

植物抗逆相关蛋白激酶的结构与功能

杨 乐^{1,2}, 齐 妍², 刘生祥¹, 张双喜³, 李连城², 陈 明², 徐兆师², 马有志²

(¹宁夏大学农学院, 银川 750021; ²中国农业科学院作物科学研究所/国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程/农业部作物遗传育种重点开放实验室, 北京 100081; ³宁夏农业科学院, 银川 750021)

摘要:植物在遭受外界逆境胁迫时, 体内的信号传导系统能够感知和传递逆境胁迫信号, 并引起各种生理生化反应以适应环境。植物蛋白激酶在信号感知、传导生长发育以及基因的表达调控中起重要作用。蛋白激酶在信号传导过程的功能是磷酸化修饰目的蛋白, 而磷酸化的实现需要蛋白质之间相互作用。本文从植物蛋白激酶的结构、分类、与激素信号传导之间的关系等方面进行了系统的阐述, 对蛋白激酶介导的植物抗性与发育的最新研究进展进行了系统的总结, 为解析蛋白激酶在植物生长发育中的抗逆机理提供了理论依据。

关键词:蛋白激酶; 信号传导; 逆境胁迫; 生长发育

Structure and Function of Stress-related Protein Kinases in Plants

YANG Le^{1,2}, QI Yan², LIU Sheng-xiang¹, ZHANG Shuang-xi³,
LI Lian-cheng², CHEN Ming², XU Zhao-shi², MA You-zhi²

(¹ Agricultural College of Ningxia University, Yinchuan 750021; ² Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Triticeae Crops, Ministry of Agriculture, Beijing 100081;
³ Ningxia Academy of Agricultural Sciences, Yinchuan 750021)

Abstract: Plants can activate their signal transduction system when adverse environment stress occurred. Plant signal transduction can perceive and transduce different stress signals, and activate a variety of physiological and biochemical reactions to survive. Plant protein kinases play very important roles in signal transduction, growth, development, and gene expression regulation. The function of protein kinase in signal transduction is to phosphorylate the target protein. In this paper, we focused mainly on the structure, classification of plant kinase, and the relationship between hormone signal transduction and plant protein kinase. We summarized the latest research of plants resistance and development mediated by protein kinases, which provided a theoretical basis for understanding the molecular mechanisms of protein kinases in plant growth and development.

Key words: protein kinase; signal transduction; environmental stress; growth development

干旱、高盐及低温等逆境胁迫严重影响植物生长发育和作物产量。在胁迫下植物体内会产生一系列应答反应, 伴随着许多生理生化及发育上的变化。明确植物对逆境的反应机制, 将为抗逆基因工程研究和应用提供科学依据。目前, 植物抗逆性研究已逐渐深入到细胞分子水平, 并与遗传学研究相结合, 利用生物技术手段提高植物对逆境的适应能力。其

中, 植物蛋白激酶的研究成为近年来的热点之一。

蛋白激酶主要参与体内蛋白质或多肽的磷酸化, 催化 ATP 分子的 γ -磷酸基团转移并共价结合到某些蛋白质分子的特定氨基酸的羟基上, 这些氨基酸通常是丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残基磷酸化过程改变了蛋白质的构象和酶的活性, 从而影响细胞的生长、发育和凋亡。蛋白激酶参与复杂的细胞信号

收稿日期: 2012-12-19 修回日期: 2013-01-11 网络出版日期: 2013-06-07

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130607.1739.009.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171546); 国家支撑计划项目(2011BAD35B03-5)

第一作者研究方向为作物遗传育种。E-mail: yangle032008@163.com

通信作者: 徐兆师, 博士, 硕士生导师, 研究方向为植物抗逆分子生物学。E-mail: xuzhaoshi@yahoo.com.cn

传递网络,在调节植物生长发育及对环境胁迫应答等方面起着重要作用。

1 植物蛋白激酶的结构

蛋白激酶一般包括保守的催化结构域、调节结构域和其他的一些结构域。单亚基酶的催化结构域和调节结构域存在于同一蛋白分子的不同部位。

蛋白激酶的催化结构域由约 250 ~ 300 个氨基酸残基构成,包括 12 个亚区,氨基酸序列高度保守^[1],折叠起来形成核心结构域^[2-3]。核心结构域有 3 个功能:引导 ATP 或 GTP 的定向和结合,有些二价阳离子(Mg^{2+} 或 Mn^{2+})参与形成这一复合体;引导底物蛋白质或多肽的定向和结合;催化 ATP 或 GTP 的 γ -磷酸基团转移到受体丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残基的羟基上。

有些蛋白激酶有独特的结构域。CaMK 类蛋白激酶中的 CDPK 调控区有典型的 EF 手型结构,X 晶体衍射表明^[4]钙离子(Ca^{2+})结合在 E 和 F 的 α -螺旋之间环上的一个位点,这种结构像一只手的食指和拇指伸成直角(相当于螺旋),其余手指(相当于环)向手掌内部卷曲。0.1 ~ 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ca^{2+} 与 EF 手型部位结合就可以引起蛋白构象的改变,从而影响激酶结构域的活性和功能。CDPK 的调控区是区别于其他蛋白激酶所特有的部分,这一区域的保守性很差^[5]。有些 CDPK 的 N-端还有豆蔻酰化位点 MGXXXSK,与蛋白质在膜上的定位有关^[6]。除了 CDPK 以外,一些 SnRK 成员也有 EF 手型结构。

所有蛋白激酶在功能域的氨基酸序列上具有高度保守性,说明蛋白激酶以相似的构象和相同的机理催化氨基酸残基的磷酸化,即使在某些亚结构域中插入片段也不会影响基本的核心结构和催化功能。

2 蛋白激酶的分类

蛋白激酶的数量很多,功能和结构各不相同,对蛋白激酶进行分类有助于了解蛋白激酶分子生物学特性和功能。目前对蛋白激酶的分类最常见的有两种方式:根据底物特异性分类和根据催化域氨基酸序列分类。

在真核生物中,根据蛋白激酶底物的特异性将蛋白激酶分为 5 类:丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、酪氨酸蛋白激酶、组氨酸/精氨酸/赖氨酸蛋白激酶、半胱氨酸蛋白激酶和天冬酰胺基/谷氨酰胺基蛋白激酶,现今发现的蛋白激酶多是前 3 种^[7]。其中,丝氨酸/

苏氨酸蛋白激酶能够磷酸化丝氨酸/苏氨酸羟基,研究得更为详尽,其中包括促分裂原活化蛋白激酶(MAPK,mitogen-activated protein kinase)、钙依赖蛋白激酶(CDPK,calcium-dependent protein kinase)、蛋白激酶 A(PKA,protein kinase A)和蛋白激酶 C(PKC,protein kinase C)等^[8]。

根据蛋白激酶催化域氨基酸序列不同,将蛋白激酶分为 5 个不同类别^[9]:AGC 类、CaMK 类、CMGC 类、常规 PTK 类和其他类蛋白激酶。根据蛋白激酶的相似序列和功能进行分类的方式具有十分明显的优势。

2.1 AGC 类蛋白激酶

AGC 类蛋白激酶依赖于第 2 信使,包括蛋白激酶 A(PKA)家族、蛋白激酶 C(PKC)家族、蛋白激酶 G(PKG)家族和核糖体 S6 激酶家族。PKA 家族依赖于环腺苷酸(cAMP),由 2 个催化亚基和 2 个调节亚基组成,在没有第 2 信使 cAMP 时,PKA 以钝化的复合体形式存在。当 cAMP 与 PKA 的调节亚基结合时,调节亚基构象发生改变,使催化亚基解离并进入细胞核,促使 cAMP 反应元件结合蛋白的丝氨酸或苏氨酸残基磷酸化^[10]。PKG 家族与 PKA 家族类似,依赖于环鸟苷酸(cGMP)。而 PKC 家族的激活则依赖于钙磷脂,细胞内钙库释放 Ca^{2+} 到细胞质中,二酰甘油(DAG,diacylglycerol)在 Ca^{2+} 的协同下激活 PKC,然后通过 PKC 引起级联反应,进行细胞的应答。M. A. Lawton 等^[11]首先发现菜豆 PVPK1 的 C-端催化结构域与环核苷酸依赖性蛋白激酶家族类似,而水稻 G11 的催化域则和 PKC 蛋白激酶家族相似。B. Biermann 等^[12]从玉米中克隆到一个基因,在根部对胞外信号进行转导,产物含有蛋白激酶催化结构域,并且更相近于环核苷酸依赖蛋白激酶亚家族和钙磷脂依赖激酶。拟南芥 *atpk1* 和 *atpk2* 编码蛋白的催化结构域与 70kD 核糖体 S6 蛋白激酶、PKC 和 PKA 高度相似,*atpk1* 和 *atpk2* 在拟南芥各个组织和生长阶段都有表达,但在代谢旺盛的组织中表达量最大,说明 *atpk1* 和 *atpk2* 参与了植物的生长和发育^[13]。然而,目前为止,对植物 AGC 类蛋白激酶的研究并不深入。

2.2 CaMK 类蛋白激酶

CaMK 类蛋白激酶与 AGC 类蛋白激酶相似,受第 2 信使的调控。CaMK 类蛋白激酶包括 CDPK 家族和需要 SNF1/AMP 活化的蛋白激酶家族(SnRK,SNF1-related protein kinase)。

植物生长发育的很多过程以 Ca^{2+} 作为第 2 信

使,在细胞中将信号以独特的方式传递下去。CDPK 内部的钙调素类似区与 Ca^{2+} 结合被激活,很多 CDPK 的激活还依赖于钙调素或磷脂。A. C. Harmon 等^[14]首先在大豆中发现植物 CDPK,与之前报道的动物 CDPK 不同,激活并不依赖于钙调素或磷脂,而是仅依赖于 Ca^{2+} ,之后发现的植物 CDPK 多数属于此类。B. Watillon 等^[15]在苹果中得到 1 个 cDNA 片段,编码的蛋白质具有 1 个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶功能域和 1 个钙/钙调素结合调节域,这个结构域与哺乳动物 II 型钙/钙调素依赖蛋白激酶同源,但没有直接证据证明这个 CDPK 的激酶活性对钙调素有依赖。并不是所有 CDPK/SnRK 成员都受 Ca^{2+} 调节,J. Hartwell 等^[16]从景天科植物变叶景天(*Kalanchoe fedtschenkoi*)中克隆出 PPCK (Phosphoenolpyruvate carboxylase kinase),该酶的活性不受 Ca^{2+} 调节,通过磷酸化调节磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性,属于 CDPK/SnRK 蛋白激酶超家族,仅有 1 个蛋白激酶催化结构域,但没有调节域和植物 CDPK 的 EF 手型结构。

植物 SnRK 蛋白激酶命名源于同源蛋白酿酒酵母 SNF1 (sucrose non-fermenting-1) 和动物 AMPK (AMP-activated protein kinase)。酵母 SNF1 直接影响很多代谢酶的磷酸化,对葡萄糖抑制基因的抑制解除作用是必需的^[17]。动物 AMPK 被上游 AMPKK (AMP-activated protein kinase kinase) 激活,也可在高 AMP/ATP 条件下被 AMP 激活。A. Alderson 等^[18]从黑麦胚乳 cDNA 文库中首次发现植物 SnRK 蛋白激酶 cRKIN1,分析显示发育中的胚乳有 cRKIN1 相关转录物的出现;突变体功能恢复分析表明,蛋白激酶 cRKIN1 在黑麦胚乳的碳代谢中起重要作用。

2.3 CMGC 类蛋白激酶

植物 CMGC 类蛋白激酶包括 4 类成员:细胞周期蛋白依赖激酶(CDK, cyclin-dependent kinase)、促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)、糖原合成酶激酶-3 (GSK-3, glycogen synthase kinase-3) 以及酪蛋白激酶(CK II, casein kinase II) 家族。CMGC 类蛋白激酶在磷酸化级联系统的下游起作用。

CDK 类蛋白激酶在真核生物细胞分裂周期中起调控作用,受周期蛋白激活。对 CDK 类蛋白激酶的研究最具有代表性的是酵母 *cdc2* 基因和人类 *CDC1 ~ CDC8* 基因。酵母 *cdc2* 基因产物是 p34 蛋白激酶。植物 CDK 类蛋白激酶的研究开始于 p34。P. John 等^[19]采用 EGV 肽段抗体检测,发现双子叶

植物拟南芥和单子叶植物燕麦中存在 p34 蛋白激酶,之前 EGV 肽段抗体一直用于检测酵母、两栖类和人类细胞中的 p34 蛋白。此后的研究表明 CDK 类蛋白激酶在植物中的功能与在酵母中的相似。

MAPK 类蛋白激酶属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在基因表达调控和细胞质功能活动中发挥关键作用,是真核生物信号传递网络中的重要成员。MAPK、MAPKK 和 MAPKKK 组成的 MAPK 链构成激酶级联信号传导系统,通过依次磷酸化将上游信号传递至下游应答分子。MAPK 信号传导模式在酵母和动物中普遍存在。植物 MAPK 的研究起步较晚,1993 年, B. Duerr 等^[20]首先从苜蓿中克隆到 MAPK 基因 *MsERK1*,在大肠杆菌中过表达的重组 *MsERK1* 能够与来自大鼠、非洲爪蟾和海星中的抗 MAPK 的抗体结合,定点突变结果表明第 215 位酪氨酸突变直接或间接影响蛋白与抗体之间的识别。同年, C. Wilson 等^[21]在烟草中发现一个 MAPK 基因 *ntf3*,实验表明这个基因在烟草所有组织中都有表达,而且 *ntf3* 不能替代酵母 MAPK 基因 *fus3* 和 *kss1*。随后发现植物中广泛存在着 MAPK^[22-23]。

GSK-3 类蛋白激酶最早是在动物中发现的,哺乳动物中包括 2 个 GSK-3 基因,在胚胎分化和成熟组织细胞增殖中起重要的作用。目前植物 GSK-3 类蛋白激酶文献报道不多。植物 GSK-3 的功能涉及到很多方面,如花的发育、盐胁迫和机械损伤的应答^[24],苜蓿蛋白激酶与发育时的器官特异性和阶段特异性有关^[25],拟南芥 GSK-3 的同源蛋白 BIN2 与油菜素内酯信号通路有关,BIN2 过表达会抑制油菜素内酯信号传导^[26]以及细胞骨架的调节^[27]。

CKII 类蛋白激酶广泛存在于真核生物中,含丝氨酸/苏氨酸磷酸化位点,与很多关键酶、生长因子受体、转录因子和细胞骨架蛋白相互作用。在动物和酵母体内,CKII 类蛋白激酶以四聚体的形式存在,其中包括 2 个 α 催化亚基和 2 个 β 调控亚基^[28]。植物 CKII 类蛋白激酶研究起步较晚,1993 年, T. Mizoguchi 等^[29]在拟南芥中克隆出 2 个编码 CKII 类蛋白激酶催化亚基的基因;1994 年, M. A. Collinge 等^[30]在拟南芥中分离出 1 个 CKII 类蛋白激酶的调控亚基。目前关于 CKII 类蛋白激酶在植物中的功能的报道较少,拟南芥 CKII 对于不同叶绿体功能来说是一个重要调节者^[31]。

2.4 RLK 类蛋白激酶

类受体蛋白激酶(RLK, receptor like kinase)是植物感受外界信号的重要成员,在调控植物生长发

育中起着重要作用^[32]。根据膜外结构域 RLK 类蛋白激酶可分为 5 种:富含重复亮氨酸受体激酶(LRR-RLK, leucine-rich repeats receptor kinase)、自交不亲和蛋白激酶(self-incompatibility receptor kinase)、表皮生长因子受体激酶(epidermal growth factor receptor kinase)、肿瘤坏死因子类受体激酶(TNFT-like receptor kinase)、凝集素类受体激酶(lectin-receptor kinase), 还有其他无明显共同特征的受体激酶。RLK 类蛋白激酶在植物不同生理过程中发挥重要功能, 包括植物生长发育、自交不亲和、激素感知和植物与微生物的相互作用^[33], 尤其是 LRR-RLK 和 S 受体蛋白激酶。拟南芥中的 LRR-RLK 与油菜素内酯信号传导有关, 其信号通路和功能的研究较为清楚^[34]。植物 RLK 类蛋白激酶有 20 余种, 大多数在植物中的功能还没有研究清楚。

3 植物蛋白激酶与激素信号传导

植物激素是由植物自身产生、运送至其他部位后可以调节植物生长发育的微量有机物质。常见的植物激素有脱落酸(ABA, abscisic acid)、油菜素内酯(BR, brassinosteroid)、生长素(auxin)、赤霉素(GA, gibberellin)和乙烯(ET, ethylene)。植物激素与细胞信号传导途径密切相关, 很多植物蛋白激酶参与细胞信号传导, 其级联信号体系在细胞信号传导过程中将信号逐级放大, 引起一系列反应使植物抵抗外界刺激并适应各种环境, 研究较为清楚的有 BR 信号传导途径和 ABA 信号传导途径。

3.1 BR 信号传导途径

BR 是植物中十分重要的内源激素, 在低浓度下可以促进植物的生长, 提高作物对逆境的抗性。目前的研究认为在 BR 信号通路中, 有多种蛋白激酶的参与如 BRI、BAK1、BIN2、BSK1、BSK2 和 BSK; 转录因子如 BES1、BZR1/2 以及磷酸酶如 BSU1 的调控。蛋白激酶 BRI 是配体 BR 的受体蛋白, 是通过筛选对外源 BR 不敏感的拟南芥突变体时发现的, 是一个富含亮氨酸的受体蛋白激酶, 具有丝氨酸和苏氨酸磷酸化位点^[35]。BRI1 能自磷酸化, C-末端结构域抑制自身的激酶活性^[36], BRI 膜外结构域与配体的结合能够解除这种抑制并发现 BRI1 是一个质膜受体蛋白^[37], 而且 BR 信号分子与 BRI1 的胞外结构域 ID-LRR22 相互作用^[38], 将激素信号传导至细胞膜内。

K. H. Nam 等^[39]以 BRI1 胞质激酶区为诱饵筛选到互作蛋白 BAK1, 研究证实 BRI1 先被 BR 激活,

再与 BAK1 相互作用, BRI1/BAK1 受体激酶复合物对底物进行磷酸化, 将信号向下游传导^[40]。拟南芥中发现了 BR 信号通路的新成员 BIN2 基因, BIN2 基因编码一个 GSK3/SHAGGY 类激酶, 在 BR 信号传导中起负向调控作用^[41-42]。BR 信号传导通路中细胞核内的组分 BZR1, 实验证明 BR 信号使 BZR1 蛋白在细胞核内稳定积累^[43], BZR1 是传导通路下游正向调控的一个转录因子^[44], BZR1 的 N-端具有一个未知的 DNA 结合结构域, 可以通过 BR 的生物合成反馈来抑制目的基因的启动子; 蛋白激酶 BIN2 与 BZR1 在酵母中有相互作用, 在体外 BIN2 可以磷酸化 BZR1, 在体内 BIN2 对 BZR1 在核内的积累起负向调控作用^[45]。一个与 BZR1 相似的蛋白 BES1, BES1 可以被 BIN2 磷酸化, 磷酸化的 BES1/BZR1 有 3 个特点, 不能与 DNA 结合, 与 14-3-3 蛋白结合定位在胞质, 易被蛋白酶体降解^[46]。

BES1 是一类调控油菜素内酯目标基因的转录因子, 与转录因子 BIN2 蛋白相似且相互作用, BES1 和 BIN2 在去磷酸化状态下协同结合到受 BR 诱导的启动子的 E-box 序列上, 激活目标基因。BIN2 对 BZR1 与 BES1 的负向调节暗示着有一个正向调控因子的存在。S. Mora-García 等^[47]的研究证实了这一点, 发现了一个丝/苏氨酸蛋白磷酸酶 BSU1 基因, BSU1 编码核定位蛋白, 通过使 BES1 磷酸化来提高稳定态 BES1 的水平, BES1 在细胞核内受到相互对抗性磷酸化和去磷酸化反应的调控。有研究发现 BR 信号传导中的 3 个激酶 BSK1、BSK2 和 BSK, 转基因和遗传学研究证实蛋白激酶 BSK 是 BRI1/BAK1 激活 BR 信号传导的作用底物^[48]。BRI1/BAK1 磷酸化的 BSK1 与磷酸酶 BSU1 的结合增强, BSU1 的磷酸酶活性被激活, 通过对 BIN2 的去磷酸化使 BIN2 失活^[49]。

综上所述, BR 信号传导机理如下: 首先, BR 信号分子作为配体与细胞膜上的跨膜蛋白激酶 BRI1 结合, BRI 构象改变和蛋白激酶 BAK 结合形成异源 BRI/BAK 二聚体, BRI/BAK 二聚体磷酸化 BSK 激酶, BSK 激酶激活 BSU1 磷酸酶, BSU1 将负调控因子 BIN2 去磷酸化, 去磷酸化的 BIN2 不稳定被蛋白酶体降解, 导致 BIN2 蛋白激酶对转录因子 BZR1/2 的磷酸化作用被中断, 使 BZR1/2 以稳定态存在, 与 BZR1/2 的目的基因启动子结合, 从而启动相关基因表达^[50]。随着研究的不断深入, 参与 BR 信号传导系统的成员将逐渐被发现并被研究透彻。到目前为止, 发现的受 BR 信号通路调控的基因有 1000 余

种^[50],这将为揭秘植物信号传导提供更多的证据。

3.2 ABA 信号传导途径

从外界胁迫角度来说,ABA 的合成受一系列外界胁迫刺激的诱导。在 ABA 信号通路中,蛋白激酶和磷酸酶对底物的磷酸化和去磷酸化相当于下游传导的开关。ABA 信号通路中的蛋白激酶有 SRK2E^[51]、OST^[52] 等,磷酸酶有 ABI1、ABI2 和 ABI3^[53] 等。在正常情况下,ABA 受体处于失活状态,不能活化 ABI1 磷酸酶,信号下游的蛋白激酶能够完成自身或底物磷酸化,通过一系列级联反应,使信号传导下去,最终完成气孔张开。而当植物受到外界刺激时,ABA 信号分子作为配体与受体结合,使 ABA 受体构象改变,活化了 ABI1 磷酸酶,蛋白激酶就不能完成自身和底物磷酸化,信号传导通路被关闭,下游的一系列反应不能发生。在 ABA 的信号传导网络中,蛋白激酶起着重要的作用^[54]。

有研究者对 SRK2E 蛋白激酶在 ABA 响应水胁迫信号传导做了深入的研究,对 *ost1* 突变体的研究中发现的 OST1 蛋白激酶与 SRK2E 为同一蛋白激酶,低湿度胁迫可激活 SRK2E 蛋白激酶,突变体 *ost1-1* 中 SRK2E 蛋白激酶 ABA 依赖活性受到抑制,但 *ost2-1* 中却没有抑制效果,*abi* 与 *aba* 突变体对 SRK2E/OST1 的渗透胁迫依赖活性没有影响^[55],此研究将 ABA 信号传导途径中的正向 (SRK3E/OST1) 及负向 (ABI1) 调控因子联系起来,使得对 ABA 信号传导途径有了进一步清晰的认识。OST1 蛋白激酶与 SLAC1 离子通道蛋白有相互作用,OST1 蛋白激酶通过磷酸化激活 SLAC1 离子通道蛋白,PP2CA 通过 2 种机制来抑制 SLAC1 的活性,一种是与 SLAC1 直接相互作用,另一种是与 OST1 蛋白激酶相互作用^[56]。随着 ABA 信号传导通路的下游组分及信号传导研究不断深入,ABA 受体的研究也成为值得研究的领域。

3.3 其他植物激素信号传导

除了 BR 信号通路和 ABA 信号传导途径外,生长素、赤霉素和乙烯等植物激素的信号传导也有蛋白激酶的参与。植物的一个 MAPKKK 类激酶 NPK1 在生长素信号传导途径中起负调控作用^[57],能抑制生长素响应基因 *GH3* 的转录。拟南芥中 MAPK 蛋白激酶级联系统能够响应乙烯、茉莉酸甲酯和水杨酸等对植物的刺激^[58]。研究发现,烟草 CDPK1 能调控赤霉素信号通路中的转录激活因子 RSG 的表达,从而影响赤霉素的生物合成酶基因的转录^[59-60]。蛋白激酶在植物激素信号传导过程中的

作用逐步被发现,每个信号途径不是单一存在的,各种传导通路相互交联,相互影响,形成整体的信号网络,蛋白激酶在这个网络中起着重要作用,影响植物的生长、发育和凋亡等生命过程。

4 植物蛋白激酶与植物抗逆性

逆境胁迫严重影响植物的正常生长发育,植物感受逆境胁迫信号,经过一系列信号传导,诱导或抑制某些基因的表达,从而对胁迫作出各种适应性响应降低自身受到的伤害。这些胁迫信号的传递需要植物蛋白激酶的参与,例如 SOS (salt overly sensitive) 信号传导途径。

SOS 信号传导途径是植物中与盐胁迫相关的信号传导途径,涉及 *SOS1*、*SOS2* 和 *SOS3* 等 3 个基因,蛋白激酶 *SOS2* 是关键的一员。J. Zhu 等^[61]筛选到拟南芥突变体 *sos2*,对 Na^+ 和 Li^+ 极度敏感且不能在低钾培养基上生长。在此之前,研究人员已经得到了 2 个盐敏感突变体 *sos1-1* 和 *sos3*。S. J. Wu 等^[62]筛选诱变的拟南芥种子得到突变体 *sos1-1*,实验证明 *sos1-1* 对盐即 Na^+ 、 Li^+ 极度敏感,研究发现 *SOS1-1* 基因产物属于高亲和性钾吸收系统^[63]。J. Liu 等^[64]筛选诱变的拟南芥种子,得到了 1 个与 *sos1-1* 不同的突变体 *sos3*,*SOS3* 基因突变体同样对 Na^+ 和 Li^+ 极度敏感,同时低浓度 K^+ 可以抑制 *sos3* 突变体根部的生长。*sos1*、*sos2* 和 *sos3* 突变体相似的特点说明 *SOS1*、*SOS2* 和 *SOS3* 基因处于同一信号传导途径。

H. Shi 等^[65]推断 *SOS1* 蛋白与细菌和真菌中的 Na^+/H^+ 转运蛋白相近,而 *SOS2* 基因编码一个与酵母 SNF1 相似的蛋白激酶,实验表明 *SOS2* 蛋白激酶活性是植物耐盐所必需的。推测 *SOS3* 编码的蛋白含有 EF 手型结构,与钙结合蛋白相似。通过体内和体外互作实验证明 *SOS2* 的 C-端调控结构域与 *SOS3* 相互作用,并且发现 *SOS3* 能够感知 Ca^{2+} 的存在,然后激活 *SOS2* 对多肽底物的磷酸化活性^[66]。因此,SOS 信号传导途径为 *SOS3* 感知 Ca^{2+} 信号,与 *SOS2* 的 C-端结合并激活 *SOS2* 的蛋白激酶活性,*SOS2* 通过磷酸化激活 *SOS1*,*SOS1* 将 Na^+ 排到细胞外和液泡内降低盐胁迫给植物带来的危害^[67]。

近年来有关植物蛋白激酶参与植物抗逆性的报道很多。拟南芥 *CDPK10* 和 *CDPK11* 在高盐和干旱条件下被迅速诱导表达,说明其在提高植物抗逆性中起作用^[68]。在水稻中过表达 *OsMAPK33* 基因增强了植物对盐胁迫的敏感性,说明 *OsMAPK33* 在盐

胁迫条件下起负向调控作用^[69]。玉米 *ZmMKK4* 基因在低温、高盐和过氧化胁迫中表达上调,而 ABA 处理下表达量降低,将 *ZmMKK4* 基因转入拟南芥中,明显提高了转基因植株在高盐和低温胁迫下的萌发率、存活率、次生根数量和 POD 酶量,证实低温和高盐条件下,*ZmMKK4* 是一个正向调控因子^[70]。番茄 *LeCPK2* 明显受高温、EH、JA 和 ABA 的诱导,实验证明 *LeCPK2* 是一个多功能的 CDPK 基因^[71]。有研究表明拟南芥 CPK21 在体内响应高渗透胁迫时可被激活,*cpk21* 突变体对高渗透胁迫有较高的耐受性且突变体中胁迫响应相关标记基因的表达与代谢积累均有所增加,转野生型 *CPK21* 基因的 *cpk21* 拟南芥突变体表现出胁迫响应能力的恢复,转丧失激酶活性的 *CPK21* 变种基因的 *cpk21* 拟南芥突变体没有表现恢复,对植物自身合成纯化的 CPK21 进行生物化学分析表明钙结合结构域中的 EF-1 与 EF-2 基序在调控 CDPK 活性中起关键性作用^[72],这些研究成果表明 CPK21 参与了非生物胁迫信号传导且 N-端成对 EF 手是控制 CPK21 功能特异性的钙感受决定因素。这也表明蛋白激酶参与渗透胁迫往往充当胁迫信号传导中的重要组分,对下游信号传导组分进行控制从而响应渗透胁迫。因此,蛋白激酶广泛参与了植物对逆境胁迫的响应,在提高植物抗性中起重要作用。

另外,SnRK2 蛋白激酶家族也参与了渗透胁迫信号传导。H. Zhang 等^[73]对小麦 SnRK2 蛋白激酶 *TaSnRK2.4* 进行了研究,过表达 *TaSnRK2.4* 拟南芥表现出植株建成延迟、主根伸长以及正常生长条件下产量提高,转基因拟南芥表现出对干旱、盐渍及低温胁迫的耐性,这些研究表明 *TaSnRK2.4* 可能与调控植物渗透势、生长以及正常条件与胁迫条件下的发育有关。过表达 *TaABC1* 基因的拟南芥植株表现出低失水、高渗透势、高光效及高叶绿素含量,过表达同时也造成了若干胁迫响应相关基因(*DREB1A*、*DREB2A*、*RD29A*、*ABF3*、*KIN1*、*CBF1*、*LEA*、*P5CS* 等)的表达^[74],此研究结果表明 *TaABC1* 可增加拟南芥对干旱、盐渍及冷胁迫耐性且 *TaABC1* 也可能在多个胁迫响应通路中作为调控因子。对 *TaSnRK2.7* 的表达模式分析表明在根中强烈表达,对聚乙二醇、NaCl 以及冷胁迫有响应且对 ABA 无响应,表明 *TaSnRK2.7* 可能参与介导了非 ABA 依赖信号传导通路,功能分析表明 *TaSnRK2.7* 与糖代谢、降低渗透势、增强光和系统 II 活性以及促进根部生长相关,过表达可增加对多种非生物胁迫的抗性^[75],这

些结果表明 *TaSnRK2.7* 是植物中的多功能调控因子,对作物非生物胁迫抗逆转基因育种有潜在利用价值。

5 植物蛋白激酶与植物生长发育

蛋白激酶广泛参与调控植株生长和防御系统,在植物体的生长发育过程中起着十分重要的作用。棉花 C 组 MAPK 基因 *GhMAPK7* 被病原体和多个防御相关的信号分子诱导表达,转 *GhMAPK7* 基因烟草比野生型萌发早、生长快,由 *GhMAPK7* 启动子启动的 β -葡萄糖苷酸酶活性在植株顶端分生组织和营养生长阶段都能被检测到,因此 *GhMAPK7* 可能在植物发育和广谱抗病中起重要作用^[76]。拟南芥和水稻 SnRK1 不但能增强非生物胁迫相关基因的表达,还调节植物早期幼苗到晚期衰亡的发育过程^[77]。将大豆 MAPK 级联系统的激酶基因沉默,发现 *GmMAPK4s* 沉默的植株明显出现防御响应被激活的特征,同时表现出植株矮小,叶和茎部细胞死亡的现象^[78]。基因芯片分析结果表明 *GmMAPK4s* 沉默植株的防御响应信号传导系统相关基因的表达明显上调;而与生长发育有关的基因表达水平则降低,说明大豆 MAPK4 同源蛋白负向调节植物防御系统,正向调控植物生长发育。

植物开花也受蛋白激酶调控和影响。拟南芥中蛋白激酶 TSL 功能缺失会影响开花时间和叶型,这意味着 TSL 蛋白激酶对于拟南芥花的发育和器官发生是必不可少的^[79]。CDPK 蛋白激酶参与了牵牛花的形态发生^[80],在叶芽向花芽转变时期,*PnCDPK1* 的转录水平和酶活性有短暂升高的现象,实验结果表明 CDPK 在枝条顶端存在,蛋白水平在叶中较低,而在枝条顶端尤其在长时间黑暗诱导开花之后的顶端部位明显升高。

蛋白激酶与植物果实的成熟和种子的发育有关。最近,有报道称番茄 SnRK1 的一个同源蛋白能增强碳的同化和氮的吸收,并且改变果实发育,*SnRK1* 基因过表达的番茄果实比野生型成熟期早 10 d,成熟果实和叶片的淀粉含量也比对照组高^[81]。研究发现水稻 SnRK1 通过抑制葡萄糖抑制基因在胚中的表达来调节种子的萌发和早期幼苗的生长^[82]。M. Jain 等^[83]研究发现,在花生种子发育早期有丝分裂生长和晚期营养贮存时,如果土壤中的 Ca^{2+} 含量不合适,CDPK 基因转录水平会上调。同一蛋白激酶在植物发育的不同时期表达量也有所不同,如水稻的 2 个蛋白激酶 *OsCDPK11* 和

OsCDPK2 就是如此;*OsCDPK11* 在种子发育早期表达量高,受精后迅速降低;*OsCDPK2* 在种子发育早期表达低,之后表达水平增高并且持续到种子发育后期^[84]。

有些蛋白激酶还和植物与真菌的共生和根瘤形成有关。钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 CCaMK 的激活影响丛枝状菌根和植物根瘤的共生系统,CCaMK 的磷酸化对于植物根部器官发生和真菌的感染过程是必需的^[85]。有研究发现,荷花 MAPKK 类蛋白激酶 SIP2 能与共生受体激酶 SymRK 互作并且受后者的负向调控,二者的相互作用在豆科植物中比较常见,SIP2 在所有荷花的根部组织中都能被检测到,调控荷花的根部器官发生,敲除 SIP2 明显引起根原基和根部共生结瘤大量减少,说明 SIP2 对根部器官发生和共生信号传导早期起重要作用^[86]。

6 植物蛋白激酶的研究展望

蛋白激酶响应逆境胁迫的信号传导途径在植物的正常生长发育过程中占有重要的地位。蛋白激酶通过自身的磷酸化激活或抑制自身的激酶活性,通过对底物蛋白的磷酸化提高底物的酶活性,底物蛋白又调控下游基因的表达水平,形成一个精密复杂的级联网络。植物蛋白激酶在上游作为一种开关存在,外界不良因素被植物感知后打开或关闭这一开关,使信号传导下去,细胞内发生一系列生理变化,使得植物改变自身逐步适应不良的环境。

鉴于蛋白激酶在植物中的重要地位,对蛋白激酶的研究就显得很重要。目前,蛋白激酶抗性机理的研究还不够完善,ABA 和 MAPK 级联都参与和响应多种逆境信号,而对于 ABA 信号途径和 MAPK 级联之间存在交互作用的研究甚少,对两者之间的复杂关系还需要深入的研究。植物 RLK 在抗病防御反应中起重要作用,但参与抗病防御的过程还不清楚。研究人员已经从植物中克隆出了大量的蛋白激酶基因,但是大多局限于蛋白激酶功能的研究,而蛋白激酶的调控机制、不同蛋白激酶的相互作用等方面仍需更深入的研究。

在土地和水资源有限的情况下,加强抗逆作物新品种培育与推广应用是保障我国粮食安全的重要途径之一。蛋白激酶是植物体内一类重要的调节因子,通过膜受体蛋白激酶感知外界环境胁迫信号,导致细胞内一些离子和分子浓度改变,进而激活不同蛋白磷酸化途径,调控下游抗逆基因的转录表达,启动相应的生理生化等适应性反应来降低或消除危

害^[87]。因此,将关键蛋白激酶转到作物中以提高作物对外界不良环境的抵抗能力,对于提高我国粮食产量有重要的实用价值。水稻 *OsCDPK7* 的过表达赋予了转基因水稻对旱、盐的耐性^[88];水稻 *SnRK2* 的过表达明显提高了转基因植株对盐的抗性^[89]。上述研究表明,蛋白激酶在植物适应逆境环境过程中起着重要的作用。深入研究植物蛋白激酶在逆境条件下的功能,加深了对植物逆境信号网络的认识,对提高作物的抗逆特性具有重要意义。

参考文献

- [1] Hanks S K, Quinn A M. Protein kinase catalytic domain sequence database: identification of conserved features of primary structure and classification of family members [J]. *Method Enzymol*, 1991, 200: 38-62
- [2] Endicott J A, Noble M E, Johnson L N, et al. The structural basis for control of eukaryotic protein kinases [J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 587-613
- [3] Hanks S K, Hunter T. The eukaryotic protein kinase superfamily: kinase (catalytic) domain structure and classification [J]. *FASEB J*, 1995, 9(8): 576-596
- [4] Kretsinger R H, Nockolds C E, Coffee C J, et al. The structure of a calcium-binding protein from carp muscle [J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1972, 36: 217-220
- [5] Hrabak E M, Dickmann L J, Satterlee J S, et al. Characterization of eight new members of the calmodulin-like domain protein kinase gene family from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 1996, 31(2): 405-412
- [6] Krupa A, Anamika, Srinivasan N. Genome-wide comparative analysis of domain organization of repertoires of protein kinases of *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* [J]. *Gene*, 2006, 380(1): 1-13
- [7] 张春宝, 赵丽梅, 赵洪锐, 等. 植物蛋白激酶研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2011(10): 16-21
- [8] 李俊发, 贺俊崎. 细胞信号转导研究技术 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008
- [9] Hanks S K, Hunter T. Protein Kinase 6. The eukaryotic protein kinase superfamily: kinase (catalytic) domain structure and classification [J]. *FASEB J*, 1995, 9(8): 576-596
- [10] Lindberg R A, Quinn A M, Hunter T. Dual-specificity protein kinases: will any hydroxyl do [J]. *Trends Biochem Sci*, 1992, 17(3): 114-119
- [11] Lawton M A, Yamamoto R T, Hanks S K, et al. Molecular cloning of plant transcripts encoding protein kinase homologs [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86(9): 3140-3144
- [12] Biermann B, Johnson E M, Feldman L J, et al. Characterization and distribution of a maize cDNA encoding a peptide similar to the catalytic region of second messenger dependent protein kinases [J]. *Plant Physiol*, 1990, 94: 1609-1615
- [13] Zhang S H, Broome M A, Lawton M A, et al. *atpkl*, a novel ribosomal protein kinase gene from *Arabidopsis* [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(26): 17593-17599
- [14] Harmon A C, Putnam-Evans C, Cormier M J. A calcium-dependent but calmodulin-independent protein kinase from soybean [J]. *Plant Physiol*, 1987, 83(4): 830-837
- [15] Watillon B, Kettmann R, Boxus P, et al. A calcium/calmodulin-binding serine/threonine protein kinase homologous to the mammalian type II calcium/calmodulin-dependent protein kinase is expressed in plant cells [J]. *Plant Physiol*, 1993, 101(4): 1381-1384

- [16] Hatwell J, Güll A, Nimmo G A, et al. Phosphoenolpyruvate carboxylase kinase is a novel protein kinase regulated at the level of expression [J]. *Plant J*, 1999, 20: 333-342
- [17] Ohta M, Guo Y, Halfter U, et al. A novel domain in the protein kinase SOS2 mediates interaction with the protein phosphatase 2C ABI2 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100 (20): 11771-11776
- [18] Alderson A, Sabelli P A, Dickinson J R, et al. Complementation of *snf1*, a mutation affecting global regulation of carbon metabolism in yeast, by a plant protein kinase cDNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88 (19): 8602-8605
- [19] John P, Sek F J, Lee M G, et al. A homolog of the cell cycle control protein p34cdc2 participates in the division cycle of *Chlamydomonas*, and a similar protein is detectable in higher plants and remote taxa [J]. *Plant Cell*, 1989, 1 (12): 1185-1193
- [20] Duerr B, Gawienowski M, Ropp T, et al. *MsERK1*: a mitogen-activated protein kinase from a flowering plant [J]. *Plant Cell*, 1993, 5 (1): 87-96
- [21] Wilson C, Eller N, Gartner A, et al. Isolation and characterization of a tobacco cDNA clone encoding a putative MAP kinase [J]. *Plant Mol Biol*, 1993, 23 (3): 543-551
- [22] Stafstrom J P, Altschuler M, Anderson D H. Molecular cloning and expression of a MAP kinase homologue from pea [J]. *Plant Mol Biol*, 1993, 22 (1): 83-90
- [23] Mizoguchi T, Hayashida N, Yamaguchi-Shinozaki K, et al. *ATMPKs*: a gene family of plant MAP kinases in *Arabidopsis thaliana* [J]. *FEBS*, 1993, 336 (3): 440-444
- [24] Jonak C, Hirt H. Glycogen synthetase kinase 3/SHAGGY-like kinases in plants: an emerging family with novel functions [J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7 (10): 457-461
- [25] Pay A, Jonak C, Bogre L, et al. The *MsK* family of alf protein kinase genes encodes homologues of shaggy/glycogen synthetase kinase-3 and shows differential expression patterns in plant organs and development [J]. *Plant J*, 1993, 3 (6): 847-856
- [26] Li J, Nam K H. Regulation of brassinosteroid signaling by a GSK3/SHAGGY-like kinase [J]. *Science*, 2002, 295 (5558): 1299-1301
- [27] Saidi Y, Hearn T J, Coates J C. Function and evolution of 'green' GSK3/Shaggy-like kinases [J]. *Trends Plant Sci*, 2012, 17 (1): 39-46
- [28] Pinna L A. protein kinase CK2 [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 1997, 29 (4): 551-554
- [29] Mizoguchi T, Yamaguchi S K, Hayashida N, et al. Cloning and characterization of two cDNAs encoding casein kinase II catalytic subunits in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 1993, 21 (2): 279-289
- [30] Collinge M A, Walker J C. Isolation of an *Arabidopsis thaliana* casein kinase II β subunit by complementation in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 25 (4): 649-658
- [31] Reiland S, Messerli G, Baerenfaller K, et al. Large-scale *Arabidopsis* phosphoproteome profiling reveals novel chloroplast kinase substrates and phosphorylation networks [J]. *Plant Physiol*, 2009, 150 (2): 889-903
- [32] Walker J C, Zhang R. Relationship of a putative receptor protein kinase from maize to the *S*-locus glycoproteins of *Brassica* [J]. *Nature*, 1990, 345 (6277): 743-746
- [33] Jakubowska A, Ostrowski M, Kowalczyk S. Plant receptor kinases [J]. *Postepy Biochem*, 2007, 53 (2): 133-142
- [34] Tang W, Deng Z, Wang Z Y. Proteomics shed light on the brassinosteroid signaling mechanisms [J]. *Curr Opin Biol*, 2010, 13 (1): 27-33
- [35] Li J, Chory J. A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction [J]. *Cell*, 1997, 90 (5): 929-938
- [36] Wang X, Li X, Meisenhelder J, et al. Autoregulation and homodimerization are involved in the activation of the plant steroid receptor BRI1 [J]. *Dev Cell*, 2005, 8 (6): 855-865
- [37] Hothorn M, Belkhadir Y, Dreux M, et al. Structural basis of steroid hormone perception by the receptor kinase BRI1 [J]. *Nature*, 2011, 474 (7352): 467-471
- [38] Kinoshita T, Cano D A, Seto H, et al. Binding of brassinosteroids to the extracellular domain of plant receptor kinase BRI1 [J]. *Nature*, 2005, 433 (7022): 167-171
- [39] Nam K H, Li J. BRI1/BAK1, a receptor kinase pair mediating brassinosteroid signaling [J]. *Cell*, 2002, 110 (2): 203-212
- [40] Wang X, Kota U, He K, et al. Sequential transphosphorylation of the BRI1/BAK1 receptor kinase complex impacts early events in brassinosteroid signaling [J]. *Dev Cell*, 2008, 15 (2): 220-235
- [41] Li J, Nam K H. Regulation of brassinosteroid signaling by a GSK3/SHAGGY-like kinase [J]. *Science*, 2002, 295 (5558): 1299-1301
- [42] Li J, Nam K H, Vafeados D, et al. BIN2, a new brassinosteroid-insensitive locus in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2001, 127 (1): 14-22
- [43] Wang Z, Nakano T, Gendron J, et al. Nuclear-localized BZR1 mediates brassinosteroid-induced growth and feedback suppression of brassinosteroid biosynthesis [J]. *Dev Cell*, 2002, 2 (4): 505-513
- [44] He J X, Gendron J M, Sun Y, et al. BZR1 is a transcriptional repressor with dual roles in brassinosteroid homeostasis and growth responses [J]. *Science*, 2005, 307 (5715): 1634-1638
- [45] He J X, Gendron J M, Yang Y, et al. The GSK3-like kinase BIN2 phosphorylates and destabilizes BZR1, a positive regulator of the brassinosteroid signaling pathway in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (15): 10185-10190
- [46] Yin Y, Wang Z Y, Mora-Garcia S, et al. *BES1* accumulates in the nucleus in response to brassinosteroids to regulate gene expression and promote stem elongation [J]. *Cell*, 2002, 109 (2): 181-191
- [47] Mora-García S, Vert G, Yin Y, et al. Nuclear protein phosphatases with Kelch-repeat domains modulate the response to brassinosteroids in *Arabidopsis* [J]. *Gene Dev*, 2004, 18 (4): 448-460
- [48] Tang W, Kim T W, Oses-Prieto J A, et al. *BSKs* mediate signal transduction from the receptor kinase BRI1 in *Arabidopsis* [J]. *Science*, 2008, 321 (5888): 557-560
- [49] Kim T W, Guan S, Sun Y, et al. Brassinosteroid signal transduction from cell-surface receptor kinases to nuclear transcription factors [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11 (10): 1254-1260
- [50] Clouse S D. Brassinosteroid signal transduction: from receptor kinase activation to transcriptional networks regulating plant development [J]. *Plant Cell*, 2011, 23 (4): 1219-1230
- [51] Yoshida R, Hobo T, Ichimura K, et al. ABA-activated SnRK2 protein kinase is required for dehydration stress signaling in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43 (12): 1473-1483
- [52] Mustilli A C, Merlot S, Vavasseur A, et al. *Arabidopsis* OST1 protein kinase mediates the regulation of stomatal aperture by abscisic acid and acts upstream of reactive oxygen species production [J]. *Plant Cell*, 2002, 14 (12): 3089-3099
- [53] Tim L, Joy E, Ruth R, et al. Finkelstein direct interactions of ABA-insensitive (*ABI*)-clade protein phosphatase (PP) 2Cs with calcium-dependent protein kinases and ABA response element-binding bZIPs may contribute to turning off ABA response [J]. *Plant Mol Biol*, 2012, 80 (6): 647-658
- [54] Xiong L, Yang Y. Disease resistance and abiotic stress tolerance in rice are inversely modulated by an abscisic acid-inducible mitogen-activated protein kinase [J]. *Plant Cell*, 2003, 15 (3): 745-759
- [55] Yoshida R, Hobo T, Ichimura K, et al. ABA-activated SnRK2 protein kinase is required for dehydration stress signaling in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43 (12): 1473-1483
- [56] Lee S C, Lan W, Buchanan B B, et al. A Protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling

- in plant guard cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106 (50): 21419-21424
- [57] Kovtun Y, Chiu W L, Zeng W, et al. Suppression of auxin signal transduction by a MAPK cascade in higher plants [J]. *Nature*, 1998, 395 (6703): 716-720
- [58] Rasmussen M W, Roux M, Petersen M, et al. MAP kinase cascades in *Arabidopsis* innate immunity [J]. *Front Plant Sci*, 2012, 3: 169
- [59] Ishida S, Yuasa T, Nakata M, et al. A tobacco calcium-dependent protein kinase, CDPK1, regulates the transcription factor repression of shoot growth in response to gibberellins [J]. *Plant Cell*, 2008, 20 (12): 3273-3288
- [60] Nakata M, Yuasa T, Takahashi Y, et al. CDPK1, a calcium-dependent protein kinase, regulates transcriptional activator RSG in response to gibberellins [J]. *Plant Signal Behav*, 2009, 4 (5): 372-374
- [61] Zhu J K, Liu J, Xiong L, et al. Genetic analysis of salt tolerance in *Arabidopsis*; evidence for a critical role of potassium nutrition [J]. *Plant Cell*, 1998, 10 (7): 1181-1192
- [62] Wu S J, Ding L, Zhu J K, et al. SOS1, a Genetic locus essential for salt tolerance and potassium acquisition [J]. *Plant Cell*, 1996, 8 (4): 617-627
- [63] Choi W, Baek D, Oh D H, et al. *NKSI*, Na^+ and K^+ sensitive 1, regulates ion homeostasis in an SOS-independent pathway in *Arabidopsis* [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72 (4-5): 330-336
- [64] Liu J, Zhu J K. An *Arabidopsis* mutant that requires increased calcium for potassium nutrition and salt tolerance [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94 (26): 14960-14964
- [65] Shi H, Ishitani M, Kim C, et al. The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative Na^+/H^+ antiporter [J]. *PNAS*, 2000, 97 (12): 6896-6901
- [66] Halfter U, Ishitani M, Zhu J K, et al. The *Arabidopsis* SOS2 protein kinase physically interacts with and is activated by the calcium-binding protein SOS3 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97 (7): 3735-3740
- [67] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants [J]. *Annu Rev Biol*, 2002, 53: 247-273
- [68] Ritika D, Girdhar K P. Expressional analysis and role of calcium regulated kinases in abiotic stress signaling [J]. *Curr Genomics*, 2010, 11 (1): 2-13
- [69] Lee S K, Kim B G, Kwon T R, et al. Overexpression of the mitogen-activated protein kinase gene *OsMAPK33* enhances sensitivity to salt stress in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *J Biosci*, 2011, 36 (1): 139-151
- [70] Franz S, Ehlert B, Liese A, et al. Calcium-dependent protein kinase CPK21 functions in abiotic stress response in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Mol Plant*, 2011, 4 (1): 83-96
- [71] Mao X, Zhang H, Tian S, et al. TaSnRK2. 4, an SNF1-type serine/threonine protein kinase of wheat (*Triticum aestivum* L.), confers enhanced multistress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62 (3): 1299-1311
- [72] Wang C, Jing R, Mao X, et al. TaABC1, a member of the activity of bc1 complex protein kinase family from common wheat, confers enhanced tolerance to abiotic stresses in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62 (3): 1299-1311
- [73] Zhang H, Mao X, Jing R, et al. Characterization of a common wheat (*Triticum aestivum* L.) *TaSnRK2. 7* gene involved in abiotic stress responses [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62 (3): 975-988
- [74] Kong X, Pan J, Zhang M, et al. ZmMKK4, a novel group C mitogen-activated protein kinase kinase in maize (*Zea mays*), confers salt and cold tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Environ*, 2011, 34 (8): 1291-1303
- [75] Chang W J, Su H S, Li W J, et al. Expression profiling of a novel calcium-dependent protein kinase gene, *LeCPK2*, from tomato (*Solanum lycopersicum*) under heat and pathogen-related hormones [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2009, 73 (11): 2427-2431
- [76] Shi J, An H L, Zhang L, et al. *GhMPK7*, a novel multiple stress-responsive cotton group C MAPK gene, has a role in broad spectrum disease resistance and plant development [J]. *Plant Mol Biol*, 2010, 74 (1-2): 1-17
- [77] Cho Y H, Hong J W, Kim E C, et al. Regulatory functions of *SnRK1* in stress-responsive gene expression and in plant growth and development [J]. *Plant Physiol*, 2012, 158: 1955-1964
- [78] Liu J Z, Horstman H D, Braun E, et al. Soybean homologs of *MPK4* negatively regulate defense responses and positively regulate growth and development [J]. *Plant Physiol*, 2011, 157 (3): 1363-1378
- [79] Roe J L, Rivin C J, Sessions R A, et al. The *Tousled* gene in *A. thaliana* encodes a protein kinase homolog that is required for leaf and flower development [J]. *Cell*, 1993, 75 (5): 939-950
- [80] Jaworski K, Pawelek A, Kopcewicz J, et al. The calcium-dependent protein kinase (PnCDPK1) is involved in *Pharbitis nil* flowering [J]. *J Plant Physiol*, 2012, 169 (16): 1578-1585
- [81] Wang X, Peng F, Li M, et al. Expression of a heterologous *SnRK1* in tomato increases carbon assimilation, nitrogen uptake and modifies fruit development [J]. *J Plant Physiol*, 2012, 169 (12): 1173-1182
- [82] Lu C A, Lin C C, Lee K W, et al. The SnRK1A protein kinase plays a key role in sugar signaling during germination and seedling growth of rice [J]. *Plant Cell*, 2007, 19: 2484-2499
- [83] Jain M, Pathak B P, Harmon A C, et al. Calcium dependent protein kinase (CDPK) expression during fruit development in cultivated peanut (*Arachis hypogaea*) under Ca^{2+} sufficient and deficient growth regimens [J]. *J Plant Physiol*, 2011, 168 (18): 2272-2277
- [84] Frattini M, Morello L, Breviaro D. Rice calcium-dependent protein kinase isoforms OsCDPK2 and OsCDPK11 show different responses to light and different expression patterns during seed development [J]. *Plant Mol Biol*, 1999, 41 (6): 753-764
- [85] Singh S, Parniske M. Activation of calcium- and calmodulin-dependent protein kinase (CCaMK), the central regulator of plant root endosymbiosis [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15 (4): 444-453
- [86] Chen T, Zhu H, Ke D, et al. A MAP kinase kinase interacts with *SymRK* and regulates nodule organogenesis in *Lotus japonicus* [J]. *Plant Cell*, 2012, 24 (2): 823-838
- [87] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 651-681
- [88] Saijo Y, Hata S, Kyoizuka J, et al. Over-expression of a single Ca^{2+} -dependent protein kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants [J]. *Plant J*, 2000, 23 (3): 319-327
- [89] Nam M H, Huh S M, Kim K M, et al. Comparative proteomic analysis of early salt stress-responsive proteins in roots of *SnRK2* transgenic rice [J]. *Proteome Sci*, 2012, 10: 25