

植物蛋白激酶介导的非生物胁迫和激素 信号转导途径的研究进展

赵书平¹,谈宏斌^{1,4},鹿丹^{1,3},裴丽丽²,崔喜艳³,马有志²,陈明²,徐兆师²,张小红¹

¹西北农林科技大学农学院/生命科学学院/旱区作物逆境生物学国家重点实验室,杨凌 712100;

²中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程/农业部麦类生物学与遗传育种重点实验室,北京 100081;

³吉林农业大学生命科学学院,长春 130118;⁴陕西省种业集团有限责任公司,西安 710003)

摘要:干旱、盐渍、低温和高温等非生物胁迫严重影响植物的生长发育和作物的产量。在长期的进化过程中,植物逐渐形成了对外部刺激快速感知和主动适应的能力,其中植物体内逆境信号的传递在植物快速感知外部刺激和主动适应非生物胁迫过程中起着非常重要的作用。蛋白激酶和蛋白磷酸酶催化的蛋白质磷酸化和去磷酸化是植物体内存在的最普遍且最重要的信号转导调节方式。其中,蛋白激酶的主要作用是将 ATP 或 GTP 上的 γ 磷酸基团转移到特定的底物蛋白上,使蛋白磷酸化,被磷酸化的蛋白发挥相应的生理功能。近年来,利用生物技术和基因工程等手段从细胞、分子水平上研究有关蛋白激酶的抗逆机理,通过基因沉默、基因过表达等策略提高植物的抗逆性成为国内外抗逆分子生物学与分子育种学研究的热点。本文主要对植物蛋白激酶在介导非生物胁迫和激素信号通路中的作用进行综述,为进一步研究植物蛋白激酶功能提供有价值的信息。

关键词:植物;蛋白激酶;非生物胁迫;激素;蛋白磷酸化;信号传递

Research Progress of Plant Protein Kinase Mediated Abiotic Stress and Hormone Signal Transduction Pathway

ZHAO Shu-ping¹, TAN Hong-bin^{1,4}, LU Dan^{1,3}, PEI Li-li², CUI Xi-yan³,

MA You-zhi², CHEN Ming², XU Zhao-shi², ZHANG Xiao-hong¹

¹College of Agronomy/College of Life Sciences, Northwest Agriculture and Forestry University/State Key Laboratory of Crop Stress

Biology for Arid Areas, Yangling, Shaanxi 712100; ²Institute of Crop Science, 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; ³College of Life Sciences, Jilin Agricultural

University, Changchun 130118; ⁴Shaanxi Provincial Seed Industry Group Co., Ltd., Xi'an 710003)

Abstract: Abiotic stresses, such as drought, high salt, and low temperature, have a strong impact on crop growth and development and yield production. Plants gradually formed special capacity to rapidly perceive and adapt to external stimuli in the long-term evolution process, in which plant protein kinases play very important roles. Protein kinase and protein phosphatase catalyzing phosphorylation and dephosphorylation are ones of the most common and most important ways in signal transduction regulation in plants. And, the main effect of protein kinase is phosphorylating proteins by transferring γ -groups from ATP or GTP to a specific substrate protein, and then phosphorylated proteins play the corresponding physiological function. In recent years, research on mechanism of protein kinases by using bio-

收稿日期:2016-04-06 修回日期:2016-05-12 网络出版日期:2017-02-17

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170217.1408.020.html>

基金项目:国家转基因生物新品种培育科技重大专项(2014ZX0800203B);陕西省科技计划项目(2014KTZB02-01-01)

第一作者主要从事作物分子生物学研究。E-mail: zhaoshuping001@163.com

通信作者:张小红,主要从事植物细胞工程育种及遗传改良研究。E-mail: zhxh2493@126.com

徐兆师,主要从事植物抗逆分子生物学的研究。E-mail: xuzhaoshi@caas.cn

technology and genetic engineering resistance of plants via silencing or over-expressing genes has become a hot spot in molecular biology and molecular breeding. This article mainly summarizes the role of plant protein kinases in mediating abiotic stress and hormones, and will provide useful information for further research on plant protein kinase.

Key words: plant; protein kinase; abiotic stress; protein phosphorylation; signal transduction

自 M. A. Lawton 等^[1]从四季豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 中成功克隆出第一个植物蛋白激酶 PVPK-1 以来,植物蛋白激酶的研究开始受到关注。随后 P. C. Ferreira 等^[2]在拟南芥中发现了第一个相似周期蛋白依赖性蛋白激酶 P34^{cdc2},且被证实植物细胞的有丝分裂过程中起着重要作用。J. C. Walker 等^[3]从玉米中成功克隆到一个具有 S-结构域的一类受体蛋白激酶 ZmPK1,也是第一个被发现的植物类受体蛋白激酶。近年来,植物蛋白激酶已成为植物抗逆分子生物学的研究热点之一。植物蛋白激酶被发现存在于几乎所有植物和植物的各个器官中,其在植物信号转导途径中发挥的作用也渐渐被解析,几乎参与了植物所有的生长发育、新陈代谢过程,包括植物抗逆反应、植物形态发生等生理生化反应。例如,过表达蛋白激酶基因 *OsMAPK33* 可显著提高水稻对于盐胁迫的敏感性^[4],过表达富亮氨酸的类受体蛋白激酶可提高拟南芥的水分利用效率^[5]。本文总结了与非生物胁迫相关蛋白激酶的最新研究进展,为进一步解析植物抗逆分子机制提供有价值的信息。

1 植物蛋白激酶的结构

植物蛋白激酶的结构一般是由催化结构域、调节结构域和其他结构域构成。催化结构域是由 250~300 个氨基酸残基构成,根据催化结构域中氨基酸序列同源性可分为 12 个功能亚区^[6],氨基酸序列高度保守,折叠起来形成蛋白激酶的核心结构域^[7-8]。催化结构域中某些功能亚区含有保守的氨基酸序列,例如 I 亚区包含 GxGxxGxV 保守序列,VIb 亚区包含 HRDxKxxN 保守序列,VIII 亚区包含 GTxxYxAPE 保守序列(图 1A)。通过拟南芥类受体蛋白激酶家族中部分成员 (*AtCRK2*、*AtCRK3*、*AtRLK4*、*AtCRK19* 以及 *AtCRK40*) 的氨基酸序列比对发现,它们均含有典型的蛋白激酶催化结构中的保守亚区(图 1B)。其中,VI、VIII、IX 亚区保守序列的差异可区分不同类型的蛋白激酶,如植物 Ser/Thr 蛋白激酶和动物 Ser/Thr 蛋白激酶的主要区别在于 VI、VIII、IX 亚区的保守序列的不同^[9],而植物 Ser/Thr 蛋白激酶和植物 Tyr 蛋白激酶的差异主要集中在 VI 亚区^[10]。当植物蛋白激酶没有活性时,其全酶由催化

结构域的催化亚基和调节结构域的调节亚基共同构成四聚体结构。当植物体内的调节因子与调节结构域结合后植物蛋白激酶被激活,通过把催化亚基暴露或游离出来磷酸化特定的蛋白底物,游离的催化亚基还可进入细胞核内介导相关基因的转录表达^[11]。

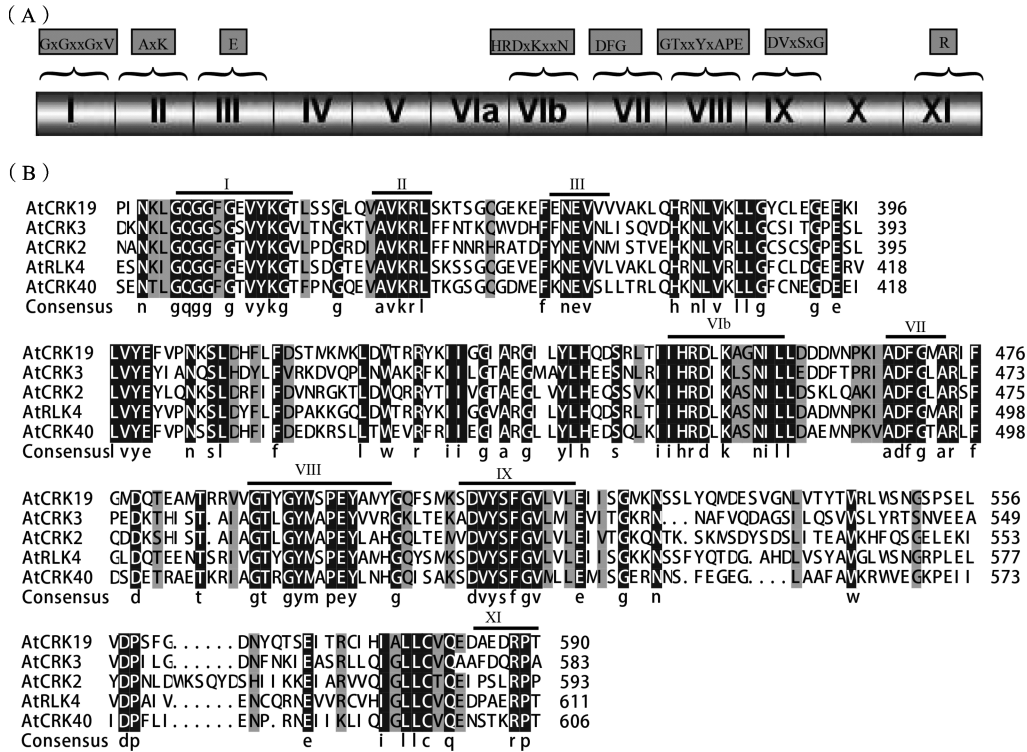
2 植物蛋白激酶的分类

在植物中,蛋白激酶的种类和数量很多,它们的结构和功能各不相同。S. K. Hanks 等^[12]根据蛋白激酶催化结构域序列的差异采用进化树分析的方法将植物蛋白激酶分为 5 个类别:(1) AGC 类蛋白激酶:包括蛋白激酶 A (PKA)、蛋白激酶 G (PKG)、蛋白激酶 C (PKC) 和核糖体 S6 激酶家族;(2) CaMK 类蛋白激酶:包括钙/钙调蛋白激酶 (CDPK) 和 SNF1/AMP 相关蛋白激酶 (SnRK) 家族;(3) CMGC 类蛋白激酶:包括 CDK 蛋白激酶、MAPK 蛋白激酶、GSK-3 蛋白激酶和 CKII 蛋白激酶家族;(4) 酪氨酸蛋白激酶 (PTK):分为膜受体型和非受体型两种;(5) 其他蛋白激酶:将其他未划为上面 4 种的蛋白激酶家族归属该类。但是根据植物蛋白激酶特异底物蛋白被磷酸化的氨基酸残基种类的不同,又将其分为其他 5 个类别,即酪氨酸蛋白激酶、组氨酸蛋白激酶、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、色氨酸蛋白激酶和天冬酰胺基/谷氨酰胺基蛋白激酶。对蛋白激酶进行分类有助于了解其生物功能及特性。

3 植物蛋白激酶介导旱盐胁迫信号通路

3.1 植物蛋白激酶在改良植物抗逆性方面的作用

干旱胁迫下,植物叶片水分较少会抑制叶片伸展,使得叶片萎蔫,气孔关闭,CO₂ 摄取量减少,光合速率降低。盐胁迫下,细胞内渗透势变化,细胞膜系统可能遭到破坏,脯氨酸及甜菜碱等渗透调节物质含量升高,以此来对抗外界环境的变化。此外,与旱盐胁迫相关的生理指标还包括植物叶片相对含水量、作物水分利用效率、净光合速率、叶绿素含量、脯氨酸含量、丙二醛含量、可溶性糖、可溶性蛋白、导电率、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 等。



(A) 典型的植物蛋白催化结构域; (B) 拟南芥蛋白激酶氨基酸序列比对

(A) Typical plant protein kinase catalytic domain, (B) The conservative sequences of *Arabidopsis* Heynh. protein kinases

图 1 植物蛋白激酶结构域

Fig. 1 Typical plant protein kinase catalytic domain

在早盐胁迫下,蛋白激酶能够通过调节气孔关闭或者渗透调节物质的积累以及其他逆境生理指标的变化来应对外界环境,从而在早盐胁迫中发挥作用。小麦蛋白激酶 PI4K 能显著提高转基因拟南芥的抗旱性和耐盐性,发现该基因提高植物的抗逆性依赖于油菜素内酯 (BR) [13]。在盐胁迫条件下,细胞膜结构会遭到破坏,从而导致质膜半透性的改变。水稻 *OsRPK1* 和拟南芥 *AtRPK1* 属于同源基因,在盐胁迫处理下具有相同的功能。通过过表达 *OsRPK1* 和 *AtRPK1* 以及对它们进行干扰发现干扰的水稻和拟南芥植株抗盐能力均增强,而过表达植株由于细胞膜通透性增加,导致外界 Na^+ 流入细胞,对细胞造成较大伤害,导致抗盐性降低 [14]。水稻 *OSGIRL1* 基因是经 γ 射线诱导表达量比较高的基因,实时荧光定量结果表明该基因在多种非生物胁迫下均有表达,干旱胁迫下过表达植株与野生型相比主根长有显著差异 [15]。过表达植株与 T-DNA 插入突变体的研究发现, *PHR1* 在拟南芥中能够增强磷酸盐的吸收 [16]。AKT1 蛋白激酶是 AKT1、AKT2 和 AKT3 三种同源性较高的 AKT Ser/Thr 蛋白激酶的总称。双子叶盐生植物盐角草 *SeAKT1* 基因编码一个 Na^+ 不敏感性钾通道蛋白,并具有双亲性钾吸收能力,能够

在体内调节细胞内钠钾离子浓度,通过调节 K^+/Na^+ 的吸收来影响植物对盐环境的适应性,研究表明在胁迫条件下,转基因拟南芥根部和冠中 K^+/Na^+ 比野生型要高 [17]。在拟南芥中, CIPK32 能够与 CBL1/CBL9 互作,并且 CIPK32 能够直接磷酸化 K^+ 转运体 AKT1, CBL1/9-CIPK23 模型能够激活 AKT1 蛋白激酶,促进植物在低 K^+ 情况下对钾离子的吸收 [18]。这些研究结果说明蛋白激酶在植物抗逆响应中发挥着重要的作用,为培育抗逆优良的品种提供了新的思路。

3.2 植物蛋白激酶介导早盐胁迫相关的主要信号通路

植物应对早盐逆境胁迫的信号通路主要包括盐过敏感 (SOS, salt overly sensitive) 信号通路、钙依赖蛋白激酶 (CDPK) 和促分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 级联信号通路等。以下针对这 3 种信号通路分别展开讨论。

3.2.1 植物蛋白激酶介导的 SOS 信号通路

SOS 信号通路是指在植物面临外界高盐浓度时启动的信号通路,通过细胞质膜的 Na^+ 和 K^+ 受体将细胞内高浓度的 Na^+ 排出,维持细胞内 K^+/Na^+ 平衡,减轻外界高盐环境对植物体造成的损害。S. J. Wu 等 [19] 对于 SOS 信号途径的研究开始于拟南芥突变体

sos1-1/-2/-3/-4,这4个突变体均为隐性等位突变,通过根长、愈伤组织耐盐性以及各发育阶段盐胁迫试验,发现在NaCl处理下*sos1-1*突变体对Na⁺更敏感,缺乏对K⁺的吸收,在包含低浓度K⁺的培养基上不能生长。拟南芥耐盐基因*SOS1*编码一个Na⁺/H⁺逆向转运蛋白,该蛋白C端包含一个疏水结构域,N端包含12个跨膜结构域,序列分析表明,*SOS1*蛋白的跨膜结构域与细菌和真菌Na⁺/H⁺逆向转运蛋白序列相似,进一步研究表明在NaCl处理胁迫下,*SOS1*基因的表达量上调,但是在*sos2/3*突变体中这种上调作用不明显,说明*SOS1*基因发挥作用依赖于*SOS2/3*信号途径的调控^[20]。通过对*sos1*突变体的研究和对盐超敏感植株表型及突变位点分析,J. K. Zhu等^[21]发现不同于*sos1*突变体位点的植株,命名为*sos2*突变体,第3个不同位点突变的命名为*sos3*突变体。双突变分析表明,*SOS1/2/3*可能处于同一信号通路,*sos1*、*sos2*、*sos3*突变体可能与组织内K⁺含量相关,但是与组织内Na⁺含量无关,由此得出拟南芥耐盐机制模型,即*SOS1*、*SOS2*、*SOS3*通过编码调控组织细胞内K⁺浓度的蛋白来发挥耐盐性。Y. Guo等^[22]研究表明,*SOS2*和*SOS3*能够发生相互作用,而*SOS3*结合的基序位于*SOS2*激酶抑制区域,去掉*SOS2*包含*SOS3*结合基序的调控区域,发现*SOS2*蛋白激酶被激活,这说明*SOS3*结合基序可能对*SOS2*蛋白激酶活性起到抑制作用。通过分析耐盐蛋白激酶*SOS2*的生物学特性,D. Gong等^[23]发现Thr-168突变为Asp或Ser-156和Tyr-175突变为Asp时,*SOS2*蛋白激酶可以被激活。

在*SOS*信号途径中,CBLs作为感受器接受Ca²⁺信号变化,通过与CIPKs相互作用形成复合体,被激活的CIPKs通过级联放大将信号传递到细胞膜和液泡膜上的Na⁺/H⁺转运体*SOS1*和*NHX*,进而调控细胞内Na⁺含量。在拟南芥中,*CBL10*在调控盐信号途径中发挥重要作用,*cbl10*突变体在正常条件和盐处理条件下,Na⁺含量均显著低于野生型,这说明*CBL10*通过介导Ca²⁺在盐胁迫中发挥作用,进一步研究证明*CBL10*可以与CIPK24(*SOS2*)互作,这可能是一条新的耐盐途径^[24]。由于CIPK24(*SOS2*)能够与CBL4(*SOS3*)互作来调控质膜Na⁺输出,因此B. G. Kim等^[24]推断CIPK24(*SOS2*)蛋白激酶能够通过不同的CBL钙传感器相互作用来调控耐盐信号通路。在白杨中,过表达白杨*PtSOS2*基因植株在NaCl处理下比野生型生物量大^[25]。*SOS*信号通路作为植物体内离子平衡和渗透平衡重

要的作用机制渐渐被解析,但仍有大量与*SOS*相关的基因有待被挖掘。

3.2.2 植物蛋白激酶介导的CDPK相关信号通路

CDPK是一种丝氨酸/苏氨酸特性的蛋白激酶,空间结构包括一个钙调素类似的结构域,因此它的活性能够直接被钙离子激活,而不依赖于钙调素。CDPK蛋白激酶家族在植物的生长发育以及植物的生物和非生物胁迫响应中均发挥着重要的作用。特别是一些CDPK成员还是植物在非生物响应过程中必不可少的元件。

在拟南芥中,*AtCDPK1*和*AtCDPK2*在盐胁迫和干旱胁迫下mRNA表达量迅速上升,而用外源激素ABA处理后对*AtCDPK1*和*AtCDPK2*的表达量没有影响^[26]。*AtCPK6*属于能够被盐诱导表达的一类CDPK家族成员,过表达*AtCPK6*的拟南芥植株在早盐胁迫下表现出更好的抗性,实时荧光定量结果也表明在*AtCPK6*过表达植株中与胁迫相关基因*RD29A*、*RD29B*和*RD22*的表达量发生变化^[27]。水稻中有29个CDPK家族成员,但是他们之间是否存在功能冗余尚不清楚。T. Asano等^[28]利用小cDNA创建出250个独立的转基因水稻,发现在盐胁迫条件下转*OsCPK21*株系比野生型生长健壮,转*OsCPK12*基因水稻能够提高植株耐盐性,研究表明在转基因株系中积累的H₂O₂比野生型中要少,通过研究突变体和利用RNAi技术证明*OsCPK12*能够通过减少ROS的积累提高耐盐性^[29]。除此之外,在冰叶菊、烟草和野葡萄等物种中也发现了很多CDPK的家族成员参与到了植物早盐胁迫响应中(表1)。在冰叶菊中,*McCDPK1*基因通过磷酸化在早盐胁迫中起调节作用的2个蛋白而发挥作用^[31]。同样,*NtCDPK1*和*NtCDPK2*分别调控烟草的盐胁迫响应和渗透胁迫响应^[32-33]。而在野生葡萄中,*VaCPK20*参与了葡萄干旱响应过程^[35]。综上所述,可见CDPK蛋白激酶家族在植物响应早盐等非生物胁迫中起着至关重要的作用。

3.2.3 植物蛋白激酶介导的MAPK级联信号通路

MAPK是一类丝氨酸/苏氨酸激酶,主要以磷酸化作用将信号逐级放大,最后引起相应的生物学效应。MAPK蛋白激酶介导了多种与生物和非生物胁迫相关的信号通路,其在植物的生长发育中起着重要的作用。MAPK蛋白激酶从细胞受到外界刺激到细胞做出生理响应过程中形成了三级激酶模式(MAPK/MAPKK/MAPKKK)(图2)。通常情况下,MAPKs的激活依赖于MAPKKs蛋白激酶TXY基序

表1 不同植物物种中参与旱盐胁迫响应的一些 CDPK 家族成员

Table 1 Some members of CDPKs in different plant species involving drought and salt stresses

基因或蛋白 Gene/Protein	物种 Species	相关胁迫响应 Related stress response	参考文献 Literature
AtCDPK1/ AtCDPK2/ AtCPK10/ AtCPK11	<i>Arabidopsis</i> Heynh.	drought and salt stress	[30]
McCDPK1	<i>Mesembryanthemum</i> crystallinum L.	drought and salt stress	[31]
NtCDPK1	Tobacco	salt stress	[32]
NtCDPK2	Tobacco	osmotic stress	[33]
OsCPK7	Rice	salt stress	[34]
VaCPK20	Wild grapevine	drought stress	[35]
AtCPK27	<i>Arabidopsis</i> Heynh.	salt stress	[36]
OsCPK9	Rice	drought stress	[37]

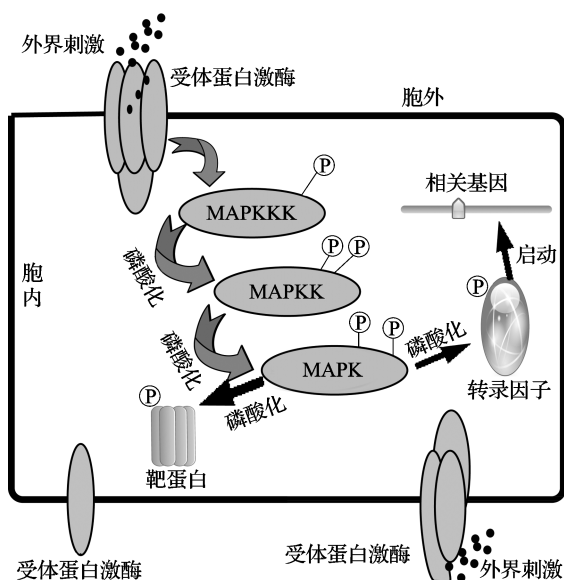


图2 MAPK 信号通路三级激酶模式简图

Fig. 2 Three kinase models in MAPK signal pathway

对 MAPKs 的二次磷酸化,但是 *AtMPK9* 是个特例,这类 MAPK 家族成员的特点是缺乏 MAPKK 结合序列。研究证明,*AtMPK9* 的激活不依赖于上游 MAPKKs 蛋白激酶,而是依靠自磷酸化作用^[38]。据报道,部分 MAPK 基因与植物的干旱和盐胁迫响应有一定的联系。

在拟南芥中,*AtCPK3* 能够激活 *MPK4* 和 *MPK6* 在盐胁迫中的响应^[39]。*AGBI* 通过与蛋白激酶 *AtMPK6* 互作影响和调节 ABA 信号通路,而 *AGBI* 又

通过参与 ABA 信号通路,降低 *AtMPK6* 的表达量,提高抗旱性^[40]。同样,转 *OsMCK6* 基因的水稻幼苗在 200 mmol/L NaCl 中根长和植株重量增加,而叶片中叶绿素含量减少,并且相对于野生型来说表现出更高的 MAPK 激酶活性^[41]。拟南芥 SiMKK 和 SiMK 复合体在正常情况下存在于细胞质和细胞核中,过表达苜蓿双特异性蛋白激酶基因 *SiMKK*,发现在盐胁迫下有相当一部复合体迁移到细胞质中,这种核质穿梭可以对 pTEpY 基序的磷酸化有帮助,同时,利用 YFP 黄色荧光蛋白发现在盐胁迫下转基因拟南芥中 *MPK3* 和 *MPK6* 的活性增强,在幼苗时期表现出更强的耐盐性^[42]。这些研究结果表明,多种 MAPK 蛋白激酶参与了不同植物物种生长发育的过程并且提高了植物对于外界环境刺激的抗性。这为育种工作者通过转基因育种提高小麦、水稻和大豆等作物的抗旱、耐盐等抗性提供了重要的理论依据。

4 植物蛋白激酶介导的激素信号通路

干旱、高盐、高温和低温等非生物胁迫严重影响作物的生长发育和产量^[43]。油菜素内酯、生长素和脱落酸等植物激素在作物响应外界刺激的过程中发挥着至关重要的作用,而植物蛋白激酶在各激素信号通路中通过磷酸化/去磷酸化的方式影响激素信号的传递。特别是油菜素内酯信号通路和 ABA 信号通路在植物调控自身生长发育和响应外界生物、非生物胁迫过程中发挥着重要作用。本文着重介绍植物蛋白激酶在油菜素内酯信号通路和 ABA 信号通路中的重要作用。

4.1 植物蛋白激酶介导的油菜素内酯信号通路

油菜素内酯(BR)是继生长素、细胞分裂素、赤霉素、脱落酸和乙烯之后的第六大植物激素^[44]。在体内,油菜素内酯可以促进作物生长,提高作物的抗逆性。油菜素内酯信号近些年的研究比较多,其信号感知过程为:首先被膜上的 BRI1 膜受体感知,BRI1 的胞外区可以结合 BR 信号,BRI1 将 BKI1 从细胞膜解离到细胞质中,BAK1 与 BRI1 结合,从而通过磷酸化激活下游 BSKs 蛋白激酶,最终将信号传递到下游转录因子 BES1/BZR1 引起一系列生物学效应。

BRI1 是位于细胞膜上的受体蛋白激酶,研究发现用油菜素内酯处理拟南芥幼苗能够引发 BRI1 的自磷酸化作用。J. M. Li 等^[44]采用 EMS 诱变得得到 18 株对外源油菜素内酯不敏感的矮小植株,这 18

个突变体为 *BRI1* 的等位基因突变体, *BRI1* 基因编码的蛋白激酶包含 25 个 LRR 重复序列^[45], 属于 Ser/Thr 蛋白激酶。随后, 关于 BR 信号通路的研究迅速发展。Z. Y. Wang 等^[45] 通过结合实验证明 *BRI1* 作为受体蛋白激酶通过细胞膜将外界信号传递到细胞内。*BAK1* 被确定为参与 BR 信号通路是因为 *BAK1* 突变体呈现出与 BR 合成缺乏突变体相似的主要表型, 而过表达 *BAK1* 能够促进器官的伸长, 除此之外, *BAK1* 作为一类 Ser/Thr 蛋白激酶能够与 *BRI1* 在体内和体外均有互作^[46]。在植物体内 *BRI1* 与 *BAK1* 形成异源二聚体, 通过磷酸化和相互磷酸化发挥作用。通常情况下, *BRI1* 的功能处于抑制状态, *BKI1* 能与 *BRI1* 结合抑制 *BRI1* 的磷酸化活性^[47]。解除抑制作用后, *BRI1* 能够磷酸化 *BSK1* 或者 *CDG1*^[48], *BSK1* 磷酸化激活 *BSU1*, 活化的 *BSU1* 将 BR 信号的负向调节因子 *BIN2* 去磷酸化, 使其失活, 失活的 *BIN2* 无法磷酸化 *BES1*^[49], 去磷酸化状态的 *BES1* 具有转录活性或直接调控下游 BR 靶基因的表达, 或与其他蛋白相互作用共同调控下游基因的表达, 从而将 BR 信号传递下去, 最终引起生物学效应。

BIN2 是 GSK 类蛋白激酶, 在 BR 信号途径中属于负向调控 BR 信号通路的蛋白激酶, 它能够磷酸化 *BES1* 使其失活, 而 *MYBL2* 被磷酸化后处于稳定状态, 在植物体内 *BES1* 和 *MYBL2* 这种磷酸化状态

的平衡取决于 BR 信号的强弱^[49]。BR 信号强时, *BIN2* 磷酸化 *MYBL2*, 而去磷酸化的 *BES1* 具有转录活性, 从而影响植物生长。*BES1* 在 BR 浓度高时会在细胞核中富集, 通过与一个含有 bHLH 结构的蛋白 *BIM1* 相互作用结合到下游基因启动子的 E-box (CANNTG) 上, 进而调控下游基因的表达^[50]。

BES1 突变体 *bes1-D* 是从 EMS 诱变处理 *bri1-119* 突变体中挑选出来的具有 BR 不敏感表型的植株^[51]。过表达 *BES1* 基因能够促进茎的伸长, 经过 BR 处理后, *BES1* 在细胞核中的定位信号逐渐增强^[52], 说明 *BES1* 基因的表达量在有 BR 存在时提高。在拟南芥中, *BES1* 家族成员总共有 6 个, 分别是 *bri1-Ethylmethane Sulphonate suppressor 1* (*BES1*)、BR biosynthesis inhibitor brassinazole 1 (*BZR1*) 和 *BZR1* homolog protein 1-4 (*BEH1-4*), 它们的同源性比较高, 在拟南芥中有一定的功能冗余^[50, 52-53]。*BES1* 家族成员是 BR 信号输出的转录因子, 外界信号通过体内一系列磷酸化最终传递到细胞核内发挥作用^[54]。

由此可见, 在油菜素内酯信号通路中除包含许多转录因子的参与之外, 还有众多蛋白激酶的参与, 这些蛋白激酶通过磷酸化和去磷酸化调控作用影响 BR 信号的传递, 并最终引发一系列的效应, 如细胞伸长、细胞分裂、开花、衰老、光形态建成等多种生长发育过程。

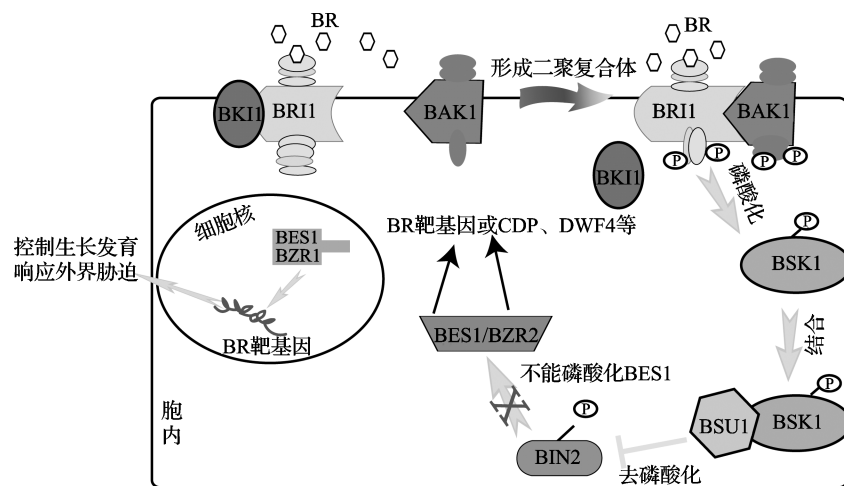


图 3 BR 信号通路简图

Fig. 3 Simplified figure of BR signaling pathway

4.2 植物蛋白激酶介导的 ABA 信号通路

脱落酸 (ABA) 是一种重要的植物激素, 它能够调控种子萌发、根系发育等重要生理活动。在植物遇到外界胁迫时, 体内 ABA 的含量增加, 进而导致

气孔关闭, 从而在一定程度上减少叶片的呼吸作用和蒸腾作用, 减少水分流失。在植物体内, ABA 信号受体分为细胞表面受体和细胞内受体。关于 ABA 受体的研究目前仍存在一定争议。其中 ABAR

是位于叶绿体被膜上的跨膜 ABA 受体蛋白质,其分子的 N-端是结合 ABA 和介导 ABA 信号的核心区,ABAR 的 C-端通过与 WRKY40 转录因子互作调控下游基因 *ABI5* 的表达量^[55]。最近研究表明,调控 ABA 信号的蛋白激酶具有很高的自我激活能力^[56]。在 ABA 信号途径中包含 3 种自激活性比较强的蛋白激酶 SnRK2. 2/2. 3/2. 6。在没有 ABA 的情况下,SnRK2s 蛋白形成复合体不发挥作用;一旦被未知途径激活,SnRK2 即可发挥作用。被激活的 SnRK2 可以调控离子通道相关基因 *SLAC1*、一些膜蛋白、ABA 响应相关的基因以及其他一些转录因子^[57](图 4)。

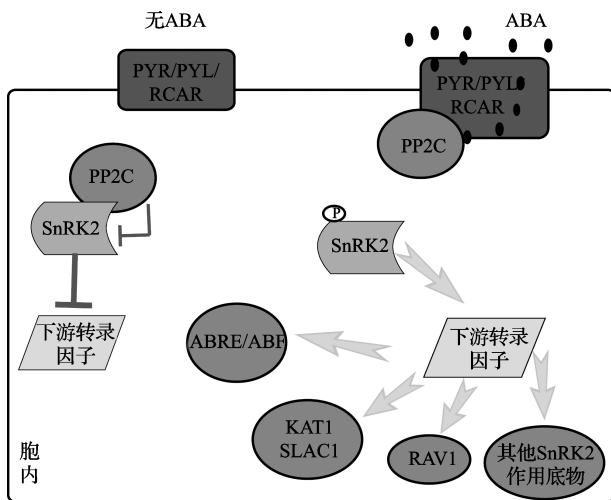


图 4 ABA 信号通路简图

Fig. 4 Network structure of ABA signaling pathway

在 ABA 信号通路中亮氨酸拉链转录因子脱落酸不敏感 5 (*ABI5*) 在种子萌发过程中起重要作用。M. Dai 等^[58]研究发现, Ser/Thr 蛋白磷酸酶 6 (PP6) 的催化亚基的同源基因 *FyPP1* 和 *FyPP3* 突变体能引发拟南芥脱落酸 (ABA) 过敏型, PP6 通过去磷酸化作用调节 *ABI5* 的稳定性, 从而调控 ABA 信号通路。

植物在逆境胁迫下, 油菜素内酯信号和 ABA 信号有一定的信号交叉。研究表明, 植物叶片气孔的关闭与 ABA 和 BR 均有关系^[59-60]。通过研究 BR 合成突变体 *det2-1* 和 BR 不敏感突变体 *bri1-1* 在萌发期对 ABA 的响应, 认为 *det2-1* 和 *bri1-1* 的萌发被 ABA 抑制^[61]。同时, ABA 信号途径和 GA 信号也存在一定的交叉, 在高温条件下, *ABI3* 和 *ABI5* 与 GA 负性调控因子 DELLAs 形成复合体结合在高温诱导基因的启动子区调节种子萌发^[62]。

由此可见, 蛋白激酶参与体内很多信号途径, 各

种信号途径之间交叉成网状。植物通过蛋白相互磷酸化或者自磷酸化来调整其在体内的活性, 进而在逆境环境下更好的生存。

5 植物蛋白激酶的研究展望

植物在进化过程中形成了响应逆境胁迫的多种机制, 包括维持离子平衡与渗透调节、调控抗氧化防御系统等。植物蛋白激酶种类繁多、数量庞大, 并且在植物的生长发育、生物和非生物胁迫、信号转导等过程中均发挥着重要作用。关于蛋白激酶的功能及其作用机制的研究已成为植物分子生物学等领域的研究热点。通过研究植物蛋白激酶的结构、功能以及其作用的分子机制可以为今后阐明植物间错综复杂的信号转导途径提供理论支撑, 同时在转基因作物的培育中具有重要的意义。

迄今, 研究人员已经从植物中克隆出了大量的编码植物蛋白激酶的基因, 它们介导了植物激素和胞外环境信号等引起的多种生理生化反应, 人们对于蛋白激酶的认识仅局限在其结构和其参与的非生物胁迫和激素响应方面, 对蛋白激酶抗性机理的研究还不够完善。ABA 和 MAPK 级联均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, 对二者之间的复杂关系还需要深入的研究^[63]。其他比如蛋白激酶之间的相互作用、蛋白激酶调控基因表达的分子机制等研究同样还不够深入, 这也将是未来研究植物蛋白激酶的重要方向。植物在长期的进化过程中已经形成了一套相当完善的体系来适应周围各种不良的环境刺激, 同一刺激可引发多条信号通路的交叉作用, 同样同一蛋白激酶在不同的信号通路中均可发挥着重要的作用。解析蛋白激酶在信号通路中的作用机制有助于挖掘更有价值的抗逆相关基因, 同时有利于抗逆作物新品种的培育。

参考文献

- [1] 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
- [2] Ferreira P C, Hemery A S, Villarroel R, et al. The Arabidopsis functional homolog of the p34cdc2 protein kinase [J]. Plant Cell, 1991, 3(5): 531-540
- [3] Walker J C. Structure and function of the receptor-like protein kinases of higher plants [J]. Plant Mol Biol, 1994, 26: 1599-1609
- [4] 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
- [5] Xing H T, Guo P, Xia X L, et al. PdERECTA, a leucine-rich

- repeat-like kinase of polar, confers enhanced water use efficiency in *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2011, 234: 229-241
- [6] Wu C W, Chi C W, Lin W C. Gastric cancer: prognostic and diagnostic advances [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2002, 4(6): 1-12
- [7] 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]. *Methenzymol*, 1991, 200: 38-62
- [8] Endicott J A, Noble M E, Johnson L N. The structural basis for control of eukaryotic protein kinases [J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 587-613
- [9] 裴丽丽, 郭玉华, 徐兆师, 等. 植物逆境胁迫相关蛋白激酶的研究进展 [J]. *西北植物学报*, 2012, 30(5): 1052-1061
- [10] 蔡冲, 吕均良, 陈昆松. 蛋白激酶的研究 (综述) [J]. *亚热带植物科学*, 2002, 31(1): 63-67
- [11] 张春宝, 赵丽梅, 赵洪锬, 等. 植物蛋白激酶研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2011(10): 17-23
- [12] Hanks S K, Hunter T. Protein kinases 6. The eukaryotic protein kinase superfamily: kinase (catalytic) domain structure and classification [J]. *FASEB J*, 1995, 9: 576-596
- [13] Liu P, Xu Z S, Lu P, et al. A wheat *PI4K* gene whose product possesses threonine autophosphorylation activity confers tolerance to drought and salt in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2013, 64(10): 2915-2927
- [14] Shi C C, Feng C C, Yang M M, et al. Overexpression of the receptor-like protein kinase genes *AtRPKI* and *OsRPKI* reduces the salt tolerance of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Sci*, 2014, 217-218: 63-70
- [15] Park S, Moon J C, Park Y C, et al. Molecular dissection of the response of a rice leucine-rich repeat receptor-like kinase (LRR-RLK) gene to abiotic stresses [J]. *J Plant Physiol*, 2014, 171: 1645-1653
- [16] Nilsson L, Muller R, Nielsen T H. Increased expression of the MYB-related transcription factor, *PHR1*, leads to enhanced phosphate uptake in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Environ*, 2007, 30: 1499-1512
- [17] 商玲. 盐角草钾离子通道蛋白基因 *SeAKT1* 的克隆与表达 [D]. 大连: 大连理工大学, 2013
- [18] Xu J, Li H D, Chen L Q, et al. A protein kinase, interacting with two calcineurin B-like proteins, regulates K^+ transporter *AKT1* in *Arabidopsis* [J]. *Cell*, 2006, 125(7): 1347-1360
- [19] Wu S J, Ding L, Zhu J K. *SOS1*, a Genetic locus essential for salt tolerance and potassium acquisition [J]. *Plant Cell*, 1996, 8(4): 617-627
- [20] Shi H, Ishitani M, Kim C, et al. The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative Na^+/H^+ antiporter [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(12): 6896-6901
- [21] Zhu J K, Liu J, Xiong L. Genetic analysis of salt tolerance in *Arabidopsis*. Evidence for a critical role of potassium nutrition [J]. *Plant Cell*, 1998, 10(7): 1181-1191
- [22] Guo Y, Halfter U, Ishitani M, et al. Molecular characterization of functional domains in the protein kinase *SOS2* that is required for plant salt tolerance [J]. *Plant Cell*, 2001, 13(6): 1383-1400
- [23] Gong D, Guo Y, Jagendorf A T, et al. Biochemical characterization of the *Arabidopsis* protein kinase *SOS2* that functions in salt tolerance [J]. *Plant Physiol*, 2002, 130(1): 256-264
- [24] Kim B G, Waadt R, Cheong Y H, et al. The calcium sensor *CBL10* mediates salt tolerance by regulating ion homeostasis in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2007, 52(3): 473-484
- [25] Yang Y, Tang R J, Jiang C M, et al. Overexpression of the *PtSOS2* gene improves tolerance to salt stress in transgenic poplar plants [J]. *Plant Biotechnol J*, 2015, 13(7): 962-973
- [26] Urao T, Katagiri T, Mizoguchi T, et al. Two gene that encode Ca^{2+} -dependent protein kinase are induced by drought and high-salt in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Mol Gen Genet*, 1994, 244(4): 331-340
- [27] Xu J, Tian Y S, Peng R H, et al. *AtCPK6*, a functionally redundant and positive regulator involved in salt/drought stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2010, 231(6): 1251-1260
- [28] Asano T, Hakata M, Nakamura H, et al. Functional characterisation of *OsCPK21*, a calcium-dependent protein kinase that confers salt tolerance in rice [J]. *Plant Mol Biol*, 2011, 75(1-2): 179-191
- [29] Asano T, Hayashi N, Kobayashi M, et al. A rice calcium-dependent protein kinase *OsCPK12* oppositely modulates salt-stress tolerance and blast disease resistance [J]. *Plant J*, 2012, 69(1): 26-36
- [30] Urao T, Katagiri T, Mizoguchi T, et al. Two genes that encode Ca^{2+} -dependent protein-kinases are induced by drought and high-salt stresses in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Mol Genet Genomics*, 1994, 244: 331-340
- [31] Patharkar O R, Cushman J C. A stress-induced calcium-dependent protein kinase from *Mesembryanthemum crystallinum* phosphorylates a two-component pseudo-response regulator [J]. *Plant Cell*, 2000, 24: 679-691
- [32] Yoon G M, Cho H S, Ha H J, et al. Characterization of *NtCDPK1*, a calcium-dependent protein kinase gene in *Nicotiana tabacum*, and the activity of its encoded protein [J]. *Plant Mol Biol*, 1999, 39: 991-1001
- [33] Romeis T, Ludwig A A, Martin R, et al. Calcium-dependent protein kinases play an essential role in a plant defence response [J]. *EMBO J*, 2001, 20: 5556-5567
- [34] Saijo Y, Hata S, Kyoizuka J, et al. Overexpression of a single Ca^{2+} -dependent protein kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants [J]. *Plant J*, 2000, 23: 319-327
- [35] Dubrovina A S, Kiselev K V, Khristenko V S, et al. *VaCPK20*, a calcium-dependent protein kinase gene of wild grapevine *Vitis amurensis* Rupr., mediates cold and drought stress tolerance [J]. *J Plant Physiol*, 2015, 185: 1-12
- [36] Zhao R, Sun H, Zhao N et al. The *Arabidopsis* Ca^{2+} -dependent protein kinase *CPK27* is required for plant response to salt-stress [J]. *Gene*, 2015, 563(2): 203-214
- [37] Wei S Y, Hu W, Deng X M, et al. A rice calcium-dependent protein kinase *OsCPK9* positively regulates drought stress tolerance and spikelet fertility [J]. *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 133
- [38] Nagy S K, Darula Z, Kállai B M, et al. Activation of *AtMPK9* through autophosphorylation that makes it independent of the canonical MAPK cascades [J]. *Biochem J*, 2015, 467(1): 167-175
- [39] Mehlmer N, Wurzing B, Stael S, et al. The Ca^{2+} -dependent protein kinase *CPK3* is required for MAPK-independent salt-stress acclimation in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2010, 63(3): 484-498
- [40] Xu D B, Chen M, Ma Y N, et al. A G-Protein β Subunit, *AGB1*, negatively regulates the ABA response and drought tolerance by down-regulating *AtMPK6*-related pathway in *Arabidopsis* [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0116385
- [41] Kumar K, Sinha A K. Overexpression of constitutively active mitogen activated protein kinase kinase 6 enhances tolerance to salt stress in rice [J]. *Rice*, 2013, 6(1): 25
- [42] Ovečka M, Takáč T, Komis G, et al. Salt-induced subcellular kinase relocation and seedling susceptibility caused by overexpression of *Medicago* *SIMKK* in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2014, 65(9): 2335-2350
- [43] Qin F, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Achievements and challenges in understanding plant abiotic stress responses and tolerance [J]. *Plant Cell Physiol*, 2011, 52: 1569-1582
- [44] Li J M, Chory J. A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction [J]. *Cell*, 1997, 90: 929-938
- [45] Wang Z Y, Seto H, Fujioka S, et al. *BRI1* is a critical component

