



雌、雄配子体间及雌配子体成员细胞间的通讯

彭雄波, 孙蒙祥*

武汉大学生命科学院, 武汉 430072

* 联系人, E-mail: mxsun@whu.edu.cn

收稿日期: 2014-09-10; 接受日期: 2014-10-27; 网络版发表日期: 2015-02-03

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2013CB945100)和国家自然科学基金(批准号: 31070280)资助项目

doi: 10.1360/N052014-00310

摘要 被子植物的双受精是一个复杂而精密的调控过程. 成功的受精依赖于配子体的正确发育以及雌配子体与雄配子体间的相互识别. 研究表明, 雌配子体自身成员细胞间存在广泛的胞间通讯. 这种通讯不仅影响不同细胞的发育进程, 也决定细胞的发育命运, 从而保证雌配子体的正常发育. 此外, 雌配子体与雄配子体间存在胞间通讯, 这种胞间通讯是雌配子体与雄配子体间相互识别的分子基础, 精确调控了雄配子体准确进入珠孔、在雌配子体内适时停止伸长、尖端破裂并在特定位置释放精细胞等过程. 本文概述了这些方面的最新进展, 梳理胞间通讯的途径与信号, 并展望了未来雌、雄配子体间及雌配子体成员细胞间通讯的研究方向与可能的应用前景.

关键词

配子
卵细胞
胚囊
胞间通讯
受精

植物生活周期具有明显的世代交替现象, 即其二倍体的孢子体世代和单倍体的配子体世代循环交替. 孢子体发育成熟后产生孢子母细胞, 其经减数分裂形成单倍体的孢子, 成熟的孢子经过细胞增殖与分化形成配子体. 配子体世代的主要发育事是形成了单倍体的配子, 通过受精过程, 雌、雄配子融合又产生新一代的二倍孢子体, 至此完成了一个生活周期. 在某些较低等的植物中, 配子体世代占据其生活周期的主导地位. 但在被子植物中, 已进化到孢子体世代占据主导地位, 其配子体形态上高度退化, 作为花器官的组成部分寄生于孢子体上.

被子植物配子体有雌配子体和雄配子体之分. 其雌配子体的发生包含一系列精确调控的发育过程. 以高等植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)为例, 雌配子体的发育可以分为2个时期: 大孢子发生时期和雌配子发生时期. 大孢子发生时期包括孢原细胞的

形成、大孢子母细胞的分化与减数分裂等发育事件. 1个大孢子母细胞进行减数分裂最终产生4个大孢子. 其后, 靠近珠孔端的3个大孢子退化, 只有合点端的1个大孢子保留下来, 称为功能大孢子, 参与胚囊(即雌配子体)的形成. 雌配子发生时期, 功能大孢子连续进行3次有丝分裂, 形成8个细胞核, 这8个细胞核各自有其特定的位置. 细胞壁的形成标志核分裂后的胞质分裂完成, 最终产生了具有七胞八核结构的胚囊. 此时, 胚囊成员细胞包括位于珠孔端的1个卵细胞和2个助细胞, 位于合点端的3个反足细胞, 以及位于胚囊中央的含有2个极核的中央细胞. 7细胞的雌配子体仍需要进一步发育, 即其成员细胞在行态、结构和功能上进一步特化, 形成明显可辨的细胞特征. 中央细胞的2个极核会融合成1个较大的次生核. 至此, 植物雌配子体达到最后的成熟阶段.

植物配子体形成的过程是由单个原始细胞经过

引用格式: 彭雄波, 孙蒙祥. 雌、雄配子体间及雌配子体成员细胞间的通讯. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 124–132

Peng X B, Sun M X. Cell-cell communication among the component cells of female gametophyte and between male and female gametophytes. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 124–132, doi: 10.1360/N052014-00310

不断分裂和分化而产生多细胞的过程, 期间, 每个细胞都要适应周围的环境并与其相邻细胞协同生长、发育, 最终分化成功能特异的雌、雄配子体. 因此, 细胞间必然存在着紧密的通讯联系, 而这种通讯可能是特定区域内细胞间交流的主要手段, 以及细胞发育与分化的一种重要调控机制. 这种细胞间通讯可以通过细胞间的直接联系实现, 例如, 胞间连丝可沟通相邻的细胞, 形成合胞体, 在合胞体区域内保持稳定而持续的胞间通讯. 此外, 胞间通讯也可通过非细胞途径实现, 例如, 信号分子通过质外体传递. 这种胞间通讯可能是细胞识别、位置信息作用的基础.

被子植物雌配子体具有七胞八核的复杂而精巧的结构, 这是在长期进化过程中适应其复杂功能的结果. 雌配子体不仅与雄配子体间存在胞间通讯, 而且雌配子体自身成员细胞间也存在广泛的胞间通讯. 这种通讯不仅影响不同细胞的发育进程, 也决定细胞的发育命运. 最近, 在这些方面获得了许多新的认识, 其研究进展令人瞩目. 本文概述了这些方面的最新成果, 主要关注业已发现了在哪些细胞间存在着胞间通讯, 以及胞间通讯的途径与信号.

1 雌配子体成员的胞间通讯

雌配子体成员间是否存在胞间通讯悬疑已久. 最近几年的研究显示, 雌配子体成员不仅存在胞间通讯, 而且这种胞间通讯行使了重要的生物学功能, 保证了雌配子体的正常发育. 实际上, 人们很早就关注雌配子体成员细胞间的联系. 最先认为, 卵细胞与助细胞之间有紧密的联系, 作为一个整体行使功能, 称之为卵器. 随后, 基于电子显微镜的研究资料, 又认为助细胞、卵细胞与中央细胞作为一个整体在双受精中发挥作用, 将其称之为雌性生殖单位. 这些早期的推测与新概念的提出都基于一个理念, 即雌配子成员细胞在结构和功能上是彼此有联系的, 并通过这种彼此间的通讯联系协同发育, 共同行使重要功能.

最近, Groß-Hardt 研究组^[1]发现, *LIS*(LACHESIS)-依赖性的卵细胞信号调控途径控制了雌配子体其他成员细胞的发育(图 1). *LIS* 编码酵母 mRNA 剪切因子 PRP4 类似物并且在雌配子体中高丰度表达. 该基因突变后, 助细胞发育命运转向卵细胞, 反足细胞命运转向中央细胞. 这表明, 该基因能够抑制附属细胞向

配子细胞的命运转变. 而且, 采用卵细胞特异启动子 *DD45* 驱动该基因的 RNAi 构建能够特异地降低该基因在卵细胞中的表达. 结果发现, 中央细胞的极核不能融合, 并且助细胞和反足细胞的极性和命运都受到了影响. 这表明, 卵细胞的信号调控途径控制其他配子体成员的发育. 而且该信号途径依赖于 *LIS* 基因在卵细胞中的表达^[2].

来自玉米(*Zea mays* L.)的研究也证实, 卵细胞能够调控反足细胞的发育(图 1). 玉米卵细胞特异表达的 *ZmEAL1*(*Zea mays* EA1-like 1)是一个小分子肽, 可以分泌到胞外^[3]. 免疫荧光实验显示, 其主要的分泌途径是朝向合点端, 有少量分泌到反足细胞. 当 *ZmEAL1* 表达下调后, 反足细胞大量表达的基因 *Indeterminate Gametophyte1* 也会大幅下调. 更重要的是, *ZmEAL1* 表达下调植株中, 出现了超数的中央细胞. 进一步的分析表明, 这些中央细胞来自于原本的反足细胞, 即反足细胞具有了中央细胞的命运. 这表明, 卵细胞的分泌蛋白 *ZmEAL1* 能够抑制反足细胞发育成中央细胞.

雌配子体经细胞化后产生 3 个反足细胞, 随后它

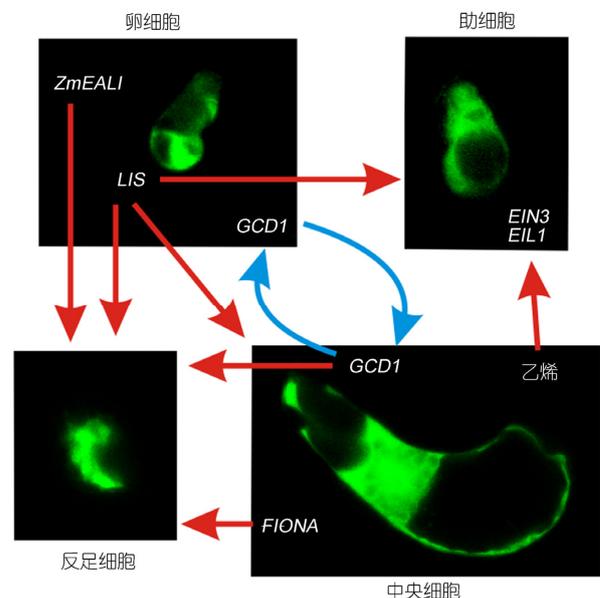


图 1 雌配子体成员的胞间通讯

绿色荧光分别显示卵细胞、助细胞、反足细胞和中央细胞, 各细胞中表达的基因标注在各分图中. 红色箭表示基因调控箭头所示的细胞正常发育, 该基因的突变会导致箭头所示的细胞发育命运发生改变; 蓝色箭表示 *GCD1*(GAMETE CELL DEFECTIVE 1)基因在卵细胞和中央细胞的协同发育中具有重要作用

们经过细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)而消失. 关于反足细胞的程序性死亡机制仍不清楚. 研究表明, 反足细胞的 PCD 受到中央细胞的调控, 该研究首次发现了反足细胞程序性死亡的非自主调控途径^[4]. *FIONA* 编码一类 t-RNA 合成酶, 并且特异地在中央细胞中表达. 反足细胞中检测不到该基因的表达. 该基因突变后中央细胞的极核不能融合, 并且发现反足细胞不能正常凋亡. 暗示反足细胞的凋亡可能受中央细胞成熟机制的调控. 采用中央细胞特异 *MEA*(*MEDEA*)启动子驱动 *FIONA* 基因的表达, 能够特异地补偿中央细胞极核的融合. 而且反足细胞能够正常发生程序性死亡. 表明反足细胞的 PCD 确实是受到中央细胞的信号调控. 这一结果得到另一研究小组数据的支持. Wu 等人^[5]的研究发现, 在 *gcd1* 突变体中, 其中央细胞早期发育正常, 但最终的成熟阶段不能完成, 此时, 其反足细胞也不能正常凋亡. 表明中央细胞的后期成熟对启动反足细胞的程序性死亡是必要的(图 1).

雌配子体含有 1 对助细胞, 其中 1 个助细胞在花粉管到达前后程序性死亡, 另一个助细胞可以继续维持生存一段时间, 称为宿存助细胞. 宿存助细胞最后也会程序性死亡, 其过程受到参与双受精的卵细胞与中央细胞的控制. 当花粉管已经进入胚囊, 但双受精不能正常进行时, 宿存助细胞不会程序性死亡, 继续行使其功能, 能够吸引另外一根花粉管进入胚囊^[6-8]. 为了分辨是卵细胞还是中央细胞在这一过程中扮演了重要角色, 研究者利用单受精突变体 *cdka;1* 和 *kokopelli* 进行了授粉实验. 结果显示, 仅有中央细胞受精或者仅有卵细胞受精都不能使宿存助细胞程序性死亡, 只有两者都受精才能导致宿存助细胞凋亡^[8]. 这有可能是确保双受精成功的一种保障机制, 目前仍不知其是否具有普遍意义.

上述雌配子体成员细胞之间的胞间通讯主要是单向的, 某个成员细胞作为主体控制了其他细胞的发育与命运. 而最近的研究显示, 卵细胞与中央细胞之间存在双向的胞间通讯^[5](图 1). 卵细胞和中央细胞作为雌配子, 分别与 2 个精细胞受精后发育成胚和胚乳. 迄今为止, 使卵细胞与中央细胞在发育上保持高度同步, 以便确保双受精成功的机制仍然未知. Wu 等人^[5]发现, 一种核编码并定位于线粒体的蛋白, *GAMETE CELL DEFECTIVE 1*(*GCD1*), 参与了卵细胞与中央细胞之间的细胞通讯. 当卵细胞的 *GCD1* 功

能受到干扰, 不仅卵细胞, 而且中央细胞的发育也会受到影响, 反之亦然. 而当特异的补偿卵细胞使其功能恢复时, 中央细胞的发育也能部分恢复, 表明卵细胞和中央细胞之间存在细胞间的相互交流, 这种交流能调控卵细胞和中央细胞的协同发育以保证它们的同步成熟.

2 雌配子体与雄配子体的胞间通讯

受精过程中, 花粉管穿过柱头, 经过花柱, 由珠柄处转向胚珠, 最后进入珠孔. 一般认为, 雌配子体的一个重要功能是可以引导、接受雄配子体(花粉管)的到来. 花粉管的准确进入, 适时停止伸长, 乃至其尖端破裂, 在特定的位置释放精细胞等过程都是雌配子体与雄配子体间彼此联系、相互作用的结果.

通过对配子体及孢子体某些突变体的研究, Hulskamp 等人^[9]和 Ray 等人^[10]发现, 发育不完整或缺少雌配子体的胚珠都不能诱导雄配子体向胚珠生长. 这些结果表明, 成熟、完整的雌配子体是花粉管从胎座转向胚珠生长所必需的, 其有效距离约 200 μm . 此外, 研究者发现, 雌配子体 *magamata(maa)* 突变株的花粉管在珠柄上生长正常, 但在距珠孔约 100 μm 处迷失方向^[11]. 表明雌配子体对花粉管生长的引导信号可以分为从胎座到珠柄的引导(珠柄引导期)和从珠柄到珠孔的引导(珠孔引导期) 2 个阶段.

很早就有人推测, 助细胞具有引导花粉管到来、协助完成受精的作用, 但长期未能证实. 这一推测目前已得到了多方面证据的支持. 最近 20 年的实验结果已经证明, 助细胞确实在双受精过程中发挥了重要作用: 吸引花粉管进入胚囊并诱导花粉管在适当位置破裂, 以释放精细胞^[12]. 在拟南芥雌配子体突变体 *gametophytic factor2* 中, 助细胞不会退化, 该突变体在受精后仍能吸引另外的花粉管进入胚囊^[13]. 另一基因的 2 个等位突变体 *sirène(srn)* 和 *feronia(fer)* 的助细胞在受精后保持完整, 同样能吸引花粉管^[14,15]. 这暗示, 助细胞是吸引花粉管的信号来源(图 2).

助细胞吸引花粉管更直接的证据来自于对蓝猪耳(*Torenia fournieri*)的研究. 蓝猪耳的胚囊部分暴露在珠孔外, 极大地便利了在生活状态下直接操作卵细胞及助细胞^[16]. 离体的蓝猪耳成熟胚珠能够在体外进行培养, 并可引导 100~200 μm 内的花粉管向胚珠生长. 激光切割实验表明, 将蓝猪耳卵细胞和中央

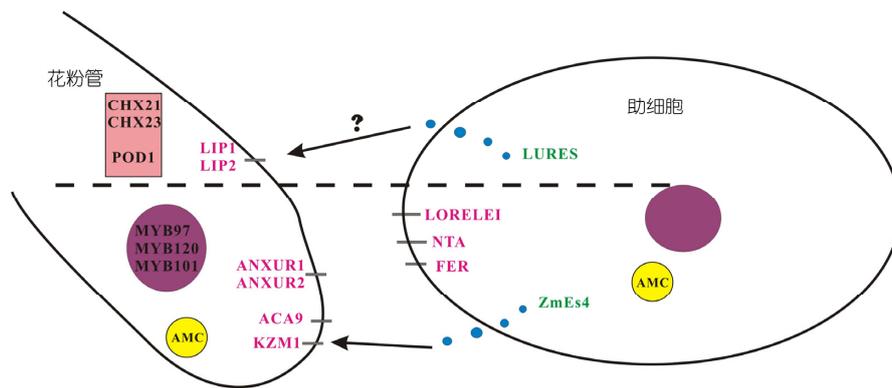


图2 助细胞与雄配子体的胞间通讯

图片左边显示雄配子体, 右边显示助细胞. 虚线上方显示雄配子体导向珠孔生长过程中助细胞与雄配子体间的胞间通讯信号, 虚线下方显示雄配子体破裂释放内含物过程中助细胞与雄配子体间的胞间通讯信号. 粉色表示内质网, 紫色表示细胞核, 黄色表示溶酶体, 蓝色表示分泌小泡. 红色字体表示膜蛋白, 绿色字体表示分泌蛋白. 箭头线表示遗传互作, 箭头线上有问号表示不确定

细胞切除并不影响花粉管进入胚囊. 当2个助细胞中的1个被切除后, 花粉管会从另一个助细胞进入胚囊. 当2个助细胞都被切除后, 胚囊才失去对花粉管的吸引力^[17]. 这一实验明确揭示, 诱导花粉管定向生长的信号来自于雌配子体的助细胞, 而卵细胞不具有吸引花粉管的作用. 虽然2个助细胞都具有相似作用, 但只有1个实施功能, 在花粉管进入后发生程序性死亡, 而另一个助细胞宿存.

此外, Marton 等人^[18]在玉米中分离获得1个雌配子体控制花粉管极性生长的基因 *ZmEA1*, 该基因在助细胞和卵细胞中表达, 所编码的蛋白 *ZmEA1* 可被分泌至珠孔端珠心细胞壁. 在 *ZmEA1* 表达下调的植株中花粉管引导失败, 花粉管在到达珠孔端时不能穿过珠孔进入胚囊. 证实了在单子叶植物中助细胞有类似的作用.

随后, 还发现拟南芥精子和卵细胞特异表达的基因 *GAMETE EXPRESSED3(GEX3)* 表达下调也影响胚囊吸引花粉管^[19]. *GEX3* 编码一种定位于细胞质膜的未知蛋白. 将 *GEX3* 基因下调表达或者过量表达, 都会导致荚果的败育. 通过与野生型的正反交实验, 证明在2种转基因株系中, 都是雌配子体的功能受到干扰才导致荚果的败育. 进一步的实验显示, 败育的原因是花粉管在珠孔端的引导发生了偏离, 这证明了拟南芥与蓝猪耳不同, 其雌配子体的卵细胞除了与精细胞融合完成受精外还参与了对花粉管的引导, 但至今这一机制尚不清楚.

Yang 研究组^[20]首次证明胚囊中央细胞调控植物

花粉管导向生长, 并克隆了其关键基因 *CENTRAL CELL GUIDANCE*. 敲除这一在中央细胞表达的基因导致花粉管不能进入珠孔. 这些研究结果表明, 雌配子体中助细胞、中央细胞和卵细胞都与花粉管的正确导向密切相关.

当花粉管被导向信号引导进入雌配子体后, 其与助细胞互作, 花粉管停止极性生长. 随后, 花粉管在胚囊中爆裂并释放其所携带的2个精子到胚囊中进行双受精. 花粉管的这种爆裂行为也被认为受到了雌配子体的调控(图2). 目前, 已经发现了几个与这一过程相关的基因. 在拟南芥中发现了第一个调控雌配子助细胞与花粉管识别的关键因子 *FERONIA(FER)*. *FER* 编码1个定位在助细胞膜上的受体激酶, 参与调控胚囊与花粉管的识别, 是促使花粉管释放精子的关键信号分子^[14,15,21]. 该基因突变后, 花粉管虽能准确到达珠孔, 但不能与胚囊助细胞相互识别, 花粉管不能释放其携带的精细胞, 而是在胚囊中无序生长, 导致受精失败而植物不育. 其后, 很快又发现了其他具有类似功能的基因. 助细胞特异表达的 *MLO* 家族受体类激酶 *NORTIA(NTA)* 基因的突变也产生与 *fer* 类似的表型^[22], 但比例略低. 进一步的遗传学证据显示, *NTA* 受到 *FER* 的调控. 在助细胞中表达的 *LORELEI* 蛋白被预测为小的且是植物特有的葡萄糖磷脂酰肌醇锚定蛋白(*GAP*), 其突变体也会产生与 *feronia* 类似的表型^[23,24]. *LORELEI* 只在成熟卵器中表达, 这与其功能相一致.

花粉管在被雌配子体引导的过程中需感知雌配

子体的信号并做出相应反应,研究确实发现花粉管表达的基因也参与花粉管导向胚珠生长这一发育过程.编码内质网钾离子通道的基因 *CHX21*(cation/H⁺ exchanger 21)和 *CHX23* 双突变影响花粉管导向^[25],表明花粉管内钾离子平衡也是花粉管导向胚珠生长关键因素之一.最近的研究发现,花粉管内质网蛋白 *POLLEN DEFECTIVE IN GUIDANCE1*(*POD1*)也是花粉管导向的关键调控因子^[26].这些工作说明,内质网可能在花粉管响应胚囊信号中起非常关键的作用.

最近的研究显示,雌雄配子间也存在细胞通讯^[27].研究发现,拟南芥配子的相互作用依赖于储存在卵细胞囊泡的富含半胱氨酸的小蛋白 *EC1*(*EGG CELL 1*).精子到达后,含 *EC1* 囊泡开始胞吐.精子内膜系统响应 *EC1* 将潜在的配子融合分子 *HAP2/GCS1*(*HAPLESS2/generative cell-specific protein 1*)重新分配到细胞表面.此外,*ec1 5* 突变体的研究表明,成功的雌雄配子相互作用可以防止额外精细胞进入胚囊.该研究结果表明,配子相互激活,可调节的胞吐作用与精子质膜修饰是被子植物配子相互作用的实质内容,为进一步研究提供了明确思路.

3 雌、雄配子体间及雌配子体成员细胞间通讯的途径与信号

植物细胞间通讯通常有2种方式:(i)相邻细胞间的共质体物质交流;(ii)配体-受体介导的信号转导途径.研究表明,2种途径都可能参与了雌配子体成员细胞间的细胞通讯.

植物体内相邻细胞之间存在一种特殊的物质交流通道,即胞间连丝(plasmodesmata, PD).胞间连丝由细胞质膜、内质网组成的连丝小管以及处于两者之间的环层细胞构成,在植物体内广泛存在.许多研究表明,植物体内源性的大分子物质能够通过胞间连丝实现物质交流,其中包括转录因子^[28]、mRNA^[29]、siRNA^[30]等.

对雌配子体超微结构的研究显示,卵细胞的细胞壁是不完全的,其在珠孔端 2/3 处存在细胞壁,但是在合点端与中央细胞靠近的区域缺少细胞壁.与此对应,中央细胞的细胞壁也不完整,在与卵细胞相邻的珠孔区域,中央细胞缺少细胞壁.此外,在卵细胞、助细胞和中央细胞间存在大面积的细胞接触,而且在多种植物包括玉米、油菜(*Brassica napus* L.)、向

日葵(*Helianthus annuus* L.)等中都已证实它们之间存在胞间连丝^[31],在反足细胞与中央细胞之间的细胞壁上也存在胞间连丝,暗示这些细胞之间存在通讯联系.进一步的染料追踪实验证明,雌配子体成员细胞间的胞间连丝是具有功能的^[32].蓝猪耳的胚囊半裸露于胚珠外,可以方便地进行观察和操作.向蓝猪耳的中央细胞内注射不同分子量大小的染料后,追踪观察其是否能够通过胞间连丝扩散进入其他雌配子体成员细胞.结果显示,小于 10 kD 的分子可以进入卵器细胞,而大于 40 kD 的分子则不能进入^[32].至于中央细胞与反足细胞之间的胞间连丝,该研究没有提及.另外,可能因为操作上的困难,没有在卵细胞或者助细胞内注射染料观察其行为.

基于线粒体的信号转导也在胞间通讯中扮演了重要角色.在酵母和植物中 *AAC2*(ADP/ATP carrier protein 2)基因是一类 ADP 向 ATP 转换过程中的关键酶.酵母中该基因关键位点的突变能够破坏电子传递链并且影响膜电位的形成.*Kagi* 研究组^[4]在拟南芥中也构建了关键位点突变的 *AAC2* 基因,并且将该突变基因在中央细胞特异启动子 *MEA* 的驱动下转化野生型背景拟南芥,结果发现,中央细胞的极核不能融合.证实了中央细胞极核的融合是一个线粒体依赖性的调控途径.而且此时反足细胞也不能正常发生程序性死亡.表明基于中央细胞线粒体的信号可能参与控制反足细胞死亡.*Wu* 等人^[5]在卵细胞内特异表达突变的 *AAC2* 基因,会导致卵细胞发育受阻,与此同时,中央细胞的极核也不能融合,表明基于卵细胞线粒体的信号可以控制中央细胞的成熟过程.另一方面,在中央细胞内特异表达突变的 *AAC2* 基因,也会导致卵细胞的发育受阻,表明基于中央细胞线粒体的信号可以控制卵细胞成熟过程.这种依赖于线粒体的信号途径是什么现在仍然不清楚,其传递信号的途径也有待探索.

配体-受体信号转导途径在植物发育过程中起非常普遍的调控作用.分泌性小肽与激素属于这一类型.前文提及的玉米基因 *ZmEAL1* 就是一种分泌小肽,通过一种未知信号途径影响了反足细胞的发育.

前文已述及蓝猪耳助细胞具有引导雄配子体进入胚囊的功能.最近发现,在蓝猪耳中胚囊释放的吸引花粉管的信号分子是一类富含半胱氨酸的防御素类多肽 *LUREs*^[33].这明确了蓝猪耳助细胞吸引花粉管的分子基础.*Okuda* 等人^[33]发现,蓝猪耳助细胞大

量表达编码富含半胱氨酸多肽 (cysteine-rich polypeptides, CRPs) 的转录本. 其中, 有 2 个在助细胞中特异表达. 体外实验证明, 这 2 个 CRPs 均具有吸引花粉管的能力, 故被命名为 LURE1 和 LURE2. 对体外培养的胚囊注射反义寡核苷酸探针抑制 2 个 LUREs 的表达后, 其吸引的花粉管数量减少.

LUREs 通过什么机制导致花粉管朝向珠孔生长? Okuda 等人^[34] 研究显示, LURE2 分泌到助细胞外后能够结合到花粉管尖端, 但是这种结合能力与花粉管的发育阶段相关. 只有经过花柱并生长 12 h 的花粉管才能够结合 LURE2, 而体外萌发的花粉管以及只生长了 6 h 的花粉管都不能结合 LURE2. Okuda 等人^[34] 分离了各种不同发育时期的花粉管对其进行了高通量测序, 试图通过差异基因谱来寻找花粉管中响应 LURE2 的分子.

此外, 引人注目的是, 蓝猪耳 LUREs 只能吸引蓝猪耳的花粉管, 却不吸引近源种狭叶母草 (*Lindernia micrantha*) 的花粉管. 免疫荧光显示, LUREs 分布在蓝猪耳助细胞丝状器, 但是在狭叶母草内未检测到其分布^[33]. 在另一蓝猪耳属的单色蝴蝶草 (*Torenia concolor*) 助细胞内也特异表达 1 个与 LURE1 同源的富含半胱氨酸的防御素类多肽 TcCRP1 (*Torenia concolor* cysteine-rich polypeptide 1). TcCRP1 只能吸引单色蝴蝶草的花粉管, 却不吸引蓝猪耳的花粉管^[35]. 在拟南芥内也存在一类属于防御素类的富含半胱氨酸多肽, 其同样具有花粉管引导能力, 命名为 AtLURE1 多肽^[36]. 体外表达的 AtLURE1 多肽能够有效吸引拟南芥花粉管, 但是其吸引近源种琴叶拟南芥 (*Arabidopsis lyrata*) 的能力却很弱, 表明 LURE1 多肽吸引花粉管的能力具有种属特异性.

另外, Qu 研究组^[37] 得到了更进一步的数据, 他们在花粉管中找到 2 个类受体激酶 (receptor-like kinase, RLK) 可能作为响应 LUREs 的分子. 这 2 个基因双突变后导致雄配子遗传率严重下降. 进一步分析显示, 其突变导致花粉管失去被雌配子体引导进入珠孔的能力, 因此这 2 个基因被命名为 *Pollen tube guidance 1* (LIP1) 和 *Pollen tube guidance 2* (LIP2). LIP1 与 LIP2 定位于花粉管尖端, 其突变后花粉管对导向分子 LURE1 不敏感. 因此, 即使 LIP1 与 LIP2 不是结合 LUREs 的直接分子, 它们也是花粉管响应 LUREs 信号途径中的一个重要成员 (图 2).

除拟南芥外, 在玉米中也发现花粉管与雌配子体的胞间通讯调控了花粉管的停止生长和爆裂^[38]. 一个类防御素的蛋白, *Zea mays embryo sac 4* (ZmES4), 在雌配子体里特异表达, 并可以通过助细胞分泌到胞外. 通过 RNAi 下调 ZmES4 的表达后会出现与 *feronia* 类似的表型. 进一步的研究显示, 花粉管上的钾离子通道蛋白 KZM1 (K^+ channel *Zea mays* 1) 能够与 ZmES4 相互作用. 胞外添加 ZmES4 会使钾离子通道打开, 导致玉米花粉管吸水后爆裂 (图 2).

虽然助细胞诱导花粉管爆裂的具体信号途径并不清楚, 但是推测花粉管自身也应在这一过程中扮演重要角色, 至少需感知雌配子体的信号并做出相应反应. 其后的研究确实发现花粉管表达的基因也参与花粉管爆裂这个信号转导过程 (图 2). 例如, 在 *self-sterile abstinence by mutual consent* (*amc*) 突变体中, 当 *amc* 花粉管遇到 *amc* 雌配子体时即不能诱发正常的花粉管与雌配子体识别作用, 导致花粉管不能停止生长和不能爆裂释放精子^[39]. *AMC* 定位于溶酶体, 其突变会导致依赖于 PTS1 (peroxisome targeted signal 1) 信号定位于溶酶体的蛋白无法进入溶酶体. 作者推测, 溶酶体的蛋白或信号分子, 如活性氧与一氧化氮等在花粉管与雌配子体互作中具有重要作用. 另一研究显示, 在花粉和花粉管中表达的 *ANXUR1* 和 *ANXUR2* 都编码在结构上与 FER 相似的类受体蛋白激酶, 它们双突变体表现为花粉管提前爆裂, 无法顺利地把精子传送到胚囊中^[40,41]. 作者推测, *ANXUR1* 和 *ANXUR2* 能够维持花粉管在花柱组织内正常生长. 花粉管到达雌配子体后, 能接收到来自雌配子体的信号并使 *ANXUR1* 和 *ANXUR2* 失去活性, 导致花粉管爆裂. 钙离子梯度也在花粉管爆裂过程中起重要作用, 具有自抑制作用的钙离子 ATP 酶 9 (autoinhibited Ca^{2+} ATPases 9, *ACA9*) 突变后会导致严重的雄性不育^[42]. 表型分析显示, 突变花粉能够生长到达雌配子体, 在助细胞附近停止生长, 但是不能够爆裂释放精细胞. 表明花粉管停止生长和爆裂是 2 个单独的细胞学事件. 最近的 2 份研究显示, 在花粉管中特异表达的 3 个 MYB 家族转录因子突变后产生与 *feronia* 类似的表型^[43,44]. 对转录谱的研究显示, 这 3 个转录因子控制了一批花粉基因的转录. 这些下游基因中哪些可能在接收雌配子体信号引起花粉管停止生长和爆裂中起重要作用还需要进一步的研究.

已知宿存助细胞凋亡过程受到卵细胞与中央细胞的控制, 那么哪种信号参与了这一胞间通讯过程? 最近研究显示, 植物激素乙烯在其中发挥了重要作用(图 1). 已知乙烯信号途径依赖于 2 个转录因子 EIN3(ETHYLENE INSENSITIVE 3)和 EIL1(EIN-like 1), 在 *ein3 eil1* 双突变体中, 宿存助细胞寿命延长, 而且突变体吸引超数花粉管^[45]. 值得注意的是, 双受精这一过程没有受到影响, 表明乙烯信号是连接受精与宿存助细胞退化这 2 个发育事件间的信号. 进一步的实验显示, 受精导致乙烯响应因子 EIN3 的积累. 此外, 在具有持续乙烯响应的 *ctr1* 突变体中, 2 个助细胞在不受精的情况下就能够凋亡. 更重要的是, 在中央细胞内注射乙烯前体 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)也能够导致 2 个助细胞在不受精的情况下凋亡. 这些结果表明, 乙烯信号参与了宿存助细胞的凋亡, 而且信号能够从中央细胞传递到助细胞. 但是信号传递的具体方式与途径还不清楚.

4 结语与展望

本文概述了近年对雌、雄配子体以及雌配子体成

员细胞间通讯的研究成果. 现有的数据表明, 近 10 年来, 该领域的研究取得了突破性进展. 找到了一些关键的胞间通讯信号分子如 LUREs, EC1 等分泌性多肽, 以及定位于质膜或胞内, 参与胞间通讯信号途径的关键蛋白. 这些成果不仅回答了一些悬疑多年的问题, 而且为进一步的研究提供了可行的思路、技术和明确的切入点.

近期的研究将会集中在寻找具体的胞间通讯信号途径上. 通过寻找已发现的这些重要蛋白的相互作用蛋白, 特别是线粒体相关蛋白, 有可能将这些单个基因联系起来, 构建雌配子体胞间通讯的信号转导网络. 寻找 LUREs 等的受体以及分离验证短肽信号分子的努力将有可能揭示雌、雄配子体应答所使用的语言及其通讯内容.

此外, 令人惊喜的是, 当在蓝猪耳助细胞内特异表达拟南芥单一多肽 *AtLURE1.2* 后, 转基因蓝猪耳胚珠具有了吸引拟南芥花粉管的能力^[36]. 与此相似, 当在拟南芥助细胞内特异表达玉米 *ZmEAL1* 后, 转基因的拟南芥胚珠具有了吸引玉米花粉管的能力^[46]. 这些最新的研究成果表明, 对胞间通讯机理的深入了解可能有助于解决远源杂交障碍, 为打破作物种内和种间生殖障碍提供了理论基础和技术途径.

参考文献

- 1 Groß-Hardt R, Kägi C, Baumann N, et al. LACHESIS restricts gametic cell fate in the female gametophyte of *Arabidopsis*. *PLoS Biol*, 2007, 5: e47
- 2 Volz R, von Lyncker L, Baumann N, et al. LACHESIS-dependent egg-cell signaling regulates the development of female gametophytic cells. *Development*, 2012, 139: 498–502
- 3 Krohn N G, Lausser A, Juranic M, et al. Egg cell signaling by the secreted peptide ZmEAL1 controls antipodal cell fate. *Dev Cell*, 2012, 23: 219–225
- 4 Kägi C, Baumann N, Nielsen N, et al. The gametic central cell of *Arabidopsis* determines the lifespan of adjacent accessory cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 22350–22355
- 5 Wu J J, Peng X B, Li W W, et al. Mitochondrial GCD1 dysfunction reveals reciprocal cell-to-cell signaling during the maturation of *Arabidopsis* female gametes. *Dev Cell*, 2012, 23: 1043–1058.
- 6 Beale K M, Leydon A R, Johnson M A. Gamete fusion is required to block multiple pollen tubes from entering an *Arabidopsis* ovule. *Curr Biol*, 2012, 22: 1090–1094
- 7 Kasahara R D, Maruyama D, Hamamura Y, et al. Fertilization recovery after defective sperm cell release in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2012, 22: 1084–1089
- 8 Kasahara R D, Maruyama D, Higashiyama T. Fertilization recovery system is dependent on the number of pollen grains for efficient reproduction in plants. *Plant Signal Behav*, 2013, 8: e23690
- 9 Hulskamp M, Schneitz K, Pruitt R E. Genetic evidence for a long-range activity that directs pollen tube guidance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1995, 7: 57–64
- 10 Ray S M, Park S S, Ray A. Pollen tube guidance by the female gametophyte. *Development*, 1997, 124: 2489–2498
- 11 Shimizu K K, Okada K. Attractive and repulsive interactions between female and male gametophytes in *Arabidopsis* pollen tube guidance.

- Development, 2000, 127: 4511–4518
- 12 Dresselhaus T, Franklin-Tong N. Male-female crosstalk during pollen germination, tube growth and guidance, and double fertilization. *Mol Plant*, 2013, 6: 1018–1036
 - 13 Christensen C A, Gorsich S W, Brown R H, et al. Mitochondrial GFA2 is required for synergid cell death in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2002, 14: 2215–2232
 - 14 Huck N, Moore J M, Federer M, et al. The *Arabidopsis* mutant *feronia* disrupts the female gametophytic control of pollen tube reception. *Development*, 2003, 130: 2149–2159
 - 15 Rotman N, Rozier F, Boavida L, et al. Female control of male gamete delivery during fertilization in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol*, 2003, 13: 432–436
 - 16 Higashiyama T, Kuroiwa H, Kawano S, et al. Kinetics of double fertilization in *Torenia fournieri* based on direct observations of the naked embryo sac. *Planta*, 1997, 203: 101–110
 - 17 Higashiyama T, Yabe S, Sasaki N, et al. Pollen tube attraction by the synergid cell. *Science*, 2001, 293: 1480–1483
 - 18 Marton M L, Cordts S, Broadhvest J, et al. Micropylar pollen tube guidance by egg apparatus 1 of maize. *Science*, 2005, 307: 573–576
 - 19 Alandete-Saez M, Ron M, McCormick S. GEX3, expressed in the male gametophyte and in the egg cell of *Arabidopsis thaliana*, is essential for micropylar pollen tube guidance and plays a role during early embryogenesis. *Mol Plant*, 2008, 1: 586–598
 - 20 Chen Y H, Li H J, Shi D Q, et al. The central cell plays a critical role in pollen tube guidance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19: 3563–3577
 - 21 Escobar-Restrepo J M, Huck N, Kessler S, et al. The FERONIA receptor-like kinase mediates male-female interactions during pollen tube reception. *Science*, 2007, 317: 656–660
 - 22 Kessler S A, Shimosato-Asano H, Keinath N F, et al. Conserved molecular components for pollen tube reception and fungal invasion. *Science*, 2010, 330: 968–971
 - 23 Capron A, Gourgues M, Neiva L S, et al. Maternal control of male-gamete delivery in *Arabidopsis* involves a putative GPI-anchored protein encoded by the *LORELEI* gene. *Plant Cell*, 2008, 20: 3038–3049
 - 24 Tsukamoto T, Qin Y, Huang Y, et al. A role for LORELEI, a putative glycosylphosphatidylinositol-anchored protein, in *Arabidopsis thaliana* double fertilization and early seed development. *Plant J*, 2010, 62: 571–588
 - 25 Lu Y, Chanroj S, Zulkifli L, et al. Pollen tubes lacking a pair of K⁺ transporters fail to target ovules in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2011, 23: 81–93
 - 26 Li H J, Xue Y, Jia D J, et al. POD1 regulates pollen tube guidance in response to micropylar female signaling and acts in early embryo patterning in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2011, 23: 3288–3302
 - 27 Sprunck S, Rademacher S, Vogler F, et al. Egg cell-secreted EC1 triggers sperm cell activation during double fertilization. *Science*, 2012, 338: 1093–1097
 - 28 Kurata T, Okada K, Wada T. Intercellular movement of transcription factors. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8: 600–605
 - 29 Lucas W J, Bouche-Pillon S, Jackson D P, et al. Selective trafficking of KNOTTED1 homeodomain protein and its mRNA through plasmodesmata. *Science*, 1995, 270: 1980–1983
 - 30 Kalantidis K, Schumacher H T, Alexiadis T, et al. RNA silencing movement in plants. *Biol Cell*, 2008, 100: 13–26
 - 31 Huang B Q, Russell S D. Female germ unit: organization, reconstruction and isolation. *Int Rev Cytol*, 1992, 140: 233–293
 - 32 Han Y Z, Huang B Q, Zee S Y, et al. Symplastic communication between the central cell and the egg apparatus cells in the embryo sac of *Torenia fournieri* Lind. before and during fertilization. *Planta*, 2000, 211: 158–162
 - 33 Okuda S, Tsutsui H, Shiina K, et al. Defensin-like polypeptide LUREs are pollen tube attractants secreted from synergid cells. *Nature*, 2009, 458: 357–361
 - 34 Okuda S, Suzuki T, Kanaoka M M, et al. Acquisition of LURE-binding activity at the pollen tube tip of *Torenia fournieri*. *Mol Plant*, 2013, 6: 1074–1090
 - 35 Kanaoka M M, Kawano N, Matsubara Y, et al. Identification and characterization of TcCRP1, a pollen tube attractant from *Torenia concolor*. *Ann Bot*, 2011, 108: 739–747
 - 36 Takeuchi H, Higashiyama T. A species-specific cluster of defensin-like genes encodes diffusible pollen tube attractants in *Arabidopsis*. *PLoS Biol*, 2012, 10: e1001449
 - 37 Liu J, Zhong S, Guo X, et al. Membrane-bound RLCKs LIP1 and LIP2 are essential male factors controlling male-female attraction in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2013, 23: 993–998
 - 38 Amien S, Kliwer I, Marton M L, et al. Defensin-like ZmES4 mediates pollen tube burst in maize via opening of the potassium channel KZM1. *PLoS Biol*, 2010, 8: e1000388
 - 39 Boisson-Dernier A, Frietsch S, Kim T H, et al. The peroxin loss-of-function mutation abstinence by mutual consent disrupts male-female

- gametophyte recognition. *Curr Biol*, 2008, 18: 63–68
- 40 Boisson-Dernier A, Roy S, Kritsas K, et al. Disruption of the pollen-expressed *FERONIA* homologs *ANXUR1* and *ANXUR2* triggers pollen tube discharge. *Development*, 2009, 136: 3279–3288
- 41 Miyazaki S, Murata T, Sakurai-Ozato N, et al. *ANXUR1* and 2, sister genes to *FERONIA/SIRENE*, are male factors for coordinated fertilization. *Curr Biol*, 2009, 19: 1327–1331
- 42 Schiott M, Romanowsky S M, Baekgaard L, et al. A plant plasma membrane Ca^{2+} pump is required for normal pollen tube growth and fertilization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 9502–9507
- 43 Leydon A R, Beale K M, Woroniecka K, et al. Three MYB transcription factors control pollen tube differentiation required for sperm release. *Curr Biol*, 2013, 23: 1209–1214
- 44 Liang Y, Tan Z M, Zhu L, et al. MYB97, MYB101 and MYB120 function as male factors that control pollen tube-synergid interaction in *Arabidopsis thaliana* fertilization. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003933
- 45 Volz R, Heydlauff J, Ripper D, et al. Ethylene signaling is required for synergid degeneration and the establishment of a pollen tube block. *Dev Cell*, 2013, 25: 310–316
- 46 Marton M L, Fastner A, Uebler S, et al. Overcoming hybridization barriers by the secretion of the maize pollen tube attractant ZmEA1 from *Arabidopsis* ovules. *Curr Biol*, 2012, 22: 1194–1198

Cell-Cell Communication among the Component Cells of Female Gametophyte and between Male and Female Gametophytes

PENG XiongBo & SUN Meng-Xiang

College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

Double fertilization in angiosperm is a complex and tightly regulated process. Successful fertilization depends on the development of gametophytes and the communication between female and male gametophytes. Studies revealed that there existed a wide range of intercellular communication among the component cells of the female gametophyte themselves. This communication not only affects the developmental process in different cells, but also determines the developmental fate of the cells, which ensure the normal development of the female gametophyte. In addition, the intercellular communication between female and male gametophytes is the molecular basis of their recognition from each other. The communication precisely controls the male gametophyte to accurately enter the ovules, stop its elongation in the female gametophyte and rupture at tip for releasing sperm cells in a specific location. In this review, we attempt to outline the latest progress in these areas, combing the signal pathway between these intercellular communications. In the end, some prospects for future studies as well as potential application prospects are discussed.

gamete, egg cell, embryo sac, cell-cell communication, fertilization

doi: 10.1360/N052014-00310