

高等植物体内酪氨酸蛋白磷酸酶及其功能

石武良 张蜀秋*

中国农业大学生物学院植物生理学与生物化学国家重点实验室, 北京 100094

Protein Tyrosine Phosphatases and Its Function in Higher Plants

SHI Wu-Liang, ZHANG Shu-Qiu*

State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094

提要 对高等植物体内酪氨酸蛋白磷酸酶及其功能的研究进展作了简要介绍。

关键词 酪氨酸蛋白磷酸酶; 信号转导; 高等植物

蛋白质可逆磷酸化是真核生物细胞内功能调节的一种最普遍的作用机制。这一可逆过程由两种类型的酶催化完成: 蛋白激酶催化底物上的氨基酸残基磷酸化, 而蛋白磷酸酶则催化磷酸化的蛋白脱磷酸化。根据底物的不同, 这些酶分为两大类: 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (serine/threonine kinases) 和丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 (serine/threonine phosphatases), 酪氨酸蛋白激酶 (protein tyrosine kinases, PTKs) 和酪氨酸蛋白磷酸酶 (protein tyrosine phosphatases, PTPases)。动物和酵母系统中, 丝氨酸/苏氨酸 (Ser/Thr) 和酪氨酸 (Tyr) 磷酸化已经被确定, 但在植物细胞中, 目前仅确立 Ser/Thr 磷酸化的调节机制, 此类酶对植物生长发育有作用^[1,2]。植物体内还没有鉴定到典型的酪氨酸激酶, 植物体内酪氨酸磷酸化作用的研究尚待深入。已有资料表明, 植物体内存在很多酪氨酸磷酸化的蛋白, 最近, 在拟南芥等植物中鉴定到一些编码 PTPases 的基因, 表明酪氨酸磷酸化在植物生长发育中也可能有一定的作用^[3]。本文简要介绍植物体内的酪氨酸蛋白磷酸酶及其功能。

1 PTPases 的分类和特性

在动物和酵母体系中, 有上百个磷酸酶可以使底物蛋白上的酪氨酸残基脱磷酸化^[4]。根据磷酸化氨基酸的专一性不同, PTPases 可分为两大类: 酪氨酸特异性磷酸酶 (tyrosine-specific PTPases, PTPs) 和双特异性磷酸酶 (dual-specificity PTPases, DsPTPs)^[5]。根据亚细胞定位, PTPase 可分为两类: 受体型 PTPases 和胞内 PTPases^[6]。前者含有 1 个长度不等的胞外配体结合区、1 个跨

膜结构区和 1 个或 2 个胞浆区。后者含有一个单独的催化区以及不同的 N 和 C 末端延伸区, 该区可能有靶向和调控功能^[7]。DsPTP 是一类胞内磷酸酶, 这类酶具有相似的催化机制, 但又有明显不同的催化区。促分裂原活化蛋白激酶磷酸酶 (mitogen activated protein kinases phosphatases, MKPs) 属于 DsPTPs 磷酸酶, 可使促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinases, MAPKs) 脱磷酸化而使之失活。到目前为止, 至少已鉴定出 6 种 MKPs, 每一种都有特异的底物, 参与不同的 MAPK 途径的调节^[8]。此外, DsPTPs 还包括细胞分裂周期磷酸酶 (cell division cycle phosphatases, CDC25 磷酸酶)^[9] 和类张力蛋白磷酸酶 (phosphatase and tensin homolog, PTEN)^[10]。

PTPases 对钒酸钠都十分敏感, 能够水解对硝基苯磷酸 (*p*-nitrophenyl phosphate, pNPP), 对冈田酸 (okadaic acid, OA) 不敏感, 金属离子不影响其活性^[11]。尽管 PTP 和 DsPTP 之间同源性很低, 但所有 PTPases 催化机制基本相同, 即催化核心都包含一个活性序列——(V/I)HCXAGXGR(S/T)G。这一序列有一个关键的半胱氨酸残基, 半胱氨酸处于还原态时磷酸酶才有活性, 用它作为亲核物质, 形成硫代磷酸共价酶中间产物。作为 PTPases 特征结构的恒定组分, 精氨酸残基具有结合底物

收稿 2003-10-20 修定 2004-02-18

资助 国家重点基础研究发展规划项目 (G1999011700) 和高等学校博士点基金 (2002001918)。

* 通讯作者 (E-mail: sqzhang@cau.edu.cn, Tel: 010-62893602)。

和稳定状态转换的作用。而且,所有PTPases的二级和三级结构在催化结构域上有高度的相似性^[12]。在动物和酵母中,已经分析了PTP和DsPTP的晶体结构,这为研究PTPases的催化和底物专一性提供了基础^[13,14]。

2 植物体内的PTPases

人们早就致力于在植物体内寻找蛋白质酪氨酸磷酸化的证据。Elliot和Geytenbeek^[15]及Torruella等^[16]在烟草和豌豆中发现含有酪氨酸残基磷酸化的蛋白质。Cheng和Tao^[17]及Guo等^[18,19]在小麦和豌豆中鉴定到PTPases活性。Zhang和Lessig^[20]发现烟草气孔保卫细胞经渗透胁迫处理后,至少会有2种MAPK受到激活,随后很快由磷酸酶使之脱磷酸化而失活;用磷酸酶的抑制剂OA和钒酸钠同时处理细胞时,保卫细胞表现出超活化的MAPK活性,但是分别用OA和钒酸钠处理细胞时不能观察到超活化的MAPK活性。由于OA是Ser/Thr磷酸酶而钒酸钠是PTPases的抑制剂,所以推测Ser/Thr磷酸酶和PTPases都参与渗透胁迫下保卫细胞MAPK失活。这些结果表明植物体内含有对钒酸钠敏感的MKPs属于PTPases家族。

Xu等^[21]报道,拟南芥有一种典型的酪氨酸磷酸酶基因——AtPTP1(*Arabidopsis thaliana* tyrosine-specific protein tyrosine phosphatase)。它没有跨膜区,是一种胞内PTPase,也是一个对逆境反应敏感的基因。Gupta等^[22]从拟南芥中分离到一种双特异性蛋白磷酸酶基因——AtDsPTP1(*Arabidopsis thaliana* dual-specificity protein tyrosine phosphatase)。它可促使底物蛋白磷酸化的Ser/Thr及酪氨酸残基脱磷酸化和AtMPK4(植物中MAPK中的一种)脱磷酸化而失活。Ulm等^[23]从拟南芥中分离到一种对紫外辐射敏感的突变体——*mkp1*(mitogen-activated protein kinase phosphatase, AtMKP1)。AtMKP1是一类DsPTPs酶,能使MAPKs失活,是MAPK信号途径中的调节因子。Fordham-Skelton等^[24]在拟南芥基因组中鉴定到一种蛋白磷酸酶基因,命名为AtPTPKIS1。它包含一个酪氨酸蛋白磷酸酶催化区和一个激酶相互作用序列(kinase interacting sequence, KIS)结构域。现已从拟南芥基因组中鉴定到19个编码PTPases的基因: DsPTP和类似DsPTP 17个, PTP 1个,

低分子量的PTP 1个^[3]。这些都证明高等植物中有PTPases存在,也意味着酪氨酸磷酸化/脱磷酸化在植物细胞中是有作用的。

3 酪氨酸蛋白磷酸酶在植物体内的功能

丝氨酸/苏氨酸磷酸化在调节植物生长和发育中起作用^[25]。虽然酪氨酸磷酸化由于在植物中没有发现典型的酪氨酸蛋白激酶而被忽略,但最近的研究资料不仅证明酪氨酸磷酸酶在植物体内存在,而且还参与植物对逆境反应的信号途径以及控制生长发育中的许多生理过程。

3.1 参与MAPK信号途径的调节

MAPK家族是激素、细胞分化以及基因表达等信号传递途径中的关键成分,其活性是通过Thr和Tyr残基的磷酸化和脱磷酸化作用来调节的^[26]。许多资料证明DsPTPs使MAPKs的Thr和Tyr残基脱磷酸化而使之失活^[8,27]。在酵母中的研究表明,PTPs和DsPTPs在MAPKs途径中起调节作用^[28,29]。哺乳动物细胞中的DsPTPs使MAPK脱磷酸化而导致MAPK失活。DsPTPs对于不同类型的MAPKs有相当严格的底物专一性^[8,27]。因此,一个细胞中如果有多种的MAPK异构体,必然会发现不同类型的DsPTPs。不同类型的MAPK和DsPTP异构体相互作用调节着细胞中不同的信号转导途径^[8,27]。

MAPK途径也存在于高等植物体内,在激素、环境胁迫和病原菌刺激等信号转导途径中涉及到MAPKs的活化作用^[30]。植物体内MAPK的活化作用也与此酶的酪氨酸残基磷酸化有关^[20,31-33]。与MAPKs功能的多样性相一致的是,在拟南芥基因组中也鉴定到20个左右编码MAPKs基因,10个MAPKKs(MAPK kinases)基因,约60个MAPKKKs(MAPKK kinases)基因^[34,35]。虽然不同的MAPKs或许有不同的功能,但在一些情况下,不同的信号好像汇聚在相同的MAPK上,例如不同的病原菌刺激和非生物逆境信号激活烟草的水杨酸诱导的蛋白激酶(salicylic-acid-inducible protein kinase, SIPK)或拟南芥中的促分裂原活化蛋白激酶6(*Arabidopsis thaliana* mitogen-activated protein kinase 6, MPK 6)^[34,35]。这些研究证明MAPKs的活化是逆境、激素和发育信号反应的早期事件。

如上所述,在动物和酵母中MAPK的活化需

要 MAPK 的 2 个氨基酸残基——苏氨酸和酪氨酸双磷酸化。早期研究植物中 MAPK 活化的机制表明, 这一蛋白上酪氨酸残基的磷酸化作用与它的活化有关^[36]。AtMPK4 是拟南芥中的一种 MAPK。生化分析表明 AtMPK4 上的酪氨酸残基的磷酸化作用对它的活化是必需的^[32]。AtMPK4 活化时其酪氨酸残基上产生磷酸化基团, AtPTP1 促使酪氨酸残基脱磷酸化导致激酶活性丧失^[32]。MAPK 蛋白因其酪氨酸残基磷酸化作用而被激活; 相反, 酪氨酸残基的脱磷酸化导致酶失活。外源信号或物质激活 MAPK 时, 几分钟内达到高峰, 随后回到初始的水平, 信号遂熄灭, 这种瞬时的开和关对 MAPKs 调节的生理过程来说非常重要。MAPK 级联系统持续活化或延长时, 会对细胞造成伤害, 比如哺乳动物细胞中 MAPK 持续活化时会形成肿瘤^[37]。因此, 蛋白磷酸酶, 尤其 PTPs 和 DsPTP, 是精确维持 MAPKs 活化和失活的关键调节因子。这种情况可能也适用于高等植物中 MAPKs 的调节。

体外生化分析证明 AtPTP1 和 AtDsPTP1 调节 MAPK 的活性^[22, 32]。遗传学方面的资料证明植物体内 MAPK 的活化也与 PTPases 活性有关^[27]。在 UV- 辐射筛选拟南芥突变体时, Keyse^[27] 发现一个类似 DsPTP、被命名为 AtMKP1 的基因, 能够抗 UV- 辐射。在 UV- 辐射条件下, 这个突变体表现出高的 MAPK 活性, 说明在 UV- 辐射反应中, AtMKP1 是 MAPKs 的一个负调节因子。在 AtPTP1 缺失突变体中, MAPKs 明显比野生型的活性高, 但在转基因植物中, AtPTP1 过量表达会延迟 MAPKs 的活化^[38]。AtDsPTP1 和推测的 DsPTPs 是否在体内控制 MAPK 活性尚待进一步证实。植物与动物和真菌一样, 其体内的 MAPK 也是 PTPases 的一个主要作用靶位^[22]。

3.2 参与 ABA 信号途径的调节 水分亏缺时 ABA 的积累调节植物体内的许多生理过程, 可以提高植物的抗逆性。因此, 控制水分缺乏过程中 ABA 的生物合成途径很重要。目前, 许多工作多集中于 ABA 生物合成途径中不同酶作用的研究。而对细胞感知水分亏缺后提高 ABA 的生物合成这一信号过程知之甚少。据最近报道, PTPases 的专一性抑制剂氧化苯砷(phenylarsine oxide, PAO) 和钒酸钠可以抑制水分亏缺时玉米胚芽鞘中 ABA 的积

累, PTK 的抑制剂 4', 5, 7-三羟异黄酮(genistein) 可以模拟水分胁迫, 而促使 ABA 积累^[39]。但 PTPases 如何调控水分胁迫时的 ABA 积累尚无证据。

MacRobbie^[40] 用 PAO 研究对鸭趾草气孔运动的影响时发现, PAO 可以阻止外源 ABA、高 Ca^{2+} 、 H_2O_2 和黑暗诱导的气孔关闭, 在关闭的气孔中加入 PAO 气孔可以重新张开。 H_2O_2 和 Ca^{2+} 是 ABA 信号途径的下游成分^[41], ABA、 H_2O_2 和高 Ca^{2+} 都促使胞内 Ca^{2+} 浓度升高, 胞内 Ca^{2+} 浓度升高诱导气孔的关闭, 而 PAO 抑制 Ca^{2+} 诱导的气孔关闭效应。说明胞内 Ca^{2+} 的升高是一个对 PAO 敏感的过程, 所以推测 PAO 或作用于 Ca^{2+} 的内流, 或是作用于胞内 Ca^{2+} 增加引起的信号链的下游。黑暗也可以引起 Ca^{2+} 从叶绿体质膜上流出, 影响胞内 Ca^{2+} 的浓度^[42]。这几种因子都会引起胞内钙离子的动态变化, 胞内钙离子的变化反过来又会改变质膜和液泡膜上 K^+ 通道的活性^[43]。看来, PTPases 成分可能位于质膜和液泡膜上 Ca^{2+} 通道的下游和 K^+ 通道活性的上游。如上所述, 植物中 PTPases 作用的主要靶位是参与许多信号过程的 MAPKs。而且, MAPK 在 ABA 诱导产生和气孔关闭过程中, 对氧化信号的产生、放大及其信号途径中刺激和反应的特异性却有调节作用^[44]。但是 PTPases 在调节保卫细胞气孔关闭的机制如何, 是否通过调节 MAPK 活性来调节气孔运动, 尚不清楚, 值得深入研究。

植物体内 PTPases 作用的底物除了 MAPKs 之外, 可能还有其它底物。最近的研究表明, 纤维蛋白原(profilin)的磷酸化作用位点发生在它的酪氨酸残基上^[45]。细胞骨架组织也可以通过酪氨酸磷酸化作用进行调节。一些研究证明, 肌动蛋白(actin)的磷酸化位点发生在它的酪氨酸残基上, 而肌动蛋白的磷酸化和脱磷酸化作用则参与含羞草对触摸引起的叶子敏感反应^[46]。含羞草叶片的运动机制与气孔保卫细胞的运动机制相似, 在气孔的启闭反应中, 肌动蛋白的重组也起作用^[47]。保卫细胞中肌动蛋白的磷酸化和脱磷酸化作用是否也发生在酪氨酸残基上, 尚待进一步证实。有趣的是, MAPKs 可通过自体磷酸化或 MAPKK 使酪氨酸残基磷酸化。这种能使肌动蛋白和纤维蛋白原上酪氨酸残基磷酸化的天然激酶分子是什么呢? 是酪氨酸专一性激酶还是双特异性激酶? 鉴定这些激

酶对深入研究植物细胞中酪氨酸磷酸化作用无疑是有意义的。

3.3 调节植物的生长发育 CDC25磷酸酶是DsPTP的一类, 在细胞分裂周期过程中起作用。CDC2蛋白激酶上的酪氨酸残基磷酸化后而失活, CDC25磷酸酶可促使CDC2激酶上起抑制作用的磷酸化酪氨酸残基脱磷酸化, 进而激活CDC2激酶^[9]。虽然酵母中的CDC25磷酸酶也激活植物的细胞分裂^[48], 但在植物中还没有鉴定到与CDC25磷酸酶类似的同源物。植物可能还有其它DsPTPs代替了CDC25磷酸酶调节植物CDC2激酶的功能。

PTEN也是DsPTP一类的酶, 它们有PTPases的催化核心序列, 其结构域与细胞骨架蛋白张力蛋白(tensin)有高度的相似性^[49]。从拟南芥中鉴定出一些基因, 它们编码的蛋白与PTEN有高度同源性。*AtPTEN1*是拟南芥中一个类似PTEN的基因。*AtPTEN1* mRNA在拟南芥的叶、茎或根没有表达, 而花中则高表达, 而且仅在花粉发育的后期才检测到*AtPTEN1*的表达; 用RNA干扰技术使*AtPTEN1*发生基因沉默后花粉不能正常发育^[50]。但*AtPTEN1*如何影响花粉的发育, 尚无证据。因此, 进一步研究鉴定植物中PTENs作用的生理底物对了解PTEN在植物细胞中的作用机制会有所帮助。用RNA干扰和基因敲除技术从拟南芥中分离类似PTEN基因的突变体, 也将为了解它们在植物生长发育中的功能提供有用的信息。

4 展望

蛋白磷酸酶的生化特性在真核生物中有高度的保守性, 以后的研究将会转移到这些酶在植物细胞信号网络和生长发育过程中的功能分析。拟南芥基因组序列的完成为全面分析植物PTPases以及它们之间的进化关系提供了基础, 将利于研究它们在植物生长发育过程中的功能。已在拟南芥鉴定到20个左右编码PTPases的基因^[3], 但对这些蛋白磷酸酶在植物细胞中的功能知之甚少, 因而激起了人们对这一领域研究的极大兴趣。阐明PTPases在植物体内的功能和作用机制, 关键是鉴定它的作用底物。MacRobbie^[40]和本实验室的研究工作证明PTPases参与气孔运动的调控, 而在植物中PTPases可能的靶蛋白MAPKs和肌动蛋白也参与气孔运动的调节^[47, 51]。这两种蛋白是否是PTPases调节气孔运动中作用的靶蛋白? PTPases

在保卫细胞中作用的一个更直接靶位可能是离子通道, 最近在动物细胞中的研究表明, K^+ 离子通道的酪氨酸磷酸化作用调节该离子通道的活性^[52]。 K^+ 离子通道在气孔运动的开关中起着重要作用^[53], PTPases是否通过影响保卫细胞质膜上 K^+ 离子通道的活性来调节气孔运动有待于进一步证实。另外, 对植物体内PTPases的调节方式所知甚少, 即PTPases如何激活和失活。在动物中, 氧化胁迫使PTPases失去活性^[54]。 H_2O_2 可迅速诱导受体型PTPases的构象发生可逆变化: PTPases的催化部位的半胱氨酸残基处于还原态时, 该酶被激活; 氧化态时, 失去活性^[55]。氧化还原调节亦是植物细胞中的一种重要调节方式, 植物体内的PTPases是否也可以通过其催化部位半胱氨酸残基氧化还原态的调节, 作为氧化胁迫的一个靶分子呢? 我们已观察到在气孔调节中有一个对PTPases抑制剂敏感的过程, 证明PTPases在植物的信号网络中起着一定的作用, 需进一步研究植物体内PTPases信号途径中的各成分。随着研究的不断深入, 把基因组学、生化、分子生物学及分子遗传学等方法结合起来, 将逐步揭示PTPases在植物生长发育过程中的功能及其作用机制。

参考文献

- 1 Luan S. Protein phosphatases: structure, regulation, and function. *Adv Bot Res*, 2000, 32: 67~107
- 2 Luan S, Ting T, Gupta R. Protein tyrosine phosphatases in higher plants. *New Phytol*, 2001, 151: 155~164
- 3 David K, Joshua B, Douglas WS et al. The complement of protein phosphatase catalytic subunits encoded in the genome of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2002, 129: 908~925
- 4 Barford D. Protein phosphatases. *Curr Opin Struct Biol*, 1995, 5: 728~734
- 5 Denu JM, Stuckey JA, Saper MA et al. Form and function in protein dephosphorylation. *Cell*, 1996, 87: 361~364
- 6 Neel BG, Tonks NK. Protein tyrosine phosphatases in signal transduction. *Curr Opin Cell Biol*, 1997, 9: 193~204
- 7 Van Vactor D, O'Reilly AM, Neel BG. Genetic analysis of protein tyrosine phosphatase. *Curr Opin Genet Dev*, 1998, 8: 112~126
- 8 Keyse SM. Protein phosphatases and the regulation of MAP kinase activity. *Semin Cell Dev Biol*, 1998, 9: 143~152
- 9 Dunphy WG. The decision to enter mitosis. *Trends Cell Biol*, 1994, 4: 202~207
- 10 Maehama T, Taylor GS, Dixon JE. PTEN and myotubularin: novel phosphoinositide phosphatases. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70: 249~279
- 11 Stone RL, Dixon JE. Protein tyrosine phosphatases. *J Biol Chem*, 1994, 269: 31323~31326
- 12 Tonks NK, Neel BG. From form to function: signaling by protein tyrosine phosphatases. *Cell*, 1996, 87: 365~368
- 13 Yuvaniyama J, Denu JN, Dixon JE et al. Crystal structure of the

- dual specificity protein phosphatase VHR. *Science*, 1996, 272: 1328~1331
- 14 Hoffmann KMV, Tonks NK, Barford D. The crystal structure of domain 1 of receptor protein-tyrosine phosphatase μ . *J Biol Chem*, 1997, 272: 27505~27508
- 15 Elliot DC, Geytenbeek M. Identification of products of protein phosphorylation in T37-transformed cells and comparison with normal cells. *Biochim Biophys Acta*, 1985, 845:317~323
- 16 Torruella M, Cassano LM, Vallejos RH. Evidence of the activity of tyrosine kinase and the presence of phosphotyrosine protein in pea plantlets. *J Biol Chem*, 1986, 261: 6651~6653
- 17 Cheng HF, Tao M. Purification characterization of a phosphotyrosyl protein phosphatase from wheat seedlings. *Biochim Biophys Acta*, 1989, 998:271~276
- 18 Guo YL, Roux SJ. Partial purification of an enzyme from pea nuclei with protein tyrosine phosphatase activity. *Plant Physiol*, 1995, 107: 167~175
- 19 Guo YL, Terry ME, Roux SJ. Characterization of a cytosolic phosphatase from pea plumules having significant protein tyrosine phosphatase activity. *Plant Physiol Biochem*, 1998, 36: 269~278
- 20 Zhang S, Lessig DF. Salicylic acid activates a 48-kD MAPK kinase in tobacco. *Plant Cell*, 1997, 10: 435~439
- 21 Xu Q, Fu HH, Gupta R et al. Molecular characterization of a tyrosine-specific protein phosphatase encoded by a stress-response gene in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1998, 10: 849~857
- 22 Gupta R, Huang Y, Kieber J et al. Identification of a dual-specificity protein phosphatase that inactivates a MAP kinase from *Arabidopsis*. *Plant J*, 1998, 16: 581~589
- 23 Ulm R, Revenkova E, Sansebastiana GP et al. Mitogen-activated protein kinase phosphatase is required for genotoxic stress relief in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 2001, 15: 699~709
- 24 Fordham-Skelton AP, Chilley P, Lumbreras V et al. A novel higher plant protein tyrosine phosphatase interacts with SNF1-related protein kinase via a KIS (kinase interaction sequence) domain. *Plant J*, 2002, 29: 705~715
- 25 Smith RD, Walker JC. Plant protein phosphatases. *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol*, 1996, 47: 101~125
- 26 Ahn NG, Seger R, Krebs EG. The mitogen-activated protein kinase activator. *Curr Opin Cell Biol*, 1992, 4: 992~999
- 27 Keyse SM. An emerging family of dual specificity MAP kinase phosphatases. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1265: 2~3
- 28 Wurgler-Murphy SM, Saito H. Two-component signal transducers and MAPK cascades. *Trends Biochem Sci*, 1997, 22:172~176
- 29 Zhan XL, Deschenes RJ, Guan KL. Differential regulation of FUS3 MAP kinase by tyrosine-specific phosphatases PTP2-PTP3 and dual-specificity phosphatase MSG5 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Dev*, 1997, 11:1690~1702
- 30 Mizoguchi T, Ichimura K, Shinozaki K. Environmental stress response in plants: the role of mitogen-activated protein kinases. *Trends Biotechnol*, 1997, 15:15~19
- 31 Romeis T, Piedras P, Zhang S et al. Rapid AVR9- and Cf-9-dependent activation of MAP kinases in tobacco cell cultures and leaves: convergence of resistance gene, elicitor, wound, and salicylate responses. *Plant Cell*, 1999, 11: 273~287
- 32 Huang Y, Li H, Gupta R et al. ATMPK4, an *Arabidopsis* homolog of mitogen-activated protein kinase, is activated *in vitro* by AtMEK1 through threonine phosphorylation. *Plant Physiol*, 2000, 122: 1301~1310
- 33 Nuhse TM, Peck SC, Hirt H et al. Microbial elicitors induce activation and dual phosphorylation of the *Arabidopsis thaliana* MAPK6. *J Biol Chem*, 2000, 275: 7521~7526
- 34 Tena G, Asai T, Chiu WL et al. Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4: 392~400
- 35 Zhang S, Klessig DF. MAPK cascades in plant defense signaling. *Trends Plant Sci*, 2001, 6:520~527
- 36 Suzuki K, Shinshi H. Transient activation and tyrosine phosphorylation of a protein kinase in tobacco cells treated with a fungal elicitor. *Plant Cell*, 1995, 7: 639~647
- 37 Mansour SJ, Matten WT, Hermann AS et al. Transformation of mammalian cells by constitutively active MAP kinase kinase. *Science*, 1994, 265:966~970
- 38 Luan S. Protein phosphatases in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54: 63~92
- 39 邢宇, 王幼群, 贾文锁等. 酪氨酸蛋白磷酸酶可能影响ABA的积累和参与植物水分胁迫信号传递. *科学通报*, 2003, 48(4): 369~374
- 40 MacRobbie EAC. Evidence for a role for protein tyrosine phosphatase in the control of ion release from the guard cell vacuole in stomatal closure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 11963~11968
- 41 Pei ZM, Murata Y, Benning G et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature*, 2000, 406:731~734
- 42 Sai J, Johnson CH. Dark-stimulated calcium ion fluxes in the chloroplast stroma and cytosol. *Plant Cell*, 2002, 14: 1279~1291
- 43 Ward JM, Pei ZM, Schroeder JI. Roles of ion channels in initiation of signal transduction in higher plants. *Plant Cell*, 1995, 7: 833~844
- 44 江静, 安国勇, 王鹏程等. MAP激酶调节蚕豆保卫细胞中ABA诱导的H₂O₂产生. *科学通报*, 2003, 48(12): 1256~1263
- 45 Guillen G, Valdes-Lopez V, Noguez R et al. Profilin in *Phaseolus vulgaris* is encoded by two genes (only one expressed in root nodules) but multiple isoforms are generated *in vivo* by phosphorylation on tyrosine residues. *Plant J*, 1999, 19: 497~508
- 46 Kameyama K, Kishi Y, Yoshimura M et al. Tyrosine phosphorylation in plant bending. *Nature (London)*, 2000, 407: 37~38
- 47 Eun SO, Lee Y. Actin filaments of guard cells are reorganized in response to light and abscisic acid. *Plant Physiol*, 1997, 115: 1491~1498
- 48 Zhang K, Letham DS, John PCL. Cytokinin controls the cell cycle at mitosis by stimulating the tyrosine dephosphorylation and activation of p34-cdc2-like H1 histone kinase. *Planta*, 1996, 200: 2~12
- 49 Maehama T, Taylor GS, Dixon JE. PTEN and myotubularin: novel phosphoinositide phosphatases. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70: 247~249
- 50 Gupta R, Ting T, Sokolov L et al. AtPTEN1, a tumor suppressor homologue essential for pollen development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2002, 14: 2495~2507
- 51 Burnett EC, Desikan R, Neil SJ et al. ABA activation of an MBP kinase in *Pisum sativum* epidermal peels correlates with stomatal responses to ABA. *J Exp Bot*, 2000, 51: 197~205
- 52 Sterling H, Lin DH, Gu RM et al. Inhibition of protein tyrosine phosphatase stimulates the dynamin-dependent endocytosis of ROMK1. *J Biol Chem*, 2002, 277(6): 4317~4323
- 53 Hosi E, Vavasseur A, Mouline K et al. The *Arabidopsis* outward K⁺ channel GORK is involved in regulation of stomatal movements and plant transpiration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100, 9: 5549~5554
- 54 Lee K, Esselman WJ. Inhibition of PTPs by H₂O₂ regulates the activation of distinct MAPK pathways. *Free Radical Biol Med*, 2002, 33: 1121~1132
- 55 Blanchetot C, Tertoolen LGJ, Hertog JD. Regulation of receptor protein-tyrosine phosphatase by oxidative stress. *EMBO J*, 2002, 21: 493~503