泡中,这证实了由 MAC265 抗体特异识别的基质糖蛋白与侵入线形成密切相关<sup>[34]</sup>。

AGPs 除了在侵入线形成起了一定作用外,在由根瘤菌引起的早期根瘤的形成中也起了作用。影响根瘤形成的主要因素是宿主的特异性和根瘤的早期发生,但是细菌胞外多糖和植物凝集素也会对其产生影响。在最新的发现中,豌豆根分泌液中产生的 AGPs 可以诱导

根瘤菌的极性附着。纯化的糖蛋白可以被针对 AGPs 的 JIM13 和 LM2 抗体特异识别,对其使用蛋白酶和糖苷酶处理后都会抑制根的极性附着,表明无论是糖基结构还是蛋白骨架对此功能都是必需的<sup>[35]</sup>。因此推测 AGP 可能作为土壤细菌的某种营养<sup>[36]</sup>,或者对由特异植物凝集素和细菌多糖引起的豆科特异性极性附着起了辅助作用。在其它的共生关系中,如真菌和从枝菌根的共生关系,AGPs 和富含羟脯氨酸糖蛋白家族成员也出现在菌丝体中<sup>[37]</sup>。一种非典型 AGPs、ENOD11,诱导从枝真菌在宿主根表面的黏附,这种蛋白在宿主植物早期菌根的突起和真菌在外表皮和皮层的定位起了作用,也影响菌体在宿主根细胞质的重新排列以及预先决定菌体入侵的部位<sup>[38]</sup>。另外,ENOD11 也出现在不受共生关系影响的根组织,比如根冠和根围细胞,可以认为这种蛋白的表达作为一种可变的细胞壁成分以应对不同环境下的变化。

## 3 AGPs 在花器官的分布和功能

### 3.1 AGPs 在不同发育时期的花粉粒以及花粉管中的分布

在拟南芥花粉形成的早期分裂过程中,使用 JIM8 和 JIM13 标记的信号有选择性的出现在小孢子母细胞的细胞壁上。分裂后形成的四分体由胼胝质、果胶和半纤维素组成的厚壁所包裹。使用能降解细胞壁的酶类来处理,小孢子从中释放,由 JIM8 和 JIM13 识别的 AGPs 大量分布在胞质和小孢子的外表面。经过一次减数分裂,形成的二胞花粉由 1 个生殖细胞和 1 个营养细胞组成。此时生殖细胞的质膜标记较深。而在第 2 次减数分裂后,生殖细胞产生 2 个精细胞,它们的质膜仍然被强烈标记<sup>[39]</sup>。这种雄配子体特异性标记保持到花粉粒发育成熟,也表现在体内和体外生长的花粉管中。由 MAC207 识别的 AGP 表位也出现在成熟花粉粒靠近质膜的内壁上。LM2 抗体在花粉发育过程中没有显示任何细胞特异性标记<sup>[39]</sup>。使用 LM2 和 MAC207 抗体标记体外生长拟南芥花粉管细胞壁,发现顶端的标记信号强于其它部位<sup>[40]</sup>,而使用 JIM13 和 JIM8 抗体没有发现任何的标记<sup>[41]</sup>。使用 LM2 和 JIM13 抗体分别标记云杉和猕猴桃的花粉管,观察发现 AGPs 以周期性环状分布在花粉管壁周围<sup>[42-43]</sup>。在麝香百合中,JIM13-16、MAC207 以及 LM2 所识别的标记被限制在花粉管顶端<sup>[11,44]</sup>。而在烟草中,使用 MAC207 或 PCBC3 抗体不能有效识别花粉管细胞壁,但是使用 JIM13 抗体可以有效标记整个花粉管细胞壁<sup>[45-46]</sup>。综上所述,AGPs 不规则的分布在紧贴花粉管壁的质膜、营养细胞和精细胞质膜以及高尔基体分泌的小泡上。

### 3.2 AGP 基因在被子植物花粉和花粉管的表达和功能

在第 1 次有丝分裂后,花粉的发育需要早期基因的



表达,后期基因表达产物参与了细胞壁的形成、花粉的成熟、花粉在柱头上的识别以及花粉管的萌发和生长。在拟南芥中,一些 AGP 基因如 *AtAGP6* (*At5g14380*) 和 *AtAGP11* (*At3g01700*),被发现与花粉管的发育有关<sup>[47]</sup>。欧洲油菜(*Brassica campestris*) *BcMF8* 是一种在花粉中特异表达的基因,其合成的蛋白骨架有明显的典型 AGP 的特征<sup>[48]</sup>,但是与典型的 AGP 基因 *AtAGP11* 和 *AtAGP6* 相似度较低。2005 年 PARK 等<sup>[49]</sup> 从中国白菜花粉中分离得到 *BAN102*,也是一种与 *AtAGP23* 基因序列相似的在花粉中表达的基因。而在水稻花粉中,2 种典型 AGP 编码基因 *OxAGP7* 和 *OxAGP10* 高度表达。尽管 *OxAGP7* 和 *OxAGP10* 的表达相对于 *AtAGP6* 和 *AtAGP11* 基因没有那么近的系统进化关系,但在这 2 种高度同源性的水稻基因 *AGP6* 和 *AGP11* 有着不同的表达模式。ANAND 等<sup>[50]</sup> 从水稻中分离一段 AGP(*OxAGP*) cDNA 序列(586 bp),其降解的基因片段和蛋白序列表现出与拟南芥 AGP 编码的基因 *AGP23* 有同源性。*OxAGP* 基因的启动子在小孢子从胼胝质壁中释放出来之后开始启动,其功能作为一种在花粉发育成熟后期大量表达的基因,在花粉萌发和花粉管生长过程中也活跃表达。

在花粉管的生长中,随着新的细胞壁物质在顶端的不断积累,花粉管才能伸长。使用较高浓度(50  $\mu\text{g/g}$  和 100  $\mu\text{g/g}$ )的活性 Yariv 试剂处理以及在不同的条件下培养证明该试剂对烟草花粉管有明显的抑制作用<sup>[46]</sup>。同样使用活性 Yariv 试剂处理麝香百合(*L. longiflorum*)的花粉管,也发生了停滞生长的现象。而在培养基中去除活性 Yariv 试剂的影响,一度停滞生长的花粉管顶端又会恢复生长<sup>[11]</sup>。以上研究证明 AGPs 在花粉管生长中影响了新细胞壁物质的积累。在最新的研究中,花粉管顶端的 AGP 被运往花粉管顶端,作为指导花粉管生长的信号分子发挥作用。不同的信号分子可以结合特殊的细胞壁多糖结构(一些与 AGPs 相连)来调节细胞壁的完整和功能。AGPs 在此过程中可以作用共同的受体来响应胞外信号,与激素受体或者离子通道等跨膜蛋白反应,来激活各种胞内的活动<sup>[10,51]</sup>。

*AGP6* 和 *AGP11* 是 2 种在拟南芥花粉与花粉管大量特异表达的基因<sup>[12,47]</sup>。为了探索 *apg6apg11* 双基因突变型是否会影响花粉管的生长和种子形成,对花进行人工去雄分别授以正常野生型的花粉和双基因突变型的花粉,之后使用激光共聚焦显微镜观察发现,*AGP6* 和 *AGP11* 在控制花粉粒在正确的时间萌发以及花粉管的生长起了重要作用<sup>[13]</sup>。使用实时定量 PCR 技术分别检测在 *apg6apg11* 双突变体、*apg6* 单突变体、*apg11* 单突变体中 AGPs 在各个花粉管内的表达水平,发现这些 AGPs 在花粉中特异表达取决于花粉管生长的环境,而一种持续上调表达基因 *AGP40*,在花粉中特异表达的

AG 多肽,在双基因突变体中花粉和花粉管出现,同时也大量稳定过表达 *AGP23* 基因(是一种花粉特异性 AG 多肽)。此外利用现在的技术得到 3 种基因突变型 *apg6*、*apg11*、*apg40*,三基因突变型比二基因突变型种子的产量进一步降低,早期萌发的花粉管增多<sup>[52]</sup>。在拟南芥中除了典型 AGPs、AG 多肽、FLAs 序列等非典型 AGPs 功能还有待于进一步研究。研究认为 *FLA3* 参与了小孢子的发育,或许影响花粉内壁的形成以及胼胝质的积累。在 *FLA3* 基因过表达的转基因植株中发现雌蕊中花丝伸长的缺陷,导致在短角果中有少量的种子生成,证明 *FLA3* 不正常的表达会降低和阻碍生殖细胞的生长<sup>[53]</sup>。

### 3.3 柱头上 AGPs 的功能

当生长中花粉管通过柱头,其导向作用在百合的中空柱头中由起传递作用的特异表皮细胞所控制<sup>[44]</sup>,或在烟草等 AGPs 丰富的实心柱头,花粉管的导向是有传递组织的细胞内基质控制的<sup>[40,55]</sup>。对百合柱头分泌液进行 SDS-PAGE 和 Western blot 检测发现由 JIM13 识别的 AGPs 的分子量为 97~200 kDa,也可被活性 Yariv 试剂染色<sup>[44]</sup>。与之相似的位于烟草柱头上 AGPs 的分子量范围是 45~140 kDa<sup>[55]</sup>。从烟草的花柱传递组织纯化得到传递特异性的 NtTTS 以及花柱特异性的类似伸展蛋白 III (PELPIII),一种 120 kDa 蛋白、AGPNa1 和 NaTTS<sup>[56-57]</sup>。在这些 AGPs 之中,120 kDa 蛋白、AGPNa1、PELPIII 和 NtTTS 都不属于典型的 AGPs。120 kDa 蛋白和 PELPIII 都具有 AGP 和伸展蛋白共有的成分 chimeric 结构<sup>[58]</sup>,而 NtTTS 有着不寻常蛋白和糖类的比例,其重量比 65 : 35,还有个基本 PI<sup>[59]</sup>。

通过对烟草和花烟草的研究发现,发生糖基化的柱头 TTS 可以吸引和促进花粉管在体外的生长<sup>[60]</sup>,伴随着转基因烟草 NtTTS mRNA 表达水平的降低其育性也降低<sup>[61]</sup>。而去糖基化的 NtTTS 结构松散,WU 等<sup>[62]</sup> 认为糖基化过程起了非常重要的生物作用。在花粉管通过传递组织的胞外基质中生长时,以松散结合的 NtTTS 出现在花粉管细胞壁表面,胼胝质内壁以及花粉管顶部。对花粉管的引导可能是由从花粉管顶部到柱头最后到胚珠不断升高的糖基化 NtTTS 浓度推动的。另一方面,花粉管可以降解 NtTTS 蛋白,使其参与糖的代谢。综上所述,AGPs 的糖基组分可能参与了信号传导或者作为营养来源。

在花烟草未授粉的柱头上,120 kDa 蛋白的表位分布在传递组织的胞外基质中。在柱头接受合适的花粉之后,120 kDa 蛋白会集中在靠近花粉管壁内壁上,使用荧光标记后发现会随着花粉管的生长出现在胞质和囊泡/类似液泡的结构<sup>[63]</sup>。而在柱头接受不合适的花粉后,也可观察到类似的标记现象<sup>[64]</sup>。PELPIII 在未授粉

前定位于柱头传递组织的胞内基质。授粉后,在传递组织已经检测不出 PELP III,其出现在花粉管胼质壁和钙阀上。与 NtTTS 不同的是 PELP III 不随着花粉管的伸长而移动,说明它不直接促进花粉管的生长<sup>[57]</sup>。研究发现在柱头表达的 NaTTS、120 kDa 以及 PELP III 在体外都可和 S 型核酸酶结合,而位于柱头的核糖核酸酶可以降解花粉管的 rRNA 以及限制不合适的 S 型花粉的萌发。推测 AGPs 也许通过与 S 型核酸酶(也许促进最初与花粉管的反应)形成复合物间接参与 S 型花粉的排斥<sup>[65]</sup>。比较这 3 种糖蛋白,120 kDa 蛋白的分子量多变,为 80~120 kDa,使用 RNA 干扰技术抑制其表达会导致缺乏对 S 型花粉的排斥。因此,120 kDa 蛋白也许作为配子体的 S 排斥反应的所必要的组分之一<sup>[66]</sup>。通过对烟草的研究,发现柱头的 AGPs 在花粉管的生长、引导、营养以及花粉管的选择方面都起了重要的作用。对于其它植物类似的功能性的研究还需进一步开展。

#### 4 结论与展望

过去对于 AGPs 研究的进展在于认识这些大分子糖蛋白在植物营养生长的功能和有性生殖中对于雌雄配子的发育,成熟花粉粒在柱头上萌发以及花粉管在体内和体外生长的影响,而对植物果实发育中 AGPs 的研究较少。课题组在 ROBERT 等<sup>[67]</sup>对宁夏枸杞果实内的多糖进行提取以及鉴定后,认为宁夏枸杞果实的细胞壁多糖具有典型的阿拉伯半乳糖蛋白特征的基础,对不同发育时期的枸杞果实进行 JIM8、JIM94、JIM13、MAC204 免疫荧光检测,结果显示在外果皮和中果皮的维管束荧光较强;在免疫金定位研究中发现,AGPs 大量地分布在果肉细胞的细胞膜和细胞质内的质体膜上,随着果实的发育,AGPs 从质膜和质体膜转移到囊泡中,推测 AGPs 可能作为一种缓冲物质来适应果实发育中急剧增大(未发表资料)。最新的研究发现在豌豆根分泌液中 AGPs 可以对根瘤菌产生极性吸引<sup>[35]</sup>,这个结果支持了 AGPs 在植物与微生物共生关系中起了促进作用。另外,从豌豆根顶端分离得到的 AGPs 可以吸引致病菌的游动孢子,从而抑制其生长<sup>[54]</sup>,说明位于根表面 AGPs 在保护根组织免受微生物的侵染起了防御作用。未来应对这些结构和功能各异的 AGPs 进行单独的分析,虽然一般在细胞和组织水平上研究 AGP 分布使用针对性的单克隆抗体,但是也不是所有的抗体都能针对其多变以及结构上复杂的阿拉伯半乳糖表位。为了研究其结构和功能的关系,需要借助分子生物学技术,使用能精确分析的仪器来解析蛋白核心与关键寡糖分子的排列,阿拉伯半乳糖的糖基部分有多达 100 种糖残基组成,而寡聚糖可以被糖苷酶水解成各种单糖残基<sup>[68]</sup>。这些被分解释放的寡聚糖可能在控制植物的生长发育、形态建成,对病原体的抵抗以保护根部

这些方面起了作用,可为进一步阐明 AGPs 结构和功能的相关性提供依据。探索阿拉伯半乳糖聚糖的生物合成以及通过何种途径运输的。与 AGP 识别的多糖表位一般分布在高尔基小泡、分泌小泡、高尔基体与内质网组成的网络系统中。特定糖基转移酶需要被识别和分类,从而进一步了解糖基转移酶如何参与这些糖链的生物合成,未来还需要了解这些酶如何与内膜系统组织完成传递信息的任务以及构建结构与功能特异性的 AGPs。

#### 参考文献

- [1] TAN L, VARNAI P, LAMPORT D T A, et al. Plant O-glycosylation arabinogalactans are composed of repeating trigalactosyl subunits with short bifurcated side chains[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285: 24575-24583.
- [2] TRYFONA T, LIANG H C, KOTAKE T, et al. Carbohydrate structural analysis of wheat flour arabinogalactan protein[J]. Carbohydrate Research, 2010, 345: 2648-2656.
- [3] SEIFERT G J, ROBERTS K. The biology of arabinogalactan proteins[J]. Annu Rev Plant Bio, 2007, 58: 137-161.
- [4] RUMYANTSEVA N I. Arabinogalactan proteins: involvement in plant growth and morphogenesis[J]. Biochemistry, 2005, 70: 1073-1085.
- [5] KNOX J P. The structure and function of arabinogalactan proteins (AGPs) (1) Arabinogalactan-proteins (AGPs) and plant cell development[J]. FFI J, 2006, 21: 26-31.
- [6] SUN W X, XU J F, YANG J, et al. The lysine-rich arabinogalactan protein sub family in Arabidopsis: gene expression, glycoprotein purification and biochemical characterization[J]. Plant Cell Physiol, 2005, 46: 975-984.
- [7] YANG J, SARDARR H S, MC GOVERN K R, et al. A lysine-rich arabinogalactan protein in Arabidopsis is essential for plant growth and development, including cell division and expansion[J]. Plant J, 2007, 49: 629-640.
- [8] JOHNSON K L, JONES B J, BACIC A, et al. The fasciclin like arabinogalactan proteins of Arabidopsis: a multigene family of putative cell adhesion molecules[J]. Plant Physiol, 2003, 133: 1911-1925.
- [9] MASHIGUCHI K, ASAMI T, SUZUKI Y. Genome-wide identification, structure and expression studies, and mutant collection of 22 early nodulin-like protein genes in Arabidopsis[J]. Bioscience Biotechnology Biochemistry, 2009 (11): 2452-2459.
- [10] MAJESWSKA-SAWKA A, RODRIGUEZ-GARCIA I. Immunodetection of pectin and arabinogalactan protein epitopes during pollen exine formation of Beta vulgaris L. [J]. Protoplasma, 2006, 228: 41-47.
- [11] MOLLET J C, KIM S, JAUH G Y, et al. Arabinogalactan proteins, pollen tube growth, and the reversible effects of Yariv phenylglycoside[J]. Protoplasma, 2002, 219: 89-98.
- [12] COIMBRA S, COSTA M L, JONES B J, et al. Pollen grain development is compromised in Arabidopsis agp6 agp11 null mutants[J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60: 3133-3142.
- [13] COIMBRA S, COSTA M L, MENDES M A, et al. Early germination of Arabidopsis pollen in a double null mutant for the arabinogalactan protein genes AGP6 and AGP11[J]. Sexual Plant Reproduction, 2010, 23: 199-205.
- [14] DOLAN L, LINSTED P, ROBERTS K. An AGP epitope distinguishes a central metaxylem initial from other vascular initials in the Arabidopsis roots[J]. Protoplasma, 1995, 189: 145-155.
- [15] KNOX J P. Developmental regulated proteoglycans and glycoproteins of

- the plant cell surface[J]. Federation of American Societies for Experimental Biology Letters, 1995(9): 1004-1012.
- [16] SAMAJ J, BRAUN M, BALUSKA F, et al. Specific localization of arabinogalactan protein epitopes at the surface of maize root hairs[J]. Plant and Cell Physiology, 1999, 40: 874-883.
- [17] VICRE' M, SANTAELLA C, BLANCHET S, et al. Root border-like cells of *Arabidopsis*: microscopical characterization and role in the interaction with rhizobacteria[J]. Plant Physiology, 2005, 138: 998-1008.
- [18] NGUEMA-ONA E, ANDEME-ONZIGHI C, ABOUGHE-ANGONE S, et al. The reb1-1 mutation of *Arabidopsis*: effect on the structure and localization of galactose-containing cell wall polysaccharides[J]. Plant Physiology, 2006, 140: 1406-1417.
- [19] RINGLI C. Monitoring the outside: cell wall-sensing mechanisms[J]. Plant Physiology, 2010, 153: 1445-1452.
- [20] BOISSON-DERNIER A, KESSLER S A, GROSSNIKLAS U. The walls have ears: the role of plant CrRLK1Ls in sensing and transducing extracellular signals[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62: 1581-1591.
- [21] SARDAR H S, YANG J, SHOWALTER A M. Molecular interactions of arabinogalactan-proteins with cortical microtubules and F-actin in Bright-Yellow-2 tobacco cultured cells[J]. Plant Physiology, 2006, 142: 1469-1479.
- [22] van HENGEL A J, ROBERTS K. AtAGP30, an arabinogalactan-protein in the cell walls of the primary root, plays a role in root regeneration and seed germination[J]. The Plant Journal, 2003, 36: 256-270.
- [23] BALDWIN T C, DOMINGO C, SCHINDLER T, et al. DcAGP1, a secreted arabinogalactan protein, is related to a family of basic proline-rich proteins[J]. Plant Molecular Biology, 2001, 5: 421-435.
- [24] WAGNER T A, KOHORN B D. Wall-associated kinases are expressed throughout plant development and are required for cell expansion[J]. The Plant Cell, 2001(13): 303-318.
- [25] TANG W, EZCURRA I, MUSCHIETTI J, et al. A cysteine-rich extracellular protein, LAT52, interacts with the extracellular domain of the pollen receptor kinase LePRK2[J]. The Plant Cell, 2002(14): 2277-2287.
- [26] van HENGEL A J, BARBER C, ROBERTS K. The expression patterns of arabinogalactan-protein AtAGP30 and GLABRA2 reveal a role for abscisic acid in the early stages of root epidermal patterning[J]. The Plant Journal, 2004, 39: 70-83.
- [27] LIU C, MEHDY M C. A nonclassical arabinogalactan protein gene highly expressed in vascular tissues, AGP31, is transcriptionally repressed by methyl jasmonic acid in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2007, 145: 863-874.
- [28] SHI H, KIM Y, GUO Y, et al. The *Arabidopsis* SOS5 locus encodes a putative cell surface adhesion protein and is required for normal cell expansion [J]. The Plant Cell, 2003(15): 19-32.
- [29] JOHNSON K L, KIBBLE N A J, BACIC A, et al. A fasciclin like arabinogalactan protein (FLA) mutant of *Arabidopsis thaliana*, fla1, shows defects in shoot regeneration[J]. Plos One, 2011, 6(9): e25154.
- [30] BAIS H P, WEIR T L, PERRY L G, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and others organisms[J]. Annual Review in Plant Biology, 2006, 57: 233-266.
- [31] DU H, CLARKE A E, BACIC A. Arabinogalactan-proteins: a class of extracellular matrix proteoglycans involved in plant growth and development [J]. Cell Biology, 1996(6): 411-414.
- [32] GASPAR Y M, NAM J, SCHULTZ C J, et al. Characterization of the *Arabidopsis* lysine-rich arabinogalactan-protein AtAGP17 mutant (rat1) that results in a decreased efficiency of *Agrobacterium* transformation[J]. Plant Physiology, 2004, 135, 2162-2171.
- [33] GILSON P, GASPAR Y M, OXLEY D, et al. NaAGP4 is an arabinogalactan protein whose expression is suppressed by wounding and fungal infection in *Nicotiana glauca* [J]. Protoplasma, 2001, 215: 128-139.
- [34] TSYGANOVA A V, TSYGANOV V E, FINDLAY K C, et al. Distribution of legume arabinogalactan proteins-extensin (AGPE) glycoproteins in symbiotically defective pea mutants with abnormal infection threads[J]. Cell and Tissue Biology, 2009(3): 93-102.
- [35] XIE F, WILLIAMS A, EDWARDS A, et al. A plant arabinogalactanlike glycoprotein promotes a novel type of polar surface attachment by *Rhizobium leguminosarum* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2012(25): 250-258.
- [36] KNEE E M, GONG F C, GAO M, et al. Root mucilage from pea and its utilization by rhizosphere bacteria as a sole carbon source[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2001(14): 775-784.
- [37] BALESTRINI R, LANFRANCO L. Fungal and plant gene expression in arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. Mycorrhiza, 2006(16): 509-524.
- [38] GENRE A, CHABAUD M, TIMMERS T, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi elicits a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection[J]. The Plant Cell, 2005(17): 3489-3499.
- [39] COIMBRA S, ALMEIDA J, JUNQUEIRA V, et al. Arabinogalactan proteins as molecular markers in *Arabidopsis thaliana* sexual reproduction[J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58: 4027-4035.
- [40] PEREIRA L G, COIMBRA S, OLIVEIRA H, et al. Expression of arabinogalactan protein genes in pollen tubes of *Arabidopsis thaliana* [J]. Planta, 2005, 223: 374-380.
- [41] DARDELLE F, LEHNER A, RAMDANI Y, et al. Biochemical and immunocytological characterizations of *Arabidopsis* pollen tube cell wall [J]. Plant Physiology, 2010, 153: 1563-1576.
- [42] CHEN T, TENG N, WU X, et al. Disruption of actin filaments by latrunculin B affects cell wall construction in *Picea meyeri* pollen tube by disturbing vesicle trafficking[J]. Plant Cell Physiology, 2007, 48: 19-30.
- [43] SPERANZA A, TADDEI A R, GAMBELLINI G, et al. The cell wall of kiwifruit pollen tubes is a target for chromium toxicity: alterations to morphology, callose pattern and arabinogalactan protein distribution [J]. Plant Biology, 2009(11): 179-193.
- [44] JAUH G Y, LORD E M. Localization of pectins and arabinogalactanproteins in lily (*Lilium longiflorum* L.) pollen tube and style, and their possible roles in pollination[J]. Planta, 1996, 199: 251-261.
- [45] FERGUSON C, BACIC A, ANDERSON M A, et al. Subcellular distribution of arabinogalactan proteins in pollen grains and tubes as revealed with a monoclonal antibody raised against stylar arabinogalactan proteins[J]. Protoplasma, 1999, 206: 105-117.
- [46] QIN Y, CHEN D, ZHAO J. Localization of arabinogalactan proteins in anther, pollen, and pollen tube of *Nicotiana tabacum* L. [J]. Protoplasma, 2007, 231: 43-53.
- [47] LEVITIN B, RICHTER D, MARKOVICH I, et al. Arabinogalactan proteins 6 and 11 are required for stamen and pollen function in *Arabidopsis* [J]. The Plant Journal, 2008, 56: 351-363.
- [48] HUANG L, CAO J S, ZHANG A H, et al. Characterization of a putative pollen-specific arabinogalactan protein gene, BcMF8, from *Brassica campestris* ssp. *Chinensis* [J]. Molecular Biology Reports, 2008, 35: 631-639.
- [49] PARK B S, KIM J S, KIM S H, et al. Characterization of a pollen preferential gene, BAN102, from Chinese cabbage [J]. The Plant Cell, 2005(14): 1-8.
- [50] ANAND S, TYAGI A K. Characterization of a pollen-preferential gene



OSIAGP from rice (*Oryza sativa* L. *subspecies indica*) coding for an arabinogalactan protein homologue, and analysis of its promoter activity during pollen development and pollen tube growth[J]. Transgenic Research, 2010 (19); 385-397.

[51] ZANG Y, YANG J, SHOWALTER A. AtAGP18, a lysine-rich arabinogalactan protein in *Arabidopsis thaliana*, functions in plant growth and development as a putative co-receptor for signal transduction[J]. Plant Signaling and Behaviour, 2011(6); 855-857.

[52] COSTA M L, PEREIRA L G, COIMBRA S. Arabidopsis pollen specific AGPs are essential for pollen development and fitness[M]. In: Workshop on Molecular Mechanisms Controlling Flower Development, 14-17 June 2011, Maratea, Italy.

[53] LI J, YU M, GENG L L, et al. The fasciclin-like arabinogalactan protein gene, FLA3, is involved in microspore development of *Arabidopsis*[J]. The Plant Journal, 2010, 64; 482-497.

[54] CANNESAN M A, DURAND C, BUREL C, et al. Effect of arabinogalactan proteins from the root caps of *Pisum sativum* and *Brassica napus* on *Aphanomyces euteiches* zoospores chemotaxis and germination [J]. Plant Physiology, 2012, 159(4); 1658-1670.

[55] de GRAAF B H J, KNUIMAN B A, DERKSEN J, et al. Characterization and localization of the transmitting tissue-specific PELP/III proteins of *Nicotiana tabacum*[J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54; 55-63.

[56] SOMMER-KNUDSEN J, CLARKE A E, BACIC A. A galactose-rich, cell-wall glycoprotein from styles of *Nicotiana glauca*[J]. The Plant Journal, 1996(9); 71-83.

[57] BOSCH M, DERKSEN J, MARIANI C. A functional study of stylar hydroxyproline-rich glycoproteins during pollen tube growth[J]. Sexual Plant Reproduction, 2003(16); 87-98.

[58] SCHULTZ C J, HAUSER K, LIND J L, et al. Molecular characterisation of a cDNA sequence encoding the backbone of a style-specific 120 kDa glycoprotein which has features of both extensins and arabinogalactan proteins[J].

Plant Molecular Biology, 1997, 35; 833-845.

[59] CHEUNG A Y, WU H M. Arabinogalactan proteins in plant sexual reproduction[J]. Protoplasma, 1999, 208; 87-98.

[60] WU H M, WONG E, OGDahl J, et al. A pollen tube growth promoting arabinogalactan protein from *Nicotiana glauca* is similar to the tobacco TTS protein[J]. The Plant Journal, 2000(22); 167-176.

[61] CHEUNG A Y, WANG H, WU H M. A floral transmitting tissue-specific glycoprotein attracts pollen tubes and stimulates their growth[J]. Cell, 1995, 82; 383-393.

[62] WU H M, WANG H, CHEUNG A Y. A pollen tube growth stimulatory glycoprotein is deglycosylated by pollen tubes and displays a glycosylation gradient in the flower[J]. Cell, 1995, 82; 395-403.

[63] LIND J L, BÖNIG I, CLARKE A E, et al. A style-specific 120 kDa glycoprotein enters pollen tubes of *Nicotiana glauca* *in vivo*[J]. Sexual Plant Reproduction, 1996(9); 75-86.

[64] GOLDRADJ A, KONDO K, LEE C B, et al. Compartmentalization of S-RNase and HT-B degradation in self-incompatible *Nicotiana*[J]. Nature, 2006, 439; 805-810.

[65] CRUZ-GARCIA F, HANCOCK C N, KIM D, et al. Stylar glycoproteins bind to S-RNase *in vitro*[J]. The Plant Journal, 2005, 42; 295-304.

[66] HANCOCK C N, KENT L, MCCLURE B A. The stylar 120 kDa glycoprotein is required for S-specific pollen rejection in *Nicotiana*[J]. The Plant Journal, 2005, 43; 716-723.

[67] ROBERT J, REDGWELL, CURTI D, et al. Cell wall polysaccharides of Chinese wolfberry (*Lycium barbarum* L.): Part 2. Characterisation of arabinogalactan - proteins [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84 (3); 1075 - 1083.

[68] TAKATA R, TOKITA K, MORI S, et al. Degradation of carbohydrate moieties of arabinogalactan-proteins by glycoside hydrolases from *Neurospora crassa*[J]. Carbohydrate Research, 2010, 345; 2516-2522.

## Distribution and Function of Arabinogalactan-proteins in Higher Plant

BAO Han, ZHENG Guoqi

(College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

**Abstract:** Arabinogalactan-proteins (AGPs) are hydroxyproline-rich or proline-rich proteoglycans and can be found in the cell wall apoplast and plasma membrane of roots and other flower organs such as pollen, pollen tubes and styles. AGPs have important roles in various aspects of plant growth and development involved in cellular growth and development of roots, microbe interaction with roots and functions about pollen formation and pollen-tube growth. This paper presented the structural components, characteristics and major tools used to study AGPs, then focused on its distribution and functions properties in root tissues and reproductive organs (pollen, pollen tube and stigma).

**Keywords:** Arabinogalactan-proteins (AGPs); distribution; functions