

拟南芥AtMPK6的信号转导功能和参与发育调控的研究进展

张丹, 周严, 孔祥培, 潘教文, 李德全*

山东农业大学生命科学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

摘要: 促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联途径主要由MAPKKK、MAPKK和MAPK三个组分构成, 彼此逐级磷酸化进而传递细胞信号。这些激酶可以将信息从感应器传递到效应器, 并在胞内外信号传递中起多种作用。同时, MAPK级联途径通过相互“交谈”形成复杂的信号传递网络, 从而有效地传递各种特异信号。迄今为止, 拟南芥AtMPK3、AtMPK4和AtMPK6是研究最多的MAPKs。本文综述AtMPK6参与调控植物对逆境胁迫的响应, 以及在生长发育过程中的作用, 并介绍AtMPK6与蛋白磷酸酶之间的关系。

关键词: MAPK级联途径; AtMPK6; 信号转导; 发育调控; 蛋白磷酸酶

The Research Progress of Signal Transduction Functions and Participation in Developmental Regulation of AtMPK6 in *Arabidopsis*

ZHANG Dan, ZHOU Yan, KONG Xiang-Pei, PAN Jiao-Wen, LI De-Quan*

State Key Laboratory of Crop Biology, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China

Abstract: Mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade consists essentially of three components, a MAPK kinase kinase (MAPKKK), a MAPK kinase (MAPKK) and a MAPK connected to each other by the event of phosphorylation. These kinases play various roles in intra- and extra-cellular signaling in plants by transferring the information from sensors to responders. Simultaneity, MAP kinases are organized into a complex network through the “cross-talk” for efficient transmission of specific stimuli. By far the most studied MAPKs were AtMPK3, AtMPK4 and AtMPK6, which were identified in many distinct processes. This review briefly summaries the previous research results about AtMPK6, which is involved in signaling pathways activated by kinds of stresses, and the function of development and the interactions of AtMPK6 with protein phosphatases.

Key words: MAPK cascade; AtMPK6; signal transduction; developmental regulation; protein phosphatases

促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联途径包括3种蛋白激酶: MAPKK激酶(MAPKKK)、MAPK激酶(MAPKK)和MAP激酶(MAPK), 构成三级激酶模式(Jonak等2002)。植物中MAPKKK是一类丝氨酸/苏氨酸激酶, 位于级联途径的上游, 通过信号分子的受体或其本身直接感受胞外刺激后磷酸化而激活; MAPKK是双重特异性激酶, 含有保守的S/T-X₃₋₅-S/T基序, 通过上游MAPKKK磷酸化S/T-X₃₋₅-S/T基序中的丝氨酸/苏氨酸残基, 从而激活MAPKK; MAPK含有一个非常保守的TXY (X代表任意氨基酸)基序, MAPK的激活需要上游的MAPKK对它的双重磷酸化作用, 磷酸化位点是TXY基序中的苏氨酸和酪氨酸残基。MAPK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内外刺激的生理生化反应(Jonak等2002)。在MAPK级联途径中蛋白磷酸酶作为重要的负调控者, 参与调控信号转导途径后的关闭过程, 其作用主要是对MAPK活化环上的苏氨酸和酪氨酸去磷酸化(Mishra等2006)。

MAPK级联途径参与多种生物和非生物胁迫反应、激素响应、细胞分化和发育等过程。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组中, 大约有20个编码MAPK的基因、10个MAPKK的基因和大约80个MAPKKK的基因, 其中MAPK和MAPKK依据

收稿 2012-02-20 修定 2012-04-24

资助 国家自然科学基金项目(30871457和31071337)。

* 通讯作者(E-mail: dqli@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8249137)。

其序列相似性划分为A、B、C、D四个亚族(Rao等2010; MAPK Group 2002)。而80个MAPKKK则具有更加不同的蛋白激酶组分,可以进一步分为3个主要亚组分:MEKK类、RAF类和ZIK类。

虽然拟南芥中已鉴定MAPK家族拥有数量众多的成员,但是目前研究比较多的是拟南芥AtMPK3、AtMPK4和AtMPK6。本文主要综述拟南芥AtMPK6参与的各种响应(表1)。大量研究表明AtMPK6不仅参与生物与非生物胁迫响应,而且参与激素及发育过程中的信号转导。此外,MAPK调节者蛋白磷酸酶也参与调控AtMPK6信号通路中信号的强度及持续时间(Luan 2003)。

1 拟南芥AtMPK6

AtMPK6基因位于拟南芥的2号染色体上,含有6个外显子和5个内含子,阅读框包含1 188个核苷酸,编码395个氨基酸,预测的蛋白分子量为47 kDa。它与AtMPK3和AtMPK10同属于A组,含有保守的TEY基序。研究发现A组MAPK在其C末端有一保守的CD区作为MAPKK、磷酸酶及蛋白底物的锚定位点。该区域包含一段[LH][LHY]-DXX[DE]XX[DE]EPXC (X代表任意氨基酸)片段,两相邻D和E氨基酸是与MAPKK的N端K和R氨基

酸相互作用的关键序列,而L、H和Y氨基酸与MAPKK中的LXLXL相互结合(MAPK Group 2002; Tanoue等2000)。

AtMPK6与AtMPK3作为A组MAPK,其同源性最高,达68.94%,并且AtMPK3和AtMPK6二者均参与多种生物与非生物胁迫响应(表1),在植物发育过程中存在功能冗余,因此有文献将其二者称为同源基因对;但他们可能在调控水平上有差异:当AtMPK6受到外界刺激时,它主要在蛋白水平上被激活并参与相关响应,而AtMPK3主要在转录水平上被调控,其作用可能是对AtMPK6的功能进行补充(Paponov等2008)。

MAPK定位不同导致其功能也不同。相关文献报道AtMPK6定位于花、叶片、胚轴及根等多种植物组织器官中。它不仅定位于细胞质和细胞核,而且定位于早前期带、成膜体、转运高尔基体系统(trans-Golgi network, TGN)以及质膜(plasma membrane, PM)等(Muller等2010),由此推测AtMPK6在植物发育过程中可能起一定作用。

2 AtMPK6参与的植物信号转导

2.1 AtMPK6参与先天性免疫反应

flg22是由22个氨基酸构成的多肽,是真菌鞭

表1 AtMPK6参与的各种响应

Table 1 The various responses of AtMPK6

参与的途径	MAPKKK	MAPKK	MAPK	底物	参考文献
flg22	MEKK1	MKK4/MKK5	MPK3/MPK6	WRKY22和WRKY29	Suarez-Rodriguez等2007; Ichimura等2006; Asai等2002
植保素合成	MEKK1	MKK4/MKK5	MPK3/MPK6		Ren等2008
		MKK9	MPK3/MPK6		Xu等2008
乙烯	CTR1	MKK9	MPK3/MPK6	EIN3	Yoo等2008
		MKK4/MKK5	MPK3/MPK6	ERF104	Devoto和Turner 2003; Berger 2002
		MKK4/MKK5	MPK3/MPK6	ACS6	Joo等2008; Liu和Zhang 2004
茉莉酸		MKK3	MPK6	AtMYC2	Takahashi等2007
脱落酸		MKK1	MPK6		Xing等2008
冷及盐胁迫	MEKK1	MKK2	MPK4/MPK6		Ulm等2002
盐胁迫	ANP1	MKK1	MPK3/MPK6		Ichimura等2000
臭氧胁迫	ANP1		MPK3/MPK6		Lee和Ellis 2007; Ichimura等2000
病原菌	YODA	MKK4/MKK5	MPK3/MPK6	VIP1	He等2006
气孔发育	YODA	MKK4/MKK5	MPK3/MPK6	SPCH、MUTE、FAMA	Lampard 2009; Wang等2007
		MKK7/MKK9	MPK3/MPK6	SPCH、MUTE、FAMA	Bush和Krysan 2007
		MKK4/MKK5	MPK3/MPK6		Wang等2007
胚胎发育	YODA	MKK4/MKK5	MPK3/MPK6		Zhou等2009
NO合成		MKK4/MKK5	MPK6	NIA2	Doczi等2007; Ichimura等2000
H ₂ O ₂ 处理	ANP1	MKK4/MKK5	MPK3/MPK6		Brock等2010; Schweighofer等2007
叶片衰老		MKK9	MPK6		

毛的主要结构蛋白。它在各种植物中作为病原菌相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP), 诱导植物产生广泛的病原体相关反应。10年前就有报道证实拟南芥MAPK参与由flg22刺激引起的胁迫反应。Asai等(2002)采用原生质体瞬时表达, 结合生物化学和分子遗传学等方法鉴定出第一条MAPK级联途径, 即MEKK1-MKK4/5-MPK3/6, MPK3/MPK6进一步激活转录因子WRKY22/WRKY29, 最终诱导防卫基因的表达(Ichimura等2006)。然而, flg22处理mekk1突变体后, 依然可以激活MPK3/MPK6, 说明在拟南芥中还有其他的MAPKKK参与这一信号途径(Suarez-Rodriguez等2007; Ichimura等2006), 而这一未知的MAPKKK仍需深入研究证实。此外, AtMPK6还能特异性地磷酸化乙烯生物合成酶ACS6 (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase 6), 即1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)合成酶6和AtPHOS32 (Joo等2008; Liu和Zhang 2004), 一种病原菌诱导的32 kDa胁迫蛋白(Joo等2008; Merkouropoulos等2008; Liu和Zhang 2004)。

病原菌诱导植物抗毒素植保素的生物合成也依赖于MAPK的参与。相关实验证实一条完整的MAPK级联途径MEKK1-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6, 参与调控植保素的生物合成(Ren等2008)。当病原菌诱导时, 可以迅速激活MPK3/6, 促使植保素积累, 而mpk6突变体降低植保素的积累量。近期发现另一条MAPK级联途径MKK9-MPK3/MPK6, 也参与植保素的生物合成(Xu等2008)。

2.2 AtMPK6参与植物激素信号转导

2.2.1 AtMPK6参与乙烯的信号转导

乙烯(ethylene, ET)作为植物生命活动的重要调节物质, 是细胞受到胁迫时的一个关键调控者。在植物发育的不同阶段, 病原体侵害以及外界环境变化等都会引起植物体内ET含量的增加。Ouaked等(2003)发现ET能够激活一个47 kDa的MAPK, 并证实该激酶为AtMPK6。进一步实验发现活化型CTR1 (一Raf亚家族的MAPKKK)明显抑制AtMPK6激酶活性, 但并不改变蛋白表达水平, 这一结果揭示CTR1可能负调控下游MAPK, 在ET信号转导途径中起着关键作用。运用分子、染色体组、生物化学及

遗传学等方法, 证实ET信号转导途径中MKK9可以作为MPK3和MPK6上游活化剂(Yoo等2008)。ctr1突变体中, MKK9激活MPK3/MPK6, 从而磷酸化ET响应转录因子ETHYLENE INSENSITIVE 3 (EIN3)。将EIN3进行点突变(T174A和T592A)后, 发现MKK9-MPK3/MPK6途径通过磷酸化EIN3中T174提高EIN3的稳定性(Yoo等2008)。当用ACC处理时, MKK9从细胞质转移到细胞核, 以激活下游MPK3和MPK6 (Yoo等2008)。而在mekk9突变体中, ACC不能激活MPK3和MPK6。由此可见, ACC激活MPK3和MPK6也能够磷酸化ET相关转录因子EIN3, 从而调控下游基因的表达。另外, 许多生物与非生物胁迫因子均可激活AtMPK6, 从而调节胁迫诱导ET产生(Xu等2008)。

然而, 另一报道发现ACC并不能活化AtMPK6, 但是ET生物合成的调控是通过AtMPK6对ACC合成酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase, ACS)异构体ACS6进行翻译后修饰来调控ET的生物合成, 从而证实ACS6是AtMPK6的一个作用底物(Joo等2008; Liu和Zhang 2004)。此外, Bethke等(2009)通过酵母双杂交及荧光共振能量转移识别一个ET响应因子家族成员ERF104, 可以与AtMPK6相互作用, 即ERF104可能是AtMPK6参与ET信号转导过程的一个底物, 并推测这一条ET产生的信号转导途径的上游活化剂可能是MKK4或MKK5, 因为活化的MKK4或MKK5可以引起MPK3和MPK6的活化, 并且诱导ET的产生(Liu和Zhang 2004)。

由此可见, MKK9-MPK6与MKK4/5-MPK6途径均参与ET信号转导途径, 他们虽然拥有相同的激酶, 但是互不干扰。其中可能的原因是参与每条途径的蛋白位于细胞的不同部位。这一观点来源于活化的MKK9从细胞质转移到细胞核, 而活化的MKK4位于细胞质(Yoo等2008)。也就是说, 每个MAPKK可能活化位于不同部位的MPK6, 从而直接磷酸化下游目标, 即胞核中的EIN3和胞质中的ACS6。

2.2.2 AtMPK6参与茉莉酸的信号转导

茉莉酸(jasmonic acid, JA)是高等植物的内源调节物质, 是病原性微生物和虫害防御反应的关键激素, 能够调节高等植物发育、应答外界刺激、调控基因

表达(Devoto和Turner 2003; Berger 2002)。近期研究发现,在JA信号转导途径中依赖MKK3活化的MPK6作为负调控者参与JA信号转导(Takahashi等2007)。当JA处理时,可以快速激活依赖于MKK3的MPK6,而*mkk3*和*mpk6*突变体用JA处理后根部生长缓慢。此外,JA处理*mkk3*和*mpk6*植株后,*PDF1.2*和*VSP2*的表达水平分别下降和升高,其中*PDF1.2*是ET/JA途径的标记基因,*VSP2*是JA途径的标记基因,而且AtMYC2作为JA途径的关键调控因子, MKK3-MPK6级联途径通过负调AtMYC2参与JA信号转导(Takahashi等2007)。

2.2.3 AtMPK6参与脱落酸的信号转导 脱落酸(abscisic acid, ABA)是一种参与多种生理过程的植物激素,其作用主要包括适应水分胁迫、控制种子休眠及调控气孔关闭等。早期研究已证实MAPK参与植物体内ABA信号转导(Burnett等2000), Liu (2012)的一篇综述详细介绍了MAPK级联途径在ABA信号转导中的作用。当然,拟南芥AtMPK6在ABA处理时也被激活,而且蛋白磷酸酶PP2C家族成员ABI1在ABA处理时可以与AtMPK6相互作用(Leung等2006)。此外,将AtMPK6中TEY基序Y223突变为A后,植株表现出对ABA超敏感(Leung等2006)。Xing等(2008)证实AtMKK1-AtMPK6在依赖于ABA的信号转导途径中,以及引起H₂O₂产生及胁迫响应等方面起关键作用。通过检测*mkk1*和*mpk6*突变体及过表达植株中依赖于ABA的CAT1表达情况,以及H₂O₂的含量变化等证实AtMPK6作为AtMKK1的下游组分,并将该途径归纳为AtMKK1-AtMPK6-H₂O₂-CAT1。Xing等(2009)还发现AtMKK1和AtMPK6参与ABA和糖调控的种子萌发。ABA和葡萄糖明显抑制野生型拟南芥种子萌发,而在*mkk1*和*mpk6*突变体中逆转ABA和葡萄糖对种子萌发的抑制。进一步实验发现,葡萄糖通过上调NCED3和ABA2能够诱导ABA的生物合成,从而推测葡萄糖对种子萌发的抑制可能是由于糖诱导ABA水平上升而导致的(Xing等2009)。

2.3 AtMAPK6参与非生物胁迫信号转导

早期研究表明,AtMPK6和AtMPK4能被低温及盐胁迫所激活。Ichimura等(2000)推测AtMEKK1和AtMKK2也参与了低温和盐胁迫,并能激活

AtMPK6和AtMPK4。采用拟南芥原生质体证实MKK2能被低温、盐胁迫激活,并且酵母双杂交、体内外蛋白激酶实验证实MKK2与MPK4和MPK6相互作用(Teige等2004)。因此,拟南芥体内存在MEKK1-MKK2-MPK4/MPK6信号通路传递低温和盐胁迫信号,进而调控基因表达。此外,证实另一条参与盐胁迫反应的MAPK级联信号通路是:ANP1-MKK1-MPK3/MPK4/MPK6(Ulm等2002)。

渗透胁迫是由于胞外介质的浓度或冲洗造成的渗透冲击。分离拟南芥叶片观察到AtMPK6被渗透胁迫所诱导(Ichimura等2000)。Droillard等(2004, 2002)通过外施蔗糖、甘露醇和氯化钠等渗透物质证实渗透胁迫确实激活AtMPK6。但在悬浮培养的拟南芥细胞中,渗透冲击不能激活AtMPK6。其原因可能是由于转导途径的上游组分缺失而导致AtMPK6不能被活化。

生物有机体暴露于紫外光下时间过长,可能出现异常现象。而机体为了减少紫外光对其造成的破坏,通过自身形态学变化或生物合成并积累遮光色素,以及合成DNA修复酶等方式保护自身(Jenkins 2009)。Ulm等(2002)为验证AtMPK6是否被基因毒性胁迫所激活,将AtMPK6-GFP植株暴露于UV-C下发现该融合蛋白被激活,并使用特异性抗体检测到UV-C处理下内源AtMPK6活性确实增强。此外,在UV-B胁迫下,*mpk6*突变体表现出比野生型更强的忍耐性,从而再次证实AtMPK6参与紫外线处理下的信号转导(Gonzalez Besteiro等2011)。

臭氧可以通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生激活MAPK信号转导途径,并改变ET、水杨酸(salicylic acid, SA)和JA的含量,导致产生类似于超敏反应(hypersensitive response, HR)的程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)。病原体、H₂O₂和O₃之间存在的相似反应使研究者们利用O₃控制植物体内的H₂O₂含量。Ahlfors等(2009)观察到暴露于O₃下30 min内AtMPK6与AtMPK3被激活。此外,AtMPK6活性减弱的植株对O₃超敏感,出现O₃诱导的叶片损伤(Miles等2005)。与此同时,原生质体转化实验证实,氧化胁迫下拟南芥中ANP1(MAPKKK)被活化,并随后参与MPK3/MPK6信号级联途径(Lee和Ellis 2007)。

人为活动、草食动物或昆虫的攻击给植物造

成许多生理伤害, 并遭受创伤。当受到创伤时, 植物表达一系列防御相关基因参与恢复被伤害组织, 并且抵抗病原菌侵染及昆虫攻击。研究发现, MAPK级联途径参与调控这些基因的表达, 并且激活多种蛋白激酶。现已有相关报道证实拟南芥AtMPK6受创伤诱导(Ichimura等2000)。

虽然重金属离子在植物生长发育中起着重要作用, 但是高剂量的重金属离子影响植物的正常生长发育, 引起一定的细胞反应。近期实验证实一定剂量的非必需重金属元素镉可以激活拟南芥AtMPK6, 同时发现镉激活AtMPK6依赖于ROS的积累(Liu等2010)。

2.4 AtMPK6参与ROS的信号转导

在应对环境刺激时, 如病原体作用或者PAMP处理, 以及各种非生物胁迫、多种激素诱导和生长发育进程中, ROS的产生是目前了解到的最早的信号转导阶段。植物中ROS的含量受到许多基因表达的调控, 以及细胞内多种酶活性的调节, 其产生途径有多条。当病原体攻击植物时植物会产生ROS, 起杀菌作用, 并参与细胞壁的加固以抑制病原体入侵, 促进HR相关的细胞死亡。外源施加H₂O₂可以激活拟南芥中的MAPK级联途径, 包括AtMPK3/AtMPK6。Kovtun等(2000)采用拟南芥原生质体研究发现H₂O₂活化ANP1, 进而激活下游AtMPK3/AtMPK6, 参与这一途径的MAPKK是MKK4和MKK5 (Ren等2002), 二者的活化可以激活MPK3/MPK6, 并因此引起H₂O₂的产生和细胞死亡。AtMKK4和AtMPK6似乎可以形成一个反馈环, 因为最近证明MKK4参与依赖H₂O₂的MPK6的活化(Doczi等2007)。其他研究者补充了这一途径, 证实依赖于H₂O₂的MPK3/MPK6的活化也被NDP激酶2 (NDPK2)调控(Moon等2003)。此外, 氧化信号诱导的蛋白激酶(OXI1)也是MPK3/MPK6途径的上游活化剂。在*oxi1*突变体中, H₂O₂诱导的MPK3/MPK6活性降低, 进而影响发育过程, 如根毛的长度和数量, 并减弱突变体对真菌寄生霜霉(*Peronospora parasitica*)的抗性。因此, OXI1的确参与由H₂O₂诱导激活的MPK3/MPK6途径, 但OXI1具体通过哪些途径激活MPK3/MPK6, 还有待进一步的研究(Rentel等2004)。

然而, 其他的激发子, 如从大豆(*Glycine max*)

疫霉菌(*Phytophthora sojae*)分离得到的一个长13个氨基酸的多肽(Pep13)处理欧芹(*Petroselinum crispum*)悬浮细胞, 能够产生大量ROS和植保素, 同时激活MAPK级联途径并诱导PR基因的表达, 而用MAPK的抑制剂处理发现, MAPK的激活对于PR基因的表达是必需的。用二苯基氯化碘(diphenyleneiodonium chloride, DPI)预处理, 再用Pep13处理后抑制ROS的积累和植保素的合成, 但不影响MAPK的激活与PR蛋白的合成(Djamei等2007; Kroj等2003)。丁香假单胞杆菌(*Pseudomonas syringae*)分泌的激发子harpin, 可以诱导拟南芥细胞产生H₂O₂, 并且能够激活AtMPK6 (He等2006), 用过氧化氢酶(catalase, CAT)和DPI预处理, 虽然可抑制H₂O₂的产生, 但并不影响AtMPK6的激活。

上述研究证实, 无论是真菌激发子Pep13, 还是细菌激发子harpin, 以及一些非生物胁迫都能够诱导植株产生ROS并激活MAPK, 而MAPK的激活反过来可以调节ROS的积累, ROS可能位于MAPK的上游而激活MAPK, 或者ROS途径与MAPK途径分别行使不同的功能, 而MAPK反馈调节ROS, 形成一个反馈环。所以, 仍需进一步的实验证实到底是ROS位于MAPK级联途径的上游, 还是ROS的产生需要MAPK级联途径的激活。

3 AtMPK6参与植物生长发育调控

3.1 AtMPK6参与调控气孔发育

气孔是植物与环境间进行水分和气体交换的门户, 在调控植物的蒸腾作用和光合作用等生理过程中起重要作用。近些年研究发现一条完整的MAPK级联途径YODA-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6, 对拟南芥气孔发育起重要调控作用。研究表明, MKK4/MKK5或MPK3/MPK6功能缺失后破坏气孔的正常形成, 导致气孔丛生。而YODA-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6途径激活后同样可以抑制气孔的正常形成和发育, 导致气孔不能形成。因此, YODA-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6级联途径在气孔形成过程中可能起重要作用(Wang等2007; Bergmann等2004)。

Lampard (2009)发现拟南芥中气孔的形成受MAPK介导的bHLH SPEECHLESS的调控。bHLH转录因子SPEECHLESS (SPCH)、MUTE和FAMA, 分别调控气孔发育的开端、进程及最终分化阶

段。其中, SPCH具有MAPK磷酸化位点, AtMPK6通过直接磷酸化SPCH以调节其活性及稳定性, 而*spch*功能缺失型突变体不能形成气孔。此外, MKK7和MKK9也能够磷酸化MPK3/MPK6, 并通过这一信号途径调节进入气孔世系(Bergmann等2004)。但YDA-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6与YDA-MKK7/MKK9-MPK3/MPK6级联途径可能调控气孔发育的不同阶段, 并在气孔发育过程中起着不同的作用(Wang等2007)。

3.2 AtMPK6参与调控花粉囊形成、开花和胚胎发育

Bush和Krysan (2007)首先对拟南芥AtMPK6进行T-DNA插入, 构建功能缺失型突变体*mpk6*, 发现该突变体表现出雄性繁育能力下降, 花粉囊异常, 进而阻止花粉有效释放, 并且出现异常的胚胎发育, 同时证实AtMPK6作为YODA的下游组分参与调控胚胎发育。接着, 为了验证AtMPK3和AtMPK6的功能是否重叠, 他们将AtMPK6的TEY基序突变为AEF, 构建了*AtMPK6AEF*突变体, 并将其转化到野生型及*mpk6*突变体中进行表达。结果发现两种植株的叶片表皮均出现大量的气孔, 与*mpk3/mpk6*双突变体表型一致(Wang等2007), 表明AtMPK6AEF阻止通过YODA-MKK4/5-MPK3/6信号途径调控的气孔发育过程。另外还观察到AtMPK6AEF植株整个花的长度明显短于野生型植株, 开花过程中出现萼片比心皮减小, 尖端向外弯曲, 导致提前开花(Bush和Krysan 2007)。此外, 拟南芥AtMPK6在胚珠发育过程中也起一定作用(Wang等2008)。通过荧光共聚焦显微观察YFP-MPK6定位于花组织、叶片、胚轴及根部, 这一组织表达模式与AtMPK6在发育过程中起着多方面的作用相一致(Wang等2007)。

3.3 AtMPK6参与调控根系的发育

NO作为生物活性分子, 在植物多种生理及发育过程中起着重要作用, 其中包括对侧根发育的影响。已有研究证实, ROS作为MAPK级联途径的上游组分, 可以诱导NO的生物合成(Zhang等2007; Bright等2006)。结合生物化学和遗传学方法证实H₂O₂介导AtMPK6活化调控NO的生物合成, 进一步影响拟南芥侧根发育, 而且*mpk6*突变体中H₂O₂诱导的硝酸还原酶活性和浓度降低。当胞间H₂O₂

含量增加时, 通过MKK4/MKK5激活MPK6, 进一步磷酸化硝酸还原酶的一个异构体NIA2中第627位丝氨酸, 活化的NIA2诱导NO的合成并调控拟南芥根部器官的形态(Wang等2010)。

3.4 AtMPK6参与根部发育早期细胞分裂板的调控

拟南芥AtMPK6的根部定位及功能分析显示, AtMPK6定位于根部分生组织的最顶端以及根茎过渡区, 而*mpk6*突变体出现无根或短根表型。分离根部细胞发现, AtMPK6定位于早前期带(pre-prophase band, PPB)和成膜体(PPB和成膜体是控制细胞分裂板的两个重要细胞骨架结构), 从而参与根部发育早期细胞分裂板的调控。此外, 结合亚细胞分馏及共定位显微观察发现AtMPK6定位于PM和TGN。也就是说, AtMPK6不仅定位于胞核和胞质, 而且存在于根部分裂细胞的早前期带及成膜体上, 并位于根部非分裂细胞的质膜和胞质中(Muller等2010)。

Smertenko等(2006)曾提出AtMPK6和AtMPK4通过磷酸化MAP65-1而参与调控维管束。此外, 小泡运输蛋白, 如表皮生长因子途径中底物蛋白的同源蛋白(EHD1和EHD2), 小泡相关膜蛋白VAMP1, 突触体相关蛋白SNAP30, SNARP交互蛋白KEULE, 胞外组分EXO70和胞质骨架相关蛋白, 像驱动蛋白, 肌球蛋白重链相关蛋白, 肌动解聚因子7和磷脂酶D, 均具有MAPK磷酸化位点。有趣的是, Menges等(2008)报道这些蛋白的表达及编码的基因均与AtMPK6相关。因此, 这些蛋白有些可能作为MAPK的目标底物(Muller等2010)。

3.5 AtMPK6参与调控植物叶片衰老

衰老是植物器官或组织逐步走向功能衰退和死亡的过程。已有研究证实拟南芥中MKK9-MPK6参与调控叶片衰老。通过观察*mpk6*和*mkk9*突变体, 发现叶片衰老推迟, 而过表达MKK9导致早衰并使衰老相关基因积累, 但这些基因在*mpk6*突变体中被部分抑制(Zhou等2009)。由此表明MKK9-MPK6途径在衰老过程中起着一定的作用。

4 蛋白磷酸酶与AtMPK6的关系

蛋白磷酸酶是体内调节激酶活性的重要物质, MAPK级联途径常常被各种蛋白磷酸酶去磷酸化而失活。拟南芥中有122个基因可以编码蛋白磷酸酶, 并且可以划分为5个明显不同的种类: 蛋白

磷酸酶2C (protein phosphatases 2C, PP2Cs)、双特异性蛋白磷酸酶[(dual-specificity Ser/Thr and Thy phosphatases, DSPs), 也称为MAPK磷酸酶(dual-specificity MAPK phosphatases, MKPs)]、丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶(Ser/Thr protein phosphatases, STPPs)、蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatases, PTPs)、低分子量的PTPs。PTPs和DSPs已证实酵母和动物中分别作为MAPK或MAPKK的负调控者。

拟南芥中一个PP2C类蛋白磷酸酶AP2C1在创伤和病原体反应中负调控AtMPK6和AtMPK4。在创伤过程中, AP2C1特异结合AtMPK6和AtMPK4, 降低他们的激酶活性。植物过表达AP2C1产生少量ET和JA, 并且表现出对灰霉菌(*Botrytis cinerea*)更加敏感。这些结果表明, 在JA、创伤、病原体信号转导途径中, AP2C1参与调控AtMPK6和AtMPK4的可逆磷酸化(Schweighofer等2007)。

PP2C5是新近报道的另一PP2C类蛋白磷酸酶, 它影响种子的萌发和气孔孔径, 并参与ABA诱导的基因表达; 同时还证实PP2C5与胁迫诱导的AtMPK3、AtMPK4和AtMPK6之间相互作用。通过构建的*pp2c5ap2c1*双突变体, 发现PP2C5与AP2C1在调控ABA诱导的基因表达方面存在功能冗余现象(Brock等2010)。

拟南芥中另一个PP2C类Ser/Thr磷酸酶ABI1, 能够被ABA和渗透胁迫所激活(Leung等2006)。通过酵母、体外及拟南芥原生质体共转化实验证实, ABI1可以直接与AtMPK6相互作用, 并将其失活, 而构建AtMPK6负调控形式(AtMPK6Y223A)的植株表现出对ABA超敏感, 出现与*abi1*功能缺失型突变体相似的表现型, 暗示其在胁迫中参与依赖于ABA的信号转导途径(Yoshida等2006)。

双特异性蛋白磷酸酶MKP2作为AtMPK6和AtMPK3的负调控者参与臭氧胁迫反应。通过实验发现MKP2不仅在氧化胁迫反应中与AtMPK6和AtMPK3相互作用, 并且在植物抵抗病原菌反应中也存在与AtMPK3和AtMPK6的相互作用。当病原菌侵染时, MKP2/MPK6相互结合作用增强, 而MKP2/MPK3相互结合作用减弱, 表明MKP2对两种激酶的作用可能是不同的。此外, 在真菌侵染的HR反应中MKP2与MPK6也存在相互作用(Lum-

breras等2010; Lee和Ellis 2007)。

AtMKP1是另一种磷酸酶, 最初从对基因毒性胁迫超敏感的突变体中识别出来。酵母双杂交及pull-down实验发现MKP1可以强烈结合AtMPK6, 而且双分子荧光互补检测MKP1-YFP主要定位于细胞质中, 与定位于相同部位的AtMPK6相互作用。UV-C处理的基因毒性胁迫诱导AtMPK6活化, 并在*mkp1*突变体中活性增强, 而在MKP1过表达植物中活性减弱。这些结果表明MKP1负调控AtMPK6, 至少在基因毒性与盐胁迫之间存在信号交流。也就是说, MKP1通过抑制UV诱导的AtMPK6活性, 保护植物抵抗UV-B导致的细胞死亡(Ulm等2002)。

PTP1是拟南芥中蛋白酪氨酸磷酸酶的一个成员。PTP1基因在各种不同逆境胁迫中均表达, 并参与氧化胁迫信号转导, 能够使AtMPK6去磷酸化而失活(Gupta和Luan 2003)。但至今并未证实体内ROS信号转导中是否存在这一作用。此外, 双分子荧光互补实验分析PTP1与AtMPK6主要在细胞核中相互作用(Bartels等2009)。而且MKP1与PTP1在体内存在部分功能重叠。*mkp1*与*mkp1ptp1*突变体出现多种发育及形态学变化, 并诱导PR基因表达量提高, 与此同时*mkp1mpk6*与*mkp1ptp1mpk6*突变体植株的发育缺陷减轻, 并降低了PR基因的表达量。而PR基因超表达常常与植物激素SA水平的提高密切相关。因此, 通过检测*mkp1*、*mkp1ptp1*、*mkp1mpk6*与*mkp1ptp1mpk6*突变体中SA的积累量, 证实AtMPK6积极参与调控依赖于SA的防御反应, 并被MKP1和PTP1负调控(Bartels等2009)。

5 结语

拟南芥AtMPK6参与的级联途径可以被多种生物和非生物胁迫激活。为什么AtMPK6拥有如此众多的功能呢? 一种原因可能是刺激信号产生第二信使, 从而激活下游信号途径, 传递刺激信号。在这一推测中, ROS可能是第二信使, 因为在逆境胁迫、激素刺激及发育过程中均可产生ROS。另一种原因可能是, AtMPK6与多种MAPKK互作, 如MKK2、MKK3、MKK4、MKK5和MKK9, 而且途径中的其他成员或目标仅在特定细胞、亚细胞, 特定发育阶段或特定环境条件下表达。例如在AtMPK6与ET的关系中, MKK4-MPK6-ACS6途

径调控ET合成(Merkouropoulos等2008; Liu和Zhang 2004), 而MKK9-MPK6-EIN3途径参与ET信号转导(Liu和Zhang 2004)。MKK4位于胞质, 活化的MKK9转移至细胞核, 两个MAPKK无论位于胞质还是胞核, 均可以磷酸化AtMPK6, 并进一步磷酸化下游靶蛋白以引起不同的反应。此外, 在不同外界刺激下AtMPK6被不同蛋白磷酸酶去磷酸化, 从而参与不同的胁迫响应。

近年来, 随着分子生物学、生物化学及分子遗传学等方法的相互结合, 使得拟南芥AtMPK6级联途径的研究取得了显著进展。但是这些研究仍有许多局限性, 尤其是MAPKKK作为AtMPK6的上游组分, 被鉴定出来的依然很少。目前, 拟南芥MAPK级联途径中推测的120个蛋白激酶只有一小部分的功能得到确认, 如AtMPK3、AtMPK4和AtMPK6在胁迫响应和参与发育调控中发挥功能。尽管现在一些研究结果正被其他17个MAPK利用, 可是仍然很难确定参与如此众多信号途径是20个MAPK所共有的功能, 还是比较熟知的3种MAPK(AtMPK3、AtMPK4和AtMPK6)的特异功能, 或者是技术原因, 或是这些MAPK在不连续的环境中被激活而未被察觉。因此, 我们需要运用更加新颖的方法及策略, 如结合转录组学数据及蛋白质组学方法, 基因敲除和基因插入等研究MAPK级联途径。同时, 运用蛋白互作的方法, 如酵母双杂交、生物传感(SPR)及免疫芯片等技术识别不同胁迫诱导的信号转导途径中各种底物及信号组分, 以便充分探明MAPK级联途径, 并阐明其潜在的信号转导机制。

参考文献

- Ahlfors R, Brosche M, Kangasjarvi J (2009). Ozone and nitric oxide interaction in *Arabidopsis thaliana*: a role for ethylene? *Plant Signal Behav*, 4: 878-879
- Asai T, Tena G, Plotnikova J, Willmann MR, Chiu WL, Gomez-Gomez L, Boller T, Ausubel FM, Sheen J (2002). MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature*, 415: 977-983
- Bartels S, Anderson JC, Gonzalez Besteiro MA, Carreri A, Hirt H, Buchala A, Metraux JP, Peck SC, Ulm R (2009). MAP kinase phosphatase1 and protein tyrosine phosphatase1 are repressors of salicylic acid synthesis and SNC1-mediated responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21: 2884-2897
- Berger S (2002). Jasmonate-related mutants of *Arabidopsis* as tools for studying stress signaling. *Planta*, 214: 497-504
- Bergmann DC, Lukowitz W, Somerville CR (2004). Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase. *Science*, 304: 1494-1497
- Bethke G, Unthan T, Uhrig JF, Poschl Y, Gust AA, Scheel D, Lee J (2009). Flg22 regulates the release of an ethylene response factor substrate from MAP kinase 6 in *Arabidopsis thaliana* via ethylene signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106: 8067-8072
- Bright J, Desikan R, Hancock JT, Weir IS, Neill SJ (2006). ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. *Plant J*, 45: 113-122
- Brock AK, Willmann R, Kolb D, Grefen L, Lajunen H, Bethke G, Lee J, Nurnberger T, Gust AA (2010). The *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase phosphatase PP2C5 affects seed germination, stomatal aperture, and abscisic acid-inducible gene expression. *Plant Physiol*, 153: 1098-1111
- Burnett EC, Desikan R, Moser RC, Neill SJ (2000). ABA activation of an MBP kinase in *Pisum sativum* epidermal peels correlates with stomatal responses to ABA. *J Exp Bot*, 51: 197-205
- Bush SM, Krysan PJ (2007). Mutational evidence that the *Arabidopsis* MAP kinase MPK6 is involved in anther, inflorescence, and embryo development. *J Exp Bot*, 58: 2181-2191
- Devoto A, Turner JG (2003). Regulation of jasmonate-mediated plant responses in *Arabidopsis*. *Ann Bot*, 92: 329-337
- Djamei A, Pitzschke A, Nakagami H, Rajh I, Hirt H (2007). Trojan horse strategy in *Agrobacterium* transformation: abusing MAPK defense signaling. *Science*, 318: 453-456
- Doczi R, Brader G, Pettko-Szandtner A, Rajh I, Djamei A, Pitzschke A, Teige M, Hirt H (2007). The *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase kinase MKK3 is upstream of group C mitogen-activated protein kinases and participates in pathogen signaling. *Plant Cell*, 19: 3266-3279
- Droillard M, Boudsocq M, Barbier-Brygoo H, Lauriere C (2002). Different protein kinase families are activated by osmotic stresses in *Arabidopsis thaliana* cell suspensions. Involvement of the MAP kinases AtMPK3 and AtMPK6. *FEBS Lett*, 527: 43-50
- Droillard MJ, Boudsocq M, Barbier-Brygoo H, Lauriere C (2004). Involvement of MPK4 in osmotic stress response pathways in cell suspensions and plantlets of *Arabidopsis thaliana*: activation by hypoosmolarity and negative role in hyperosmolarity tolerance. *FEBS Lett*, 574: 42-58
- Gonzalez Besteiro MA, Bartels S, Albert A, Ulm R (2011). *Arabidopsis* MAP kinase phosphatase 1 and its target MAP kinases 3 and 6 antagonistically determine UV-B stress tolerance, independent of the UVR8 photoreceptor pathway. *Plant J*, 68: 727-737
- Gupta R, Luan S (2003). Redox control of protein tyrosine phosphatases and mitogen-activated protein kinases in plants. *Plant Physiol*, 132: 1149-1152
- He P, Shan L, Lin NC, Martin GB, Kemmerling B, Nurnberger T, Sheen J (2006). Specific bacterial suppressors of MAMP signaling upstream of MAPKKK in *Arabidopsis* innate immunity. *Cell*, 125: 563-575
- Ichimura K, Casais C, Peck SC, Shinozaki K, Shirasu K (2006). MEKK1 is required for MPK4 activation and regulates tissue-specific and temperature-dependent cell death in *Arabidopsis*. *J*

- Biol Chem, 281: 36969~36976
- Ichimura K, Mizoguchi T, Yoshida R, Yuasa T, Shinozaki K (2000). Various abiotic stresses rapidly activate *Arabidopsis* MAP kinases ATMPK4 and ATMPK6. *Plant J*, 24: 655~665
- Jenkins GI (2009). Signal transduction in responses to UV-B radiation. *Annu Rev Plant Biol*, 60: 407~431
- Jonak C, Okresz L, Bogre L, Hirt H (2002). Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 5: 415~424
- Joo S, Liu Y, Lueth A, Zhang S (2008). 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. *Plant J*, 54: 129~140
- Kovtun Y, Chiu WL, Tena G, Sheen J (2000). Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 2940~2945
- Kroj T, Rudd JJ, Nurnberger T, Gabler Y, Lee J, Scheel D (2003). Mitogen-activated protein kinases play an essential role in oxidative burst-independent expression of pathogenesis-related genes in parsley. *J Biol Chem*, 278: 2256~2264
- Lampard GR (2009). The missing link? *Arabidopsis* SPCH is a MAPK specificity factor that controls entry into the stomatal lineage. *Plant Signal Behav*, 4: 425~427
- Lee JS, Ellis BE (2007). *Arabidopsis* MAPK phosphatase 2 (MKP2) positively regulates oxidative stress tolerance and inactivates the MPK3 and MPK6 MAPKs. *J Biol Chem*, 282: 25020~25029
- Leung J, Orfanid S, Chefdor F, Mészáros T, Bolte S, Mizoguchi T, Shinozaki K, Giraudat J, Bögre L (2006). Antagonistic interaction between MAP kinase and protein phosphatase 2C in stress recovery. *Plant Sci*, 171: 596~606
- Liu XM, Kim KE, Kim KC, Nguyen XC, Han HJ, Jung MS, Kim HS, Kim SH, Park HC, Yun DJ et al (2010). Cadmium activates *Arabidopsis* MPK3 and MPK6 via accumulation of reactive oxygen species. *Phytochemistry*, 71: 614~618
- Liu Y, Zhang S (2004). Phosphorylation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase by MPK6, a stress-responsive mitogen-activated protein kinase, induces ET biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 3386~3399
- Liu YK (2012). Roles of mitogen-activated protein kinase cascades in ABA signaling. *Plant Cell Rep*, 31: 1~12
- Luan S (2003). Protein phosphatases in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 54: 63~92
- Lumbreras V, Vilela B, Irar S, Sole M, Capellades M, Valls M, Coca M, Pages M (2010). MAPK phosphatase MKP2 mediates disease responses in *Arabidopsis* and functionally interacts with MPK3 and MPK6. *Plant J*, 63: 1017~1030
- MAPK Group (2002). Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci*, 7: 301~308
- Menges M, Dóczi R, Okrész L, Morandini P, Mizzi L, Soloviev M, Murray JA, Bögre L (2008). Comprehensive gene expression atlas for the *Arabidopsis* MAP kinase signalling pathways. *New Phytol*, 179: 643~662
- Merkouropoulos G, Andreasson E, Hess D, Boller T, Peck SC (2008). An *Arabidopsis* protein phosphorylated in response to microbial elicitation, AtPHOS32, is a substrate of MAP kinases 3 and 6. *J Biol Chem*, 283: 10493~10499
- Miles GP, Samuel MA, Zhang Y, Ellis BE (2005). RNA interference-based (RNAi) suppression of AtMPK6, an *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase, results in hypersensitivity to ozone and misregulation of AtMPK3. *Environ Pollut*, 138: 230~237
- Mishra NS, Tuteja R, Tuteja N (2006). Signaling through MAP kinase networks in plants. *Arch Biochem Biophys*, 452: 55~68
- Moon H, Lee B, Choi G, Shin D, Prasad DT, Lee O, Kwak SS, Kim DH, Nam J, Bahk J et al (2003). NDP kinase 2 interacts with two oxidative stress-activated MAPKs to regulate cellular redox state and enhances multiple stress tolerance in transgenic plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 358~363
- Muller J, Beck M, Mettlich U, Komis G, Hause G, Menzel D, Samaj J (2010). *Arabidopsis* MPK6 is involved in cell division plane control during early root development, and localizes to the pre-prophase band, phragmoplast, trans-Golgi network and plasma membrane. *Plant J*, 61: 234~248
- Ouaked F, Rozhon W, Lecourieux D, Hirt H (2003). A MAPK pathway mediates ET signaling in plants. *EMBO J*, 22: 1282~1288
- Paponov IA, Paponov M, Teale W, Menges M, Chakrabortee S, Murray JA, Palme K (2008). Comprehensive transcriptome analysis of auxin responses in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 1: 321~337
- Rao KP, Richa T, Kumar K, Raghuram B, Sinha AK (2010). *In silico* analysis reveals 75 members of mitogen-activated protein kinase gene family in rice. *DNA Res*, 17: 139~153
- Ren D, Liu Y, Yang KY, Han L, Mao G, Glazebrook J, Zhang S (2008). A fungal-responsive MAPK cascade regulates phytoalexin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 5638~5643
- Ren DT, Yang H, Zhang S (2002). Cell death mediated by MAPK is associated with hydrogen peroxide production in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 277: 559~565
- Renkel MC, Lecourieux D, Ouaked F, Usher SL, Petersen L, Okamoto H, Knight H, Peck SC, Grierson CS, Hirt H et al (2004). OX11 kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in *Arabidopsis*. *Nature*, 427: 858~861
- Schweighofer A, Kazanaviciute V, Scheikl E, Teige M, Doczi R, Hirt H, Schwanninger M, Kant M, Schuurink R, Mauch F et al (2007). The PP2C-type phosphatase AP2C1, which negatively regulates MPK4 and MPK6, modulates innate immunity, jasmonic acid, and ethylene levels in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 2213~2224
- Smertenko AP, Chang HY, Sonobe S, Fenyk SI, Weingartner M, Bogre L, Hussey PJ (2006). Control of the AtMAP65-1 interaction with microtubules through the cell cycle. *J Cell Sci*, 119: 3227~3237
- Suarez-Rodriguez MC, Adams-Phillips L, Liu Y, Wang H, Su SH, Jester PJ, Zhang S, Bent AF, Krysan PJ (2007). MEKK1 is required for flg22-induced MPK4 activation in *Arabidopsis* plants. *Plant Physiol*, 143: 661~669
- Takahashi F, Yoshida R, Ichimura K, Mizoguchi T, Seo S, Yonezawa M, Maruyama K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2007). The mitogen-activated protein kinase cascade MKK3-MPK6 is

- an important part of the jasmonate signal transduction pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 805~818
- Tanoue T, Adachi M, Moriguchi T, Nishida E (2000). A conserved docking motif in MAP kinases common to substrates, activators and regulators. *Nat Cell Biol*, 2: 110~116
- Teige M, Scheickl E, Eulgem T, Dóczi R, Ichimura K, Shinozaki K, Dangl JL, Hirt H (2004). The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, 15: 141~152
- Ulm R, Ichimura K, Mizoguchi T, Peck SC, Zhu T, Wang X, Shinozaki K, Paszkowski J (2002). Distinct regulation of salinity and genotoxic stress responses by *Arabidopsis* MAP kinase phosphatase 1. *EMBO J*, 21: 6483~6493
- Wang H, Liu Y, Bruffett K, Lee J, Hause G, Walker JC, Zhang S (2008). Haplo-insufficiency of *MPK3* in *MPK6* mutant background uncovers a novel function of these two MAPKs in *Arabidopsis* ovule development. *Plant Cell*, 20: 602~613
- Wang H, Ngwenyama N, Liu Y, Walker JC, Zhang S (2007). Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 63~73
- Wang P, Du Y, Ren D, Song CP (2010). Hydrogen peroxide-mediated activation of MAP kinase 6 modulates nitric oxide biosynthesis and signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 22: 2981~2998
- Xing Y, Jia W, Zhang J (2008). AtMKK1 mediates ABA-induced *CAT1* expression and H₂O₂ production via AtMPK6-coupled signaling in *Arabidopsis*. *Plant J*, 54: 440~451
- Xing Y, Jia W, Zhang J (2009). AtMKK1 and AtMPK6 are involved in abscisic acid and sugar signaling in *Arabidopsis* seed germination. *Plant Mol Biol*, 70: 725~736
- Xu J, Li Y, Wang Y, Liu H, Lei L, Yang H, Liu G, Ren D (2008). Activation of MAPK kinase 9 induces ethylene and camalexin biosynthesis and enhances sensitivity to salt stress in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 283: 26996~27006
- Yoo SD, Cho YH, Tena G, Xiong Y, Sheen J (2008). Dual control of nuclear EIN3 by bifurcate MAPK cascades in C₂H₄ signalling. *Nature*, 451: 789~795
- Yoshida R, Umezawa T, Mizoguchi T, Takahashi S, Takahashi F, Shinozaki K (2006). The regulatory domain of SRK2E/OST1/SnRK2.6 interacts with ABI1 and integrates abscisic acid (ABA) and osmotic stress signals controlling stomatal closure in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 281: 5310~5318
- Zhang A, Jiang M, Zhang J, Ding H, Xu S, Hu X, Tan M (2007). Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves. *New Phytol*, 175: 36~50
- Zhou C, Cai Z, Guo Y, Gan S (2009). An *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase cascade, MKK9-MPK6, plays a role in leaf senescence. *Plant Physiol*, 150: 167~177