

网络出版时间:2014-03-26 17:09

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.04.013

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.04.013.html

植物 MAPK 级联途径及其功能研究进展

张振才,梁 燕,李 翠

(西北农林科技大学 园艺学院,陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 促分裂原活化蛋白激酶(Mitogen Activated Protein Kinase, MAPK)是一种蛋白激酶,蛋白激酶又称蛋白磷酸化酶,其可通过将 ATP 上的磷酸基团转移到底物蛋白质氨基酸残基上,来催化底物蛋白质磷酸化。MAPK 级联途径广泛存在于真核生物中。植物中的 MAPK 级联途径与动物和酵母类似,都包括 MAPKKK、MAPKK 和 MAPK 3 种蛋白激酶。大量的研究表明,植物中的 MAPK 级联途径不仅能被多种生物与非生物胁迫所激活,同时也参与激素信号转导以及植物的生长发育进程。文章就植物中 MAPK 级联途径及其功能的研究情况进行了综述,并展望了相关研究的发展趋势。

[关键词] MAPK 级联途径;抗逆反应;生长发育;信号转导

[中图分类号] Q945.18

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2014)04-0207-08

Review on plant MAPK cascades and their functions

ZHANG Zhen-cai, LIANG Yan, LI Cui

(College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) is one kind of protein kinase. Protein kinases are also known as protein phosphokinases that can catalyze the phosphorylation of substrate proteins by chemically adding phosphate groups from ATP to them. MAPK cascades are conserved signaling modules found in all eukaryotes. The MAPK cascades in plants are similar to those of animals and yeast, including 3 kinds of protein kinases: MAPKKK, MAPKK and MAPK. A large amount of researches have shown that the plant MAPK cascades can be activated by a variety of biotic and abiotic stresses, and they participate in hormone signal transduction and plant growth process as well. This review summarizes the research progress on the functions of MAPK cascades in plants in recent years and provides suggestions on future research directions.

Key words: MAPK cascades; stress resistance; growth and development; signal transduction

蛋白激酶是一类催化蛋白质磷酸化反应的酶,根据磷酸化底物蛋白氨基酸残基的不同,可将蛋白激酶分为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、酪氨酸蛋白激酶、组氨酸蛋白激酶、色氨酸蛋白激酶和天冬氨酰基/谷氨酰基蛋白激酶 5 类,其中前 3 类蛋白激酶已

经从植物中分离得到^[1]。目前研究比较多的是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的促分裂原活化蛋白激酶(Mitogen Activated Protein Kinase, MAPK)和 Ca^{2+} 依赖型蛋白激酶(CDPK)^[2]。

MAPK 级联由 MAPKK 激酶(MAPKKK)、

[收稿日期] 2013-04-10

[基金项目] “十二五”农村领域国家科技计划课题“设施蔬菜高产栽培综合管理技术研究”(2011BAD12B03-03-5);陕西省科技统筹创新工程计划项目(2011KTCL02-03)

[作者简介] 张振才(1988—),男,山东寿光人,在读硕士,主要从事番茄 MAPK 信号转导研究。

E-mail: zhangzhencai0417@nwsuaf.edu.cn

[通信作者] 梁 燕(1963—),女,陕西渭南人,教授,主要从事番茄遗传育种和蔬菜研究。E-mail: liangyan@nwsuaf.edu.cn

MAPK 激酶(MAPKK)和 MAPK 组成。在 MAPK 级联途径中,MAPKKK 通过磷酸化 MAPKK 中的 S/T-x₃₋₅-S/T(S 表示丝氨酸,T 表示苏氨酸,x 表示任意氨基酸,3-5 表示氨基酸个数)基序将其激活;MAPKK 是一类双特异性蛋白激酶,可磷酸化 MAPK 中 T-x-Y 基序的 Thr 和 Tyr 2 个残基。酵母双杂交技术和体外激酶试验发现,特定的 MAPKK 能与不止一个 MAPK 作用;MAPK 位于整个级联途径的最下游,其被激活后进入细胞核,通过激活特定转录因子引起功能基因的表达,或停留在细胞质中激活其他蛋白激酶,最终引起植物细胞对外刺激的生理生化反应^[3]。1993 年,第 1 个植物 MAPK 基因被分离出来,到目前已经从拟南芥、烟草、玉米等多种植物中分离得到了 MAPK 级联途径的组分,其中在拟南芥中发现 80 个 MAPKKK、10 个 MAPKK 和 20 个 MAPK,水稻中有 75 个 MAPKKK、8 个 MAPKK 和 15 个 MAPK,白杨中有 11 个 MAPKK 和 21 个 MAPK,番茄中有 4 个 MAPKK 和 16 个 MAPK^[4-6]。随着植物中 MAPK 组分的丰富、功能缺失型突变体与功能获得型突变体的获得,病毒诱导的基因沉默(VIGS)技术、RNA 干扰(RNAi)技术以及其他一些技术的应用,MAPK 级联途径在植物中的功能得到了阐明,主要集中在

生物胁迫与非生物胁迫应答、激素信号转导和生长发育调控等几个方面。本文就 MAPK 级联途径在这几个方面的研究进展进行了综述,并对相关研究的发展趋势进行了展望。

1 植物 MAPK 级联的组成与分类

MAPK 级联由 MAPKKK、MAPKK 和 MAPK 组成,根据蛋白催化区域的氨基酸序列不同,可以将 MAPKKK 分为 MEKK 类、Raf 类和 ZIK(ZR1-interacting kinase)类,目前研究较为详尽的 YDA、ANP1(Arabidopsis NPK1-like protein kinases 1)、ANP2 和 ANP3 属于 MEKK 类,CTR1(Constitutive triple response 1)和 EDR1(Enhanced disease resistance 1)属于 Raf 类;通过氨基酸比对可以将 MAPKK 分为 A、B、C、D 4 个族,如在拟南芥的 10 个 MAPKK 中,MKK1、MKK2 和 MKK6 属于 A 族,MKK3 属于 B 族,MKK4、MKK5 属于 C 族,MKK7~10 属于 D 族;根据被 MAPKK 磷酸化的保守 T-x-Y 基序可以将 MAPKs 家族分为 2 个亚家族,一类含有 TEY 基序,另一类含有 TDY 基序;根据结构特点及序列不同又可以将含有 TEY 基序的亚家族分为 3 类^[3](表 1)。

表 1 拟南芥 MAPK 级联途径的组成与分类^[3]

Table 1 MAPK signaling components and classification of *Arabidopsis*

组成 Class	基因数量 Number	类别 Group	数量 Number	成员 Named member	催化区域氨基酸序列 Signature motif
MAPK	20	A	3	MPK3/6/10	T(E/D)YVxTRWYRAPE(L/V)
		B	5	MPK4/5/11/12/13	
		C	4	MPK1/2/7/14	
		D	8	MPK8/9/15/16/17/18/19/20	
MAPKK	10	A	3	MKK1/2/6	VGTxxYMSPER
		B	1	MKK3	
		C	2	MKK4/5	
		D	4	MKK7/8/9/10	
MAPKKK	80	MEKK-like	21	MEKK1,ANP1/2/3,MAP3Ke1,YDA	G(T/S)Px(W/Y/F)MAPEV
		ZIK	11	ZIK1	GTPEFMAPE(L/V)Y
		Raf-like	48	EDR1,CTR1	GTx(W/Y)MAPE

注:表中的 x 表示任意氨基酸。
Note:x represents any amino acid.

2 植物 MAPK 级联途径的功能

2.1 参与植物的抗病反应

植物在生长发育过程中常遭受细菌、真菌和病毒的侵害,在长期的进化过程中,高等植物形成了诸如细胞程序化死亡、细胞壁加厚、活性氧猝发、病程相关蛋白(PR)合成以及防卫基因转录激活等抵御

侵害机制。在拟南芥中发现 2 条 MAPK 级联途径参与抗病反应,Asai 等^[7]利用拟南芥原生质体瞬时表达系统发现,flg22-MEKK1-MKK4/5-MPK3/6-WRKY22/29 可以促进抗病基因的表达。也有研究发现,在拟南芥 *mekk1* 缺失突变体中由 flg22 诱导的 MPK4 的活性显著下降,而 MPK3/6 的活性却不受影响,说明除 MEKK1 外,可能存在其他的 MAP-

KKK 激活了抗病反应中的 MPK6^[8]。Mao 等^[9] 的研究表明,MPK3/MPK6 能通过激活 WRKY33 促进植物保护素的合成。以上研究表明,MEKK1-MKK4/5-MPK3/6-WRKY22/29/33 级联途径参与了拟南芥的抗病反应。在拟南芥中还发现 MKK1/2 能激活 MPK4,在 *mkk1mkk2* 功能缺失的双突变体中,由 flg22 诱导的 MPK4 活性明显低于对照^[10]; *mekk1*、*mpk4* 突变体和 *mkk1mkk2* 双突变体的叶片都出现了细胞死亡的症状,并伴随着病程相关蛋白(PR1)和植物防御素(Plant defensin 1, 2, PDF1, 2)的持续表达^[11]。同时,有研究发现,MPK4 能够结合并磷酸化其直接底物 MKS1, MKS1 能与 WRKY33 结合^[12]。由此推测,MEKK1-MKK1/2-MPK4-MKS1WRKY33 级联途径参与了病原菌或病原菌激发子诱导的细胞死亡,抑制了抗病基因的表达^[10,13-14]。

烟草中,有 3 条 MAPK 级联途径参与了病原菌诱导的超敏反应(Hypersensitive response, HR),第 1 条途径是 MAPKKK α /ε-NtMEK2-SIPK/WIPK/NTF4-WRKY8。在病毒载体沉默 TRV::NbMAPKKK ϵ 和 TRV::NbMAPKKK α 的烟草植株中,AvrPto 诱导的 HR 反应明显减弱,过表达植株会出现明显的细胞死亡^[15-16],当用 TRV::MEK2、TRV::SIPK 和 TRV::WIPK 沉默相应的 MAPK 组分时,可以明显降低过表达烟草植株的细胞死亡率,SIPK、NTF4 和 WIPK 都能激活抗病转录因子 WRKY8^[17]。另一条 MAPK 级联途径是 AvrPto-NPK1-NtMEK1-NTF6-HR,当沉默 NPK1、MEK1 和 NTF6 时会减弱 AvrPto 诱导的细胞死亡,并且体内和体外激酶试验表明,NPK1、MEK1 和 NTF6 之间存在上下游激活关系^[18]。Yoshihiro 等^[19] 研究发现,用 INF1 侵染 MKK1 沉默烟草植株时,植株细胞死亡明显少于对照,MKK1 的过表达不能诱导 SIPK 沉默植株的细胞死亡,且 MKK1 可以在体内和体外激活 SIPK,证实 INF1-?(未知)-NbMKK1-NbSIPK 级联途径也参与了细胞死亡的诱导。

用 AvrPto/AvrPtoB 侵染番茄或在番茄中过表达 LeMAPKKK α 、LeMKK2,都能够激活 LeMPK1、LeMPK2 和 LeMPK3,体内和体外激酶试验表明,三者存在上下游关系^[16]。Stulemeijer 等^[20] 发现,野油菜黄单胞菌在 LeMKK2 和 LeMPK2 沉默番茄植株中的数量明显大于对照。以上研究表明,LeMAPKKK α -LeMKK2-LeMPK1/LeMPK2/LeM-

PK3 途径参与了番茄的抗病反应。

2.2 参与植物的非生物胁迫反应

植物的非生物胁迫包括极端温度、干旱、臭氧、紫外线伤害、盐害以及渗透胁迫等。植物体本身具备一些特异机制,激活次级信号转导,调控一系列抗性基因的表达,最终引起植物细胞相应的适应,使之在这些不良条件下得以存活。

Teige 等^[21] 研究发现,在拟南芥原生质体中, MKK2 能被冷、盐胁迫激活;通过酵母双杂交、体外和体内蛋白激酶试验发现, MKK2 能直接与 MPK4 和 MPK6 相互作用;同时发现, *mkk2* 突变体对冷和盐胁迫的抗性减弱,而过表达 MKK2 增强了对冷和盐胁迫的抗性。Yang 等^[22] 报道, Ca²⁺/CaM 与 CRLK1 结合后上调了 CRLK1 的活性,从而激活下游的 AtMEKK1 途径调控冷胁迫反应,拟南芥体内可能存在 CRLK1-MEKK1-MKK2-MPK4/MPK6 信号通路传递冷和盐胁迫信号,调控基因表达。Mizoguchi 等^[23] 研究表明,在干旱条件下, At-MEKK1 和 AtMPK3 在 5 min 内就被诱导表达,1 h 内显著增强,随后表达持续增强,24 h 后达到最高峰。最近研究表明, *mkk4* 缺失突变体在 130 mmol/L NaCl 处理下根系变短,植株鲜质量降低,而过表达 *mkk4* 植株在 160 mmol/L NaCl 处理下长势明显好于对照,MPK3 活性也显著高于对照,说明 MAPK 级联 AtMEKK1-MKK4-MPK3 参与了拟南芥的盐胁迫反应^[24]。

Ichimura 等^[25] 利用酵母双杂交试验,在拟南芥中鉴定出了植物中第 1 条完整的 MAPK 信号通路 AtMEKK1-AtMKK1-AtMPK4,并证明它能传递干旱和机械损伤信号。Hadiarto 等^[26] 研究表明,经损伤处理后,拟南芥 AtMEKK1 很快被诱导表达,并与下游的 MKK1 和 MKK2 相互作用。说明拟南芥中存在 MEKK1-MKK1/2-MPK4 信号通路,参与干旱和机械损伤响应。

金属在植物的新陈代谢及生长发育中是必需的,但高浓度的重金属会对植物产生毒害。有研究表明,重金属可以激活高等植物的 MAPK 级联反应,从而减轻其受害程度。Claudia Jonak 等^[27] 将苜蓿属植物幼苗暴露于过量的铜或镉离子下,发现可以活化 4 种 MAPK,分别是 SIMK、MKK2、MKK3 和 SAMK。拟南芥在镉胁迫下能够通过 H₂O₂ 激活 MPK3/6,用 ROS 清除剂处理可导致 MPK3/6 活性明显降低^[28]。

拟南芥中臭氧通过活化 MKK5 可强烈诱导

MPK3 和 MPK6 的活化^[29]。Dóczy 等^[30]发现 MKK3-MPK7 也参与 H_2O_2 的途径,过表达组成型激活的 MKK3DD 蛋白能增强 H_2O_2 诱导的 MPK7 活性。

2.3 参与植物激素信号的转导

2.3.1 ABA Jammes 等^[31]发现,MPK9 和 MPK12 在拟南芥保卫细胞中优先表达,*mpk 9-1* 和 *mpk12-1* 单突变体依然保持着对 ABA 的敏感性,而 *mpk9-1/12-1* 双突变体却失去了对 ABA 的敏感性,说明 MPK9 和 MPK12 功能冗余且都参与拟南芥保卫细胞运动。Gudesblat 等^[32]运用保卫细胞特有的反义抑制技术,抑制拟南芥 MPK3 的表达,从而部分阻断气孔对 ABA 和 H_2O_2 诱导关闭的敏感性,推测 MPK3 参与了 ABA- H_2O_2 诱导气孔关闭的信号途径。

ABA 能够通过 MAPK 诱导抗氧化基因的表达。研究发现,水分胁迫下玉米叶片 ZmMPK5 的活性显著增加,其活性增加是由水分胁迫下内源 ABA 积累所引起的^[33];此外,ABA 诱导的 H_2O_2 产生是 ZmMPK5 活化所必需的,ZmMPK5 活化参与 ABA 诱导的 CAT1、cAPX 和 GR1 基因表达以及 CAT、SOD、GPX 和 GR 的活化^[34]。Xing 等^[35]发现,MKK1-MPK6 信号通路参与 ABA 依赖的 CAT1 基因的表达以及 H_2O_2 的产生;在 *mkk1* 突变体中,ABA 诱导下 CAT1 的转录水平和 MPK6 的活性被抑制,而在过表达 MKK1 植株中两者活性均增强。Luo 等^[36]研究表明,在棉花中 *AtMPK6* 的同源基因 *GhMPK6* 也参与了 ABA 诱导的 CAT1 活化和 H_2O_2 的产生。Xing 等^[37]研究拟南芥 MAPK 突变体(*mkk1*、*mpk6* 和 *mkk1mpk6*)时发现,突变体种子对 ABA 的敏感性降低;过表达 MKK1 和 MPK6 的植株种子对外源 ABA 表现出超敏感。说明 MKK1-MPK6 也参与了种子萌发及生长信号转导的重要调控通路。

2.3.2 乙烯 ACS 是乙烯合成的限速酶,拟南芥中 *AtMPK6* 能够抑制 26S 蛋白酶体对 ACS2/6 的降解,进而促进乙烯的合成^[38],用 DEX 诱导 MKK4DD 或 MKK5DD(*AtMPK6* 的上游 MKK)可以显著提高 MPK6 活性和乙烯的合成量^[39]。上述研究表明,拟南芥 MKK4/5-MPK3/6-ACS2/6 途径参与了乙烯的合成。在烟草中沉默 SIPK 时,能够降低 ACS 的转录水平,从而使损伤诱导的乙烯明显减少,但当沉默 WIPK 时乙烯的产生量不受影响;过表达 NtMKP1(SIPK 和 WIPK 的磷酸酶),也能

明显降低损伤诱导产生的乙烯量^[40]。以上研究表明,烟草的 SIPK 参与了损伤诱导的乙烯合成。

Gao 等^[41]研究表明,当乙烯和乙烯受体结合时,CTR1(一个 Raf 类 MAPKKK)会激活 EIN2;活化的 EIN2 的 C 端可以发生剪切,并进入细胞核激活乙烯的下游信号^[42-43],激活的乙烯信号会阻断 F-box 蛋白成员 EBF1 和 EBF2(EIN3-binding F-box protein 1 和 2)介导的 EIN3 转录因子的降解^[44],从而引起下游蛋白 ERF1、SID2、EBF2、FLS2、PORA 和 PORB 的表达^[45-47]。此外,Yoo 等^[48]研究表明,MKK9-MPK3/6 也参与乙烯的应答反应:在正常情况下,CTR1 可直接或者间接使 MKK9-MPK3/6 失活,从而抑制 EIN 蛋白上第 174 个氨基酸磷酸化,且 CTR1 通过其他未知的 MAPK 级联途径激活 EIN 蛋白上的第 569 个氨基酸,从而使 EIN3 分解;乙烯存在时能够使 CTR1 失活、MKK9-MPK3/6 途径活化,进而激活 EIN 蛋白上第 174 个氨基酸,使 EIN3 保持稳定。上述研究表明,乙烯通过 CTR1 和 MKK9-MPK3/6 控制 EIN3 转录因子的含量,来完成乙烯的应答反应。

2.3.3 茉莉酸(Jasmonic acid,JA)和水杨酸(Salicylic acid,SA)在烟草中,用 RNAi 技术沉默 WIPK 或 SIPK 会导致植株 JA 合成量的减少,同样过表达 NtMPK1 也可减少 JA 的合成量^[40]。在番茄中共沉默 MPK1 和 MPK2(拟南芥 MPK6 的同源基因)时,会导致系统素诱导的 JA 的合成量减少。外源 JA 能够使拟南芥 MKK3-MPK6 活化,且 MPK4 与 MPK6 的脱磷酸酶 AP2C1 参与 JA 的合成^[20,49]。SIPK 最先是在用 SA 处理烟草细胞时发现的,SA 能够激活 SIPK,SIPK 沉默烟草植株中 SA 积累量增加^[40]。

2.3.4 生长素 用生长素处理拟南芥可导致 MPK12 的激活,IBR5 是一个双重特异性 MAPK 磷酸酶,其作为正调控因子在生长素和脱落酸胁迫反应中起作用。最近研究发现,IBR5 能与 MPK12 相互作用并使 MPK12 失活。抑制 MPK12 的表达不仅可增加生长素的敏感性,还可以部分弥补 *ibr5* 突变体的生长素不敏感表型^[50]。遗传学研究发现,MKK7 参与生长素的极性运输,*bud1* 突变体表现出很多缺失生长素运输的表型,如侧根发育不良等;IAA 同位素追踪试验也显示生长素极性运输的缺失,这说明 MKK7 负调控生长素的极性运输,拟南芥 MAPK A 亚家族的全体成员 MPK3/6/10 均可以被 MKK7 所激活,免疫复合物激酶活性试验证

明,*bud1* 突变体中 MPK3 和 MPK6 的活性明显升高^[51]。

2.4 参与植物的生长发育

2.4.1 参与植物气孔的形成 在拟南芥中存在 YODA-MKK4/5(MKK7/9)-MPK3/MPK6 级联途径负调控气孔的发育过程,在 *mpk3*^{-/-}/*mpk6*^{-/-} 功能缺失双突变体、*yoda*^{-/-} 功能缺失突变体和 MKK4RNAi、MKK5RNAi 植株中会形成明显的气孔簇,但在 *mpk3*^{-/-}、*mpk6*^{-/-} 的单突变体和 MKK4RNAi、MKK5RNAi 中没有气孔簇的产生,说明 MPK3 和 MPK6、MKK4 和 MKK5 存在功能重复。过表达 GVG-Nt-MEK2DD (MEK2 是 MKK4 和 MKK5 在烟草中的同源基因)在地塞米松诱导下及 YODA 组成型激活植株中没有气孔形成,GVG-Nt-MEK2DD *mpk3*^{-/-} 和 GVG-Nt-MEK2DD *mpk6*^{-/-} 会出现气孔^[52]。也有研究表明,MKK7/9 作为 MPK3/6 的上游激酶参与气孔的发育^[49]。

2.4.2 参与植物叶片的衰老 MKK9-MPK6 参与了拟南芥叶片的衰老,在拟南芥的叶片衰老过程中 MKK9 的表达量上调,*mkk9-1* 突变体叶片衰老被延缓,组成型活性的 MKK9 转基因植株叶片提早衰老,MPK6 活性显著增加,且 MPK6 的功能缺失能够抑制 MKK9 过表达植株引起的叶片早衰^[53]。也有研究表明,拟南芥 AtMEKK1 能与衰老相关的转录因子 WRKY53 直接相互作用形成 MEKK1/WRKY53 复合物,调控植物的衰老^[54]。

2.4.3 参与植物细胞的分裂和侧根形成 最近研究发现,HINKEL/NACK1(HIK)-ANP2/3-MKK6-MPK(MPK11/12/13)-MAP65-1 途径参与调控拟南芥的胞质分裂^[55-57]。

在 *mpk6* 突变体和 *nia2* 突变体中,H₂O₂ 诱导的 NO 产生量明显少于对照,突变体的侧根数目和长度都比对照显著增加^[58]。生物信息学分析结果表明,NIA2 蛋白的 Hinge 2 和 FAD 两个结构域分别含有 MAPK 特异的磷酸化位点和锚定序列,它们可能共同介导了 MPK6 对 NIA2 的识别和磷酸化过程^[58]。上述研究结果表明,MPK6 可能通过磷酸化调控 NIA2 活性,介导了 H₂O₂ 诱导的 NO 产生,从而调节侧根发育。

3 MAPK 级联反应的调控

不同的信号刺激可以通过相同的 MAPK 级联途径,而同一种信号也可以激活不同的 MAPK 信号

通路,MAPK 级联途径之间的这种“交谈”可能是生物长期进化过程中有限的内部资源与过多的外部逆境信号相互适应的结果。然而,MAPK 参与的信号转导过程又是受严格调控的,且存在着信号特异性。

促分裂原活化蛋白激酶磷酸酶(MKP)是级联反应中重要的负调控因子。可逆磷酸化是控制蛋白质活性的关键机制,MAPK 的磷酸化与去磷酸化之间的平衡决定了其活性的强度与持久度。蛋白磷酸酶主要分为 Ser/Thr 蛋白磷酸酶和 Tyr 蛋白磷酸酶 2 大类,其中 Tyr 蛋白磷酸酶类又分为 2 大族,即 Tyr 特异性蛋白磷酸酶和双特异性蛋白磷酸酶^[59]。

研究表明,拟南芥中 MAPK 磷酸酶 MKP1 对紫外线照射下的植物中 AtMPK6 的失活有关键作用,*mkp1* 突变体增强了对盐胁迫的抗性。MKP2 通过使 MPK3 与 MPK6 的-pTEpY-基序去磷酸化,使活化的 MPK3 与 MPK6 钝化,植物就表现出对臭氧的耐受性。臭氧处理条件下,拟南芥 MKP2 沉默株系对臭氧超敏感,表现为叶片快速坏死^[60]。

PP2C 蛋白磷酸酶属于丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶类,在拟南芥中有 76 个成员,其中 PP2C5 磷酸酶为 MAPK 信号途径中的调控因子,其可正调控种子萌发、气孔关闭和脱落酸诱导的基因表达,并调控胁迫诱导的 MPK3、MPK4 和 MPK6,特别是 PP2C5 可与 MPK3 和 MPK6 形成复合物^[61]。

IBR5 是一个双重特异性 MAPK 磷酸酶,其作为正调控因子在生长素和脱落酸胁迫反应中起作用。最近研究发现,IBR5 能与 MPK12 相互作用并使其失活,参与生长素和脱落酸信号途径^[50]。

4 MAPK 级联途径的研究展望

由前人的研究可以看出,MAPK 级联途径广泛参与植物生长发育和逆境的信号转导过程。

尽管近些年针对植物 MAPK 级联反应的研究较多,但主要还是集中在 AtMPK3、AtMPK6、At-MPK4 和它们的上游激酶及其在其他植物同源基因的研究上,对其他的 MAPKs 研究较少,因此仍需要进一步分离鉴定 MAPK 家族新成员并确定各级成员之间的相互关系,从而完善 MAPK 级联途径模型。

一种刺激往往需要多种级联途径参与,因此还需要在现有研究基础上弄清各条途径之间以及 MAPK 各级成员之间的相互关系和不同功能。例如,水分胁迫可以启动拟南芥 MEKK1-MKK2-MPK4/6,MEKK1-MKK4-MPK3 和 MEKK1-At-

MKK1-AtMPK4 3 条途径,这些途径间的关系及其功能有待探讨。

由于外部刺激的多样性和植物内部 MAPK 级联资源的有限性,同一条级联途径往往会参与不同的刺激反应,如 MEKK1-MKK4/5-MPK3/6 既可以参与抗病反应,又可以参与各种非生物胁迫,还能参与 ABA 诱导的 CAT1 表达,有关同一级联途径在不同反应中的特异性机制及其功能也有待明确。

MAPK 各个组分的数目并不均等,例如拟南芥中存在 80 个 MAPKKK、10 个 MAPKK、20 个 MAPK,由于 MAPKK 的数目最少,因此应该能接受多个 MAPKKK 的激活或激活多个 MAPK,如拟南芥的 YODA、ANP1/2/3 和 MEKK1 都能激活 MKK4/5, MKK7 能分别激活 MAPK3/6/10, MKK1 能激活 MPK4 和 MPK6。关于在不同刺激下一个 MAPKK 选择性激活下游 MAPK 的原理目前尚不清楚,研究表明,支架蛋白在该过程中起作用^[62],但目前还没有关于植物支架蛋白在 MAPK 中作用和机制的研究报道。

[参考文献]

- [1] 孙大业,马力耕.细胞信号转导[M].2版.北京:科学出版社,1998.
- [2] Sun D Y, Ma L G. Cell signal transduction [M]. 2nd ed. Beijing: Beijing Science Press, 1998. (in Chinese)
- [3] Robinson M J, Cobb M H. Mitogen-activated protein kinase pathways [J]. Curr Opin Cell Biol, 1997, 9(2): 180-186.
- [4] Jonak C, Okr  sz L, B  gre L, et al. Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signalling [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2002, 5(5): 415-424.
- [5] Hamel L P, Nicole M C, Sritubtim S, et al. Ancient signals: Comparative genomics of plant MAPK and MAPKK gene families [J]. Trends in Plant Science, 2006, 11(4): 192-198.
- [6] Kong F, Wang J, Cheng L, et al. Genome-wide analysis of the mitogen-activated protein kinase gene family in *Solanum lycopersicum* [J]. Gene, 2012, 499(1): 108-120.
- [7] Rao K P, Richa T, Kumar K, et al. In silico analysis reveals 75 members of mitogen-activated protein kinase kinase gene family in rice [J]. DNA Research, 2010, 17(3): 139-153.
- [8] Asai T, Tena G, Plotnikova J, et al. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity [J]. Nature, 2002, 415(6875): 977-983.
- [9] Kazuya Ichimura M G, Ichimura K, Shinozaki K, et al. Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: A new nomenclature [J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(7): 301-308.
- [10] Mao G, Meng X, Liu Y, et al. Phosphorylation of a wrky transcription factor by two pathogen-responsive mapks drives phytoalexin biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2011,

23(4): 1639-1653.

- [10] Gao M H, Liu J M, Bi D L, et al. MEKK1, MKK1/MKK2 and MPK4 function together in a mitogen-activated protein kinase cascade to regulate innate immunity in plants [J]. Cell Res, 2008, 18(12): 1190-1198.
- [11] Suarez-Rodriguez M C, Adams-Phillips L, Liu Y, et al. MEKK1 is required for flg22-induced MPK4 activation in *Arabidopsis* plants [J]. Plant Physiology, 2007, 143(2): 661-669.
- [12] Andreasson E, Jenkins T, Brodersen P, et al. The MAP kinase substrate MKS1 is a regulator of plant defense responses [J]. Embo Journal, 2005, 24(14): 2579-2589.
- [13] Kong Q, Qu N, Gao M, et al. The Mekk1-Mkk1/Mkk2-Mpk4 kinase cascade negatively regulates immunity mediated by a mitogen-activated protein kinase kinase kinase in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2012, 24(5): 2225-2236.
- [14] Qiu J L, Zhou L, Yun B W, et al. *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase kinases MKK1 and MKK2 have overlapping functions in defense signaling mediated by MEKK1, MPK4, and MKS1 [J]. Plant Physiology, 2008, 148(1): 212-222.
- [15] Melech-Bonfil S, Sessa G. Tomato MAPKKK   is a positive regulator of cell-death signaling networks associated with plant immunity [J]. The Plant Journal, 2010, 64(3): 379-391.
- [16] Pozo O D, Pedley K F, Martin G B. MAPKKK[  ] is a positive regulator of cell death associated with both plant immunity and disease [J]. EMBO J, 2004, 23(15): 3072-3082.
- [17] Ishihama N, Yamada R, Yoshioka M, et al. Phosphorylation of the nicotiana benthamiana WRKY8 transcription factor by MAPK functions in the defense response [J]. The Plant Cell, 2011, 23(3): 1153-1170.
- [18] Jin H L, Axtell M J, Dahlbeck D, et al. NPK1, an MEKK1-like mitogen-activated protein kinase kinase kinase, regulates innate immunity and development in plants [J]. Developmental Cell, 2002, 3(2): 291-297.
- [19] Yoshihiro T, Nasir K H B, Ito A, et al. A novel MAPKK involved in cell death and defense signaling [J]. Plant Signaling & Behavior, 2007, 2(5): 396-398.
- [20] Stulemeijer I J, Stratmann J W, Joosten M H. Tomato mitogen-activated protein kinases LeMPK1, LeMPK2, and LeMPK3 are activated during the Cf-4/Avr4-induced hypersensitive response and have distinct phosphorylation specificities [J]. Plant Physiology, 2007, 144(3): 1481-1494.
- [21] Teige M, Scheikl E, Eulgem T, et al. The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis* [J]. Molecular Cell, 2004, 15(1): 141-152.
- [22] Yang T, Chaudhuri S, Yang L, et al. A calcium/calmodulin-regulated member of the receptor-like kinase family confers cold tolerance in plants [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(10): 7119-7126.
- [23] Mizoguchi T, Irie K, Hirayama T, et al. A gene encoding a mitogen-activated protein kinase kinase kinase is induced simultaneously with genes for a mitogen-activated protein kinase

- and an S6 ribosomal protein kinase by touch, cold, and water stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(2): 765-769.
- [24] Kim S H, Woo D H, Kim J M, et al. *Arabidopsis* MKK4 mediates osmotic-stress response via its regulation of MPK3 activity [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, 412(1): 150-154.
- [25] Ichimura K, Mizoguchi T, Irie K, et al. Isolation of ATMEKK1 (a MAP kinase kinase kinase): Interacting proteins and analysis of a MAP kinase cascade in *Arabidopsis* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1998, 253(2): 532-543.
- [26] Hadiarto T, Nanmori T, Matsuoaka D, et al. Activation of *Arabidopsis* MAPK kinase kinase (AtMEKK1) and induction of AtMEKK1-AtMEK1 pathway by wounding [J]. Planta, 2006, 223(4): 708-713.
- [27] Claudia Jonak, Hirofumi Nakagami, Heribert Hirt. Heavy metal stress-activation of distinct mitogen-activated protein kinase pathways by copper and cadmium [J]. Plant Physiology, 2004, 136(2): 3276-3283.
- [28] Liu X M, Kim K E, Kim K C, et al. Cadmium activates *Arabidopsis* MPK3 and MPK6 via accumulation of reactive oxygen species [J]. Phytochemistry, 2010, 71(5/6): 614-618.
- [29] Ahlfors R, Macioszek V, Rudd J, et al. Stress hormone-independent activation and nuclear translocation of mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis thaliana* during ozone exposure [J]. The Plant Journal, 2004, 40(4): 512-522.
- [30] Dóczi R, Brader G, Pettkő-Szandtner A, et al. The *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase kinase MKK3 is upstream of group C mitogen-activated protein kinases and participates in pathogen signaling [J]. The Plant Cell, 2007, 19(10): 3266-3279.
- [31] Jammes F, Song C, Shin D, et al. MAP kinases MPK9 and MPK12 are preferentially expressed in guard cells and positively regulate ROS-mediated ABA signaling [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(48): 20520-20525.
- [32] Gudesblat G E, Iusem N D, Morris P C. Guard cell-specific inhibition of *Arabidopsis* MPK3 expression causes abnormal stomatal responses to abscisic acid and hydrogen peroxide [J]. New Phytologist, 2007, 173(4): 713-721.
- [33] Lin F, Ding H, Wang J, Zhang H, et al. Positive feedback regulation of maize NADPH oxidase by mitogen-activated protein kinase cascade in abscisic acid signalling [J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(11): 3221-3238.
- [34] Zhang A, Zhang J, Ye N, et al. ZmMPK5 is required for the NADPH oxidase-mediated self-propagation of apoplastic H₂O₂ in brassinosteroid-induced antioxidant defence in leaves of maize [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(15): 4399-4411.
- [35] Xing Y, Jia W, Zhang J. AtMKK1 mediates ABA-induced CAT1 expression and H₂O₂ production via AtMPK6-coupled signaling in *Arabidopsis* [J]. The Plant Journal, 2008, 54(3): 440-451.
- [36] Luo J, Zhao L L, Gong S Y, et al. A cotton mitogen-activated protein kinase (GhMPK6) is involved in ABA-induced CAT1 expression and H₂O₂ production [J]. J Genet Genomics, 2011, 38(11): 557-565.
- [37] Xing Y, Jia W, Zhang J. AtMKK1 and AtMPK6 are involved in abscisic acid and sugar signaling in *Arabidopsis* seed germination [J]. Plant Molecular Biology, 2009, 70(6): 725-736.
- [38] Joo S, Liu Y, Lueth A, et al. MAPK phosphorylation-induced stabilization of ACS6 protein is mediated by the non-catalytic C-terminal domain, which also contains the cis-determinant for rapid degradation by the 26S proteasome pathway [J]. The Plant Journal, 2008, 54(3): 129-140.
- [39] Liu Y, Zhang S. Phosphorylation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase by MPK6, a stress-responsive mitogen-activated protein kinase, induces ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2004, 16(12): 3386-3399.
- [40] Seo S, Katou S, Seto H, et al. The mitogen-activated protein kinases WIPK and SIPK regulate the levels of jasmonic and salicylic acids in wounded tobacco plants [J]. The Plant Journal, 2007, 49(5): 899-909.
- [41] Gao Z, Chen Y F, Randlett M D, et al. Localization of the Raf-like kinase CTR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis* through participation in ethylene receptor signaling complexes [J]. J Biol Chem, 2003, 278: 34725-34732.
- [42] Wen X, Zhang C, Ji Y, et al. Activation of ethylene signaling is mediated by nuclear translocation of the cleaved EIN2 carboxyl terminus [J]. Cell Res, 2012, 12(6): 1613-1616.
- [43] Qiao H, Shen Z, Huang S S, et al. Processing and subcellular trafficking of ER-tethered EIN2 control response to ethylene gas [J]. Science, 2012, 338: 390-393.
- [44] Guo H, Ecker J R. Plant responses to ethylene gas are mediated by SCF (EBF1/EBF2)-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor [J]. Cell, 2003, 115: 667-677.
- [45] Chen H, Xue L, Chintamanani S, et al. Ethylene insensitive3 and ethylene insensitive3-like1 repress salicylic acid induction deficient2 expression to negatively regulate plant innate immunity in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2009, 21: 2527-2540.
- [46] Konishi M, Yanagisawa S. Ethylene signaling in *Arabidopsis* involves feedback regulation via the elaborate control of EBF2 expression by EIN3 [J]. Plant J, 2008, 55: 821-831.
- [47] Boutrot F, Segonzac C, Chang K N, et al. Direct transcriptional control of the *Arabidopsis* immune receptor FLS2 by the ethylene-dependent transcription factors EIN3 and EIL1 [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(32): 14502-14507.
- [48] Yoo S D, Cho Y H, Tena G, et al. Dual control of nuclear EIN3 by bifurcate MAPK cascades in C₂H₄ signalling [J]. Nature, 2008, 451(7180): 789-795.
- [49] Takahashi F, Yoshida R, Ichimura K, et al. The mitogen-acti-

- vated protein kinase cascade MKK3-MPK6 is an important part of the jasmonate signal transduction pathway in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2007, 19(3): 805-818.
- [50] Lee J S, Wang S, Sritubtim S, et al. *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase MPK12 interacts with the MAPK phosphatase IBR5 and regulates auxin signaling [J]. The Plant Journal, 2009, 57(6): 975-985.
- [51] Zhang X, Dai Y, Xiong Y, et al. Overexpression of *Arabidopsis* MAP kinase kinase 7 leads to activation of plant basal and systemic acquired resistance [J]. The Plant Journal, 2007, 52(6): 1066-1079.
- [52] Wang H, Ngwenyama N, Liu Y, et al. Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis* [J]. Science Signalling, 2007, 19(1): 63.
- [53] Lampard G R. The missing link: *Arabidopsis* SPCH is a MAPK specificity factor that controls entry into the stomatal lineage [J]. Plant Signaling & Behavior, 2009, 4(5): 425-427.
- [54] Zhou C, Cai Z, Guo Y, et al. An *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase cascade, MKK9-MPK6, plays a role in leaf senescence [J]. Plant Physiology, 2009, 150(1): 167-177.
- [55] Miao Y, Laun T, Smykowski A, et al. *Arabidopsis* MEKK1 can take a short cut: It can directly interact with senescence-related WRKY53 transcription factor on the protein level and can bind to its promoter [J]. Plant Molecular Biology, 2007, 65(1/2): 63-76.
- [56] Beck M, Komis G, Müller J, et al. *Arabidopsis* homologs of nucleus- and phragmoplast-localized kinase 2 and 3 and mitogen-activated protein kinase 4 are essential for microtubule organization [J]. The Plant Cell, 2010, 22(3): 755-771.
- [57] Takahashi Y, Soyano T, Kosetsu K, et al. HINKEL, kinesin, ANP MAPKKs and MKK6/ANQ MAPKK, which phosphorylates and activates MPK4 MAPK, constitute a pathway that is required for cytokinesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Physiol, 2010, 51(10): 1766-1776.
- [58] Wang P, Du Y, Li Y, et al. Hydrogen peroxide-mediated activation of map kinase 6 modulates nitric oxide biosynthesis and signal transduction in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2010, 22(9): 2981-2998.
- [59] Keyse S. The regulation of stress-activated MAP kinase signalling by protein phosphatases topics in current genetics [J]. Topics in Current Genetics, 2008(20): 33-49.
- [60] Lumbreras V, Vilela B, Irar S, et al. MAPK phosphatase MKP2 mediates disease responses in *Arabidopsis* and functionally interacts with MPK3 and MPK6 [J]. The Plant Journal, 2010, 63(6): 1017-1030.
- [61] Brock A K, Willmann R, Kolb D, et al. The *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase phosphatase PP2C5 affects seed germination, stomatal aperture, and abscisic acid-inducible gene expression [J]. Plant Physiology, 2010, 153(3): 1098-1111.
- [62] David R Adams, Dorit Ron, Patrick A Kiely. RACK1, a multifaceted scaffolding protein; Structure and function [J]. Cell Communication and Signaling, 2011, 9(22): 1110-1045.