

拟南芥AtMEKK1的结构特征和信号转导功能

周严, 刘玉鲲, 孔祥培, 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)级联途径是真核生物中高度保守的信号通路。MAPK级联途径由MAPKs、MAPKKs和MAPKKKs组成, 通过MAPKKK→MAPKK→MAPK的逐级磷酸化传递细胞信号。AtMEKK1是拟南芥MAPKKK家族中的一员, 是目前研究较为详细的MAPKKK。本文就AtMEKK1的结构特征、生理功能、信号转导中的“交谈”及其复杂性进行综述, 旨在探讨植物MAPKKK的信号转导作用。

关键词: AtMEKK1; 信号转导; 信号特异性; MAPK级联途径

Structural Characteristics and Signal Transduction Functions of AtMEKK1 in *Arabidopsis*

ZHOU Yan, LIU Yu-Kun, KONG Xiang-Pei, 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) cascades constitute a conserved signaling pathway in eukaryotes. MAPK cascades consist of MAPKs, MAPKKs and MAPKKKs. MAPK cascades transduce signals by sequential phosphorylation (MAPKKK→MAPKK→MAPK). AtMEKK1 is one of the MAPKKKs in *Arabidopsis* and is the MAPKKK with detailed studies in plant. In this review, we summarized the structural characteristics and physiological functions of AtMEKK1. Furthermore, we discussed the “cross-talk” of AtMEKK1 with other signaling components and signal specificity. This review may shed light on the function of plant MAPKKKs.

Key words: AtMEKK1; signal transduction; signal specificity; MAPK cascades

促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联途径是真核生物细胞信号转导中高度保守的信号组分。MAPK级联途径包括3种蛋白激酶: 即MAPKKK、MAPKK和MAPK。它们以逐级磷酸化的方式构成信号放大途径, 特异性地感受上游刺激, 并将信号放大向下传递给靶蛋白。MAPKKK是一类Ser/Thr蛋白激酶, 通过磷酸化MAPKK中的S/T-X_{3,5}-S/T基序, 将其激活。MAPKK是一类双特异性蛋白激酶, 磷酸化MAPK中T-X-Y基序的Thr和Tyr残基。MAPK位于整个信号模块的最下游, 是一类Ser/Thr蛋白激酶, 其磷酸化底物种类繁多, 包括转录因子、蛋白激酶、细胞骨架结合蛋白等等。

MAPK级联途径(MAPK cascades)参与真核生物的多种信号转导, 在调节生物体对环境的主动适应过程中起重要作用。在植物中, MAPK的活化与植物的生长发育及病原物侵染、机械伤害、触摸、干旱、低温、高盐、渗透胁迫以及活性氧胁迫

等各种响应相关联(Morris 2001; Nakagami等2005; Pitzschke等2009; Tena等2001; Zhang和Kleszig 2001), 同时MAPK也能响应铜、镉、铁、锌、钒酸盐等重金属胁迫(Ding等2009; Jonak等2004; Lin等2005, 2009; Liu等2010; Tsai和Huang 2006; Yeh等2003, 2004)。

随着植物基因组研究的深入, 植物体内MAPKs的数量也逐渐被确定。迄今为止已发现拟南芥中有20个MAPK、10个MAPKK、80个MAPKKK, 水稻中有15个MAPK、8个MAPKK、75个MAPKKK, 白杨中有21个MAPK、11个MAPKK(Hamel等2006; MAPK Group 2002; Rao等2010)。根据MAPK编码蛋白序列T-X-Y基序的不同, 可将其分为TEY类和TDY类, 依系统发生关系将TEY类

收稿 2011-01-25 修定 2011-03-01

资助 国家自然科学基金(30871457和31071337)。

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

进而划分为A、B、C组, TDY类单独列为D组。MAPKK的数量要少于MAPK和MAPKKK, 不同的MAPKKK能激活同一种MAPKK, 进而MAPKK再激活多种MAPK。根据氨基酸序列比对将拟南芥的MAPKKs分为4组, 分别为A、B、C和D组(MAPK Group 2002)。而MAPKKK是数量最多、最为复杂的一类, 至今研究还不清楚。

1 拟南芥中的MAPKKK

拟南芥基因组数据分析显示, 拟南芥存在80个MAPKKK, 数量远多于MAPK和MAPKK, 他们在一级结构和结构功能区上差别较大, 种类较多, 除了有蛋白激酶区外, 还有多种其他的功能区(MAPK Group 2002)。根据其蛋白催化区的氨基酸序列可将其分为三类, 即MEKK类[MEKK(MAPK/ERK kinase kinase/STE11 (Sterile 11)/BCK1 (Bypass of C kinase 1)], Raf类和ZIK类。其中MEKK类有21个, Raf类有48个, ZIK类有11个(Rao等 2010)。MEKK类又称为A组, 而A组又可以分为4个亚组。AtMEKK1~4、欧洲油菜BnMEKK1同属于A1亚组, 他们包含共同的N末端结构基序(Jouannic等1999)。但AtMEKK4结构较为特殊, 在其N末端具有几个特殊的结构功能区, 即富含Gly区、WRKY区、TIR区、NB-ARC区、富含Leu区以及蛋白激酶区。YDA、ANP1、ANP2、ANP3是研究较为详尽的MEKK, YDA属于A2亚组, 而ANP1~3属于A3亚组, 它们在其C末端有一推测的蛋白调控区。Raf类激酶又被分为B组和C组, B组具有N末端延伸蛋白区, 而C组的较B组的短。拟南芥的CTR1和EDR1就是一类B组Raf激酶, 它们分别参与乙烯和病原抗性信号转导(Frye等2001; Kieber等1993)。C组MAPKKKs的研究还不深入, 功能还不清楚。而ZIK类与其他两类同源关系较远,

属于单独的一支, 拟南芥ZIK蛋白WNK1 (At3g04910)能磷酸化参与调控昼夜节律的一个蛋白, 表明ZIK类与其他两类MAPKKKs功能不同(Champion等2004; Murakami等2002; Nakamichi等2002)。

拟南芥作为一种模式植物, 对它的研究较清楚。目前拟南芥的基因组已经确定, 编码的MAPK家族的基因也已知道, 但人们主要把精力都放到了研究MAPK和MAPKK上, 而对于MAPKKK的研究则很少。在MAPKKK中AtMEKK1的研究相对于其他基因研究较多, 它的功能比较清楚。因此, 我们在此基础上对近几年AtMEKK1的研究成果进行了总结, 以便能更清楚地了解AtMEKK1的结构与功能。

2 拟南芥AtMEKK1

2.1 AtMEKK1的结构特征

AtMEKK1基因位于拟南芥的4号染色体上, 阅读框包含1 827个核苷酸, 编码608个氨基酸, 预测的蛋白质分子量是66 kDa。它与AtMEKK2~4、BnMEKK1同属于A1亚组, 有着共同的N末端结构基序和C末端激酶区。AtMEKK1的C末端激酶区包含这一组所有的保守序列和11个保守的亚结构域, N末端结构基序中包含5个蛋白基序(A、B、B、C、D), 其中有一非催化侧翼区, 这一区域的蛋白序列与其他同源的基因有明显的不同, 这也许与底物专一性和调控机制有关(图1) (Jouannic等1999; Mizoguchi等1996)。AtMEKK1 N末端的前166个氨基酸能够负调控本身的激酶活性, 即当有这166个氨基酸时AtMEKK1没有激酶活性, 而当去除这些氨基酸后AtMEKK1就能表现出活性。这表明AtMEKK1必需去除这些氨基酸后才能激活下游的AtMEKs。而第166和249个之间的氨基酸与底物的识别有关, 并且当AtMEKK1 N末端去除前249

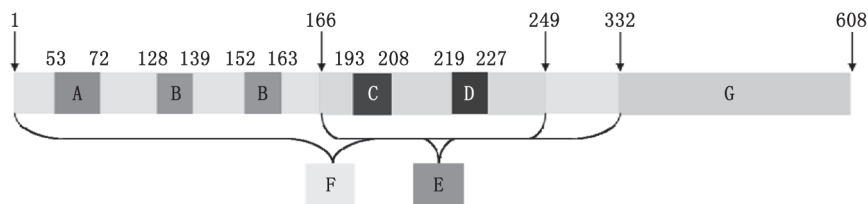


图1 AtMEKK1的蛋白结构示意图(Hadiarto等 2006; Jouannic等1999; Mizoguchi等1996)

Fig.1 Protein Structure of AtMEKK1

数字代表氨基酸位置, 字母代表蛋白基序。F: 激酶调控区; G: 激酶区; 根据MEME程序, 激酶调控区包含A、B、B、C、D五个蛋白基序; E: 与底物识别相关。

个氨基酸后, 它会失去激酶活性不能激活下游的AtMEK1 (Hadiarto等 2006)。前人研究表明, AtMEKK1是一种支架蛋白, MKK1和MKK2能与它的C末端激酶区结合激活其活性; 而它的N末端调控区又能与下游的AtMPK4和其他的B组MAPKs结合发挥功能(Meszaros等2006); 除此之外, 它还能直接与转录因子WRKY53结合调控基因表达(Miao等2007)。因此, AtMEKK1蛋白结构是很复杂的, 由于它的这种复杂性, 导致了其功能的多样性。

2.2 AtMEKK1参与胁迫响应

拟南芥在外界环境下生存经常会受到很多胁迫刺激, 因此体内就会产生许多生理变化来响应外界的刺激信号(表1)。MAPK级联途径就将外界的刺激信号放大并传递下去使其响应这些刺激。而MEKK1作为MAPK级联途径的一员, 它能够被很多的刺激信号激活并将信号传递下去。它既能参与生物胁迫也可以参与非生物胁迫响应, 二者会在MAPK级联途径中发生“交谈”(cross-talk)。

2.2.1 AtMEKK1参与生物胁迫

AtMEKK1参与的生物胁迫响应主要是由flg22刺激引起的胁迫反应。flg22是一个人工合成的多肽, 来自一个保守的鞭毛蛋白结构域, 仅具有22个氨基酸就能诱发许多细胞反应, 包括至少100个拟南芥基因的快速转录诱导。flg22的受体是FLS2, 一个高度保守的富含亮氨酸的受体激酶(LRR-RK) (Chinchilla等2006; Felix等1999; Sun等2006)。最近研究表明, 诱导的FLS2和BRI1-Associated Kinase (BAK1)的复合物触发MAPK级联途径(Chinchilla等2007)。Asai等(2002)的研究发现, 在原生质体和叶中flg22能激活组成型活性的MEKK1 (即去除N末端调控区的MEKK1), 再激活MKK4/MKK5, 最后激活MPK3/MPK6, 组成一信号通路参与防御响应。可最近遗传学研究证明, 拟南芥体内还存在另一信号通路: MEKK1-MKK1/2-MPK4, 这条途径的证据来自于这些蛋白能在酵母与体外相互作用(Ichimura等1998)和功能缺失的mekk1、mpk4、mkk1mkk2突变

表1 AtMEKK1参与的信号途径

Table 1 The signal cascades of AtMEKK1

信号	级联途径	文献
flg22	MEKK1-MKK1/2-MPK4-MKS1/WRKY33	Gao等2008; Ichimura等2006; Qiu等2008a, b; Su等2007; Suarez-Rodriguez等2007
	MEKK?-MKK4/5-MPK3/6-WRKY22/29	Asai等2002; Ichimura等2006; Su等2007
低温和盐胁迫	MEKK1-MKK2-MPK4/6	Ichimura等2000; Teige等2004
干旱胁迫	MEKK1-MKK1-MPK4	Ichimura等1998; Mizoguchi等1996, 1998; Hadiarto等2006
活性氧	MEKK1-MKK1/2-MPK4	Nakagami等2006; Pitzschke和Hirt 2009; Pitzschke等2009
衰老	MEKK1-WRKY53	Miao等2004, 2007

体的相关表型, 而且越来越多的实验证实MEKK1的下游是MKK1/2而不是MKK4/5 (Gao等2008; Ichimura等2006; Qiu等2008a, 2008b; Su等2007; Suarez-Rodriguez等2007)。研究还表明, MEKK1并不是与FLS2/BAK1复合物直接作用, 它们之间还有一个信号中间体, 现在尚不清楚。MPK4的下游底物是MKS1和转录因子WRKY33, MPK4与具有完整N末端的MKS1、WRKY33相互作用形成三元复合物, MPK4通过多重磷酸化MKS1, 使WRKY33与之分离, 进而调控基因表达, 而且是一负调控机制(Andreasson等2005; Meszaros等2006; Petersen等2010; Qiu等2008a, 2008b)。综上所述, 拟南芥体内存在 flg22-FLS2/BAK1-MEKK1-MKK1/2-MPK4-

MKS1/WRKY33信号通路。

但是Ichimura等(2006)和Su等(2007)都指出, 当拟南芥幼苗受到flg22处理后, MPK3和MPK6能够被激活, 但它们并不依赖MEKK1。它们的上游MKK4/5也能被激活, 并证明下游底物是转录因子WRKY22/29 (Asai等2002), 但还不清楚其MEKK。所以拟南芥体内还存在 flg22-FLS2/BAK1-MEKK?-MKK4/5-MPK3/6-WRKY22/29信号通路, 而且这是一种正调控机制。因此, 当拟南芥受到flg22刺激后会产生2条平行的信号通路, 通过MPK3/6的正调控和MPK4的负调控机制的相互作用, 调节基因表达参与防御响应。

2.2.2 AtMEKK1参与非生物胁迫

早期研究表明,

AtMPK4和AtMPK6能被冷、盐胁迫激活, Ichimura等(2000)推测AtMEKK1和AtMKK2也参与了冷和盐胁迫, 并能激活AtMPK4和AtMPK6。随后Teige等(2004)指出, 在拟南芥原生质体中, MKK2能被冷、盐胁迫和MEKK1特异性激活, 而且酵母双杂交、体外和体内蛋白激酶实验还发现MKK2能直接与MPK4和MPK6相互作用。除此之外, *mkk2*突变体减弱了对冷和盐胁迫的耐受力, 而过表达MKK2增加了对冷和盐胁迫的耐受力。最近Yang等(2010a, 2010b)报道了AtMEKK1能与CRLK1相互作用, CRLK1是一个新的Ca²⁺/CaM调节的类受体激酶, Ca²⁺/CaM与CRLK1结合上调其活性, 再激活下游的AtMEKK1途径调控冷胁迫。因此, 拟南芥体内存在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(1996)分离出2个受干旱诱导的基因*AtMEKK1*和*AtMPK3*, 在干旱条件下, 5 min内AtMEKK1和AtMPK3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。Ichimura等(1998)和Mizoguchi等(1998)利用酵母双杂交实验鉴定出植物中第一条完整的MAPK信号通路: AtMEKK1-AtMEK1-AtMPK4, 并证明它能传递干旱和机械损伤信号。Hadiarto等(2006)又证明AtMEKK1参与机械损伤胁迫, 经损伤处理后, AtMEKK1很快就能被诱导表达, 1 min内表达量就很高, 10 min达到最高峰, 20 min后开始下降。此外, MEKK1能与下游的MKK1和MKK2相互作用, 但更倾向作用于MKK1, 而且这种相互作用只出现在损伤处理的早期(Hadiarto等2006)。因此, 拟南芥体内存在MEKK1-MKK1-MPK4信号通路, 参与干旱和机械损伤响应。

2.2.3 AtMEKK1与活性氧 受臭氧、重金属离子和水杨酸等刺激时, 植物会在体内积累活性氧(ROS), 而植物要克服氧胁迫会产生一些清除活性氧的酶, 如CAT等。例如, 拟南芥中的CAT1是受ABA调节的。Xing等(2008)发现MAPKK抑制剂PD98059能阻碍ABA调节的CAT1的表达, 而且拟南芥的*mkk1*和*mpk6*突变体表型在响应ABA胁迫时发生了改变。这些结果表明MKK1-MPK6通过CAT1调控H₂O₂的代谢。而CAT2的表达是受MEKK1和MPK4调控的(Pitzschke和Hirt 2009)。在

ROS代谢中MEKK1-MPK4途径是必不可少的组分(Nakagami等2006)。在*mekki1*突变体中, 用DAB染色发现了H₂O₂的积累, 而且这种突变体在发育早期就会死亡。在原生质体中, MEKK1在H₂O₂存在时被激活, 而且MEKK1是H₂O₂激活MPK4所必需的。与此相一致, *mpk4*突变体中也出现了H₂O₂的积累, 表明MPK4能诱导或稳定CAT2的活性(Nakagami等2006)。Pitzschke等(2009)发现在*mekki1*、*mpk4*突变体中CAT2的表达量减少, 而*mkk1/mkk2*突变体的则没有影响, 但是CAT1和CAT3的转录水平在*mekki1*和*mkk1/mkk2*中升高, 而在*mpk4*中没有变化。因此, 在*mekki1*突变体中同时存在CAT2的抑制和CAT1、CAT3的诱导, 这可能是一反馈调节机制, 以CAT1和CAT3合成的增加来弥补CAT2的不足。在植物中CAT2的减少将导致H₂O₂含量增加, 植物将会启动另一机制增加CAT3的合成, CAT3使APX1活性恢复并降低H₂O₂的含量(Zimmermann等2006)。在*mekki1*、*mpk4*突变体中CAT2的表达量降低, 但在*mkk1/mkk2*突变体中则没有变化, 这表明在*mkk1/mkk2*突变体中除了CAT2抑制之外, 还存在其他机制解释H₂O₂的积累; 而且CAT2的表达是受MEKK1-MPK4途径调控的, 但不经过MKK1/MKK2。此外, Qiu等(2008a)利用转录组分析发现MEKK1不仅能直接激活MPK4, 也能通过MKK1/MKK2激活MPK4, 而且还能激活其他MAPKs途径。在早期的酵母双杂交实验发现MEKK1能与MPK4直接作用(Ichimura等1998), 此后生物化学实验又证实了这一点(Nakagami等2006)。但是在响应ROS时, MEKK1是直接激活MPK4, 是通过MKK1/MKK2激活MPK4, 还是通过其他MAPKs激活MPK4, 目前还不清楚。我们推测植物体内有多种机制清除ROS, 不同的机制响应的信号途径不同。

2.3 AtMEKK1与衰老

植物的细胞分化和发育过程与其他真核生物一样都是建立在细胞周期基础之上的, 在酵母和哺乳动物中MAPK级联途径参与应激反应和细胞周期关键点的调控。与此相似, 在植物中MAPK级联途径参与了细胞周期的调控, 也参与了植物细胞分化和发育过程的调控。

衰老是植物发育的一个重要过程, 在植物发育中起着重要作用。研究表明, 拟南芥中的AtME-

KK1是直接与转录因子WRKY53结合调控衰老的。AtMEKK1能结合到WRKY53启动子的特殊区域, 调控基因的表达, 还能磷酸化WRKY53蛋白, 从而增强其DNA结合活性, 表明AtMEKK1是一个双功能蛋白(Miao等2007)。这一特殊区域对于WRKY53的表达从依赖叶到依赖整体植株年龄的转换是十分重要的。瞬时表达实验和双分子荧光互补实验进一步验证了AtMEKK1与WRKY53的相互作用(Miao等2007)。早前研究表明, H₂O₂能诱导WRKY53的表达, WRKY53可以负调控自身基因的表达(Miao等2004), WRKY53启动子缺失突变体的研究证明AtMEKK1参与H₂O₂响应的WRKY53表达调控(Miao等2007)。这些结果都表明, 在拟南芥体内AtMEKK1能直接专一性的调控WRKY53的转录及其转录活性。同时, WRKY53的表达可以被真菌细胞壁内的几丁质诱导(Montesano等2003), Gust等(2007)已经证明几丁质能激活MPK3和MPK6。而且WRKY53的基因在mekk1、mkk1/mkk2、mpk4突变体中通常上调表达(Pitzschke等2009)。因此, WRKY53的表达不仅能被AtMEKK1直接调控, 而且还可能通过经典的MAPKs信号途径。

2.4 AtMEKK1的信号特异性

从以上讨论可以看出, AtMEKK1参与多种信号传导, 而且在MAPK级联途径发生了“交谈”。可是这些不同的途径并不是独立的, 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, 其中一条MAPK信号途径的缺陷并不影响其他的信号级联途径。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泛多的外部逆境信号相互适应的结果。然而AtMEKK1参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。两种机制维持这种特异性, 一种是蛋白质之间的相互作用, 另一种是时空上的限制作用, 它包括细胞类型的特异性和亚细胞区室化。

MAPKs与MAPKs之间的结合区域是决定相互作用特异性的主要方面(Bardwell等2009; Mody等2009), 不同家族MAPKs的结合区域(CD domain)氨基酸序列不同, 决定与上游MAPKs结合的特异性。虽然MAPKs通常是Ser/Thr蛋白激酶, 但它

们也表现出一定的Tyr激酶活性, Tyr位点的自磷酸化提高了MAPKs对MAPKs的亲合力。在酵母中, 有三种机制维持酵母信号的特异性, 分别是“交谈”抑制、反馈调节和支架作用(Zou等2008)。其中起支架作用的是一些支架蛋白, 它们能将MAPK组分停靠在一起而增加特异性和改变它们的活化及反应速度。在植物中发现的支架蛋白很少, 然而拟南芥中的AtMEKK1就是一种支架蛋白。AtMEKK1的C末端激酶区可以与下游的MKK1和MKK2结合, 而N末端调控区可以与MPK4和其他B组的MAPKs结合, 它还能与WRKY53直接结合。AtMEKK1可以与级联途径中的其他组分形成一种酶-信号复合体, 避免不同信号途径的交叉, 加速信号的传导过程。

MAPK信号的特异性还依赖于MAPK级联途径组分的亚细胞定位。MAPK级联途径组分不同的亚细胞定位对于理解信号转导的特异性和信号进一步传递是非常关键的。MAPKs常常在细胞质内被激活, 然后转移到细胞核内激活其底物。例如, 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, MEKK1定位在细胞质和细胞核中, WRKY53主要定位在细胞核中, 而MEKK1/WRKY53复合物主要定位在细胞核中, 但在细胞质中也能检测到, 这种复合物形成后可能有一小部分由细胞核转移到细胞质中(Miao等2007)。在正常条件下, MPK4与其底物MKS1和转录因子WRKY33形成三元复合物定位在细胞核, 但是用PAMP (pathogen-associated molecular patterns)处理时, MPK4被AtMEKK1激活后磷酸化MKS1, 导致WRKY33从复合体上释放下来, 从而调节基因表达(Qiu等2008b)。MAPK级联途径组分不同的细胞类型定位也能决定MAPK信号的特异性。例如, 拟南芥AtMPK4被定位到不同的细胞内取决于幼苗的生长条件, 在平板上生长的拟南芥, AtMPK4主要在保卫细胞中表达; 而在土壤中生长的拟南芥, AtMPK4在叶边缘、维管组织、叶柄、花和气孔均有表达(Petersen等2000)。因此不同细胞内的AtMPK4将行使不同的功能。

3 结语

MAPK级联途径是高度保守且广泛存在的信

号通路。植物MAPKs的研究虽然起步较晚,但研究进展很快,大量的研究表明,植物MAPK级联途径在生物胁迫、非生物胁迫、激素以及细胞分裂和发育等多种信号传导过程中发挥着重要的作用。细胞信号传导是由各种相互关联的信号途径交织而成的一个网络。MAPK级联途径是细胞内复杂信号网络系统的一部分,它在植物耐逆反应的信号传导途径也越来越复杂,一个组分同时在几个不同的信号通路中起作用,一个信号刺激可以激活不同的MAPK信号通路,不同的信号刺激也可以激活同一个信号通路,这势必会造成信号通路之间的交叉。但是,细胞如何调控各种信号传导的特异性,避免不必要的“交谈”,其机理还不清楚。虽然蛋白质之间的相互作用和亚细胞定位机制为信号传导的特异性提供了合理的解释,但是这两种机制是怎样发挥作用的,是怎样维持的,其详细机理目前还不是很清楚,还有待于深入的探究。酵母双杂交、pull-down、免疫共沉淀技术为研究蛋白质之间的互作提供了理论依据和实验方法;同样绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)技术可以检测蛋白质的定位情况;而新近发展起来的双分子荧光互补技术(bimolecular fluorescence complementation, BiFC)不仅可以在活细胞生理环境中检测目标蛋白的相互作用,而且能直接反映各种刺激因素对互作的影响,这将有助于人们分析MAPK信号转导组分在响应外界刺激时的相互作用和亚细胞定位的变化。

参考文献

- Andreasson E, Jenkins T, Brodersen P, Thorgrimsen S, Petersen NH, Zhu S, Qiu JL, Micheelsen P, Rocher A, Petersen M et al (2005). The MAP kinase substrate MKS1 is a regulator of plant defense responses. *EMBO J*, 24: 2579~2589
- 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
- Bardwell AJ, Frankson E, Bardwell L (2009). Selectivity of docking sites in MAPK kinases. *J Biol Chem*, 284: 13165~13173
- Champion A, Picaud A, Henry Y (2004). Reassessing the MAP3K and MAP4K relationships. *Trends Plant Sci*, 9: 123~129
- Chinchilla D, Bauer Z, Regenass M, Boller T, Felix G (2006). The *Arabidopsis* receptor kinase FLS2 binds flg22 and determines the specificity of flagellin perception. *Plant Cell*, 18: 465~476
- Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, Kemmerling B, Nurnberger T, Jones JD, Felix G, Boller T (2007). A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature*, 448: 497~500
- Ding HD, Tan MP, Zhang C, Zhang ZW, Zhang AY, Kang YJ (2009). Hexavalent chromium (VI) stress induces mitogen-activated protein kinase activation mediated by distinct signal molecules in roots of *Zea mays* L. *Environ Exp Bot*, 67: 328~334
- Felix G, Duran JD, Volko S, Boller T (1999). Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin. *Plant J*, 18: 265~276
- Frye CA, Tang D, Innes RW (2001). Negative regulation of defense responses in plants by a conserved MAPKK kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 373~378
- Gao M, Liu J, Bi D, Zhang Z, Cheng F, Chen S, Zhang Y (2008). MEKK1, MKK1/MKK2 and MPK4 function together in a mitogen-activated protein kinase cascade to regulate innate immunity in plants. *Cell Res*, 18: 1190~1198
- Gust AA, Biswas R, Lenz HD, Rauhut T, Ranf S, Kemmerling B, Gotz F, Glawischnig E, Lee J, Felix G et al (2007). Bacteria-derived peptidoglycans constitute pathogen-associated molecular patterns triggering Innate immunity in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 282: 32338~32348
- Hadiarto T, Nanmori T, Matsuoka D, Iwasaki T, Sato K, Fukami Y, Azuma T, Yasuda T (2006). Activation of *Arabidopsis* MAPK kinase kinase (AtMEKK1) and induction of AtMEKK1-AtMEK1 pathway by wounding. *Planta*, 223: 708~713
- Hamel LP, Nicole MC, Sritubtim S, Morency MJ, Ellis M, Ehltng J, Beaudoin N, Barbazuk B, Klessig D, Lee J et al (2006). Ancient signals: comparative genomics of plant MAPK and MAPKK gene families. *Trends Plant Sci*, 11: 192~198
- 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, Irie K, Morris P, Giraudat J, Matsumoto K, Shinozaki K (1998). Isolation of ATMEKK1 (a MAP kinase kinase kinase)-interacting proteins and analysis of a MAP kinase cascade in *Arabidopsis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 253: 532~543
- 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
- Jonak C, Nakagami H, Hirt H (2004). Heavy metal stress. Activation of distinct mitogen-activated protein kinase pathways by copper and cadmium. *Plant Physiol*, 136: 3276~3283
- Jouannic S, Hamal A, Leprince AS, Tregear JW, Kreis M, Henry Y (1999). Characterisation of novel plant genes encoding MEKK/

- STE11 and RAF-related protein kinases. *Gene*, 229: 171~181
- Kieber JJ, Rothenberg M, Roman G, Feldmann KA, Ecker JR (1993). CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the raf family of protein kinases. *Cell*, 72: 427~441
- Lin CW, Chang HB, Huang HJ (2005). Zinc induces mitogen-activated protein kinase activation mediated by reactive oxygen species in rice roots. *Plant Physiol Biochem*, 43: 963~968
- Lin CW, Lin CY, Chang CC, Lee RH, Tsai TM, Chen PY, Chi WC, Huang HJ (2009). Early signalling pathways in rice roots under vanadate stress. *Plant Physiol Biochem*, 47: 369~376
- 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
- Mapk Group (2002). Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci*, 7: 301~308
- Meszáros T, Helfer A, Hatzimasoura E, Magyar Z, Serazetdinova L, Rios G, Bardoczky V, Teige M, Koncz C, Peck S et al (2006). The *Arabidopsis* MAP kinase kinase MKK1 participates in defence responses to the bacterial elicitor flagellin. *Plant J*, 48: 485~498
- Miao Y, Laun T, Zimmermann P, Zentgraf U (2004). Targets of the WRKY53 transcription factor and its role during leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 55: 853~867
- Miao Y, Laun TM, Smykowski A, Zentgraf U (2007). *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. *Plant Mol Biol*, 65: 63~76
- Mizoguchi T, Ichimura K, Irie K, Morris P, Giraudat J, Matsumoto K, Shinozaki K (1998). Identification of a possible MAP kinase cascade in *Arabidopsis thaliana* based on pairwise yeast two-hybrid analysis and functional complementation tests of yeast mutants. *FEBS Lett*, 437: 56~60
- Mizoguchi T, Irie K, Hirayama T, Hayashida N, Yamaguchi-Shinozaki K, Matsumoto K, Shinozaki K (1996). 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*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 765~769
- Mody A, Weiner J, Ramanathan S (2009). Modularity of MAP kinases allows deformation of their signalling pathways. *Nat Cell Biol*, 11: 484~491
- Montesano M, Brader G, Palva ET (2003). Pathogen derived elicitors: searching for receptors in plants. *Mol Plant Pathol*, 4: 73~79
- Morris PC (2001). MAP kinase signal transduction pathways in plants. *New Phytol*, 151: 67~89
- Murakami KM, Nakamichi N, Yamashino T, Mizuno T (2002). The APRR3 component of the clock-associated APRR1/TOC1 quin- tet is phosphorylated by a novel protein kinase belonging to the WNK family, the gene for which is also transcribed rhythmically in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 43: 675~683
- Nakagami H, Pitzschke A, Hirt H (2005). Emerging MAP kinase pathways in plant stress signalling. *Trends Plant Sci*, 10: 339~346
- Nakagami H, Soukupova H, Schikora A, Zarsky V, Hirt H (2006). A Mitogen-activated protein kinase kinase kinase mediates reactive oxygen species homeostasis in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 281: 38697~38704
- Nakamichi N, Murakami-Kojima M, Sato E, Kishi Y, Yamashino T, Mizuno T (2002). Compilation and characterization of a novel WNK family of protein kinases in *Arabidopsis thaliana* with reference to circadian rhythms. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66: 2429~2436
- Petersen K, Qiu JL, Lütje J, Fiil BK, Hansen S, Mundy J, Petersen M (2010). *Arabidopsis* MKS1 is involved in basal immunity and requires an intact N-terminal domain for proper function. *PLoS ONE*, 5: e14364
- Petersen M, Brodersen P, Naested H, Andreasson E, Lindhart U, Johansen B, Nielsen HB, Lacy M, Austin MJ, Parker JE et al (2000). *Arabidopsis* map kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell*, 103: 1111~1120
- Pitzschke A, Djamei A, Bitton F, Hirt H (2009). A major role of the MEKK1-MKK1/2-MPK4 pathway in ROS signalling. *Mol Plant*, 2: 120~137
- Pitzschke A, Hirt H (2009). Disentangling the complexity of mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species signaling. *Plant Physiol*, 149: 606~615
- Pitzschke A, Schikora A, Hirt H (2009). MAPK cascade signalling networks in plant defence. *Curr Opin Plant Biol*, 12: 421~426
- Qiu JL, Fiil BK, Petersen K, Nielsen HB, Botanga CJ, Thorgrimsen S, Palma K, Suarez-Rodriguez MC, Sandbech-Clausen S, Lichota J et al (2008b). *Arabidopsis* MAP kinase 4 regulates gene expression through transcription factor release in the nucleus. *EMBO J*, 27: 2214~2221
- Qiu JL, Zhou L, Yun BW, Nielsen HB, Fiil BK, Petersen K, Mackinlay J, Loake GJ, Mundy J, Morris PC (2008a). *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase kinases MKK1 and MKK2 have overlapping functions in defense signaling mediated by MEKK1, MPK4, and MKS1. *Plant Physiol*, 148: 212~222
- Rao KP, Richa T, Kumar K, Raghuram B, Sinha AK (2010). In silico analysis reveals 75 members of mitogen-activated protein kinase kinase gene family in rice. *DNA Res*, 17: 139~153
- Su SH, Suarez-Rodriguez MC, Krysan P (2007). Genetic interaction and phenotypic analysis of the *Arabidopsis* MAP kinase pathway mutations mekk1 and mpk4 suggests signaling pathway complexity. *FEBS Lett*, 581: 3171~3177
- 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
- Sun W, Dunning FM, Pfund C, Weingarten R, Bent AF (2006). Within-species flagellin polymorphism in *Xanthomonas campestris* pv *campestris* and its impact on elicitation of *Arabidopsis* FLAGELLIN SENSING2-dependent defenses. *Plant Cell*, 18: 764~779
- Teige M, Scheikl E, Eulgem T, Doczi 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
- Tena G, Asai T, Chiu WL, Sheen J (2001). Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Curr Opin Plant Biol*, 4: 392~400
- Tsai TM, Huang HJ (2006). Effects of iron excess on cell viability and mitogen-activated protein kinase activation in rice roots. *Physiol Plant*, 127: 583~592
- 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
- Yang T, Chaudhuri S, Yang L, Du L, Poovaiah BW (2010a). A calcium/calmodulin-regulated member of the receptor-like kinase family confers cold tolerance in plants. *J Biol Chem*, 285: 7119~7126
- Yang T, Ali GS, Yang L, Du L, Reddy AS, Poovaiah BW (2010b). Calcium/calmodulin-regulated receptor-like kinase CRLK1 interacts with MEKK1 in plants. *Plant Signal Behav*, 5: 1~4
- Yeh CM, Hung WC, Huang HJ (2003). Copper treatment activates mitogen-activated protein kinase signaling in rice. *Physiol Plant*, 119: 392~399
- Yeh CM, Hsiao LJ, Huang HJ (2004). Cadmium activates a mitogen-activated protein kinase gene and MBP kinases in rice. *Plant Cell Physiol*, 45: 1306~1312
- Zhang S, Klessig DF (2001). MAPK cascades in plant defense signaling. *Trends Plant Sci*, 6: 520~527
- Zimmermann P, Heinlein C, Orendi G, Zentgraf U (2006). Senescence-specific regulation of catalases in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Cell Environ*, 29: 1049~1060
- Zou X, Peng T, Pan Z (2008). Modeling specificity in the yeast MAPK signaling networks. *J Theor Biol*, 250: 139~155