

专题介绍

植物体中的 MAPK^①

¹肖文娟 ¹宾金华^② ²武 波

¹ (华南师范大学生命科学学院 广州 510631) ² (广西大学生物技术实验中心 南宁 530005)

摘要 促细胞分裂剂激活性蛋白激酶(MAPK)是一类存在于各种真核生物体中的丝氨酸/苏氨酸型蛋白激酶。它被上游激活因子MAPKK磷酸化而激活,并通过将底物蛋白上的丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化而传递信号。它与其他一些信号分子组成MAPK级联信号通路,接受外界刺激信号,将信号转入细胞内,影响特定基因的表达,它的作用受到不同因子的调节。本文介绍了植物体中的MAPK的结构特点、作用机理、生物功能以及MAPK级联信号通路的调节。

关键词 MAPK, 结构, 功能, MAPK级联, 支架蛋白

MAPKs in Plants

¹XIAO Wen-Juan ¹BIN Jin-Hua^② ²WU Bo

¹(College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631)

²(Biotechnology Research Center, Guangxi University, Nanning 530005)

Abstract Mitogen-activated protein kinases(MAPKs) are the serine/threonine protein kinases in eukaryotes, they are phosphorylated by MAPKK and become activated, and then transfer signals by phosphorylating the serine or threonine residue of the substrate protein. MAPKs are components of the MAPK cascades which involved in the transduction of extracellular signals to intracellular targets and regulation of special genes' expression. Distinct MAPK cascades are regulated by different extracellular stimuli and are implicated in a wide variety of biological processes. In this paper, the current advances in studies on MAPKs and MAPK cascades are reviewed, including the structure characteristic, action mechanism, biological function of MAPK and the regulation of MAPK cascades.

Key words MAPKs, Structure, Function, MAPK cascades, Scaffolding proteins

促细胞分裂剂激活性蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在细胞中对各种生长因子进行应答,迅速在其丝氨酸、苏氨酸残基部位磷酸化而被激活。它广泛存在于各种真核生物中,与一些其他的信号分子组成MAPK级联(MAPK cascades)。当生物体遭遇各种胁迫,如紫外辐射、渗透胁迫、热胁迫等,或是受到创伤以及其他细胞因子、激素刺激时,MAPK被不同的上游信号分子激活,通过对下游

①广东省自然科学基金资助课题(9900461)和国家自然科学基金973课题(001CB108901)。

②通讯作者。Author for correspondence.

作者简介:肖文娟,1981年10月生,硕士研究生。宾金华,教授,主要从事植物抗逆生理和花色基因调控研究。武波,教授,主要从事分子生物学研究。

收稿日期:2003-06-04 接受日期:2003-11-27 责任编辑:白羽红

分子的磷酸化作用，最终将外界信号传递给细胞核，调节特异基因的表达，使细胞、组织、器官、整个生物体作出相应的生理反应。越来越多的实验证据表明，MAPK 在植物的生长发育调节和抗逆等生理过程中起重要作用。

1 植物体中MAPK的分类

1.1 MAPK 的结构特点

和其他的蛋白激酶一样，MAPK 也有一个由 300 多个氨基酸组成的催化区域，位于Ⅶ和Ⅷ亚结构之间。其中由苏氨酸（T）、酪氨酸（Y）和一个 X 氨基酸（X 可以是谷氨酸、脯氨酸或甘氨酸）组成的 T-X-Y 区（也称为三肽模块），在其中起关键作用（Boulton *et al.*, 1990）。T-X-Y 区在三维结构上定义“T 环结构（T-loop）”，又称“L12 环状结构（Loop-12 structure）”。T 环是一个接近活化位点的表面环状结构，常被形象地称为“磷酸化唇（phosphorylation lip）”或“激活唇（activation lip）”，它被认为是决定各种 MAPK 激酶活性的关键结构，在调节蛋白激酶激活或失活的状态中起着非常重要的作用。除 X 氨基酸不同之外，不同的 MAPK，其 T 环的长度也不同，从 25 个氨基酸到 38 个氨基酸不等。T-X-Y 中的 X 残基和 L12 的长度能影响 MAPK 的底物特异性，并且，L12 的长度在控制自主磷酸化上起着重要作用（Jiang *et al.*, 1997）。

利用生化技术和 X 衍射技术，已了解到 MAPK 是如何通过磷酸化作用而被激活（图 1）。未活化（未被磷酸化）的 MAPK 的催化位点被磷酸唇封闭。当 MAPK 的激活剂与之结合后，这个磷酸唇的结构变得不稳定，从而暴露出埋藏在无活性结构中的酪氨酸残基，MAPK 激活剂将这个关键性的酪氨酸残基及与之相邻的另一个苏氨酸残基磷酸化。被磷酸化的酪氨酸和苏氨酸残基与其他的氨基酸残基相互作用，改变磷酸唇的构象，使 ATP 结合到它的催化位点上。这个磷酸化酪氨酸残基在特殊的底物蛋白与 MAPK 的结合位点中也起着关键性的作用。磷酸化作用不仅激活 MAPK 的催化活性，还有助于其二聚体的形成。二聚体形式（而不是单体形式）的 MAPK 能够被转运进细胞核，调控特殊转录因子的活动（Lodish *et al.*, 2000）。

1.2 植物体中的 MAPK 家族成员

利用生化技术和 PCR 技术，已经分离克隆出许多植物的 MAPK 基因，如烟草中的 *Ntf3*、*Ntf4*、*Ntf6* 基因等（Wilson *et al.*, 1995），水稻中的 *OsBIMK1* 基因（Song and Goodman, 2002）。在已完成的拟南芥基因组测序工作中（The Arabidopsis Genome Initiative, 2000），已鉴定出 20 个编码 MAPK 的基因、10 个编码 MAPKK 的基因和 60 个编码 MAPKKK 的基因。Ichimura 等（MAPK Group, 2002）对这 20 个拟南芥 MAPK 的 TXY 区进行比较，将目前在植物中已发现的 MAPK 分为两个亚类，其中一类含有 TEY 区，另一类则含有 TDY 区。TEY 类可以进一步分成 A、B、C 3 组，而 TDY 类则单独为 D 组。A 组和 B 组 MAPK 蛋白的 C 端均含有一个在进化上保守的 CD 区，这个 CD 区可以作为 MAPKK、磷酸酶和底物蛋白的停泊位点。C 组 MAPK 中的 CD 区似乎被修饰，而在 D 组中则没有发现 CD 区的存在。A 组中的 MAPK 成员主要参与环境胁迫和激素反应：MPK6 和它在其他种类中的直向同源物能被许多逆境因子激活；NtSIPK 最先是作为水杨酸诱导的蛋白激酶被发现，后来发现它还参与了众多的生物和非生物胁迫反应；MPK3 基因在逆境下被快速诱导表达，MPK3 蛋白在氧胁迫下被激活；紫花苜蓿中的 SIMK 也参与了胁迫反应；NtWIPK 和 MPK3 在氨基酸序列上有很高的相似性，都参

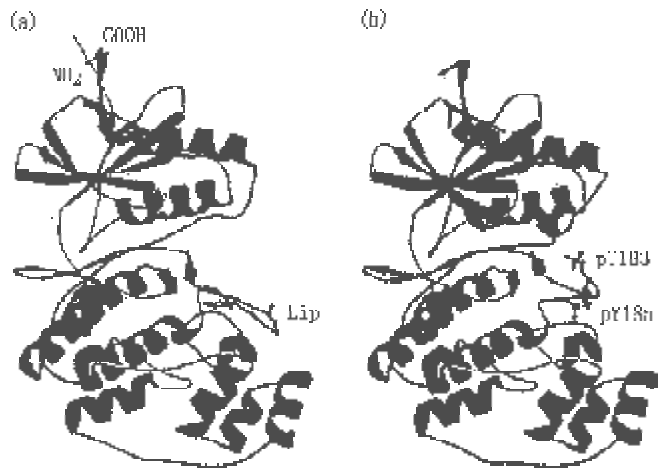


图1 MAPK 结构示意图 a. 失活状态，未被磷酸化；b. 活化状态，被磷酸化。
(引自 Lodish *et al.*, 2000)

Fig.1 Structures of MAP Kinase in its inactive, unphosphorylated form (a) and active, phosphorylated form (b).

与了创伤信号的传导。B 组中的 MAPK 研究的较少，但已有的证据表明它们也参与了环境胁迫和细胞的分裂反应。例如，通过转座子插入作用扰乱 *MPK4* 基因的表达，得到了具有系统获得性抗性表型的拟南芥植株。在野生型拟南芥植株中，用 *MPK4* 特异性抗体进行生化分析表明它在生物和非生物胁迫下被激活。紫花苜蓿中的 *MMK3* 和烟草中的 *Ntf6*、*MPK13* 以细胞周期依赖性的方式被激活，并且在分裂末期特异性的定位于成膜体部位。关于 C 组中的 MAPK，目前我们还知之甚少，但已经检测到 *MPK7* 表达的昼夜节律调节。D 组 MAPK 在结构上与前面三组有明显的差异。它的 C 末端缺乏其他 3 组 MAPK 都含有的 CD 结构区。*MPK8*、*MPK9*、*MK15* 的 N 末端有一个由 60~80 个氨基酸组成的结构。*MPK8* 和 *MPK9* 的 N 端分别有一个丝氨酸富集区和谷氨酸富集区。水稻 *BWMK1* 基因和紫花苜蓿 *TDY1* 基因能分别被病原体和创伤反应激活。值得一提的是，出芽酵母中的 *Hog1p* 和哺乳动物中的 *p38* 含有 TGY 区结构，哺乳动物中的 *JNK* 含有 TPY 区结构，而这两个结构域目前在植物体中还没有被发现。

2 MAPK在植物体中的功能与特点

MAPK 最早是在酵母和哺乳动物中发现，其中酵母细胞被用作研究 MAPK 的模型。酵母细胞中共有 6 个 MAPK 基因，其中 5 个基因的作用已被阐明。它们分别在酵母的有性生殖、芽孢形成、抵御高渗胁迫和氮元素缺乏时的假菌丝生长过程中起重要作用，且具有一定的功能特异性 (Ruis and Schiller, 1995)。在哺乳动物中，MAPK 被认为参与了激素信号、神经信号和细胞分裂信号的传递过程。随着近年来人们对植物体内 MAPK 作用的关注，越来越多的实验证据表明它在植物体信号传导中的重要性。

2.1 MAPK 与植物激素

植物激素是一类对植物体生长发育起着重要调控作用的物质，它们以信号分子的形式作用于细胞，在细胞内通过一系列信号传导过程，最终影响整个植物体的生长发育。

Mockaitis 和 Howell (2000) 发现在拟南芥幼苗的根部细胞中有一个 MAPK 能被有生物活性的生长素激活, 而不能被不具有生物活性的类生长素化合物所激活。在生长素反应突变体 *axr4* 中可以观察到由生长素而非盐胁迫所引起的 MAPK 活化作用明显受到抑制。用哺乳动物 MAPK 抑制剂处理拟南芥 BA3-GUS 幼苗根部, 扰乱 MAPK 信号传导途径后, 受生长素控制的转基因的表达作用受到了抑制。在烟草中有一个特异的 MAPKKK —— NPK1, 它能通过激活 MAPK 级联从而抑制生长素反应早期基因的转录作用, 这个抑制作用能被 MAPK 磷酸酶解除。NPK1 过表达的转基因烟草种子的胚胎、胚乳的发育过程中存在障碍 (Kovtun *et al.*, 1998)。在烟草细胞 M 期的末期, 已活化的 NPK1 蛋白迅速失活, 在正在分裂的细胞中, NPK1 的水平很低, 这说明 NPK1 的积累是受到严格控制的 (Nakashima, 1998)。实验所观察到的由生长素引起的激酶的快速活化都是发生在对生长素敏感的器官中, 并且这些反应都是暂时的, 其作用也依赖于所用生长素的剂量。目前认为 MAPK 信号传导途径可能参与的、与生长素反应相关的生理过程有: 早期基因的快速转录, 离子通道的活性调节, 细胞骨架结构的重新定位以及第二信使的产生 (DeLong *et al.*, 2002)。

赤霉素 (GA) 也是一种促进细胞分裂的激素, 已发现 GA 能在燕麦糊粉层细胞中诱导一个 MAPK 同源物的表达 (Huttly and Phillips, 1995)。但 Knetsch 等 (1996) 报道, GA₃ 对大麦糊粉层细胞中的 MAPK 活性却没有影响。Huttly 等人从燕麦中分离得到的 ASPK9 的 cDNA 与 ERK1 的相比, 表现出很高的同源性, 该 MAPK 基因的表达受到 GA₃ 强烈的负调节作用。因此, MAPK 与 GA 信号传导途径的相关性还需要进一步探索。

在 Novikova 等 (2000) 所进行的实验中, 用乙烯分别处理野生型拟南芥、乙烯不敏感突变体 *etr1* 和三重反应突变体 *ctr1* 后, 它们的胞质提取物均表现出 MBP 磷酸化作用的增加, 其中 *etr1* 突变体中 MBP 激酶的活性要比野生型的低, 而 *ctr1* 突变体中 MBP 激酶的活性要比野生型中的高。已经知道 CTR1 蛋白是乙烯信号传导过程中的一个负调节因子, 对 *ctr1* 基因的分析表明它属于 Raf 家族, 是一个丝氨酸 / 苏氨酸激酶。CTR1 和 MAPKK 激酶的相似性说明乙烯的信号传导过程有可能借助于 MAPK 级联反应。

Knestsh 等 (1996) 发现 ABA 能在大麦糊粉层中诱导 MAPK 的快速活化, 而苯腈氧化物 (一种酪氨酸磷酸酶抑制剂) 能够完全抑制 MAPK 的作用以及 ABA 诱导的 *rab16* 基因的表达。用 ABA 处理豌豆突变体的表皮细胞能激活一种 45 kDa 的具有 MAPK 特性的蛋白激酶 —— AMBP。但是, 该激酶与 ABA 诱导的气孔的关闭作用却没有联系 (Burnett *et al.*, 2000)。

SIPK(SA-Induced Protein Kinase)最先是在用水杨酸处理烟草细胞时发现的, 在以后众多的实验中发现它还参与了各种刺激信号的传导作用。用具有生物活性的 SA 同源物也能激活 SIPK, 但是无生物活性的 SA 却不能 (Zhang and Klessig, 1997 ; 2001)。

2.2 MAPK 与植物防御反应

用真菌刺激因子处理紫花苜蓿能激活 4 个 MAPK, 它们分别是 SIMK、MMK2、MMK3 和 SAMK (Cardinale *et al.*, 2000)。用 TMV 病毒感染烟草时, SIPK 和 WIPK 也被激活 (Zhang and Klessig, 1998)。早期对芹菜细胞的研究发现真菌刺激因子能引起 AtMPK 同源物 ERMK 的活化, 且该 MAPK 被转运进核内, 这说明它有可能将某些参与防御反应的转录因子进行磷酸化 (Ligterink *et al.*, 1997)。Asai 等 (2002) 最近的工作证实了这一猜测。Yang 等 (2001)

在实验中发现了一种 MAPKK —— NtMEK2, 它位于 SIPK 和 WIPK 的上游, NtMEK2 基因的突变能诱导烟草植株发生超敏性反应, 且这一过程能被内源 SIPK 和 WIPK 的作用所抑制。该实验还发现, NtMEK2 — SIPK/WIPK 级联能控制两个防御基因 *HMGR* 和 *PAL* 的表达, 而这两个基因所编码的酶在植物抗毒素和水杨酸的生物合成途径中起重要作用。这些结果均说明 MAPK 级联参与了防御反应, 且在其中控制多条反应途径。

2.3 MAPK 与非生物胁迫

各种环境胁迫, 如极端温度、渗透胁迫及紫外辐射等都能通过 MAPK 信号途径在生物体内引发相应的反应。Jonak 等 (1996) 观察到紫花苜蓿中的 p44^{MMK4} 蛋白在干旱和冷胁迫时被激活, 它又能引起自身 mRNA 水平的上升。渗透胁迫对烟草悬浮培养细胞的作用已得到初步了解, WIPK 和 SIPK 参与了这一过程, 其中 SIPK 在高渗环境和低渗环境下都被诱导激活, 而 WIPK 仅在低渗环境下被激活。番茄处于热胁迫状态下时, 有一个 50 kDa 的 MAPK 被激活 (Linket *et al.*, 2002)。另外, UV-B 辐射处理番茄也能激活 MAPK (Yalamanchili and Stratmann, 2002)。玉米中的 ZmMPK5 在冷胁迫的恢复过程中被激活 (Coronado *et al.*, 2002)。Sangwan 和 Dhindsa (2002) 在紫花苜蓿中发现了两个对温度变化敏感的 MAPK, 它们在 25°C 时均没有活性, 而当细胞所处的温度从 37°C 变成 25°C 时, SAMK (Stress-Activated Protein Kinase) 被激活, 当温度从 4°C 变成 25°C 时, HAMK (Heart shock- Activated Protein Kinase) 被激活。

风是植物体在自然界中最易遭受的机械胁迫, 机械操作处理拟南芥的叶片后能引起特殊的 MAPK 和 MAPKK 基因的转录 (Mizoguchi *et al.*, 1996)。触碰紫花苜蓿植株 2 s 之后就能引起 MAPK 的活化。紫花苜蓿的悬浮培养细胞受到持续的振荡后也能持续表达 MAPK 的活性, 停止振荡 1 h 后, MAPK 活性消失, 再振荡几秒钟后, 其活性又恢复 (Bögre *et al.*, 1996)。这些都为 MAPK 参与机械刺激信号的传导提供了直接的证据。

在受到创伤的烟草叶子中 WIPK 基因被快速转录 (Seo *et al.*, 1995)。转基因烟草中 WIPK 基因的过量表达导致内源 MAPK 的失活, 结束创伤反应。紫花苜蓿的叶子受到创伤后, MMK4 被激活。在所研究的植物中, 创伤能激活各种相关的 MAPK, 这些 MAPK 的活化是一个翻译后过程, 它的作用依赖于转录作用和蛋白质的重新合成 (Bögre *et al.*, 1997)。

2.4 MAPK 与氧爆发

氧爆发是植物体作出的快速防御反应之一, H₂O₂ 是生物防御反应中一个重要的信号物质, 也是 MAPK 的强激活剂。在大豆中发现有两个 MAPK 家族成员在氧爆发诱导因子的刺激下被快速激活 (Taylor *et al.*, 2001)。H₂O₂ 在拟南芥叶片细胞中激活一个特异的 MAPKK —— ANP1, 后者又能激活 AtMPK3 和 AtMPK6, 组成磷酸化级联。但是这个过程却抑制了生长素引起的反应。研究表明, 在氧胁迫和生长素信号传导途径之间存在着分子水平上的联系。能表达 ANP1 类似物 NPK1 的转基因烟草表现出对多种逆境的忍受力, 被激活的 MAPK 级联在调节基因表达中起着双重作用: 它既能激活逆境反应基因, 保护植物不受伤害; 又能抑制生长素诱导的启动子的作用 (Kovtun *et al.*, 2000)。

2.5 MAPK 与细胞周期的调节

植物激素在对细胞分裂的控制上起整体的调节作用, 植物激素与 MAPK 间的相互关系在前面已有阐述。另外, 在细胞局部, 也存在各种细胞周期调节因子, MAPK 就是其中一类。

有证据说明 ANP1 和 NPK1 在细胞周期中起一定作用, 在进行细胞增殖的组织中 ANP1 和

NPK1 的转录水平显著上升。并且,烟草细胞中 *NPK1* 的转录作用表现出对 M 期的依赖性。*NACK1* 是一种微管结合马达蛋白,能与 *NPK1* 相互作用 (Ishikawa *et al.*, 2002)。被控制在 G₁ 期的 BY2 烟草细胞在进入 S 期的前几个小时伴随有与紫花苜蓿 *MMK1* 相关的烟草 MAPK 的快速、瞬时的激活过程。Jonak 等 (1993) 发现紫花苜蓿中 *MMK1* 的 mRNA 水平在 G₂ 时期有所增高, *MMK1* 含量的改变可能与一些 G₂ 期细胞骨架的重组事件有关,如早前期带的形成。免疫沉淀反应发现,紫花苜蓿的内源 *MMK3* 和烟草中的 *Ntf6* 定位于正在分裂的细胞的中隔板部位,说明它们在细胞分裂结构的形成中起作用。它们还可能在细胞质运动的某些方面起调节作用。植物体中也存在着与酵母细胞中控制细胞分裂和有丝分裂停止作用的相似的 MAPK 信号途径组成物。

2.6 植物细胞中 MAPK 作用的特性

在酵母和哺乳动物细胞中,MAPK 的激活仅是一个翻译后事件;在高等植物体中,这个机制对 MAPK 的激活也同样起作用,例如烟草中的 *SIPK*。但烟草中 *WIPK* 的激活则是通过转录和翻译后两个水平来调节的。用 TMV 处理烟草细胞后,在 *WIPK* 的激活前可以观察到 *WIPK* 转录的增加,并且 *WIPK* 基因的表达也是 *WIPK* 酶活性调节所必需的。另外,在不同的逆境中,拟南芥中的 *AtMPK3* 和紫花苜蓿中的 *MMK4*,它们的基因的表达都被激活(Zhang *et al.*, 2000)。

MAPK 是一种 Mg^{2+} 依赖性激酶,且在一定范围内其活性随 Mg^{2+} 浓度的上升而上升,并且 Mn^{2+} 的作用不能代替 Mg^{2+} (Zhang and Klessig, 1997)。但是在 Wilson 等 (1995) 所进行的实验中,烟草细胞中的 3 个 MAPK: *NH3*、*Ntf4*、*Ntf6* 在 Mn^{2+} 代替 Mg^{2+} 作为辅因子的情况下,激酶的活化效果却更好。这也许是因为各种 MAPK 结构本质的不同决定了其辅因子的不同。

将洋茛菪细胞与离子通道抑制剂 A9C 一起孵育后,所有的防御反应都受到了抑制 (Jabs *et al.*, 1997)。在这种条件下, *Pep13* 所诱导的 MAPK 的活化作用也完全被抑制 (Ligterink *et al.*, 1997)。两性霉素 B (Amphotericin B, 它能模拟刺激因子所引起的离子流入) 能在没有刺激因子存在的情况下引起 MAPK 的活化作用。这样看来,MAPK 的活化作用可能依赖于特异的离子通道的存在。

在大多数体外实验中,MAPK 的激活是一个快速、瞬时的过程。MAPK 的活性最高峰一般都出现在 10~30 min 以内,且 MAPK 级联的作用曲线非常陡峭,加入刺激物之后的激酶活性是未加刺激物时的 5~25 倍不等。这样,外界刺激水平上的微小变化就能够打开或是关闭这条信号通路,因而 MAPK 级联能以一个分子开关的形式在细胞内起作用。但也有某些 MAPK 的激活并没有表现出一个快速或瞬时的过程。Baudouin 等 (2002) 以佛波酯处理烟草细胞时发现它所激活的 45 kDa 的 MAPK 活性的变化出现在 1 h 以后。在动物体中,用神经生长因子 NGF 处理 PC12 细胞后,ERK 活性维持了几个小时后,最终导致神经细胞分裂的终止。然而用表皮生长因子 EGF 处理细胞后,ERK 的活性仅持续了很短的时间,最后引起细胞增殖 (Marshall *et al.*, 1995)。因此,MAPK 活化所需时间的长短、其活性维持时间的长短以及其活性强度的大小对 MAPK 将不同的刺激信号转化成各异的生理反应的能力有很大的影响。有可能 MAPK 的快速激活能启动细胞内的快速防御反应,使细胞迅速作出调整,适应环境的改变;而 MAPK 迟缓的激活过程则有可能引发细胞程序性死亡。

在哺乳动物中, MAPK 的失活是通过一种双特异性蛋白磷酸酶 (dual-specificity protein phosphatases, 一种 MAPK 磷酸酶, 例如 CL-100 及它的同源物) 来完成的。它能够高效的、自动的将 MAPK 中已被磷酸化的苏氨酸、酪氨酸残基去磷酸化, 使 MPK 失活。这些 MAPK 磷酸酶的转录作用能很快的被 MAPK 信号途径激活 (Groom *et al.*, 1996; Grumont *et al.*, 1996)。目前, 在高等植物中还没有发现这种双特异性蛋白磷酸酶, 但已有报道从绿藻 *Chlamydomonas* 中克隆出了它的同源物 (Haring *et al.*, 1995)。这也能解释为什么大多数的 MAPK 的活化都表现为一个快速、瞬时的过程, 而有些 MAPK 的活性却能维持较长的时间。这可能是因为刺激因子将 MAPK 激活后却没有相应的激活 MAPK 磷酸酶。

3 植物体中的 MAPK 级联信号通路

3.1 MAPK 级联信号通路的组成

MAPK 在生物体内的生理功能是通过 MAPK 级联完成的。在生物进化过程中, MAPK 三级激酶级联高度保守, 即 MAPKKK (MAP Kinase Kinase Kinase) → MAPKK (MAP Kinase Kinase) → MAPK。当细胞受到刺激后, MAPKKK 被上游因子磷酸化而被激活, 活化的 MAPKKK 转通过磷酸化作用激活 MAPKK, 后者则通过对苏氨酸和酪氨酸残基的双位点磷酸化激活 MAPK。因此 MAPK 的活性是直接由 MAPKK 调节的。MAPK 能将众多底物蛋白, 如转录因子、蛋白激酶、细胞骨架蛋白等磷酸化。某些低分子量的 GTP 结合蛋白 (如 Ras、Rac、cdc42) 和一些特殊的激酶能够作为 MAPKKKK 来调节 MAPKKK 的活性。

一直以来, 人们只知道 MAPK 级联途径由这 3 种激酶组成, 但就具体的 MAPK 级联途径的组成成份、生理功能、调节因子等情况还知之甚少。最近, 发表在《Nature》杂志上的一篇文章向我们介绍了在拟南芥中发现的第一条完整的植物体 MAPK 级联途径: MEKK1 → MKK4/MKK5 → MPK3/MPK6。这条途径的激活使植物体表现出对细菌性和病毒性病原体的抗性 (Asai *et al.*, 2002)。

3.2 MAPKKK 和 MAPKK

在拟南芥中已鉴定出 10 个 MAPKK 基因和 60 个 MPKKK 基因。MAPKKK 有许多 MAPKK 和 MAPK 所没有的调节区域, 如 GTP 结合蛋白的结合域、亮氨酸拉链二聚化序列、酪氨酸、丝氨酸/苏氨酸激酶的磷酸化位点等。这样, MAPKKK 就能被各异的上游因子调节, 并能选择性的调节不同的 MAPKK 的活性, 使 MAPK 级联能灵活的对各种细胞刺激做出反应。植物体中的 MAPKKK 可以分为 MEKKs 和类 Raf 两个亚家族 (MAPK Group, 2002)。在 MAPK 级联中的 3 种成分里, MAPKK 数量最少, 利用双向杂交技术和体外试验发现特定的 MAPKK 能与不止一个 MAPK 作用。紫花苜蓿中的 AIMKK 和 PRKK 能激活 3 种不同的 MAPK, 同样, 烟草中的 NtMEK2 能激活 SIPK 和 WIPK。而在拟南芥中, AtMEKK1 (一种 MAPKKK) 能激活 4 个不同的 MAPKK。因此 MAPKK 在植物体信号传导途径中起着信号发散点的作用。

3.3 支架蛋白 (Scaffolding Proteins) 与 MAPK 级联的调节

MAPK 家族成员众多, 它们又分别能与不同的上游信号分子和下游效应分子组合, 形成各种细胞内信号通路。那么细胞是怎么样对 MAPK 级联信号通路进行调控, 使之能准确有效地传递信息的呢? 研究表明, 支架蛋白 (scaffolding proteins) 在其中起着重要的作用 (Garrington and Johnson, 1999)。支架蛋白本身没有催化活性, 但它具有多个特异的结合区

域,能帮助 MAPKKK 结合各异的上游蛋白和下游 MAPKK-MAPK 复合物。支架蛋白能阻止不同信号途径间的“交谈 (cross-talking)”,又能允许一个特定的激酶在多条信号途径中起作用而不影响其功能的特异性。另外,它能够控制蛋白的细胞内定位。支架蛋白的磷酸化或水解作用有可能帮助某些蛋白之间进行相互作用。关于支架蛋白的重要功能可在酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 细胞交配反应中一条特殊的 MAPK 级联通路中得到说明。这条通路中的上游因子 $G_{\beta\gamma}$ 亚基与支架蛋白 Ste5 反应,激活 Ste11 (MAPKKK)、Ste7 (MAPKK) 和 Fus3 (MAPK)。双重杂交分析表明,Ste5 的不同区域能分别结合 Ste11、Ste7、Fus3 和 Ste4 (G_{β} 亚基),这说明 Ste5 与 $G_{\beta\gamma}$ 亚基结合后共同调节该 MAPK 级联。在该酵母细胞的另一条渗透胁迫反应的 MAPK 级联通路中,Ste11 也作为 MAPKKK 起作用,但它的作用是通过支架蛋白 Pbs2 结合 sho1 来进行调节的。因此,虽然两条通路中都用到了 Ste11,但它们之间并没有发生交叉。这样,支架蛋白就能使用同一个 MAPKKK 接受不同的上游刺激信号,调节不同的下游 MAPKK-MAPK 复合物。在动物体中同样也发现有这样的支架蛋白,如 MP1 就在 ERK 信号通路中起作用。在植物体中还没有类似报导,但它们的存在和作用是有极可能的。

4 展望

关于 MAPK 在酵母和哺乳动物中的作用及机理的研究起步要早,也取得了许多成果。它们不仅与生物抗逆性、激素信号传导、细胞周期调节等方面密切相关,在动物细胞中还存在着另一些平行的 MAPK 级联,与细胞凋亡相关,抑制细胞的增殖和分化。

MAPK 在植物体中的作用为我们解决一些长期以来未能解决的难题提供了新的突破口,但在生物体中还存在着各种其他的激酶与 MAPK 性质相似。为了能准确清楚的研究 MAPK 在生物体中的作用,最好的办法就是获得其突变体。最近,植物体中第一个 MAPK 突变体拟南芥 *mpk4* 基因突变体已被发现 (Petersen *et al.*, 2000)。它是通过将转座子插入到 *mpk4* 基因启动子上而获得的。假如能获得更多的 MAPK 基因突变体,将对我们今后的研究提供更多帮助。

MAPK 级联通路由于其底物的特异性而各自具有一定的独立性。同时,它又能在多个水平上相互交联,还能与其他类型的信号传递系统协调作用。这样,被各异的生物和非生物的刺激所引起的信号传导途径在某个 MAPK 上相互联系起来,形成一个错综复杂的信号传递网络。而这些不同的信号传递途径是在哪一步整合起来的,它们的发散途径怎样,支架蛋白的调节机制是什么都是值得研究的内容。在植物体内是否还存在其他的作用因子也有待进一步研究。

参 考 文 献

- Asai T, Tena G, Plotnikova J, Willmann M R, Chiu W L, Gomez-Gomez L, Boller T, Ausubel F M, Sheen J, 2002. MAP kinase signaling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature*, **415**: 977~983
- Baudouin E, Charpentreau M, Ranjeva R, Ranty B, 2002. A 45-kDa protein kinase related to mitogen-activated protein kinase is activated in tobacco cells treated with a phorbol ester. *Planta*, **214**: 400~405
- Boulton T G, Yancopoulos G D, Gregory J S, Slaughter C, Moomaw C, Hsu J, Cobb M H, 1990. An insulin-stimulated

- protein kinase similar to yeast kinases involved in cell cycle control. *Science*, **249**: 64~67
- Bögre L, Ligterink W, Heberle-Bors E, Hirt H, 1996. Mechanosensors in plants. *Nature*, **383**:489~490
- Bögre L, Ligterink W, Meskiene I, Barker P J, Heberle-Bors E, Huskisson N S, 1997. Wounding induces the rapid and transient activation of a specific MAP kinase pathway. *Plant Cell*, **9**: 75~83
- Burnett E C, Desikan R, Moser R C, Neill S J, 2000. ABA activation of an MAP kinase in *Pisum sativum* epidermal peels correlates with stomatal responses to ABA. *J Exp Bot*, **51**: 197~205
- Cardinale F, Jonak C, Ligterink W, Niehaus K, Boller T, Hirt H, 2000. Differential activation of four specific MAPK pathway by distinct elicitors. *J Biol Chem*, **275**: 36734~36740
- Coronado M J, Gonzalez-Melendi P, Segui J M, Ramirez C, Rarany I, Testillano P S, Risueno M C, 2002. MAPK entry into the nucleus at specific interchromatin domains in plant differentiation and proliferation processes. *J Struct Biol*, **140**: 200~213
- DeLong A, Mockaitis K, Christensen S, 2002. Protein phosphorylation in the delivery of and response to auxin signals. *Plant Mol Biol*, **49**: 285~303
- Garrington T P, Johnson G L, 1999. Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Curr Opin Cell Biol*, **11**: 211~218
- Groom L A, Sneddon A A, Alessi D R, Dowd S, Keyse S M, 1996. Differential regulation of the MAP, SAP, and RK/p38 kinases by Pyst1, a novel cytosolic dual-specificity phosphatase. *EMBO J*, **15**: 3621~3632
- Grumont R J, Rasko J E J, Strasser A, Gerondakis S, 1996. Activation of the mitogen-activated protein kinase pathway induces transcription of *PAC-1* phosphatase gene. *Mol Cell Biol*, **16**: 2913~2921
- Haring M A, Siderius M, Jonak C, Hirt H, Walton K M, Musgrave A, 1995. Tyrosine phosphatase signaling in a lower plant: cell cycle and oxidative stress-regulated expression of the *Chlamydomonas eugametos* VH-PTP13 gene. *Plant J*, **7**: 981~987
- Huttly A K, Phillips A L, 1995. Gibberellin-regulated expression in oat aleurone cells of two kinases that show homology to MAP kinase and a ribosomal protein kinase. *Plant Mol Biol*, **27**: 1043~1052
- Ishikawa M, Soyano T, Nishihama R, Machida Y, 2002. The NPK1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase contains a functional nuclear localization signal at the binding site for the NACK1 kinesin-like protein. *The Plant J*, **32**: 789~798
- Jabs T, Tschöpe M, Colling C, 1997. Elicitor-stimulated ion fluxes and O₂ from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin synthesis in parsley. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94**: 4800~4805
- Jiang Y, Li Z, Schwarz E M, Lin A, Guan K, Ulevitch R J, Han J, 1997. Structure-function studies of p38 mitogen-activated protein kinase. Loop 12 influences substrate specificity and autophosphorylation, but not upstream kinase selection. *J Biol Chem*, **272**: 11096~11102
- Jonak C, Pay A, Bögre L, Hirt H, Heberle-Bors E, 1993. The plant homologue of MAP kinase is expressed in a cell-cycle dependent and organ-specific manner. *Plant J*, **3**: 611~617

- Jonak C, Kiegiel S, Ligterink W, Barker P J, Huskisson N S, Hirt H, 1996. Stress signaling in plants: a mitogen-activated protein kinase pathway is activated by cold and drought. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 11274~11279
- Knetsch M L W, Wang M, Snaar-Jagalska B E, Heimovaara-Dijkstra S, 1996. Absciscic acid induces mitogen-activated protein kinase activation in barley aleurone protoplasts. *The Plant Cell*, **8**: 1061~1067
- Kovtun Y, Chiu W L, Zeng W, Sheen J, 1998. Suppression of auxin signal transduction by a MAPK cascade in higher plants. *Nature*, **395**: 716~720
- Kovtun Y, Chiu W L, Tena G, Sheen J, 2000. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. *PNAS*, **97**: 2940~2945
- Ligterink W, Kroj T, zur Nieden U, Hirt H, Scheel D, 1997. Receptor-mediated activation of a MAP kinase in pathogen defense of plants. *Science*, **276**:2054~2057
- Link V, Sinha A K, Vashista P, Hofmann M G, Proels R K, Ehness R, Roitsch T, 2002. A heat-activated MAP kinase in tomato: a possible regulator of the heat stress response. *FEBS Lett*, **531**: 179~183
- Lodish H, Berk A, Zipursky S L, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J, 2000. Molecular Cell Biology. New York: W. H. Freeman and Company, 880~881
- MAPK Group(Ichimura K *et al.*) , 2002. Mitogen-activated protein kinase cascade in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci*, **7**:301~308
- Marshall C J, 1995. Specificity of receptor tyrosine kinase signaling: transient versus sustained extracellular signal-regulated kinase activation. *Cell*, **80**: 179~185
- Mizoguchi T, Irie K, Hirayama T, Hayashida N, Yamaguchi-Shinozaki K, Matsumoto K, 1996. A gene encoding a mitogen-activated protein kinase kinase kinase is induced simultaneously with genes for a mitogen-activated protein kinase and S6 ribosomal protein kinase by touch, cold, and water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* , **93**: 765~769
- Mockaitis K, Howell S H, 2000. Auxin induces mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation in roots of *Arabidopsis* seedlings. *The Plant J*, **24**: 785~796
- Nakashima M, 1998. The expression pattern of the gene for NPK1 protein kinase related to mitogen-activated protein kinase kinase kinase (MAPKKK) in tobacco plant : correlation with cell proliferation. *Plant cell Physiol*, **39**: 690~700
- Novikova G V, Moshkov I E, Smith A R, Hall M A, 2000. The effect of ethylene on MAPKinase-like activity in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, **474**: 29~32
- Petersen M, 2000. *Arabidopsis* MAP kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell*, **103**:1111~1120
- Ruis H, Schiller C, 1995. Stress signaling in yeast. *Bioessays*, **17**:959~965
- Sangwan V, Dhindsa R S, 2002. In vivo and in vitro activation of temperature-responsive plant map kinases. *FEBS Lett*, **531**: 561~564
- Seo S, Okamoto M, Seto H, Ishizuka K, Sano H, Ohashi Y, 1995. Tobacco MAP kinase: a possible mediator in wound signal transduction pathways. *Science*, **270**: 1988~1992

- Song F, Goodman R M, 2002. *OsBIMK1*, a rice MAP kinase gene involved in disease resistance responses. *Planta*, **215**: 997~1005
- Taylor A T S, Kim J, Low P S, 2001. Involvement of mitogen-activated protein kinase activation in the signal-transduction pathways of the soya bean oxidative burst. *Biochem*, **355**: 795~803
- The *Arabidopsis* Genome Initiative, 2000. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, **408**: 796~815
- Wilson C, Anglmayer R, Vicente O, Heberle-Bors E, 1995. Molecular cloning, functional expression in *Escherichia coli*, and characterization of multiple mitogen-activated protein kinase from tobacco. *Eur J Biochem*, **233**: 249~257
- Yalamanchili R D, Stratmann J W, 2002. Ultraviolet-B activates components of the systemin signaling pathway in *Lycopersicon peruvianum* suspension-cultured cells. *J Biol Chem*, **277**: 28424~28430
- Yang K Y, Liu Y, Zhang S, 2001. Activation of a mitogen-activated protein kinase pathway is involved in disease resistance in tobacco. *PNAS*, **98**: 741~746
- Zhang S, Klessig D F, 1997. Salicylic acid activates a 48-kD MAP kinase in tobacco. *The Plant Cell*, **9**: 809~824
- Zhang S, Klessig D F, 1998. Resistance gene N-mediated de novo synthesis and activation of a tobacco mitogen-activated protein kinase by tobacco mosaic virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**: 7433~7438
- Zhang S, Klessig D F, 2001. MAPK cascades in plant defense signaling. *Trends Plant Sci*, **6**: 520~527
- Zhang S, Liu Y, Klessig D F, 2000. Multiple levels of tobacco WIPK activation during the induction of cell death by fungal elicitors. *Plant J*, **23**: 339~347

《植物学通报》即将改版

《植物学通报》第五届编辑委员会于2004年2月28日正式成立并召开了第一次会议。会议决定把《植物学通报》定位为以灵活的形式,及时全面地报道我国植物生命科学各分支学科创造性的研究成果,成为国内植物学最重要的中文学术期刊之一。为落实以上决定,近期本刊特推出一系列改版措施,具体如下:

- 1.封面重新设计,为彩色封面,每期从所登论文中遴选一幅彩色插图作为封面照片,希望作者踊跃提供照片。
- 2.增设“学术论坛”栏目,先在生态学和系统进化两个领域作试点,发表不同学术观点的文章。
- 3.降低综述文章的刊登比例,增加研究论文的数量,并将原研究简报栏目扩充为简报和快讯栏目。
- 4.刊登商业广告、重点实验室介绍、人才招聘信息和新书介绍等。欢迎有合作意向者与编辑部联系。

在此,编辑部诚挚地感谢读者、作者和审者对我刊的关心和帮助,期望今后继续予以支持。

《植物学通报》编辑部

2004-04-15