



ZHIWU XIBAO GUJIA CHONGZU YU XIBAO XINGTAI JIANCHENG

植物细胞骨架重组 与细胞形态建成

梁峰 著

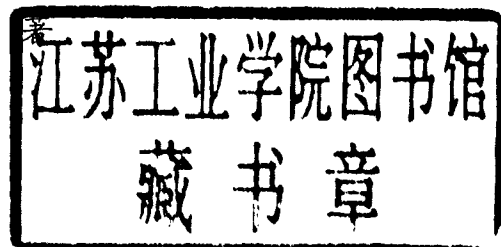
河南大学出版社

商丘师范学院著作出版基金资助

ZHIWU XIBAO GUJIA CHONGZU YU XIBAO XINGTAI JIANCHENG

植物细胞骨架重组与细胞形态建成

梁 峰



河南大学出版社

· 开封 ·

图书在版编目(CIP)数据

植物细胞骨架重组与细胞形态建成/梁峰著. —开封:
河南大学出版社, 2008. 9

ISBN 978-7-81091-852-7

I. 植… II. 梁… III. ①植物—细胞骨架②植物学:
细胞学:形态学 IV. Q942.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 129727 号

责任编辑 靳开川

责任校对 伍 菲

封面设计 马 龙

出 版 河南大学出版社

地址:河南省开封市明伦街 85 号

电话:0378-2825001(营销部)

邮编:475001

网址:www.hupress.com

排 版 郑州市今日文教印制有限公司

印 刷 河南省诚和印制有限公司

版 次 2008 年 9 月第 1 版

开 本 787mm×1092mm 1/16

字 数 207 千字

印 数 1—1000 册

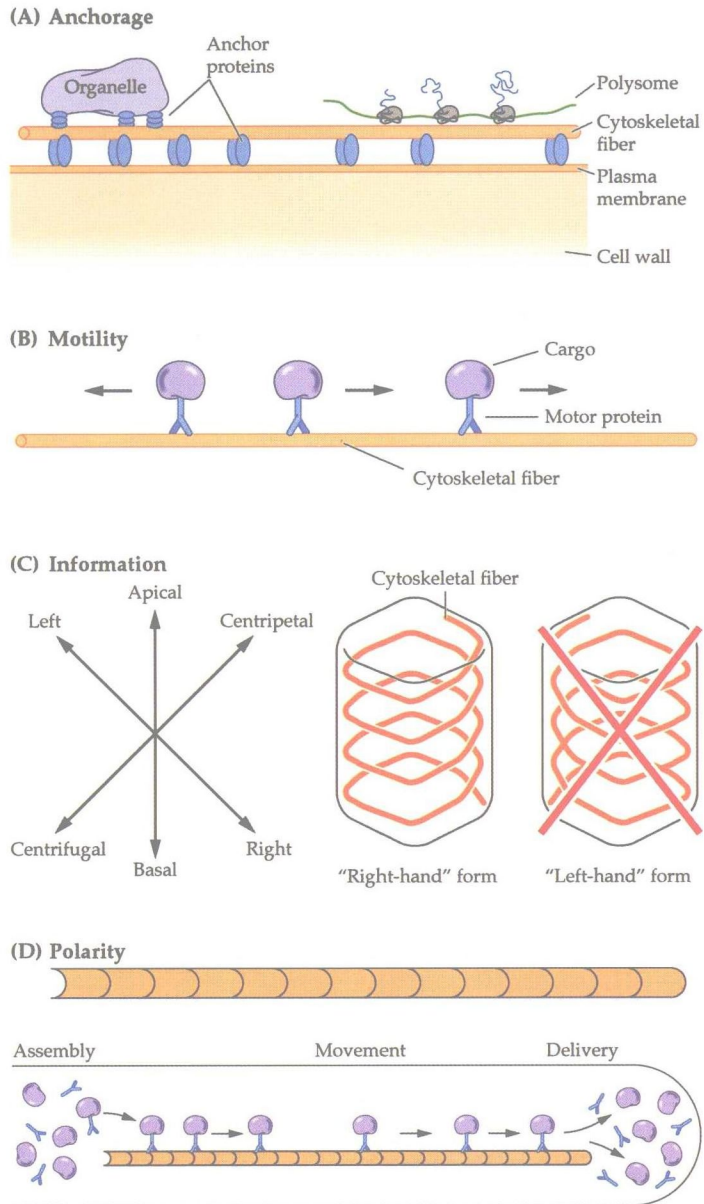
印 次 2008 年 9 月第 1 次印刷

印 张 12.25

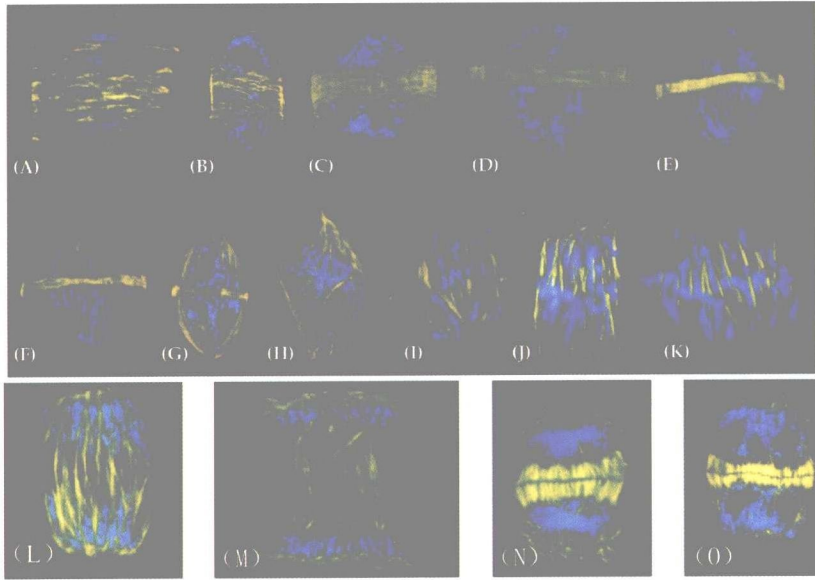
插 页 2

定 价 26.00 元

(本书如有印装质量问题,请与河南大学出版社营销部联系调换)

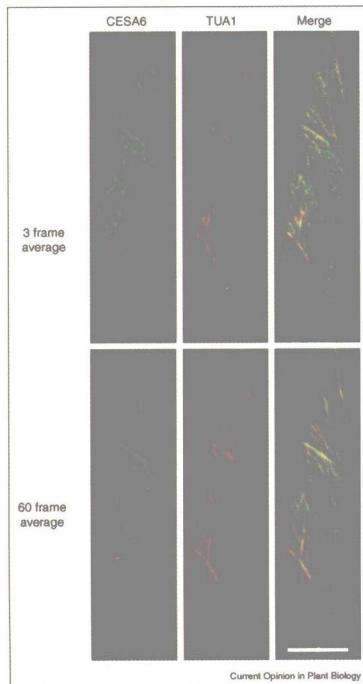


彩图 1 细胞骨架功能发挥主要的方式(Buchanan,2000)



彩图 2 植物细胞的微管周期(Buchanan,2000)

(A)间期皮质微管 (interphase cortical microtubule,CM), 它涉及细胞壁纤维素的排列和由此影响的细胞伸展方向; (B-G) 早前期带 (preprophase band, PPB), 它勾勒出细胞将要分裂的平面; (H-L), 纺锤体 (spindle), 它分开姊妹染色单体及 (M-O) 离心生长的成膜体 (phragmoplast)。黄色是微管, 蓝色是染色质或染色体。



彩图 3 拟南芥下胚轴表皮细胞中 YFP::CESA6 和 CFP::TUA1 的共定位 (Paredes et al.,2006)

前 言

真核细胞结构复杂性表现在它不仅有一个由质膜构成的复杂的内膜系统,将细胞分隔成相对独立的区室,为细胞进行不同的生命活动提供特定的空间和极其庞大的界面,以提高生化活动的效率和有序性;而且有一个由蛋白质构成的复杂的骨架系统,提供一个动态的丝状网架,固定、引导、运输无数的大分子、大分子复合体和细胞器,调度细胞的空间组织和细胞(或其内含物)的定向运动。这种遍布于真核细胞中的蛋白纤维网络结构称为细胞骨架,它包括 3 个主要的蛋白质家族:中间纤维(intermediate filament, IF)、微丝(microfilament, MF)和微管(microtubule, MT)。细胞骨架参与细胞的分裂、细胞形态调控、细胞的运动、细胞内物质的运输、细胞器的定位、细胞信号转导,并为生化反应提供更多的结合位点。

细胞骨架在动植物分化之前就已经进化形成了,并且其主要功能在两者中均得以保存。因此,现在的很多研究报道同时适用于动物和植物。但是,植物细胞骨架还担负着某些不同于动物的特有功能,动物细胞骨架研究成果应用于植物细胞骨架的研究时要考虑植物细胞的生理特点和结构特征。由于技术手段的原因,植物细胞骨架发现较晚,直到 20 世纪 60 年代后,才逐渐认识到植物细胞骨架的客观存在。目前,植物细胞骨架的研究已经成为植物学最活跃的研究领域之一,大量研究结果不断获得,新的假说不断形成。

这部著作参考大量植物细胞骨架研究成果结合本人的研究结果写成。全书包括 8 章:第 1 章,简明扼要地介绍了真核生物细胞骨架的结构与功能,为动植物细胞骨架的比较研究提供知识基础;第 2 章,论述了植物细胞骨架的一般结构和组织特征,重点介绍了植物细胞骨架功能的新观点,以及获得这些新知识的新手段,并较细致地介绍了植物细胞微管周期有关内容;

第3章,阐明了植物细胞微管骨架的动力学与植物细胞壁构筑和修饰的机制,涉及植物细胞周质微管的组织动力学、微管与纤维素合成及其之间的作用机制等重要问题;第4章,总结了微管相关蛋白的功能,着重分析了MAP65家族成员的定位、功能和进化;第5章,分析了细胞骨架可能参与的细胞信号转导途径,凸显了细胞骨架在信号转导过程中的地位;第6章,比较了一些关于细胞骨架重组参与植物细胞形态建成的机制,重点介绍了周质弱化学说;第7章和第8章作为研究实例,介绍了慈姑叶柄通气组织发育过程中周质微管的重要作用,发现了慈姑叶柄通气组织发育过程中周质微管的重组特征,并建立了一个新的细胞骨架研究材料体系。

笔者试图系统梳理植物细胞骨架的组织机制及其参与细胞形态建成的功能。重点介绍植物细胞微管骨架的动力学与植物细胞壁构筑和修饰的机制;微管相关蛋白与细胞骨架的相互作用以及可能参与的细胞信号转导途径;细胞骨架的重组调控参与植物细胞形态建成的细胞生物学和分子生物学机制。但是,要达到上述目的并非易事,需要长期不懈的努力,笔者的初衷是向学界求教,能够起到抛砖引玉的作用则感到非常欣慰。

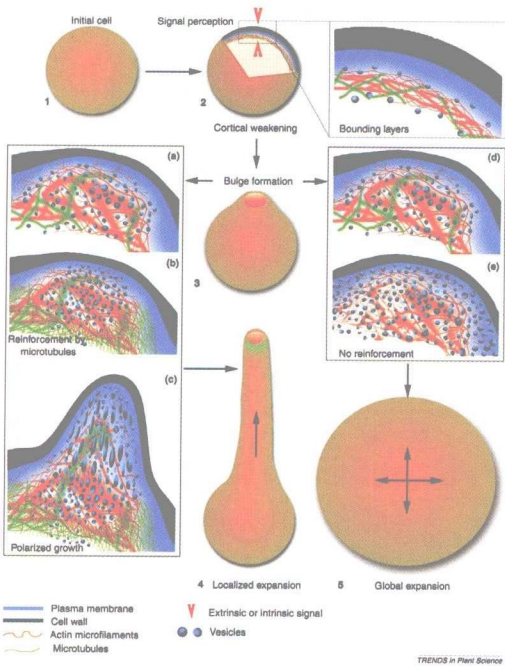
本书的出版得到了商丘师范学院著作出版基金资助,许多同事和朋友给予了支持和鼓励,刘秀花副教授认真校对了书稿,并提出了许多宝贵的修改意见,河南大学出版社靳宇峰编辑等为本书出版花费了大量时间和精力,付出了辛勤的劳动,在此表示衷心的感谢。

植物细胞骨架的研究成果日新月异,有些学说和假说仍然是科学争论的热点问题,虽然尽可能涉及该领域的重要问题,但是仍有一些有意义的工作可能被遗漏。由于笔者学识浅薄、水平有限,有些观点和看法难免有失偏颇,文中可能有不少谬误和不足,恳请读者不吝赐教,以便该书的再版修订。

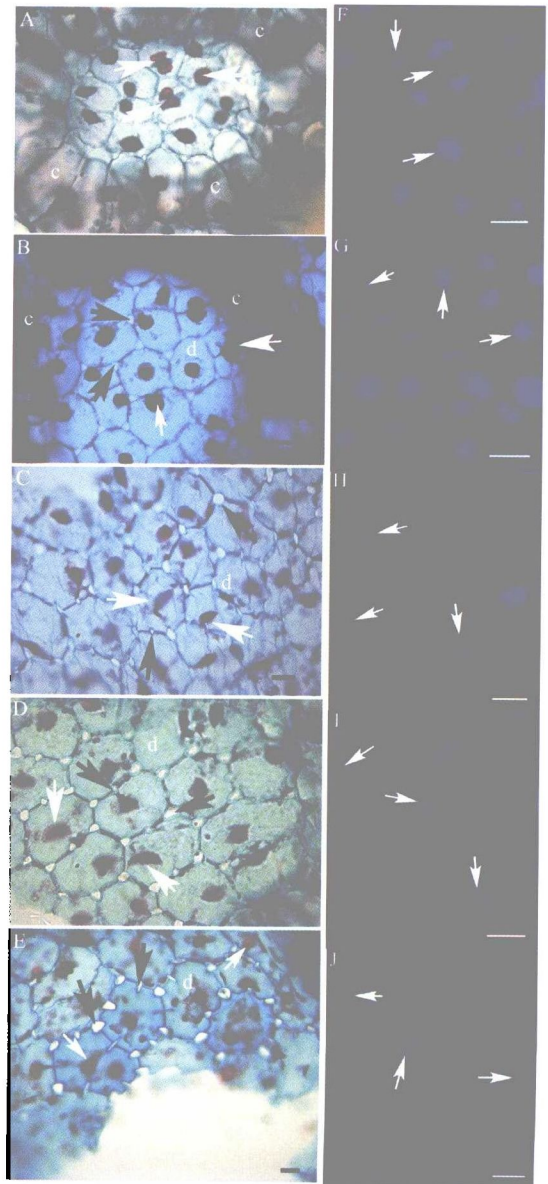
梁 峰

于梁园

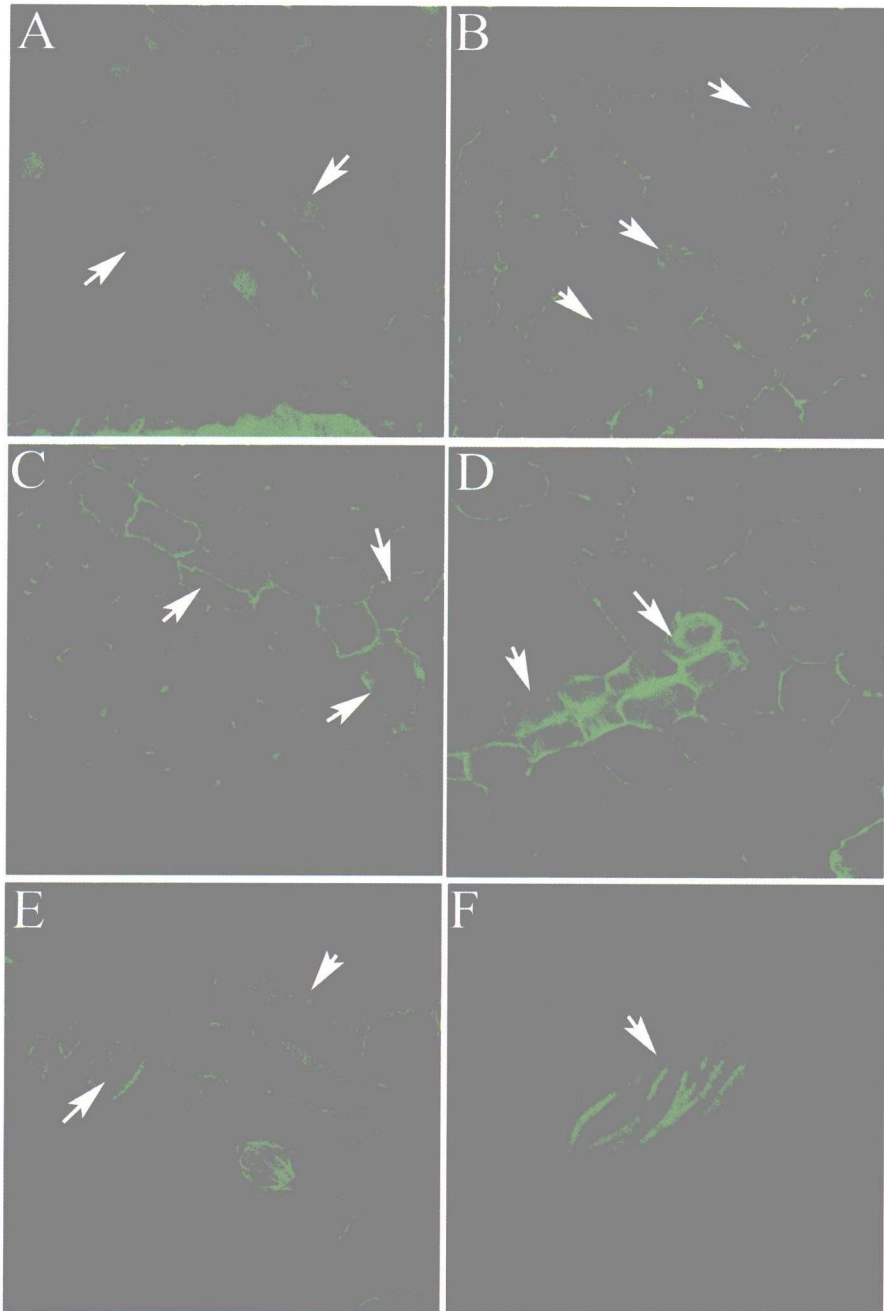
2008年6月



彩图4 基于最近细胞形态发生研究的一个简单机制的模型 (Mathur,2004)



彩图5 横隔膜细胞核的形态变化
A-E:分别取自五个不同发育时期叶柄通气组织横隔膜细胞的石蜡切片。F-J: 分别取自五个不同发育时期叶柄通气组织横隔膜细胞的DAPI染色。白色箭头指示细胞核,黑色箭头指示细胞间通气缝隙。标尺 = 50 μ m



彩图 6 免疫荧光标记显示次级维管束发育过程中细胞 CMT 的重排

A, 将要形成维管束的单列细胞。B, 将要形成维管束的双列细胞, 显示分裂中的细胞有相同的分裂方向。C, 将要形成维管束的多列细胞。D, 由成熟的横隔膜细胞新形成的维管束细胞多列延伸。E, 已经形成的维管束的表面细胞。F, 已经形成的维管束的内部导管细胞。箭头指示形成维管束的细胞。标尺 = 50 μm

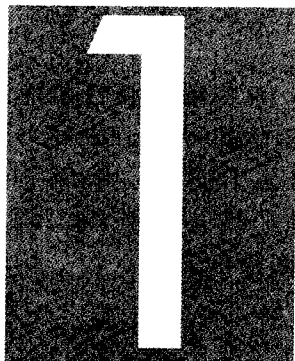
目 录

1 细胞骨架概述	(1)
1.1 肌动蛋白家族	(3)
1.1.1 微丝的分子结构	(4)
1.1.2 微丝结合蛋白	(5)
1.1.3 肌肉细胞中的微丝	(7)
1.1.4 微丝的其他功能	(10)
1.2 微管	(12)
1.2.1 微管蛋白与微管的结构	(12)
1.2.2 微管装配动力学	(13)
1.2.3 微管存在内在的极性	(13)
1.2.4 微管蛋白亚基能结合并水解 GTP	(14)
1.2.5 微管有规则的管状结构和形态	(14)
1.2.6 微管相关蛋白	(16)
1.2.7 微管相关蛋白及特异性结合物	(16)
1.2.8 马达蛋白	(16)
1.2.9 微管组织中心	(17)
1.2.10 微管的功能	(18)
1.3 中间纤维	(21)
1.3.1 中间纤维类型	(22)
1.3.2 中间纤维的结构	(23)
1.3.3 中间纤维的结合蛋白	(24)
2 植物细胞骨架结构特征	(25)
2.1 植物细胞骨架功能的新观点	(25)

2.2	活体探针的优势与限制	(26)
2.3	植物细胞肌动蛋白微丝组织特征	(28)
2.3.1	肌动蛋白微丝的成核机制	(28)
2.3.2	肌动蛋白结合蛋白	(29)
2.4	植物细胞微管的组织特征	(30)
2.4.1	周质微管与细胞的扩展	(30)
2.4.2	控制微管定向的机制类似于信号转导通路	(31)
2.4.3	植物细胞周期与微管周期	(33)
3	植物细胞微管骨架的重组与细胞壁构筑	(36)
3.1	高度动态的植物细胞周质微管阵列	(36)
3.1.1	植物 CMT 的特点	(37)
3.1.2	CMT 装配动力学	(38)
3.1.3	CMT 装配的动力学调节	(41)
3.1.4	CMT 与细胞的伸展	(43)
3.2	周质微管阵列与细胞壁构筑	(45)
3.2.1	周质微管阵列的形成与组织	(46)
3.2.2	周质微管阵列与细胞壁合成机制之间的相互作用	(49)
3.3	微管与纤维素微纤维之间关系的研究基础与展望	(53)
3.3.1	微管—微纤维体系研究的历史	(53)
3.3.2	微管—微纤维体系的研究成果	(54)
3.3.3	新的手段可以完成的工作	(56)
4	植物细胞微管相关蛋白种类及其功能	(58)
4.1	MAP 的分类	(59)
4.2	参与微管聚合与解聚的 MAP	(60)
4.2.1	微管成核: γ -TuC 相关 MAP	(60)
4.2.2	MT 聚合促进因子: MAP200/MOR1	(60)
4.2.3	MAP215 家族在微管成核位点上可能的功能	(62)
4.2.4	MT 去稳定: 剑蛋白及其他候选蛋白	(63)
4.3	植物 MAP65 家族	(64)
4.3.1	烟草 MAP65	(64)
4.3.2	胡萝卜 MAP65	(65)
4.3.3	拟南芥 MAP65	(66)

4.3.4	MAP65 家族的表达分布	(66)
4.3.5	MAP65 家族的功能分析	(68)
4.3.6	MAP65 的进化	(70)
5	植物细胞骨架重组与细胞形态建成	(72)
5.1	细胞的形态变化由细胞生长焦点的转换所致	(74)
5.2	细胞骨架在不同生长过程中的作用	(74)
5.3	微管细胞骨架的分子遗传学联系	(75)
5.4	肌动蛋白细胞骨架的分子遗传学关系	(77)
5.5	周质弱化	(79)
5.5.1	周质弱化可以触发启动生长程序	(79)
5.5.2	肌动蛋白网络的松动能够使周质弱化	(79)
5.5.3	加固弱化的周质位点以及维持生长的定向都需要微管	(80)
6	细胞骨架参与的信号转导途径	(82)
6.1	概述	(82)
6.2	细胞骨架的信号转导及其曲折迂回的通路	(84)
6.3	细胞肌动蛋白骨架与植物细胞形态	(85)
6.3.1	植物细胞的生长类型和形态	(85)
6.3.2	细胞形态决定中细胞骨架的作用	(86)
6.3.3	植物细胞生长区域的肌动蛋白骨架的组织调控	(88)
6.3.4	小结	(93)
6.4	细胞微丝骨架参与细胞外钙调素诱导的气孔关闭	(93)
6.4.1	保卫细胞微丝骨架的结构	(94)
6.4.2	微丝骨架的结构与气孔运动的关系	(95)
6.4.3	微丝骨架参与气孔运动调控的可能机制	(96)
6.4.4	小结	(98)
7	CMT 参与通气组织横隔膜细胞间通气空间的形成	(100)
7.1	通气组织形成机制研究进展	(100)
7.2	材料与技术手段	(102)
7.2.1	植物材料及其生长条件	(102)
7.2.2	解剖与测量	(103)
7.2.3	细胞核 DAPI 染色	(104)

7.2.4	扫描电子显微镜样本的制备	(104)
7.2.5	透射电子显微镜样本的制备	(105)
7.2.6	微管的免疫荧光标记	(105)
7.2.7	冰冻扫描电镜—X射线能谱微量分析	(105)
7.2.8	实验设计与数据分析	(107)
7.3	结果	(107)
7.3.1	慈姑叶柄通气组织的形成	(107)
7.3.2	横隔膜细胞的形态变化与细胞间通气空间的形成	(111)
7.3.3	横隔膜细胞间通气空间形成过程中 CMT 阵列的重组	(112)
7.3.4	横隔膜细胞透射电镜图像显示微管阵列	(114)
7.3.5	不同发育阶段两种通气组织细胞的伸展速率	(116)
7.3.6	不同发育时期通气组织细胞表面特征的变化	(117)
7.3.7	不同发育阶段通气组织细胞壁的矿质元素含量变化	(117)
7.3.8	某些矿质元素含量之间的相关性	(121)
7.4	分析与讨论	(125)
8	通气组织横隔膜维管束发育过程中 CMT 的重排	(130)
8.1	材料与技术手段	(130)
8.1.1	植物材料及其生长条件	(130)
8.1.2	解剖测量与活性鉴定	(130)
8.1.3	扫描电子显微镜图像观察	(131)
8.1.4	微管的免疫荧光标记	(131)
8.2	结果与分析	(132)
8.2.1	横隔膜复杂的维管束系统的形成	(132)
8.2.2	横隔膜细胞分化形成维管束	(133)
8.2.3	横隔膜细胞通过两种方式发育形成维管束	(134)
8.2.4	横隔膜细胞分化形成维管束过程中 CMT 的重排	(135)
8.2.5	成熟横隔膜细胞保持生活状态	(136)
8.3	小结	(137)
	主要参考文献	(141)



细胞骨架概述

真核细胞不仅有一个由质膜构成的复杂的内膜系统,将细胞分隔成相对独立的区室,而且有一个由蛋白质构成的复杂的骨架系统。前者为细胞进行不同的生命活动提供特定的空间和极其庞大的界面,提高了生化活动的效率和有序性;后者为细胞提供一个动态的丝状网架,固定、引导、运输无数的大分子、大分子复合体和细胞器,调度细胞的空间组织和细胞(或其内含物)的定向运动。这种遍布于整个细胞的蛋白质网架系统称为细胞骨架(cytoskeleton),它包括3个主要的蛋白质家族,即中间纤维、微丝(又称肌动蛋白纤维,actin filament)和微管。它们参与细胞的分裂、细胞形态调控、细胞的运动、细胞内物质的运输、细胞器的定位、细胞信号转导,并为生化反应提供更多的结合位点。

细胞骨架是指真核细胞中的蛋白纤维网络结构。细胞骨架在动植物分化之前就已经进化形成了,并且其主要功能在两者中均得以保存。因此,现在的很多研究报道同时适用于动物和植物。但是,植物细胞骨架还担负着某些不同于动物的特有功能,动物细胞骨架研究成果应用于植物细胞骨架的研究时要考虑植物细胞的生理特点和结构特征。植物细胞骨架发现较晚,主要是因为一般电镜制样采用低温($0\sim 4^{\circ}\text{C}$)固定,而细胞骨架会在低温下解聚。直到20世纪60年代后,采用戊二醛常温固定,才逐渐认识到植物细胞骨架的客观存在。

细胞骨架不仅在维持细胞形态,承受外力、保持细胞内部结构的有序性方面起着重要作用,而且还参与许多重要的生命活动。如:在细胞分裂中细胞骨架牵引染色体分离;在细胞物质运输中,各类小泡和细胞器可沿着细胞骨架定向转运;在肌肉细胞中,细胞骨架和它的结合蛋白组成动力系统;在白细胞的迁移、精子的游动、神经细胞轴突和树突的伸展等方面都与细胞骨

架有关(图 1-1)。另外,在植物细胞中细胞骨架指导纤维素等细胞壁物质的沉积。

微丝确定细胞表面特征,使细胞能够运动和收缩。微管确定膜性细胞器(membrane-enclosed organelle)的位置和作为膜泡运输的导轨。中间纤维使细胞具有张力和抗剪切力。微丝、微管和中间纤维位于细胞质中,又称胞质骨架,它们均由单体蛋白以较弱的非共价键结合在一起,构成纤维型多聚体,很容易进行组装和去组装,这正是实现其功能所必需的特点。

Key to Cytoskeletal Functions

{1} Structure and Support {2} Intracellular Transport {3} Contractility and Motility {4} Spatial Organization

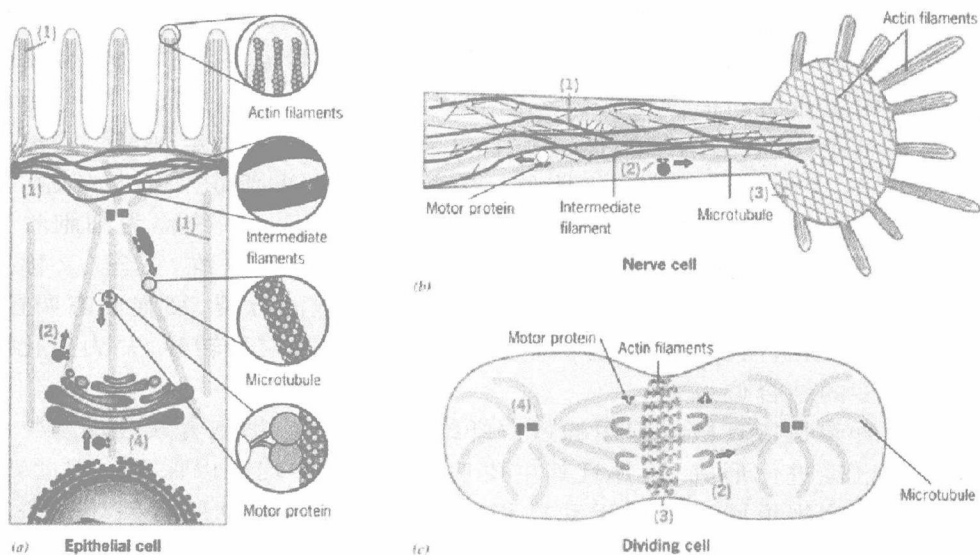


图 1-1 细胞骨架及其主要功能(Karp, 2002)

细胞骨架由一个纤维状多聚体网构成,这是一种动态的丝状网络,提供支架并促进信息流动。由细胞骨架蛋白形成的纤维状多聚体相互联结成网络,为细胞质锚定蛋白和其他大分子提供了结构稳定性,在细胞器合成过程及其后提供支撑。细胞骨架的动态变化,为细胞带来了运动能力,包括细胞内运动以及胞外运动,改变细胞的形状和在环境中运动。细胞骨架的蛋白质纤维多具有极性,由其构成的网络在整个细胞里也呈现极性。因此,细胞骨架能为细胞提供方向指示,从而为细胞感应、信号转导、细胞内物质的定

向运输提供结构上的可能性。

如彩图 1 所示,细胞骨架功能发挥的主要方式有四种:一是锚定(anchorage)功能;二是运动(motility)功能;三是信息(information)功能;四是极性(polarity)功能。

广义的细胞骨架还包括核骨架(nucleoskeleton)、核纤层(nuclear lamina)和细胞外基质(extracellular matrix),形成贯穿于细胞核、细胞质、细胞外基质的一体化网络结构。

1.1 肌动蛋白家族

肌动蛋白(actin)是构成微丝(microfilament, MF)的单体,呈哑铃状,相对分子量约为 43kD,普遍存在于真核生物中,在进化上高度保守。肌动蛋白基因是从同一个祖先基因进化而来的。多数简单的真核生物,如酵母和黏菌,含有单个肌动蛋白基因,仅合成一种肌动蛋白,而许许多多真核细胞生物含有多个肌动蛋白基因,如海胆有 11 个,网柄菌有 17 个。某些植物中有 60 个,往往以 12 的倍数为特征。从哺乳动物和鸟类细胞中至少分离到 6 种肌动蛋白,其中 4 种为 α 肌动蛋白,分别为横纹肌、心肌、血管平滑肌和肠道平滑肌特有。另两种为 β 肌动蛋白和 γ 肌动蛋白,存在于所有的细胞中。

微丝又称肌动蛋白纤维(actin filament),是肌动蛋白单体构成的多聚体,直径约 7nm 的骨架纤维。微丝具有极性,正极(+)和负极(-),正极聚合的速度快于负极。聚合过程出现“踏车”(tread milling)现象,聚合速度和微丝的长度受单体的浓度和离子浓度影响,在有 ATP、 Ca^{2+} 和极低的 Na^+ 、 K^+ 条件下有利于聚合。细胞内微丝的聚合与解聚及其功能的行使还受微丝结合蛋白(microfilament-associated protein)的调控。

细胞松弛素(cytochalasin)是一种真菌代谢产物,能切断微丝,并结合在微丝末端阻止肌动蛋白的聚合,但对解聚没有影响,因此,其仅仅破坏微丝的三维网络。鬼笔环肽(phalloidin)是由一种毒蕈鬼笔伞菌(*Amanita phalloides*)产生的双环杆肽,与微丝有强亲和作用,使其稳定,抑制解聚,而且只与微丝结合,不与肌动蛋白单体结合,用荧光标记的鬼笔环肽可以清楚

地标记细胞中的微丝。

微丝和它的结合蛋白(association protion)以及肌球蛋白(myosin)三者构成化学机械系统,利用化学能产生机械运动。它参与肌肉收缩,微绒毛的摆动,形成应力纤维,细胞溶胶层的转换和变形运动,动物细胞胞质分裂环的形成,植物细胞形态的变化和有丝分裂等过程。

1.1.1 微丝的分子结构

根据等电点的不同可将高等动物细胞内的肌动蛋白分为 α 、 β 、 γ 三类,其中 α 肌动蛋白分布于各种肌肉细胞中, β 肌动蛋白和 γ 肌动蛋白分别分布于肌细胞和非肌细胞中。肌动蛋白纤维是由两条线性排列的肌动蛋白链形成的螺旋,状如双线捻成的绳子(图 1-2),肌动蛋白的单体为球形分子,称为球形肌动蛋白(globular actin, G-actin),它的多聚体称为纤维形肌动蛋白(fibrous actin, F-actin)。

肌动蛋白在进化上高度保守,酵母和兔子肌肉的肌动蛋白有 88% 的同源性。不同类型肌肉细胞的 α 肌动蛋白分子一级结构(约 400 个氨基酸残基)仅相差 4~6 个氨基酸残基, β 肌动蛋白或 γ 肌动蛋白与 α 横纹肌肌动蛋白相差约 25 个氨基酸残基。虽然这些肌动蛋白基因是从同一个祖先基因进化而来,肌动蛋白亦要经过翻译后修饰,如 N-端乙酰化或组氨酸残基的甲基化。

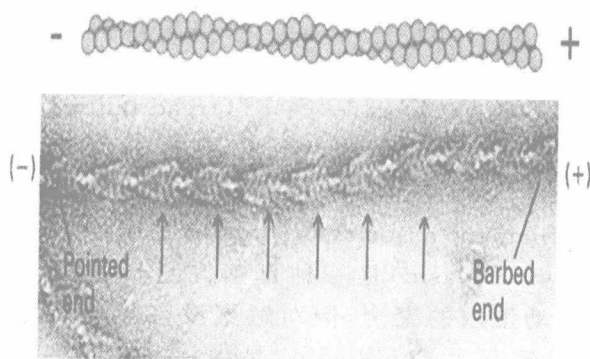


图 1-2 微丝纤维的电镜照片及其结构模型