

## 植物中的磷脂酶D信号转导

闫旭宇<sup>1,2,\*</sup> 李玉中<sup>2,\*\*</sup> 李玲<sup>3</sup> 赵鹏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>湖南科技学院数学系, 湖南永州 425006; <sup>2</sup>中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081; <sup>3</sup>山西农业大学农学院, 山西太谷 030801

## Signal Transduction of Phospholipase D in Plants

YAN Xu-Yu<sup>1,2,\*</sup>, LI Yu-Zhong<sup>2,\*\*</sup>, LI Ling<sup>3</sup>, ZHAO Peng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Mathematics, Hunan College of Science and Technology, Yongzhou, Hunan 425006, China; <sup>2</sup>Institute of Agro-Environment and Sustainable Development, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; <sup>3</sup>College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China

**摘要** 文章介绍磷脂酶D (PLD)跨膜信号转导作用的研究进展。

**关键词** 磷脂酶D; 信号反应; 信号转导; 专一性

磷脂不仅是生物膜的骨架成分,而且能通过水解后产生的产物来参与多种生理过程以及环境刺激引起的细胞反应。磷脂酶是催化磷脂降解的关键酶,根据水解磷脂分子部位的不同,磷脂酶分为5类:磷脂酶D (phospholipase D, PLD)、磷脂酶C (phospholipase C, PLC)、磷脂酶A<sub>1</sub> (phospholipase A<sub>1</sub>, PLA<sub>1</sub>)和磷脂酶A<sub>2</sub> (phospholipase A<sub>2</sub>, PLA<sub>2</sub>)、磷脂酶B (phospholipase B, PLB)。PLC和PLD为磷酸二酯酶,随着其所水解磷脂的不同,可产生三磷酸肌醇(inositol 1,4,5-triphosphate, IP<sub>3</sub>)、磷脂酸(phosphatidic acid, PA)、二酰甘油(diacylglycerol, DAG)等。新近的研究表明,IP<sub>3</sub>、PA、DAG均是细胞内的第二信使,因此,PLD和PLC对信号转导的作用更为直接。有关PLA<sub>1</sub>和PLB的报告迄今仍很少,PLA<sub>2</sub>和PLC的细胞信号转导功能发现较早,报道已很多,主要集中在动物方面。PLD于上世纪40年代就在植物中发现(Hanahan和Chaicoff 1948),但是半个多世纪以来,人们只关注它在植物衰老和机械损伤时催化膜脂降解的这一功能。直到90年代以后,人们才逐渐发现PLD在植物体中参与机械损伤、激素刺激和病原菌感染等一系列细胞反应过程(Zhang等2005),其参与信号转导的功能也才引起人们广泛关注。1994年,植物PLD基因的分离和克隆成功,从而为PLD的研究开辟了新途径,并掀起了PLD研究的热潮。根据这些结果,PLD才确认为跨膜信号转导酶。近几年来,随着生物化学与分子生物学手

段以及转基因技术的发展与应用,PLD的结构、生物化学特性和细胞信号转导功能的研究报道迅速增多,认为PLD信号转导途径是通过与其它磷脂酶以及Ca<sup>2+</sup>信号之间复杂的相互作用而形成的信号网络(signaling network)。本文介绍不同细胞信号转导过程中PLD的功能和PLD与其它信使物质之间的关系,以及PLD信号转导网络的专一性。

### 1 PLD的基因家族

PLD是植物中的主要磷脂酶,广泛分布在植物的各个部位(根、茎、叶、种子等)中,且在成熟初期的种子和萌发初期的幼苗等,生长代谢活跃部位中的含量更丰富。现已证明PLD是一个多基因家族(Liscovitch等2000),其DNA序列具有高度的保守性。人们以植物PLD的DNA为探针,分别从动物和微生物克隆到PLD基因。PLD在植物中至少有5种类型,即PLD $\alpha$ 、PLD $\beta$ 、PLD $\gamma$ 、PLD $\delta$ 和PLD $\epsilon$ (Wang 2000)。它们由不同的基因编码,具有不同的作用。但植物所有的PLD基因都包括2个H $\times$ K $\times$  $\times$  $\times$ D基序(motif)——HKD<sub>1</sub>和HKD<sub>2</sub>,2个基序间隔320个氨基酸,HKD基序是PLD的标志序列,也是催化水解的活性部位。

迄今至少已有8种植物的15种PLD得到克

收稿 2006-07-25 修定 2006-11-13

资助 国家自然科学基金(30470165)。

\* E-mail: yanxuyu1979@163.com

\*\* 通讯作者(E-mail: liyz@jac.org, Tel: 010-68919399)。

隆, 根据其序列比对可分为3组。第1组为PLD $\alpha$ , 主要包括拟南芥PLD $\alpha$ 以及其他植物中与其同源性较高的PLD (75%~90%), 其分类主要依据序列的相似性, 催化特性以及基因结构。第2组为PLD $\beta$ , 主要包括拟南芥PLD $\beta$ 和2个在染色体II和IV上的同构体。PLD $\beta$  C末端还有1个多磷脂酰肌醇(polyphosphatidylinositol, PPI)结合单元和1个该单元的反向序列。第3组包括2个拟南芥膜PLD——PLD $\gamma$ 1和PLD $\gamma$ 2。从总体上来看, PLD $\gamma$ 与PLD $\beta$ 具有较高的同源性。

## 2 PLD信号途径参与的细胞反应

植物在各种胁迫环境下迅速发生响应, 许多情况下, 信号转导与特异性磷脂酶的激活有关。PLD可增强植物对不良环境胁迫的抵御能力, 在不同植物种类、器官、组织和细胞类型中表现出特异性, 胞外不同胁迫类型引起的细胞信号转导过程也有差异, 在此过程中的PLD活性是增加的。

**2.1 激素信号反应** 脱落酸(ABA)是植物主要的内源生长调节物质, 是与植物衰老、干旱、低温和水分胁迫反应相关的一类激素。PLD参与ABA反应过程的最初证据是Fan等(1997)的工作, 他们以拟南芥为材料, 用转反义PLD $\alpha$ 基因抑制PLD $\alpha$ 表达, 外施ABA后叶片衰老即得到延缓。与正常表达的PLD $\alpha$ 相比较, 表现为叶片延迟变黄、叶绿素含量升高、离子渗漏降低、磷脂含量明显提高。对这种结果有2种不同的解释: 第一种认为, 激素作用下, PLD $\alpha$ 在膜降解中起主要作用; 另一种认为, PLD $\alpha$ 可能介入ABA的信号转导。ABA和GA在种子休眠和萌发过程中是一对互为拮抗的调控因子。谷物中GA可提高糊粉层细胞淀粉酶的合成和分泌, 淀粉转化为种子萌发所需的能量; 而ABA可激活PLD产生PA, PA可诱导淀粉酶抑制剂(amylase subtilisin inhibitor, ASI)的产生, 从而抑制 $\alpha$ -淀粉酶活性, 推迟种子萌发。PA加入大麦胚乳中会产生类似ABA的物质, 其对GA反应有抑制作用, 并可激发ABA诱导的基因表达。在ABA处理禾谷类种子糊粉层细胞原生质体的最初20 min内, 如用正丁醇抑制PLD活性, 则ABA调节过程受抑, 这种抑制作用与ABA激活PLD活性在时间上是吻合的, 并可为同时加入的PA所逆转。这可能是PLD调节ABA诱导的基因

表达, 进而控制种子萌发中的信号转导(Ritchie和Gilroy 1998)所致。

有人在研究蚕豆(*Vicia faba*)原生质体时也发现, PLD和PA参与ABA介导的拮抗GA的反应事件和ABA诱导的气孔关闭过程(Ritchie和Gilroy 1998)。拟南芥PLD $\alpha$ 受抑时, 由ABA或脱水诱导的气孔关闭程度下降, 水分丧失增加。另外, PLD $\alpha$ 超表达的烟叶植株对ABA降低蒸腾失水更为敏感。在蚕豆中, 有人以N-乙酰乙醇胺抑制PLD $\alpha$ 活性(对PLD $\beta$ 1和PLD $\gamma$ 1不起作用)后, 由ABA介导的烟叶气孔关闭即延缓。这进一步证实PLD是参与ABA诱导反应过程的, 说明PLD $\alpha$ 介导ABA信号转导过程(Ryu和Wang 1998)。反之, 如果不作ABA处理, PLD $\alpha$ 活性即呈现出反义抑制, 不影响植物的生长发育, 说明PLD $\alpha$ 可能只介导胁迫诱导的衰老过程, 而不介导正常发育的程序化衰老。但在PLD的细胞信号转导功能发现以前, 人们早就关注着PLD在植物的衰老、老化和机械损伤时的磷脂降解功能。究竟是哪一种PLD介导了程序化衰老过程中磷脂的降解, 尚需进一步研究。

**2.2 低温信号反应** Welti等(2002)的实验证明, PLD $\alpha$ 缺失株的抗霜冻能力比野生型明显高。他们用霜冻处理拟南芥后, 并经色谱分析的结果表明: PLD $\alpha$ 缺失株与野生型的膜脂组成变化不同, PLD $\alpha$ 缺失株的膜脂中磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)含量的减少幅度仅是野生型的一半, PA的增加幅度也仅是野生型的一半。一般来说, PC是对膜脂双分子层起稳定作用的磷脂, 而PA的积累则可促进低温胁迫下六角形II相位(hexagonal II phase)的形成, 以致膜脂结构受到破坏。所以认为, 缺失型膜脂组成的此种变化有利于膜脂双分子层的稳定, 可能是植物抗寒力提高的主要机制。我们的结果也表明, 小麦在低温胁迫后, 加入不同浓度的PLD抑制剂正丁醇的离子渗漏率比不加抑制剂的都低。说明如果PLD在小麦低温处理过程中发挥了信号转导功能, 那么磷脂的降解功能就占了主导地位, 因而可以认为它是通过改变膜脂组分来提高小麦对冻害的忍受能力的(闫旭宇等待发表资料)。所以, 霜冻胁迫下PLD的作用机制可能比其它类型的胁迫更为复杂。有趣的是, 与PLD $\alpha$

在拟南芥抗冻性上的作用相反, PLD $\delta$  基因被敲除后, 拟南芥抗冻性下降, PLD $\delta$  超表达拟南芥的抗冻性则提高, 而且比 PLD $\alpha$  反义抑制后提高的效果更显著(Li 等 2004)。

**2.3 干旱信号反应** 同一种 PLD 类型在两种胁迫条件下表现出截然相反的作用, 与 ABA 等逆境信号因子的作用不同。这主要是由于两种胁迫条件下 PLD $\alpha$  的作用机制有差异。PLD $\alpha$  活性受反义抑制后, 拟南芥叶片对 ABA 的敏感性即下降, 因此阻碍了水分缺失诱导的气孔关闭, 以致植株抗旱能力下降。Sang 等(2001)观察到, 拟南芥 PLD $\alpha$  缺失株的抗旱力比野生型的低。抗旱性强的更苏植物(*Craterostigma plantagineum*), 在经脱水处理几分钟之内, 就可以检测出 PLD 活性的增加(Frank 等 2000)。尽管更苏植物的许多脱水反应都能够受 ABA 诱导, 但是用外源 ABA 处理则不能快速激活这一 PLD 的活性。经脱水处理 2 h 以后, 在这种植物中鉴定到的 2 种 PLD $\alpha$ , 其中一个的 mRNA 有增加, 这种作用受外施的 ABA 诱导。

Maarouf 等(1999)用豇豆作为模式植物比较干旱胁迫下耐旱品种与干旱敏感品种中 PLD 增加的结果表明, 干旱敏感型品种的 PLD 比耐旱品种中增加的多, 说明植物受到干旱胁迫时, PLD 可及时地将外界的变化传递到植物体内, 其水解产物 PA 可促进 ABA 等相关基因的表达, 促进气孔关闭, 从而减轻植物受害程度。在这项工作中, 他们没有检测到 ABA 对 PLD 表达的影响。保卫细胞和大麦种子糊粉层细胞在 ABA 信号系统中都通过翻译后的调节作用而激活 PLD (Ritchie 和 Gilroy 1998, 2000; Jacob 等 1999)。在离体和活体状态下用 ABA 处理大麦糊粉层细胞原生质体时, 只有在处理后 10 min 时出现 1 个 PLD 的活性高峰。而在保卫细胞的原生质中则有 2 个 PLD 活性高峰, 他们分别在处理 5 和 20 min 后出现。尽管这些反应中的 PLD 还未得到鉴定, 其作用也不明确, 但却足以说明 PLD 基因的表达在不同植物种和不同细胞类型以及胞外信号类型之间是具有特异性的。

另外, 郑风荣等(2004)研究水分胁迫下 ABA、PLD/PLC 的抑制剂新霉素硫酸盐和 ABA 合成的抑制剂 ancymidol 在玉米幼苗根系渗透调节物质积累中的信号作用的结果表明, 水分胁迫下, PLD/PLC

对脯氨酸、可溶性糖和游离氨基酸积累有一定的促进作用。水分胁迫条件下, ABA 也有可能通过其他第二信使对渗透调节物质进行调节。PLD/PLC 的激活与  $Ca^{2+}$  浓度有关, 关于 PLD/PLC 在 ABA 与渗透调节物质之间信号传递中的作用机制尚需进一步研究。

**2.4 机械损伤信号反应** PLD 在损伤诱导的磷脂水解中可能是最早研究 PLD 信号途径参与细胞反应的例子。一个极端的例子是在组织离心时 PLD 调节的快速磷脂降解。绝大多数含氮的脂类会在胡萝卜组织脂类提取中丢失, 从而导致了 PLD 的发现。植物组织受损后受伤组织与非受伤组织中 PLD 调节的水解作用都得到激活。受伤细胞水解作用的提高可能是细胞与组织器官的破裂导致 PLD 释放之果。另一方面, 在未受伤细胞中产生小而短暂的变化, 则反映细胞受伤后可能有调节磷脂代谢的信使物质产生。蓖麻叶受损后 PLD 水解磷脂, 细胞内迅速积累 PA 和胆碱。又在番茄、大豆、向日葵、蚕豆、辣椒中也见到不仅受伤部位的 PA 含量升高, 其他远离伤口处的 PA 含量也增加。

Wang 等(2000)认为, 植物受损后, PLD $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$  基因表达发生变化, PLD $\beta$  mRNA 大量表达, PLD $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$  适度表达, PLD $\alpha$  对损伤刺激不太敏感, 表达没有太大变化, 这表明 4 种 PLD 在损伤和茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号转导的不同阶段的作用可能是不同的。胞内 PLD $\alpha$  转位可能是活化 PLD 的起始步骤, 此阶段没有新的 PLD mRNA 和蛋白质合成, PLD $\beta$  和  $\gamma$  表达量增加可能在植物损伤反应的后期阶段起作用, 因为抑制 PLD $\alpha$  表达后, 仅部分 PA 生成量受到抑制, 并且损伤的早期阶段, PLD $\alpha$  缺失株中 PA 表达变化比野生型的大, 后期差异不显著。

Ryu 和 Wang (1998)曾提出植物损伤反应中 PLD 作用模式, 这个模式认为, PLD 活化后通过 2 条交叉途径加强多聚不饱和脂肪酸的生成: (1) PLD 间接调节 PA 生成, PA 可激活脂肪分解途径, 其中生成的一部分自由脂肪酸可用于合成 JA; (2) PLD 直接水解磷脂产生 PA, PA 激活酰基水解酶(acylhydrolase)或 PLA 活性, 引起自由脂肪酸释放。用于合成 JA 的亚麻酸可以由 PLD 水解产物

PA 直接生成,也可以由 PA 激活其他磷脂代谢途径而间接生成。在动物细胞中上述 2 条途径均能生成花生四烯酸。植物受伤后多种脂肪分解酶活性受到激活。总之,不同脂肪代谢途径对于研究膜脂降解过程来说很重要。

**2.5 病原菌微生物侵染信号反应** PLD在植物抵御病害的防卫信号产生中是不可缺少的(Chapman 1998; Chandra和Heinstein 1996)。水稻受到白叶枯病病原菌侵染时,PLD $\alpha$ 活性明显提高,抗病性品种尤为显著(Young等1996)。PLD $\alpha$ 聚集于病菌与植物相接触的质膜部位,这暗示PLD可能参与抵御病菌的过程。用真菌激发子——木聚糖酶处理烟草细胞时,*N*-乙酰乙醇胺(*N*-acetyethanolamine, NAE)很快即释放,而NAE是PLD $\beta$ 和PLD $\gamma$ 水解的产物(Munnik等1995, 1998a; Ryu和Wang 1998),这说明PLD $\beta$ 和PLD $\gamma$ 在抗病育种中有一定的应用价值。

病原菌侵染植物体时,磷脂酶活性得到激活,它们在植物的超敏反应(hypersensitive response, HR)过程中起作用。Young等(1996)用丁香假单胞菌(*Pseudomonas*)引发烟草HR时,接种6h后PC和PE水平下降,而磷脂脂肪酸水平增高;用黄单胞菌(*Xanthomonas*)侵染水稻抗性株和容易感染的植株时,易感染植株的PLD在第5天就很难检测到,肉眼可见到病斑扩大,叶子发黑干枯,而抗性株则一直保持较高的PLD活性。有趣的是,荧光抗体标记观察的结果表明,在病菌侵染容易感染的水稻叶子后24h内,PLD荧光颗粒均匀分布于质膜内侧,而侵染抗性植株则在12h后,PLD颗粒多集中于病原侵染的细胞质膜一侧。这表明PLD的分布和表达差异可能是植株抗病差异的原因。在植物与病原菌的相互作用过程中,短期改变磷脂酶活性可能会影响植物对病原菌的敏感性,而长期改变磷脂酶活性则可能会引起细胞骨架改变和膜的重新组装(或降解)。

### 3 PLD作用的信号转导网络

PLD的直接产物PA本身就是信使物质,能够激活靶物并促使它将信号向下游转导,PA还可以进一步代谢生成其它信使物质。如在磷脂磷酸酶的作用下脱磷酸化形成DAG,在PA激酶的作用下还可以磷酸化形成焦磷酸(diacylglycerol

pyrophosphate, DGPP)(Munnik等2000),也可以在PLA的作用下去酰基形成游离化的脂肪酸(free fattyacid, FFA)和溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LysoPA)(Meijer等2001)。同样,DAG也可以在DAG激酶的作用下磷酸化形成PA(van der Luit等2000; Den Hartog等2001; Munnik等1998b),DGPP也可在磷脂磷酸酶的作用下脱磷酸化形成PA(Munnik等2000)。PA和DAG 2种信使物质之间可以相互转化,但是植物中缺少DAG下游靶物蛋白激酶C(protein kinase C, PKC),它可能在DAG激酶的作用下迅速转化成PA,作为信使物质将信号向下游转导,因而植物中可以更多地利用PA作为信使物质(Laxalt和Munnik 2002)。PLD家族内部、PLD与其它磷脂酶及Ca<sup>2+</sup>信使之间有交互作用,形成复杂的信号转导网络。这一网络在不同植物种类、器官、组织、细胞类型中均表现出专一性,在不同胞外胁迫类型所引起的细胞信号转导过程中也有差异。PLD作用的专一性包含在网络专一性中,如不同细胞过程涉及的信号转导网络中,PLD的类型及其与其他磷脂酶以及Ca<sup>2+</sup>信使之间的关系可能不同。

**3.1 PLD与PLC途径的交互作用及其专一性** PA产生于PLD和PLC 2条途径。这2条途径既可以平行作用,也可以串联在同一条途径上,还可以单独作用。在谷物种子萌发和幼苗生长初期,胚合成的GA释放到糊粉层中,可促进 $\alpha$ -淀粉酶等水解酶的合成。这些水解酶分泌到胚乳中后,可引起储藏的淀粉水解,最终产生植物可以直接吸收利用的单糖或者二糖,供种子萌发和幼苗生长。谷物糊粉层细胞是细胞信号转导研究的模式细胞之一。Ritchie和Gilroy(1998, 2000)观察到ABA能够抵消糊粉层对GA的反应,实验体系中加入1-丁醇则可以清除ABA的抑制作用。用微注射技术注入IP<sub>3</sub>后检测不出胞内Ca<sup>2+</sup>水平有增加,显示PLC途径没有介入这一体系。从而说明,糊粉层细胞中的ABA只激活PLD这一条途径。另外,由于外施ABA后可以迅速检测到PA生成,外施PA能够诱导这些ABA反应,所以认为PLD是这个调节网络中的早期作用因素,与ABA受体接近(Ritchie和Gilroy 1998, 2000)。

保卫细胞也是细胞信号转导研究的模式细

胞。Jacob等(1999)研究蚕豆保卫细胞时发现, ABA能够引起气孔关闭和 $K^+$ 通道蛋白活性下降。外施PA只能够诱发ABA直接处理所引起的反应的50%。而用PLD抑制剂1-丁醇和ABA同时处理蚕豆表皮细胞,也只减少ABA反应的50%。说明在蚕豆保卫细胞中PLD与其他信号转导途径是平行地传递ABA信号的。保卫细胞中介入ABA信号转导的其他因素有PLC(Staxen等1999)、六磷酸肌醇(inositol hexaphosphate,  $IP_6$ ; Lemtiri-Chlieh等2000)和环ADP核糖(cyclic ADP-ribose, cADPR; Leckie等1998)。Jacob等(1999)用1-丁醇与PLC抑制剂新霉素组合或者与cADPR抑制剂烟碱组合进行实验的结果表明,当1-丁醇与烟碱组合使用时,ABA反应几乎完全消失;而1-丁醇与新霉素组合使用时,ABA反应的量是未作处理的50%。因此他们推测,PLD与PLC连接是在同一个途径中,而与cADPR有关的信号系统则是平行作用的。

根瘤菌中也观察到类似的现象。根瘤菌分泌的结瘤因子脂壳寡糖可促进寄主豆类植物根部根瘤的形成。最初的反应是根毛弯曲变形。Den Hartog等(2001)在用 $^{32}P$ 标记的蚕豆幼苗进行的实验中看到,结瘤因子可迅速促进PA的形成。Munnik等(1995; 1998a, b)用转磷脂酰基化方法和差异标记法研究的结果表明,PLC和PLD都参与PA的形成。如果用新霉素或者正丁醇预处理以抑制其中一种磷脂酶的活性,则根毛变形就受到抑制。用植物中PLD和PLC途径中的有效激活因子黄蜂毒素处理大豆,能够诱导根毛变形和结瘤基因的表达(Den Hartog等2001)。不活跃的黄蜂毒素类似物mas17既不能诱导根毛变形,也不能引起PA形成。这表明,PLD和PLC可能连接在同一条信号转导途径上。如果是平行作用,则抑制其中一条途径是不会完全抑制根毛变形的。

**3.2 PLD与 $Ca^{2+}$ 的关系**  $Ca^{2+}$ 在植物的许多生理过程中起作用,大多数植物的PLD为 $Ca^{2+}$ 依赖型,可在较低的微摩尔和毫摩尔水平上激活PLD,是磷脂酶的调控因子(张充等2005)。结合态 $Ca^{2+}$ 可使植物避免膜损害和离子渗漏,并增强细胞壁结构。PLD和 $Ca^{2+}$ 都可介导蚕豆保卫细胞和谷物种子糊粉层细胞中ABA信号转导(Blatt 2000;

Schroeder等2001)。但以ABA处理蚕豆后,大量保卫细胞中都未检测到 $Ca^{2+}$ 的增加,但气孔对ABA的反应却很正常(Romano等2000),证明保卫细胞中存在不依赖 $Ca^{2+}$ 的ABA信号转导途径。用PLD的抑制剂1-丁醇处理保卫细胞,也只消除ABA对气孔开放的抑制作用的50%(Jacob等1999),说明保卫细胞中存在PLD以外的ABA信号转导途径。但是,PLD和 $Ca^{2+}$ 是怎样的关系呢?Romano等(2000)用PA处理蚕豆保卫细胞后,并未检测到胞质中 $Ca^{2+}$ 浓度有变化。这说明PLD和 $Ca^{2+}$ 可能不是在同一条途径上,如果在同一途径上,则PLD一定位于 $Ca^{2+}$ 的下游。因而他们推测可能存在PLD的翻译后修饰,如 $Ca^{2+}$ 通过调节钙依赖蛋白激酶(calcium-dependent protein kinase, CDPK)对PLD进行磷酸化作用,是否如此,还有待证实。而在谷物种子糊粉层细胞中,ABA通过翻译后调节作用激活PLD,产生的PA能够激活ABA诱导的基因,并通过降低 $Ca^{2+}$ 浓度来抵消GA诱导的胞质浓度的增加,从而抑制淀粉酶的产生(Ritchie和Gilroy 1998)。可见,糊粉层细胞和保卫细胞都存在保守的与PLD相关的ABA信号转导途径,并且细胞反应均出现在PLD和 $Ca^{2+}$ 信号之间的关系上。

#### 4 结语

PLD在植物生长过程中起多种作用,如在水稻秧苗期,其PLD活力明显增高,因而认为PLD可能涉及控制种子萌发的信号转导(林芳等2001)。PLD也可增强植物对不良环境的抵御能力(如机械损伤、霜冻、冷害),在此过程中PLD的活性往往是增加的。虽然PLD的研究已有五十多年的历史,但是对磷脂酶的研究还主要局限于拟南芥和烟草等模式作物,在别的植物中的研究比较少(王瑞霞等2004)。因此其基因表达的调控和酶功能的作用机制以及信号传递过程的许多中间环节仍没有彻底搞清。此外,植物中PLD至少有5种不同的基因型,如要进一步了解PLD和磷脂信号转导,则应弄清楚PLD在特定的细胞和生理过程中的功能。PLD基因敲除、获得反义转基因植物、一种或多种PLD功能缺失的突变体等,都是解决这一问题的有效途径。还有,随着各种PLD的分子生物学信息的增加,PLD类型特异性的抗体和

DNA/RNA 探针也将会出现, 并可能成为解决这些问题的有效工具。另外, 包含 PLD 的磷脂信号转导网络存在专一性, 说明 PLD 作用机制相当复杂。不同的磷脂信号转导网络中 PA、DAG、LysoPA 和 FFA 等磷脂信使物质在生成途径上有差异, 这可能在调节信使物质的数量、位置、产生时间以及酰基组成中都起作用(Hodgkin 等 1998)。所以, 需要明确不同 PLD 的时空表达、细胞与组织定位。然而, 目前还只在 PLD $\alpha$  中有一些这方面的信息。相信, 随着这些方面的不断积累, 人们终将通过遗传操作、结构分析、基因组分析等手段, 最终弄清楚是哪一种 PLD 和在哪一种细胞中对哪一种处理做出反应, 只有明确每个 PLD 在特定的细胞信号转导网络中的具体位置后, 方能揭示 PLD 的细胞信号转导作用及其机制。这些对阐明植物生长和发育过程中的磷脂信号转导途径是十分重要的。

### 参考文献

- 林芳, 许智宏, 薛红卫(2001). 植物信号传导中的磷脂酶. 植物学报, 43 (10): 991~1002
- 王瑞霞, 高庆荣, 崔德才, 化斌(2004). PLD基因的基本功能及在植物中的利用研究现状. 西北植物学报, 24 (8): 1537~1542
- 张充, 蒋继志, 廖祥儒, 彭亮, 安秀娟, 杨磊(2005). 植物中的磷脂酶D. 植物生理学通讯, 41: 691~697
- 郑凤荣, 谷令坤, 李德全(2004). 水分胁迫下脱落酸及磷脂酶在玉米幼苗根系渗透调节物质积累中的信号转导. 中国生态农业学报, 12: 78~81
- Blatt MR (2000). Ca<sup>2+</sup> signalling and control of guard-cell volume in stomatal movements. *Curr Opin Plant Biol*, 3: 196~204
- Chandra S, Heinstejn P (1996). Activation of phospholipase by plant defense elicitor. *Plant Physiol*, 110: 979~986
- Chapman KD (1998). Phospholipase activity during plant growth and development and in response to environmental stress. *Trends Plant Sci*, 3: 131~140
- Den Hartog M, Musgrave A, Munnik T (2001). Nod factor-induced phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate formation: a role for phospholipase C and D in root hair deformation. *Plant J*, 25: 55~66
- Fan L, Zhang S, Wang X (1997). Antisense suppression of phospholipase D $\alpha$  retards abscisic acid- and ethylene-promoted senescence of postharvest *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell*, 9: 2916~2919
- Frank W, Munnik T, Kerkmann K, Salamini F, Bartels D (2000). Water deficit triggers phospholipase D activity in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Plant Cell*, 12: 111~124
- Hanahan DJ, Chaicoff IL (1948). On the nature of the phosphorus-containing lipids of cabbage leaves and their relation to a phospholipide-splitting enzyme contained in these leaves. *J Biol Chem*, 172: 191~198
- Hodgkin MN, Pettitt TR, Martin A, Michell RH, Pemberton AJ, Wakelam MJ (1998). Diacylglycerols and phosphatidates: which molecular species are intracellular messengers? *Trends Biochem Sci*, 23: 200~204
- Jacob T, Ritchie S, Assmann SM, Gilroy S (1999). Abscisic acid signal transduction in guard cells is mediated by phospholipase D activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 12192~12197
- Laxalt AM, Munnik T (2002). Phospholipid signalling in plant defence. *Curr Opin Plant Biol*, 5: 332~338
- Leckie CP, McAinsh MR, Allen GJ, Sanders D, Hetherington AM (1998). Abscisic acid-induced stomatal closure mediated by cyclic ADP-ribose. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 15837~15842
- Lemtiri-Chlieh F, Macrobbe EAC, Brearley CA (2000). Inositol hexakisphosphate is a physiological signal regulating the K<sup>+</sup> inward rectifying conductance in guard cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 8687~8692
- Li WQ, Li MY, Zhang WH, Welti R, Wang XM (2004). The plasma membrane-bound phospholipase D $\delta$  enhances freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Biotechnol*, 22 (4): 427~433
- Liscovitch M, Czarny M, Fiucci G, Tang X (2000). Phospholipase D: molecular and cell biology of a novel gene family. *Biochem J*, 345: 401~415
- Maarouf HE, Zuily-Fodil Y, Gareil M, d'Arcy-Lameta A, Pham-Thi AT (1999). Enzymatic activity and gene expression under water stress of phospholipase D in two cultivars of *Vigna unguiculata* L. Walp. differing in drought tolerance. *Plant Mol Biol*, 39: 1257~1265
- Meijer HJG, Arisz SA, van Himbergen JAJ, Musgrave A, Munnik T (2001). Hyperosmotic stress rapidly generates lyso-phosphatidic acid in *Chlamydomonas*. *Plant J*, 25: 541~548
- Munnik T, Arisz SA, de Vrije T, Musgrave A (1995). G-protein activation stimulates phospholipase D signalling in plants. *Plant Cell*, 7: 2197~2210
- Munnik T, Irvine RF, Musgrave A (1998a). Phospholipid signalling in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1389: 222~272
- Munnik T, Meijer HJG, ter Riet B, Hirt H, Frank W, Bartels D, Musgrave A (2000). Hyperosmotic stress stimulates phospholipase D activity and elevates the levels of phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate. *Plant J*, 22: 147~154
- Munnik T, van Himbergen JAJ, ter Riet B, Braun F, Irvine RF, van der Ende H, Musgrave A (1998b). Detailed analysis of turnover of polyphosphoinositides and phosphatidic acid upon activation of phospholipase C and D in *Chlamydomonas* cells treated with non-permeabilizing concentrations of

- mastoparan. *Planta*, 207: 133~145
- Ritchie S, Gilroy S (1998). Abscisic acid signal transduction in the barley aleurone is mediated by phospholipase D activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 2697~2702
- Ritchie S, Gilroy S (2000). Abscisic acid stimulation of phospholipase D in the barley aleurone is G-protein-mediated and localized to the plasma membrane. *Plant Physiol*, 124: 693~702
- Romano L, Jacob T, Gilroy S, Assmann SM (2000). Increase in cytosolic  $Ca^{2+}$  are not required for abscisic acid-inhibition of inward  $K^+$  currents in guard cells of *Vicia faba* L. *Planta*, 211: 209~217
- Ryu SB, Wang X (1998). Increase in free linolenic and linoleic acids associated with phospholipase D-mediated hydrolysis of phospholipids in wounded castor bean leaves. *Biochim Biophys Acta*, 1393: 193~202
- Sang YM, Zheng SQ, Li WQ, Huang BR, Wang XM (2001). Regulation of plant water loss by manipulating the expression of phospholipase D. *Plant J*, 28 (2):135~44
- Schroeder JJ, Kwak JM, Allen G (2001). Guard cell abscisic acid signalling and engineering drought hardiness in plants. *Nature*, 410: 327~330
- Staxen I, Pical C, Montgomery LT, Gray JE, Hetherington AM, McAinsh MR (1999). Abscisic acid induces oscillations in guard cell cytosolic free calcium that involve phosphoinositide-specific phospholipase C. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 1779~1784
- van der Luit AH, Piatti P, van Doorn A, Musgrave A, Felix G, Boller T, Munnik T (2000). Elicitation of suspension-cultured tomato cells triggers the formation of phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate. *Plant Physiol*, 123: 1507~1516
- Wang C, Christopher AZ, Meshack A (2000). Involvement of phospholipase D in wound-induced accumulation of jasmonic acid in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 12: 2237~2246
- Wang X (2000). Multiple forms of phospholipase D in plants: the gene family, catalytic and regulatory properties, and cellular functions. *Prog Lipid Res*, 39: 109~149
- Walti R, Li WQ, Li MY, Sang YM, Biesiada H, Zhou HE, Rajashekar CB, Williams TD, Wang XM (2002). Profiling membrane lipids in plant stress responses: role of phospholipase D $\alpha$  in freezing-induced lipid changes in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 277 (35): 31994~32002
- Young S, Wang X, Leach JE (1996). Changes in the plasma membrane distribution of rice phospholipase D during resistant interactions with *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*. *Plant Cell*, 8: 1079~1090
- Zhang WH, Yu LJ, Zhang YY, Wang X (2005). Phospholipase D in the signaling networks of plant response to abscisic acid and reaction oxygen species. *Biochim Biophys Acta*, 1736: 1~9