植物细胞壁形成机制的新进展

张保才, 周奕华*

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 基因组生物学研究中心, 北京 100101

* 联系人, E-mail: yhzhou@genetics.ac.cn

收稿日期: 2015-03-05; 接受日期: 2015-04-15; 网络版发表日期: 2015-05-25

国家自然科学基金(批准号: 31125019)和转基因生物新品种培育科技重大专项(批准号: 2011ZX08009-003)资助项目

doi: 10.1360/N052015-00076

摘要 细胞壁是植物细胞重要的特征结构,也是地球上最大的可再生碳水化合物资源库。随着近 20 多年研究技术的发展和多学科交叉手段的应用,植物细胞壁的形成机理得到了很大程度的揭示,勾画出了细胞壁合成、物质转运、形成调控、沉积重构等基本的代谢框架,涉及从胞内到胞外一系列的合成、转运和调控途径。本文概述了近年来细胞壁形成机理研究的热点问题和最新进展,包括对细胞壁结构和成分的新认识,纤维素合成场所(细胞质膜)和非纤维素多糖合成场所(高尔基体)中关键蛋白的挖掘及作用机制的新发现,细胞壁物质膜泡转运与细胞骨架的关系,以及细胞壁形成信号与转录调控网络的新进展。这些发现不仅使人们对细胞壁的合成机理有了更深入的认识,也为细胞壁经济价值的开发与利用奠定了重要的理论基础。同时本文还对该领域未来可能的热点和研究方向进行了展望。

关键词

细胞壁
纤维素
半纤维素
果胶质
木质素
细胞骨架

细胞壁(cell wall)是植物细胞区别于动物细胞的特征性结构之一,也是最早被观察到的植物细胞结构。早在 1665 年英国科学家 Robert Hooke 用自己设计的显微镜第一次观察了植物细胞的构造,并首次称他所看到的类似蜂巢的小室为细胞(cell)。实际上他观察到的只是细胞壁,从此开启了探索植物细胞结构与功能奥秘的大门。然而,在很长一段时间内,人们认为细胞壁是一成不变的“死盒子”。但科学的发展使人们逐渐认识到植物细胞壁是一个高度动态变化的复杂网络结构,其结构与功能高度适应。对植物体而言,细胞壁与植物生长发育的众多过程密切相关,不仅在形态建成、器官发育及信号转导中均发挥重要作用,还可为植株提供机械支撑,运输水分和养料,保护植株免受病虫害的侵蚀并提高植株对环

境的适应性等。

植物细胞壁是地球上最丰富的可再生资源,为推动人类文明进步发展做出了不可磨灭的贡献。我国古代四大发明之一的造纸术就是人们开发、利用植物木质纤维素价值的创举。棉麻纤维很早就被用于纺织等。然而细胞壁对人类的贡献不仅限于此,人们赖以生存的食物、日常用品、建筑材料和工业原料等很多都来源于植物细胞壁。尤其在能源日渐紧缺的今天,细胞壁具有可以被转化为安全、清洁的可再生能源的潜力,成为炙手可热的生物质资源。

然而植物细胞壁却是被了解最少的细胞结构,正是由于这个原因,人们对细胞壁の利用还不到其年产量的 2%。近年来,随着基因组学、分子遗传学等学科的发展,植物细胞壁形成机理得到了很大程度

引用格式: 张保才, 周奕华. 植物细胞壁形成机制的新进展. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 544-556

Zhang B C, Zhou Y H. Plant cell wall formation and regulation. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 544-556, doi: 10.1360/N052015-00076

的揭示,为细胞壁经济价值的开发与利用奠定了理论基础.本文就近年来细胞壁领域最新的研究进展进行综述和展望.

1 植物细胞壁结构与成分

了解细胞壁需从其结构和成分开始.植物化学分析表明,细胞壁主要由纤维素(cellulose)、半纤维素(hemicellulose)和果胶质(pectin)等结构多糖、木质素(lignin)及少量蛋白质和矿物质等构成.各类成分的含量和结构在不同物种、不同组织、不同细胞类型、甚至不同亚细胞部位均有差别.因而,植物细胞壁结构与成分具有高度的复杂性和多样性^[1].

细胞壁可初略分为 2 种类型:初生壁和次生壁.前者为正在生长中细胞的细胞壁,通常生长发育旺盛部位的细胞只有初生壁;后者则是在初生壁和细胞质膜之间加厚的细胞壁,主要存在于植物机械组织等特定的细胞中.纤维素无论在初生壁还是次生壁中都是最主要的成分,含量可达 40%~70%,约占植物干重的 1/3.纤维素的分子结构非常简单,为不分支的 β -1,4-葡聚糖链(图 1).通常数十条葡聚糖链组装成绳索状的结晶态微纤丝(microfibril),微纤丝将进一步聚集成纤维素的高级结构,成为细胞壁的基本骨架^[2].结晶度和晶体大小是描述纤维素高级结构的重要参数,与纤维素的经济价值密切相关.随着近年来高分辨率成像技术的应用,纤维素的高级结构得到了初步的了解.利用双轴向电子断层成像技术,估算单个微纤丝直径约为 3.2 nm^[3].而通过 X-射线衍射并结合固相核磁共振技术分析云杉(*Picea asperata*)和芹菜(*apium graveolens*)的细胞壁,发现微纤丝的平均直径约为 2.9~3.0 nm,支持 24 链矩形排列模式^[4].原子力显微镜观察显示,玉米细胞壁的纤维素微纤丝呈半扭转的条带状结构,在初生壁中呈分散平行排列,而在次生壁中呈簇状排列^[5].因此,纤维素是构成细胞壁网络结构的基本骨架,但其高级结构非常复杂,人们对它的认知仍很初浅.

半纤维素的含量仅次于纤维素,也具有 β -1,4-糖苷键相连的主链结构,在植物进化中变异较大^[1].主要类型有木聚糖(xylan)、木葡聚糖(xyloglucan)、甘露聚糖(mannan)和混联型葡聚糖(β -1,3;1,4-glucan)等(图 1).木聚糖主链是由木糖以 β -1,4 键相连形成的同聚物,存在(甲基)葡萄糖醛酸和/或阿拉伯糖侧链替代,

是次生壁主要成分之一.在多种植物中还发现木聚糖的还原端具有一个寡聚四糖序列: β -Xyl-(1 $\rightarrow$ 3)- α -Rha-(1 $\rightarrow$ 2)- α -GalA-(1 $\rightarrow$ 4)-Xyl.木葡聚糖含 β -1,4-葡聚糖主链和不同组合的寡糖侧链,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中的木葡聚糖以 XXXG 类型侧链模式为主.最近在拟南芥根中新发现了一种含半乳糖醛酸糖基的侧链形式,对根毛形成至关重要^[6].甘露聚糖则是甘露糖以 β -1,4 键相连形成的多聚物,但在一些物种中具有半乳糖基侧链替代,还存在葡萄糖基掺入主链的现象.混联型葡聚糖主要存在于禾本科植物,是由 β -1,4 型和 β -1,3 型糖苷键相间连接形成的不分支葡聚糖.相邻 β -1,3 型糖苷键间隔较为固定,通常间隔 2~3 个葡萄糖残基.除混联型葡聚糖外,其他类型半纤维素具有不同程度的乙酰化修饰,对其理化性质以及与纤维素的交联方式有重要影响.

果胶质是一类以酸性糖基为主的多糖,依据其组成和结构特征可分为: I 型鼠李半乳糖醛酸聚糖(rhamnogalacturonan I, RG I)、II 型鼠李半乳糖醛酸聚糖(rhamnogalacturonan II, RG II)和同聚半乳糖醛酸聚糖(homogalacturonan, HG)等 3 类结构域(图 1)^[7].其中 RG I 主链为二糖重复单元(-Rha-(1 $\rightarrow$ 4)-GalA-(1 $\rightarrow$ 2)-)聚合形成的异聚物,同时具有不同程度的阿拉伯聚糖和半乳糖侧链替代. RG II 和 HG 主链均为半乳糖醛酸经 α -1,4 键相连形成的同聚物. RG II 结构最为复杂,具有相对固定的 A, B, C, D 等 4 种侧链替代,在植物体内主要以二聚体形式存在,但在不同物种间却最为保守.其寡糖侧链中含有像芹菜糖(apiose), 2-酮基-3-脱氧辛酸(3-deoxy-oct-2-ulonic acid, Kdo)等植物中罕见的糖基形式. HG 是果胶的主要成分,在其部分区域具有少量的木糖基侧链替代(称为木半乳糖醛酸聚糖(xylogalacturonan, XGA)),在一些植物中还存在芹菜糖侧链替代等形式. HG 可结合钙离子形成拉链状结构.此外, RG I 和 HG 主链的半乳糖醛酸存在乙酰化修饰形式. HG 还具有甲酯化修饰,最高修饰程度可达 80%,并影响植物器官发育.之所以称以上 3 类为结构域,是因为越来越多的证据显示它们的主链以共价键相连,在细胞粘连方面发挥重要作用.多个果胶质合成缺陷突变体存在细胞异常脱落和分离表型,为上述结论提供了遗传证据^[7].

木质素是由苯丙烯盐基醇转化形成的香豆醇(coniferyl alcohol, G 单体)、松柏醇(sinapyl alcohol, S

图1 植物细胞壁主要多糖结构及其主要合成蛋白

左侧为各种多糖名称, 右侧为参与主链合成的关键蛋白, 箭头指示出催化侧链取代的各种糖基转移酶. 紫色填充表示为稀有糖基; 红色填充表示为醛糖基; 绿色填充表示为木糖基; 蓝色填充表示为中性糖基. CESA: 纤维素合酶; CSLC: 类纤维素合酶C家族蛋白; XLT2: 半乳糖基转移酶; FUT1: 岩藻糖基转移酶; AXY8: 岩藻糖苷酶; AXY4: TBL类乙酰基转移酶; MUR3: 半乳糖基转移酶; BGAL10: 半乳糖苷酶; XXT1/2: 木糖基转移酶; GUX1/2: 葡萄糖醛酸糖基转移酶; IRX15: 甲基转移酶; XAX1: 木糖基转移酶; XAT1: 木糖基转移酶; IRX9/14: 木糖基转移酶; IRX10: 木糖基转移酶; GalT: 半乳糖基转移酶; CSLA: 类纤维素合酶A家族蛋白; CSLF/H: 类纤维素合酶F或H家族蛋白; ARAD1/2: 阿拉伯糖基转移酶; GALS1: 半乳糖基转移酶; RGXT1/2/3/4: 木糖基转移酶; GAUT1: 半乳糖醛酸糖基转移酶; XGD1: 木糖基转移酶

单体和芥子醇(*p*-coumaryl alcohol, H单体)等酚类单体聚合形成的多聚物, 主要出现在次生壁中^[8]. 木质素具有极强的疏水性, 是植物登陆的重要标志物之一, 并在进化上呈多样性: 裸子植物的木质素主要来自G单体, 被子植物的主要来自G和S单体, 而禾本科植物则含有H, G, S3种类型木质素单体. 最近在苜蓿(*Medicago sativa*)突变体中发现了由松柏醛和芥子醛形成的新型单体成分^[9].

细胞壁中还包含少量蛋白质、脂类分子和大量的

水分等. 水分对于细胞壁的正常功能也是必需的. 细胞壁蛋白主要为羟脯氨酸富集蛋白(hydroxy-Pro-rich glycoprotein, HRGP), 包括延展蛋白(extensin)、阿拉伯半乳糖蛋白(arabinogalactan protein, AGP)、凝集素(lectin)和脯氨酸富集蛋白(Pro-rich proteins, PRP)等4类^[10]. 其中延展蛋白是最早被发现的, 也是迄今研究最为深入的. 延展蛋白具有自发组装的能力, 可自发形成树枝状支架结构, 在过氧化物酶作用下形成不溶性胶状结构^[11]. 它还可能与果胶质形成凝聚物,

引导新生细胞壁物质在细胞板处沉积. 另一个研究较为深入的细胞壁功能蛋白是扩展蛋白(expansin), 它具有松弛细胞壁促进细胞伸长的功能. 最新研究显示, 扩展蛋白体外可结合葡聚糖链^[12], 在细胞壁中结合富含木葡聚糖的纤维素特异结构域行使功能^[13].

基于长期的显微观察和化学分析等研究, 人们提出了以拴系网络(tethered network)为代表的多个模型以阐述细胞壁结构(图 2), 但由于受技术手段等限制, 对细胞壁分子结构的认识仍非常初浅. 近期利用生物物理学手段分析拟南芥细胞壁中纤维素、半纤维素和果胶质间的关联, 发现约 25%~50% 纤维素链与果胶质紧密结合, 同时部分木葡聚糖可掺入其中, 产生了木葡聚糖和果胶质与微纤丝紧密结合的初生壁新模型^[14,15]. 而 APAP1(arabinoxylan pectin arabinogalactan protein 1)蛋白的鉴定为木聚糖, 果胶质和 AGP 蛋白共价交联补充了新的证据^[16]. 在次生壁中, 纤维素微纤丝呈簇状分布, 木质素则被认为填充了大部分微纤丝簇间的空隙. 此外, 根毛和花粉管等部位顶端生长形成的细胞壁具有特异的组成和结构^[17]. 细胞壁的详细结构还有待进一步研究、揭示.

2 细胞壁物质合成

近 20 多年来, 随着分子遗传学的发展, 大量负责细胞壁物质合成的关键基因被克隆和鉴定, 细胞壁主要成分的生物合成过程得到了基本的解析(图 1 和 2).

纤维素的葡聚糖链是由纤维素合酶复合体(cellulose synthase complex, CSC)在质膜上以胞内尿苷二磷酸葡萄糖为底物合成并分泌到胞外. 通常认为 CSC 由 3 种不同类型纤维素合酶催化亚基(cellulose synthase, CESA)组合而成, 呈六瓣状玫瑰花环结构. CESA 基因家族的不同成员依据遗传分析被分为 2 类, 分别负责初生壁和次生壁纤维素的合成. 拟南芥中无论是初生壁相关的 CESA1, CESA3 和 CESA6 蛋白还是次生壁相关的 CESA4, CESA7 和 CESA8 蛋白都表现出 1:1:1 的分子比例^[18,19]. 然而近期研究发现, CSC 的成员组合远比想象的复杂, 2 种类型的 CESA 在转录和蛋白水平均存在混合现象^[20,21]. 而且 CESA 蛋白的磷酸化对其活性有重要影响^[22]. 关于纤维素合成酶的另一方面新突破出现在

图 2 细胞壁结构及其合成过程示意图

细胞壁合成的 2 个主要场所是细胞膜和高尔基体. CSC 位于细胞膜上催化纤维素链的延伸, 而 CSC 在高尔基体中组装, 然后被转运到细胞膜上. 半纤维素、果胶质和糖蛋白是在高尔基体中合成, 其产物通过膜泡转运过程分泌到胞外. 木质素单体是在细胞质中合成, 单体通过一定的途径转运到胞外. 不同的细胞壁物质在胞外进行沉积组装, 最后形成有功能的复杂网络结构. CSC: 纤维素合酶复合体; CW: 细胞壁; MT: 微管; G: 高尔基体; N: 细胞核; PM: 细胞膜; V: 囊泡

蛋白的三维晶体结构研究上. 细菌纤维素合酶三维结构的解析对纤维素合成模式的阐明和纤维素的体外合成具有重要意义. 通过解析细菌纤维素合酶 BcsA-BcsB 复合体的晶体结构, 明确了其催化活性结构域和葡聚糖链的输出通道, 提出了纤维素合成和输出偶联模型^[23], 并得到了体外重组实验的验证^[24]. 据推测, 纤维素的葡聚糖链在合成后将立刻进行自组装形成不同晶体结构的微纤丝^[25], 该组装过程是否还需要一些关键蛋白的参与却不甚清楚. 近期的研究发现, COBRA 类蛋白 BC1(brittle culm 1)可以结合结晶态纤维素, 调控纤维素晶体大小和结晶化程度^[26], 证实了纤维素高级结构组装的复杂性. 而对更多纤维素合成关键蛋白, 如 Korrigan, Kobitol, Chitinase-like1 的功能解析将使对纤维素生物合成过程的认识更加深入.

半纤维素的主链除木聚糖主链外, 均是由类纤维素合酶(cellulose synthase like, CSL)负责合成(图 1). CSLA 家族成员负责合成甘露聚糖主链, 体外酶活实验证实了该类蛋白可同时以鸟苷二磷酸甘露糖和鸟苷二磷酸葡萄糖为底物, 因此主链可掺入葡萄糖残基. 糖基转移酶 TfGalT(*Trigonella foenum-graecum* galactosyltransferase)则负责半乳糖基侧链形成^[27]. CSLC 家族成员负责合成木葡聚糖主链, 而糖基转移酶 XXT1-5(xyloglucan xylosyltransferase 1-5)负责侧链木糖基化替代; MUR3(Murus 3)和 XLT2 (xyloglucan L-side chain galactosyltransferase position 2)负责半乳糖基化修饰; FUT1(fucosyltransferase 1)负责岩藻糖基化修饰; 最近发现糖基转移酶 XUT1(xyloglucan-specific galacturonosyltransferase 1)负责半乳糖醛酸取代^[6]. 近年的研究发现木葡聚糖侧链形成模式不仅取决于糖基转移酶, 也依赖于木糖苷酶 AXY1(altered xyloglucan 1)、半乳糖苷酶 BGAL10 和岩藻糖苷酶 AXY8^[28]等水解酶^[29]. CSLF(cellulose synthase like F)和 CSLH(cellulose synthase like H)家族成员均可合成混联型葡聚糖, 但 1 种酶形成 2 种不同糖苷键有悖于酶的专一性特征, 仍有待进一步研究^[1]. 木聚糖的主链虽然也是 β -1,4 糖苷键相连, 却是由糖基转移酶 GT43 家族的 IRX9(irregular xylem 9), IRX14 和 GT47 家族的 IRX10 等及其类似成员合成. 不同于多次跨膜的 CESA 和 CSL 等行进式糖基转移酶, 这些糖基转移酶为单次跨膜的 II 型膜蛋白, 因而它们如何形成

长达近百个木糖基的主链, 是当前研究的热点之一. 拟南芥木聚糖末端特征序列主要由 FRA8(fragile fiber 8)/IRX7, IRX8 等合成^[27], 拟南芥 GT8 家族 GUX1/2(glucuronic acid substitution of xylan 1/2)和甲基转移酶 IRX15 等催化形成(甲基)葡萄糖醛酸侧链, 小麦(*Triticum aestivum*)糖基转移酶 XAT1/2(xylosyl arabinosyl substitution of xylan 1/2)催化形成阿拉伯糖基替代, 水稻(*Oryza sativa*)糖基转移酶 XAX1(xylosyl arabinosyl substitution of xylan 1)可在阿拉伯糖基替代上进一步添加木糖基. 然而目前仅 IRX10 被证明具有催化木聚糖链延伸活性, 其他催化酶尚需生化证据的支持. 在果胶合成方面, 据推测至少需要 67 种不同的酶参与其中, 功能被鉴定的却非常有限. 研究显示糖基转移酶 GAUT1 (Galacturonosyltransferase 1)和 GAUT7 相互作用合成同聚半乳糖醛酸聚糖, XGD1(xylogalacturonan deficient 1)形成 XGA 的木糖基侧链; RGXT1/2/3/4(rhamnogalacturonan II xylosyltransferase 1/2/3/4)添加 RG II 的 A 型侧链上木糖基末端^[30]; ARAD1/2(arabinan deficient 1/2)参与 RG I 阿拉伯聚糖侧链的合成, GALS1(galactan synthase 1)催化半乳糖延伸反应. 而果胶甲酯酶(pectin methylesterase, PME)和果胶甲酯酶抑制子(PME inhibitor, PME1)相互作用, 调控甲酯化状态, 控制顶端生长和器官原基发育^[7]. 在多糖的乙酰化修饰方面, RWA(reduced wall acetylation)蛋白可转运供体乙酰辅酶 A. 拟南芥 *axy4 axy4l* 突变体木葡聚糖侧链半乳糖乙酰化修饰完全缺失^[31]; TBL (trichomes birefringence like)家族成员 TBL29 的突变体表现出木聚糖乙酰化程度严重下降, 表明 TBL 蛋白是乙酰基转移酶, 参与多糖的乙酰化修饰.^[29]

半纤维素和果胶质主要在高尔基体中合成(图 2). 催化这些多糖合成的 CSL 蛋白和糖基转移酶均以核苷酸糖为底物. 然而, 绝大部分核苷酸糖底物是在胞质中合成^[32]. 叶绿体通过光合作用固定二氧化碳, 最终输出磷酸丙糖至胞质形成磷酸糖池. 其中葡萄糖-1-磷酸反应生成尿苷二磷酸葡萄糖; 甘露糖-1-磷酸反应生成鸟苷二磷酸甘露糖, 二者经异位酶, 脱氢酶和脱水酶等蛋白的作用形成多种尿苷二磷酸糖和鸟苷二磷酸糖. 尿苷二磷酸氨基糖则由果糖-6-磷酸经加氨基等反应最终形成. 由于大多数糖基转移酶的催化区朝向高尔基体腔内, 人们推测植物中存在一

类将核苷酸糖从胞质运入高尔基体中的转运子。BC14 是利用水稻脆秆突变体鉴定的尿苷二磷酸葡萄糖转运蛋白, 它的缺陷造成众多含葡萄糖基的多糖合成异常^[33]。该研究首次为上述推测提供了遗传学证据, 但其他核苷酸糖, 如尿苷二磷酸木糖, 是否需要特异的转运蛋白尚不明确。

在木质素合成方面, 3 类木质素单体的合成过程已基本清楚, 苯丙氨酸通过一系列的催化酶接连反应生成 G, S, H 等 3 类单体。然而, 该代谢途径仍需探究完善。最近对拟南芥 CSE (caffeoyl shikimate esterase) 功能的研究修正了从咖啡酰莽草酸到咖啡酰辅酶 A 的转化过程^[8]。应用系统生物学方法分析多个单体合成步骤改变后的效应, 是对该代谢网络研究的另一个新热点^[34]。此外, 单体如何被转运到胞外也是被关注的热点问题, 最近发现的 ATP 结合盒转运子 (AtABCG29) 具有香豆醇转运活性的报道填补了这方面的研究空白^[35]。单体的聚合是在胞外过氧化物酶和漆酶 (laccase) 的催化下通过自由基氧化激活和自由基偶合作用完成。人们在苜蓿 *cad1* 突变体中观察到了醛型单体前体松柏醛和芥子醛被用于多聚物合成的现象^[9]。此外, 导管附近的薄壁细胞虽然不发生木质素化, 却表达肉桂酰辅酶 A 还原酶 (cinnamoyl-CoA reductase, CCR) 和肉桂醇脱氢酶 CAD1 (cinnamyl alcohol dehydrogenase 1) 等单体合成基因, 相关产物以非自主的方式扩散到导管中, 在导管木质素化过程中发挥重要作用^[36]。

除上述多聚物外, 细胞壁蛋白的翻译后修饰近年来也取得了重要进展。延展蛋白和 AGP 蛋白中的脯氨酸羟基化作用由羟化酶 P4H (prolyl 4-hydroxylase) 催化完成, 并决定后续的糖基化作用位点^[37]; 3 类 GT8 蛋白 HPAT1/2/3 (Hyp O-arabinosyltransferase 1/2/3) 催化羟脯氨酸阿拉伯糖基化; 而糖基转移酶 RRA-1/-2/-3 (reduced residual arabinose-1/-2/-3) 和 XEG113 (xyloglucanase 113) 参与阿拉伯寡糖侧链的延伸过程等^[38]。这些发现对细胞壁合成机理的阐明具有重要的意义。

3 细胞骨架在细胞壁形成中的作用

早在 20 世纪 60 年代, Green^[39] 根据长期观察到的微管与纤维素微纤丝排列的一致现象, 提出了“微管-

微纤丝关联假说”(microtubule-microfibril alignment hypothesis)^[40]。大量的证据表明, 当微管的排列发生改变时, 微纤丝的排列也将变化。然而, 这种排列一致性也有矛盾的时候。有时微管的缺失并不影响纤维素微纤丝的有序排列。因此, 对于这一假说人们争论了 40 多年。里程碑式的工作来自于 Somerville 实验室, 他们首次利用荧光蛋白融合拟南芥 CESA6 标记纤维素合酶复合体 CSC, 在拟南芥下胚轴中实时观察 CSC 的分布和运动情况, 发现 CSC 在细胞膜上为双向运动, 并受皮层微管的引导^[2], 直观地证实了之前长期争论的皮层微管和纤维素微纤丝排列的关系问题。利用相似技术, CSC 的胞内囊泡转运形式及运动规律也相继被报道^[41,42]。研究显示这类囊泡可出现在一条微管上, 其运动速率与微管解聚的速率相吻合。如果微管解聚, 不仅囊泡的形成和运动速率会受到影响, CSC 向质膜的插入速率也会改变^[41,43,44]。除微管外, 微丝的解聚也可导致 CSC 囊泡的运动中止和聚集^[41,42]。而细胞质膜上的 CSC 内吞过程主要由网格蛋白 (clathrin) 和 $\mu 2$ 蛋白介导^[45]。

为“微管-微纤丝关联假说”提供进一步支持的是 CESAs 互作蛋白 CSI1 (cellulose synthase-interactive protein 1) 的发现。利用 AtCESA6 胞质区肽段作为钓饵, 通过酵母双杂交筛选拟南芥全基因组 cDNA 文库, 发现了与 AtCESA6 和 AtCESA1 互作的蛋白 CSI1^[46]。CSI1 基因与拟南芥初生壁的 CESA 基因高度共表达。序列分析显示 CSI1 编码一个植物特异的含有 10 个 Armadillo 重复结构的蛋白^[47]。CSI1 基因的突变造成下胚轴和根细胞形态异常, 纤维素含量降低^[46]。最新的研究表明, CSI1 的突变并不影响 CESA 在高尔基体及高尔基小体中的分布, 以及从高尔基小体插入到质膜上的速率^[48]。CSI1 能与 CESA6 共定位, 并且具有体外结合微管的活性^[47]。这些发现将 CSI1 与 CSCs 和微管直接联系在一起 (图 1)。CSC 复合体运输和运动的调控机制是细胞壁研究领域当前的主要热点之一。推测可能在 CSC 与微管之间具有一个类似脚手架的结构 (图 2), 指引和调控 CSC 沿着微管运动, 合成纤维素^[47,48], 但要阐明分子机制还有待于新互作蛋白的发现及其功能的揭示。

木质部导管分子具有不同的次生细胞壁加厚形式, 包括环纹、螺旋、网纹、纹孔形式的导管, 这些次生壁形式的形成也与微管有着密切的关系。研究发现, 一些微管结合蛋白影响微管的解聚或组装, 可

调控次生壁沉积的形式^[49,50]。MIDD1(microtubule depletion domain 1)便是新发现的可结合微管并在正端解聚皮层微管的蛋白。它在导管中可与马达蛋白 Kinesin-13A 互作,沿微管的正端解聚皮层微管,导致此处不能沉积次生壁,从而形成纹孔^[51]。进一步研究发现,MIDD1 能被 GTP 结合态 ROP11(Rho GTPases of plants 11)招募到细胞质膜的特定区域,并在此处形成纹孔。而 MIDD1 和 ROP11 复合体的定位一方面受鸟嘌呤交换因子 ROPGEF4(ROP guanine nucleotide exchange factor 4)和调控因子 ROPGAP3(Rho GTPase-activating protein 3)的调控,同时也接受来自皮层微管的制约。而这种相互制约关系可以推及并解释网纹、环纹等其他次生壁沉积形式的形成^[52]。尽管这些发现从一个侧面证实细胞壁的形成需要微管的参与,即微管的解聚处没有次生壁的合成,但对于微管如何介导次生壁的沉积仍需深入的研究。

4 细胞壁形成的信号与转录调控网络

众所周知,植物的许多生长发育过程是由不同的植物激素介导,而细胞壁合成与重构则是响应这些信号、执行各种具体功能的末端。植物对激素的响应、对环境的适应和对胁迫的应答最终会在细胞壁的成分和结构上体现出来。因此,植物存在一些基本的机制将激素信号与细胞壁形成连接在一起。研究表明,多个植物激素合成和信号转导关键基因的突变均会导致细胞壁相关的基因表达下调。例如,赤霉素 *gal-3* 和 *gai* 突变体中醛酸糖含量和果胶甲酯化程度下降^[53]。拟南芥下胚轴中 *XTH*(xyloglucan endotransglucosylase-hydrolase)的表达受赤霉素诱导^[54]。*BR*(brassinosteroid)合成突变体中 *KORRIGAN* 和 *XTH* 的转录本也下调^[55]。另一方面,细胞壁的突变体常表现出激素合成或感知异常的表型。例如,拟南芥 *CESA3* 突变后导致乙烯和茉莉酸合成途径的多个基因上调表达,突变体植株中乙烯和茉莉酸含量升高^[56]。然而,这种联系被证明是直接关联的仍为数不多。研究发现,生长素相关的转录因子 *BREVIPED-ICELLUS*(BP)可结合木质素合成途径多个基因的启动子区,直接调控这些基因的表达,而 *BP* 基因的突变体也相应表现出木质素合成异常的表型^[57]。

由于细胞壁成分和含量受细胞类型和发育阶段

的严格调控,植物体内应存在参与细胞壁形成及响应细胞壁改变的信号通路和应答机制。位于外质体和细胞膜上的受体类激酶(receptor-like kinase, RLK)既可作为一些信号分子的重要受体,又可将信号跨膜转移传递到细胞内,成为细胞壁信号通路的重要元件(图 2)。*prc1*(*procuste 1*)是一个拟南芥下胚轴变短的突变体,源于 *CESA6* 的突变。通过筛选下胚轴伸长的 *prc1* 抑制子,克隆到一个 CrRLK 类受体激酶 *THE1*(*theseus1*)。尽管 *the1* 不能恢复纤维素的含量,却能够部分恢复由此引起的下胚轴变短、木质素异位沉积的表型。说明 *THE1* 很可能是感知细胞壁完整性的传感器^[58]。*FER*(*feronia*)和 *HERK1*(*hercules 1*)是 *THE1* 的同源基因,它们均受 BR 的诱导。遗传学研究表明,BR 与这 3 个类受体激酶所调控的细胞伸长信号途径可能相互关联^[59]。*FEI1* 和 *FEI2* 蛋白是富含亮氨酸重复序列类受体类激酶(LRR-RLK),单突变体没有明显的表型,双突变体在高浓度蔗糖培养基上表现为根部肥大,纤维素含量下降,木质素异位沉积。酵母双杂交实验表明 *FEI1/2* 可与乙烯前体合成蛋白 *ACS5*(1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase 5)和 *ACS9* 互作,但不能磷酸化二者,其突变体表型能够被乙烯合成抑制剂恢复。暗示 *FEI1/2* 所介导的信号途径可能与乙烯合成相关^[60]。然而除激素外,目前已明确的能调控细胞壁形成的信号分子仍相当少。果胶或半纤维素降解产生的寡糖素(oligosaccharin)被认为可能作为信号,被某些受体所感知,从而调控细胞壁形成^[61]。果胶降解产生的寡聚半乳糖醛酸最近被证实为激酶 *WAK1*(wall associated kinase 1)的配体^[62],可通过丝裂原活化蛋白激酶 *MAPK3*(mitogen-activated protein kinase 3)和 *MAPK6* 调控细胞膨胀和逆境反应。最新的研究发现,过量表达杨树自身 β -mannanase 可水解甘露聚糖等产生寡糖,抑制次生壁加厚^[63]。

无论是上游激素信号还是受体类激酶所介导的信号通常会经相关的转录因子传递到参与细胞壁形成的基因。细胞壁形成的转录调控机制在次生壁中研究得相对较为清楚。人们通过研究拟南芥的束间纤维细胞形成和体外诱导导管分化体系,并结合相关的芯片分析结果,鉴定出了调控次生壁形成的关键开关,即与木质部发育相关的 *VND6/7*(vascular-related NAC domain 6/7)和参与束间纤维细胞形成的 *SND1*(secondary wall-associated NAC domain 1)及

NST1(NAC secondary wall thickening promoting factor 1)等^[64,65]. NST1在苜蓿中的缺失突变导致S型木质素单体的缺乏和纤维细胞的消失. 研究还发现 NST1可以直接激活木质素合成基因 *F5H*(Ferulate 5-hydroxylase)的表达^[66], 显示 NST1/2 正调控次生壁形成, 是次生壁形成的重要调控开关. 它们均属于 NAC (NAM, ATAF, and CUC)类转录因子, 通过调控下游的 MYB 类转录因子, 如 MYB46 和 MYB83 行使功能. 首个被报道的影响细胞壁形成的 MYB 转录因子是 MYB26, 其拟南芥突变体表现次生壁加厚异常, 花药囊无法正常开裂^[67], 但将 MYB 转录因子与次生壁形成真正联系起来的是拟南芥 MYB46 的功能鉴定. 拟南芥 MYB46 和 MYB83 的突变体表现为导管塌陷, 而过表达则导致次生壁的异位沉积. SND1 可以直接结合 MYB46 的启动子, 激活其表达^[68,69]. 除激活型的转录因子外, 次生壁形成中还有一些抑制类的转录因子. VNI2(VND-interacting 2)是与 VND7 互作并具有抑制活性的转录因子, 共同调控木质部导管细胞的分化^[70]. 苜蓿 *wrky12* 突变体中薄壁细胞木质化, 其拟南芥同源基因也有类似的功能. 研究发现, WRKY12 通过抑制 NST2 和 C3H(Cys3His)锌指类转录因子的表达调控次生壁形成^[71]. 这些转录因子构成了调控次生壁形成的复杂网络, 抑制型与激活型转录因子并存说明次生壁形成被精密地调控. 但这些转录因子如何响应上游信号从而调控次生壁形成还未见报道. 另外, 近年来在利用小 RNA 研究细胞壁基因转录后调控方面也有较好的进展. 通过鉴定毛果杨(*Populus trichocarpa*)应拉木形成过程中发挥作用的 miRNA 及其靶蛋白, 发现 29 个漆酶基因受 miR397a 的调控. miR397a 过表达后, 漆酶活性下降约 40%, 毛果杨木材中木质素的含量显著下降^[72]. 这些工作对构建木质素等细胞壁成分合成的调控网络是极其有价值的.

5 研究技术的发展

学科的发展依赖于技术的进步. 细胞壁之所以成为被了解最少的植物细胞结构, 主要是因为它是一个复杂的多糖网络, 单一的技术很难对其结构进行全面真实的揭示. 20 世纪 90 年代分子遗传学的兴起对从分子水平了解细胞壁形成机理起了极大的推

动作用. 通过细胞壁成分异常(*mur* 系列)、拟南芥下胚轴长度改变、木质部塌陷(*irx* 系列)、脆性纤维(*fra* 系列)、水稻脆秆(*bc* 系列)和种衣缺陷(*mucilage-modified, mum* 系列)等突变体筛选和基因克隆, 使人们不再仅依赖于经典的生化手段来分离关键基因. 结合反向遗传学的手段, 目前对细胞壁的认识已经有很大的提高. 随着认识的深入, 多学科交叉已成为研究细胞壁所必需的手段.

植物化学技术是分析细胞壁结构与成分的关键手段. 由于细胞壁多糖主要由 7 种中性糖、2 种酸性糖按照不同的键位形式连接而成, 研究细胞壁成分的常用手段便是将多糖水解成单糖, 利用气相色谱或液相色谱分析单糖含量以确定各种糖的成分. 最早的细胞壁突变体 *murus* 系列就是通过单糖含量测定而筛选获得的, 所鉴定的基因多为参与细胞壁合成的关键基因. 在制备单糖时如果加上甲基化取代步骤, 便可检测不同键位连接形式的单糖含量, 有助于判明单糖来自哪种多糖. 然而大量的研究表明, 仅依靠测定单糖不能对细胞壁结构与成分有更深入的了解. 一些多糖特异性水解酶的发掘和利用, 使人们可以对细胞壁多糖进行切割并获得寡糖, 结合聚丙烯酰胺凝胶电泳或基质辅助激光解吸飞行时间质谱仪(matrix-assisted laser-desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)等技术分析寡糖的特性. 利用 MALDI-TOF MS 质谱技术, 木葡聚糖的结构得到了更全面的解析^[73].

化学方法由于涉及提取、水解或酶解等化学反应, 不仅耗时还破坏了细胞壁天然的高级结构. 与之相比, 生物物理的方法补偿了化学方法这方面的不足. 傅里叶红外线光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)主要是利用不同细胞壁成分在红外线下呈现不同的能谱原理, 可快速简便地分析不同材料中细胞壁的成分, 在突变体筛选方面有较大的优势. 然而其缺点是不如化学方法准确, 需要成分明确的材料作为参照. X-射线衍射在研究材料的晶体结构方面有较大的优势. 近年来在细胞壁、尤其是纤维素高级结构的研究方面, 不同的X-射线衍射技术发挥了较大的作用. 植物中纤维素晶体和非晶体形式混合并存, 长期以来人们对植物体中纤维素的高级结构一直不甚了解. 利用X-射线衍射技术, 人们推测 24 条纤维素链构成一个矩形模型, 并具有疏水和亲水表面^[4]. 核磁共振波谱技术(nuclear magnetic reson-

ance spectroscopy, NMR)是最近几年发展起来的研究细胞壁自然精细结构的有效手段,被广泛用于分析纤维素晶体结构、多糖结构与修饰形式,以及木质素结构。其优点是非破坏性分析,可最大程度获得细胞壁的天然结构信息,同时可获得的信息量较大。

细胞壁成分和结构随不同细胞类型和不同发育阶段而变化。目前人们对细胞壁的认识大多来自化学或物理方法分离的细胞壁,停留在器官或组织水平。而细胞学技术则让人们从细胞、亚细胞水平认识不同发育阶段的细胞壁。利用不同的细胞壁多糖单克隆抗体和免疫组化技术,可对不同类型的细胞进行原位分析,研究成分、定位、进化等科学问题。而这些糖抗体与酶联免疫吸附测定技术(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)结合又发展出了一项新的检测手段——类似芯片的手段,将糖抗体按一定的规律固定在基质上,与不同来源的细胞壁成分进行免疫组化分析,可快速获得细胞壁成分等信息^[74]。对细胞壁结构的亚细胞观察则依赖于电子显微镜。透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM)以其高分辨率,在观察细胞壁精细结构方面有巨大的优势。扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM)多用于细胞壁表面形貌的观察。然而,由于细胞壁是由不同多糖构成的复杂网络结构,常规 SEM 无论在分辨率还是精细度上无法达到观察网络结构的要求,场发射扫描电子显微镜(field emission scanning electron microscopy, FESEM)补充了常规 SEM 的不足,多用来研究细胞壁中微纤丝的排列情况。原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM)技术由于其达到纳米级的分辨率,在观察细胞壁自然形貌方面有明显的优势。利用该技术,科学家对纤维素晶体大小以及与半纤维素的相互作用进行了观察和计算^[5]。细胞学技术除了在揭示细胞壁超微结构方面发挥巨大的作用外,近年来发展起来的转盘式激光共聚焦和活细胞成像技术极大地推动了关键蛋白的亚细胞行为和细胞壁物质分泌方式的研究,所展现出的研究空间十分令人期待。

此外,近年来兴起的组学技术、尤其是蛋白组学技术在推动细胞壁研究中也发挥了重要作用。由于细胞壁多糖的合成主要发生在细胞质膜和高尔基体中,针对这 2 个亚细胞结构,科学家们开展了大量的蛋白组学工作。鉴定了数百个细胞膜和高尔基体蛋白,并验证不少关键蛋白的功能,包括首个植物高尔

基体驻留的核苷二磷酸酶^[75]。

由此可见,研究细胞壁需要植物化学、生物物理学、细胞生物学、生物化学和分子遗传学知识和技术的交叉应用。这些学科体系的发展也将带动细胞壁研究更进一步的深入。

6 展望

尽管近 20 年的研究已经使人们对细胞壁的认识有了很大程度的提高,但对于有上千个基因参与的复杂的细胞壁形成途径来说这只是“冰山一角”,还有太多的问题等待去探索和解答。细胞壁的合成主要由不同类型的糖基转移酶和水解酶来完成,而目前被揭示功能的酶还很少,明确生化特性的更少。因此除了需要进一步鉴定更多的酶以解析整个代谢途径外,对不同酶的生化特性以及酶底物特异性和产物性质的揭示,更是研究者们需要面对的巨大挑战。只有解答了这些问题,才能利用合成生物学的手段在酵母等反应器中再现某种细胞壁成分的合成途径,大量生产人们需要的多糖产品。

细胞壁物质在完成合成后,需要胞内定向转运和胞外组装与沉积。随着近年来转盘式激光共聚焦显微技术的发展,极大地提高了扫描的速度和观察的分辨率,结合单分子成像技术,使将来实现实时追踪关键蛋白和多糖的分泌过程成为可能,同时也能更加直观地研究细胞骨架在细胞壁物质分泌过程中的作用。因此,细胞壁物质的转运机制将成为一个新的研究热点。细胞壁的组装和沉积是被了解最少的环节,纤维素如何组装?又以怎样的方式与不同的多糖交联?为数不少的细胞壁蛋白的功能是什么?最后如何形成一个有功能的细胞壁?要解答这些问题还需要研究手段的提高和发展。未来能在自然状态下精确分析细胞壁构造技术的出现将会为这方面的研究带来契机。

细胞壁研究的另一个热点将会出现在细胞壁形成的信号及其信号转导通路方面。激素信号如何传递?承接这些激素信号的转录调控网络是什么?最终传递到哪些细胞壁合成的关键基因上?除激素信号,植物还会响应来自植物体内或体外的其他信号,如光照、温度、微生物侵蚀、机械力等,以应对不同的生长环境。细胞壁形成的信号分子有哪几类?相应的受体是什么?信号转导途径又如何?这些研究将为细胞壁经济价值的开发与利用创造出美好的未来。

参考文献

- 1 Burton R A, Gidley M J, Fincher G B. Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls. *Nat Chem Biol*, 2010, 6: 724–732
- 2 Paredez A R, Somerville C R, Ehrhardt D W. Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science*, 2006, 312: 1491–1495
- 3 Xu P, Donaldson L, Gergely Z, et al. Dual-axis electron tomography: a new approach for investigating the spatial organization of wood cellulose microfibrils. *Wood Sci Technol*, 2007, 41: 101–116
- 4 Fernandes A N, Thomas L H, Altaner C M, et al. Nanostructure of cellulose microfibrils in spruce wood. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: E1195–E1203
- 5 Ding S Y, Liu Y S, Zeng Y, et al. How does plant cell wall nanoscale architecture correlate with enzymatic digestibility? *Science*, 2012, 338: 1055–1060
- 6 Peña M J, Kong Y, York W S, et al. A galacturonic acid-containing xyloglucan is involved in *Arabidopsis* root hair tip growth. *Plant Cell*, 2012, 24: 4511–4524
- 7 Atmodjo M A, Hao Z, Mohnen D. Evolving views of pectin biosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 2013, 64: 747–779
- 8 Vanholme R, Cesarino I, Rataj K, et al. Caffeoyl shikimate esterase (CSE) is an enzyme in the lignin biosynthetic pathway in *Arabidopsis*. *Science*, 2013, 341: 1103–1106
- 9 Zhao Q, Tobimatsu Y, Zhou R, et al. Loss of function of cinnamyl alcohol dehydrogenase 1 leads to unconventional lignin and a temperature-sensitive growth defect in *Medicago truncatula*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 13660–13665
- 10 Lamport D T A, Kieliszewski M J, Chen Y, et al. Role of the extensin superfamily in primary cell wall architecture. *Plant Physiol*, 2011, 156: 11–19
- 11 Cannon M C, Terneus K, Hall Q, et al. Self-assembly of the plant cell wall requires an extensin scaffold. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 2226–2231
- 12 Georgelis N, Yennawar N H, Cosgrove D J. Structural basis for entropy-driven cellulose binding by a type-A cellulose-binding module (CBM) and bacterial expansin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 14830–14835
- 13 Wang T, Park Y B, Caporini M A, et al. Sensitivity-enhanced solid-state NMR detection of expansin's target in plant cell walls. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 16444–16449
- 14 Wang T, Zabolina O, Hong M. Pectin-cellulose interactions in the *Arabidopsis* primary cell wall from two-dimensional magic-angle-spinning solid-state nuclear magnetic resonance. *Biochemistry*, 2012, 51: 9846–9856
- 15 Dick-Pérez M, Zhang Y, Hayes J, et al. Structure and interactions of plant cell-wall polysaccharides by two- and three-dimensional magic-angle-spinning solid-state NMR. *Biochemistry*, 2011, 50: 989–1000
- 16 Tan L, Eberhard S, Pattathil S, et al. An *Arabidopsis* cell wall proteoglycan consists of pectin and arabinoxylan covalently linked to an arabinogalactan protein. *Plant Cell*, 2013, 25: 270–287
- 17 Rounds C M, Bezanilla M. Growth mechanisms in tip-growing plant cells. *Annu Rev Plant Biol*, 2013, 64: 243–265
- 18 Gonneau M, Desprez T, Guillot A, et al. Catalytic subunit stoichiometry within the cellulose synthase complex. *Plant Physiol*, 2014, 166: 1709–1712
- 19 Hill J L Jr, Hammudi M B, Tien M. The *Arabidopsis* cellulose synthase complex: a proposed hexamer of CESA trimers in an equimolar stoichiometry. *Plant Cell*, 2014, 26: 4834–4842
- 20 Carroll A, Mansoori N, Li S, et al. Complexes with mixed primary and secondary cellulose synthases are functional in *Arabidopsis* plants. *Plant Physiol*, 2012, 160: 726–737
- 21 Song D, Shen J, Li L. Characterization of cellulose synthase complexes in *Populus* xylem differentiation. *New Phytol*, 2010, 187: 777–790
- 22 Chen S, Ehrhardt D W, Somerville C R. Mutations of cellulose synthase (CESA1) phosphorylation sites modulate anisotropic cell expansion and bidirectional mobility of cellulose synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 17188–17193
- 23 Morgan J L W, Strumillo J, Zimmer J. Crystallographic snapshot of cellulose synthesis and membrane translocation. *Nature*, 2013, 493: 181–186
- 24 Omadjela O, Narahari A, Strumillo J, et al. BcsA and BcsB form the catalytically active core of bacterial cellulose synthase sufficient for *in vitro* cellulose synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 17856–17861
- 25 Harris D M, Corbin K, Wang T, et al. Cellulose microfibril crystallinity is reduced by mutating C-terminal transmembrane region residues CESA1^{A903V} and CESA3^{T942I} of cellulose synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 4098–4103
- 26 Liu L, Shang-Guan K, Zhang B, et al. Brittle Culm1, a COBRA-like protein, functions in cellulose assembly through binding cellulose microfibrils. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003704

- 27 Scheller H V, Ulvskov P. Hemicelluloses. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 263–289
- 28 Gunl M, Neumetzler L, Kraemer F, et al. *AXY8* encodes an alpha-fucosidase, underscoring the importance of apoplastic metabolism on the fine structure of *Arabidopsis* cell wall polysaccharides. *Plant Cell*, 2011, 23: 4025–4040
- 29 Pauly M, Gille S, Liu L, et al. Hemicellulose biosynthesis. *Planta*, 2013, 238: 627–642
- 30 Liu X L, Liu L, Niu Q K, et al. *MALE GAMETOPHYTE DEFECTIVE 4* encodes a rhamnogalacturonan II xylosyltransferase and is important for growth of pollen tubes and roots in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2011, 65: 647–660
- 31 Gille S, De Souza A, Xiong G, et al. *O*-acetylation of *Arabidopsis* hemicellulose xyloglucan requires *AXY4* or *AXY4L*, proteins with a TBL and DUF231 domain. *Plant Cell*, 2011, 23: 4041–4053
- 32 Bar-Peled M, O'Neill M A. Plant nucleotide sugar formation, interconversion, and salvage by sugar recycling. *Annu Rev Plant Biol*, 2011, 62: 127–155
- 33 Zhang B, Liu X, Qian Q, et al. Golgi nucleotide sugar transporter modulates cell wall biosynthesis and plant growth in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 5110–5115
- 34 Vanholme R, Storme V, Vanholme B, et al. A systems biology view of responses to lignin biosynthesis perturbations in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24: 3506–3529
- 35 Alejandro S, Lee Y, Tohge T, et al. *AtABCG29* is a monolignol transporter involved in lignin biosynthesis. *Curr Biol*, 2012, 22: 1207–1212
- 36 Pesquet E, Zhang B, Gorzsás A, et al. Non-cell-autonomous postmortem lignification of tracheary elements in *Zinnia elegans*. *Plant Cell*, 2013, 25: 1314–1328
- 37 Velasquez S M, Ricardi M M, Dorosz J G, et al. *O*-glycosylated cell wall proteins are essential in root hair growth. *Science*, 2011, 332: 1401–1403
- 38 Ogawa-Ohnishi M, Matsushita W, Matsubayashi Y. Identification of three hydroxyproline *O*-arabinosyltransferases in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Chem Biol*, 2013, 9: 726–730
- 39 Green P B. Mechanism for plant cellular morphogenesis. *Science*, 1962, 138: 1404–1405
- 40 Ledbetter M C, Porter K R. A “Microtubule” in plant cell fine structure. *J Cell Biol*, 1963, 19: 239–250
- 41 Crowell E F, Bischoff V, Desprez T, et al. Pausing of Golgi bodies on microtubules regulates secretion of cellulose synthase complexes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21: 1141–1154
- 42 Gutierrez R, Lindeboom J J, Paredez A R, et al. *Arabidopsis* cortical microtubules position cellulose synthase delivery to the plasma membrane and interact with cellulose synthase trafficking compartments. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 797–806
- 43 Crowell E F, Gonneau M, Stierhof Y D, et al. Regulated trafficking of cellulose synthases. *Curr Opin Plant Biol*, 2010, 13: 700–705
- 44 Wightman R, Turner S. Trafficking of the plant cellulose synthase complex. *Plant Physiol*, 2010, 153: 427–432
- 45 Bashline L, Li S, Anderson C T, et al. The endocytosis of cellulose synthase in *Arabidopsis* is dependent on $\mu 2$, a clathrin-mediated endocytosis adaptin. *Plant Physiol*, 2013, 163: 150–160
- 46 Gu Y, Kaplinsky N, Bringmann M, et al. Identification of a cellulose synthase-associated protein required for cellulose biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 12866–12871
- 47 Li S, Lei L, Somerville C R, et al. Cellulose synthase interactive protein 1 (CSII) links microtubules and cellulose synthase complexes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 185–190
- 48 Bringmann M, Li E, Sampathkumar A, et al. POM-POM2/Cellulose synthase interacting 1 is essential for the functional association of cellulose synthase and microtubules in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24: 163–177
- 49 Pesquet E, Korolev A V, Calder G, et al. The microtubule-associated protein AtMAP70-5 regulates secondary wall patterning in *Arabidopsis* wood cells. *Curr Biol*, 2010, 20: 744–749
- 50 Oda Y, Fukuda H. Secondary cell wall patterning during xylem differentiation. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15: 38–44
- 51 Oda Y, Iida Y, Kondo Y, et al. Wood cell-wall structure requires local 2D-microtubule disassembly by a novel plasma membrane-anchored protein. *Curr Biol*, 2010, 20: 1197–1202
- 52 Oda Y, Fukuda H. Initiation of cell wall pattern by a Rho- and microtubule-driven symmetry breaking. *Science*, 2012, 337: 1333–1336
- 53 Derbyshire P, Mccann M C, Roberts K. Restricted cell elongation in *Arabidopsis* hypocotyls is associated with a reduced average pectin esterification level. *BMC Plant Biol*, 2007, 7: 31
- 54 Liu Y B, Lu S M, Zhang J F, et al. A xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase involves in growth of primary root and alters the deposition of cellulose in *Arabidopsis*. *Planta*, 2007, 226: 1547–1560
- 55 Nicol F, His I, Jauneau A, et al. A plasma membrane-bound putative endo-1,4- β -D-glucanase is required for normal wall assembly and cell elongation in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 1998, 17: 5563–5576
- 56 Ellis C, Karafyllidis I, Wasternack C, et al. The *Arabidopsis* mutant *cev1* links cell wall signaling to jasmonate and ethylene responses.

- Plant Cell, 2002, 14: 1557–1566
- 57 Mele G, Ori N, Sato Y, et al. The knotted1-like homeobox gene *BREVIPEDICELLUS* regulates cell differentiation by modulating metabolic pathways. *Genes Dev*, 2003, 17: 2088–2093
- 58 Hematy K, Sado P E, Van Tuinen A, et al. A receptor-like kinase mediates the response of *Arabidopsis* cells to the inhibition of cellulose synthesis. *Curr Biol*, 2007, 17: 922–931
- 59 Guo H, Li L, Ye H, et al. Three related receptor-like kinases are required for optimal cell elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 7648–7653
- 60 Xu S L, Rahman A, Baskin T I, et al. Two leucine-rich repeat receptor kinases mediate signaling, linking cell wall biosynthesis and ACC synthase in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2008, 20: 3065–3079
- 61 Creelman R A, Mullet J E. Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *Plant Cell*, 1997, 9: 1211–1223
- 62 Brutus A, Sicilia F, Macone A, et al. A domain swap approach reveals a role of the plant Wall-Associated Kinase 1 (WAK1) as a receptor of oligogalacturonides. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 9452–9457
- 63 Zhao Y, Song D, Sun J, et al. Populus endo-beta-mannanase PtrMAN6 plays a role in coordinating cell wall remodeling with suppression of secondary wall thickening through generation of oligosaccharide signals. *Plant J*, 2013, 74: 473–485
- 64 Kubo M, Udagawa M, Nishikubo N, et al. Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation. *Genes Dev*, 2005, 19: 1855–1860
- 65 Zhong R, Demura T, Ye Z H. SND1, a NAC domain transcription factor, is a key regulator of secondary wall synthesis in fibers of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18: 3158–3170
- 66 Zhao Q, Wang H, Yin Y, et al. Syringyl lignin biosynthesis is directly regulated by a secondary cell wall master switch. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 14496–14501
- 67 Yang C, Xu Z, Song J, et al. *Arabidopsis* MYB26/MALE STERILE35 regulates secondary thickening in the endothecium and is essential for anther dehiscence. *Plant Cell*, 2007, 19: 534–548
- 68 Zhong R, Richardson E A, Ye Z H. The MYB46 transcription factor is a direct target of SND1 and regulates secondary wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19: 2776–2792
- 69 McCarthy R L, Zhong R, Ye Z H. MYB83 is a direct target of SND1 and acts redundantly with MYB46 in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50: 1950–1964
- 70 Yamaguchi M, Ohtani M, Mitsuda N, et al. VND-INTERACTING2, a NAC domain transcription factor, negatively regulates xylem vessel formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2010, 22: 1249–1263
- 71 Wang H, Avci U, Nakashima J, et al. Mutation of WRKY transcription factors initiates pith secondary wall formation and increases stem biomass in dicotyledonous plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 22338–22343
- 72 Lu S, Li Q, Wei H, et al. Ptr-miR397a is a negative regulator of laccase genes affecting lignin content in *Populus trichocarpa*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 10848–10853
- 73 Mouille G, Witucka-Wall H, Bruyant M-P, et al. Quantitative trait loci analysis of primary cell wall composition in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2006, 141: 1035–1044
- 74 Pattathil S, Avci U, Baldwin D, et al. A comprehensive toolkit of plant cell wall glycan-directed monoclonal antibodies. *Plant Physiol*, 2010, 153: 514–525
- 75 Parsons H T, Christiansen K, Knierim B, et al. Isolation and proteomic characterization of the *Arabidopsis* Golgi defines functional and novel components involved in plant cell wall biosynthesis. *Plant Physiol*, 2012, 159: 12–26

Plant Cell Wall Formation and Regulation

ZHANG BaoCai & ZHOU YiHua

Center for Genome Biology, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Cell wall is one important and characteristic structure of plant cells, which represents the most abundant carbohydrate resources on earth. Based on the development of techniques and knowledge of interdisciplines, much progress has been made in the mechanisms of plant cell wall formation during the past two decades. Basic processes for the synthesis of cell-wall polymers, related vesicle trafficking, transcriptional regulation, and cell wall deposition and remodeling that happen inside and outside cells have been therefore established. In this review, we summarize the hot spot issues and recent progress achieved in the areas of plant cell wall formation and regulation, including new knowledge about cell wall structure and composition, recent findings in the characterization of key components for cellulose biosynthesis at the plasma membrane and for noncellulosic polysaccharide production in the Golgi apparatus, discoveries in the relationship between cytoskeleton and the trafficking processes, and progress in signaling pathways and regulatory network for cell wall formation. All those advances not only further our understanding on the mechanisms of cell wall formation, but also provide the scientific views for exploration and utilization of the economic values of cell wall. In addition, several challenging questions and potential issues regarding this area are discussed.

cell wall, cellulose, hemicellulose, pectin, lignin, cytoskeleton

doi: 10.1360/N052015-00076