

水稻促分裂原活化蛋白激酶家族的研究进展

毕佳佳,梁卫红*

(河南师范大学生命科学学院,河南 新乡 453007)

摘要:促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是生物体内信号转导途径 MAPK 级联反应的重要组成部分,通过传递胞内外信号,介导生物及非生物胁迫反应、激素反应、调控细胞分化和发育过程。对水稻(*Oryza sativa* L.) MAPK 家族的结构、作用机制、分类以及在抗逆应答、生长发育中的作用进行了综述,为水稻 MAPK 的深入研究和应用提供参考。

关键词:水稻; MAP 激酶; 功能; 研究进展

中图分类号: Q946.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2009)05-0514-05

The Progress on Rice Mitogen-activated Protein Kinase Family

BI Jia-jia, LIANG Wei-hong*

(College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Mitogen-activated protein kinase (MAPK) is an important component in signal transduction pathway of MAPK cascade reaction. It is involved in the biotic and abiotic stress responses, hormone responses and also regulating cell differentiation and development processes by transferring internal and external cellular signals. The studies on rice (*Oryza sativa* L.) MAPK family, such as its structure, mechanism, classification and functions in stress responses and biological processes were reviewed, it can provide the references for the further studies and application of rice MAPK.

Key words: Rice; Mitogen-activated protein kinase; Function; Research progress

促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)为丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)蛋白激酶,从单细胞酵母到多细胞动植物体内普遍存在,进化过程中高度保守^[1-3]。在细胞信号转导通路中,位于 MAPK 级联反应的最下游,通过传递胞内外信号,调控基因表达、细胞增殖与分化、细胞生存与凋亡等多种生命活动^[4]。

以往对植物 MAPK 的研究主要集中在双子叶植物,而对单子叶植物的研究相对较少^[5-6]。近年来,作为主要的粮食作物和重要的模式生物,水稻(*Oryza sativa* L.) MAPK 的研究日益受到重视。已有研究表明,水稻 MAPK 在抗逆应答相关信号通路中具有重要作用^[7-8],本文就水稻 MAPK 家族的研究进展进行简要的综述。

1 MAPK 的结构特点及作用机制

对 MAPK 级联途径研究最清楚的是酵母,对植物的研究在 20 世纪 90 年代才开始,现已取得重要进展。无论酵母还是动植物的 MAPK 都具有相似的保守结构,即 11 个 Ser/Thr 次级结构域^[9]。其中,在第 VII 和 VIII 次级结构域之间的 T-loop 活化环上有 1 个由苏氨酸(T)、酪氨酸(Y)和 X 氨基酸组成的 TXY 基序。不同的是植物 TXY 中的 X 常为 E(谷氨酸)或 D(天冬氨酸),而动物和酵母中常为 E、P(脯氨酸)或 G(甘氨酸),因此植物特有的 TXY 基序是 TDY。T 环是 1 个接近活化位点的表面环状结构,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,是决定包括 MAPK 在内的多种蛋白激

收稿日期:2008-11-04

接受日期:2009-03-11

基金项目:教育部科学技术研究重点项目(209076);河南省科技攻关项目(0624440060);河南省基础与前沿技术研究项目(092300410099)资助

* 通讯作者 Corresponding author

酶活性的关键结构^[10]。不同 MAPK 的 TXY 基序的中间氨基酸残基不同,而且其 T 环长度也存在差异,X 残基和 T 环长度可以影响 MAPK 的底物特异性,并且 T 环长度在控制自主磷酸化上也起到关键性的作用^[11]。

MAPK 和其上游的 MAPKK (MAPK 激酶)、MAPKKK (MAPKK 激酶)组成一条重要的信号传递途径——MAPK 级联^[12]。胞外信号通过膜受体传递,进而磷酸化 MAPKKK,活化的 MAPKKK 磷酸化下游 MAPKK 的丝氨酸/苏氨酸残基。MAPKK 是一个双特异性激酶,它能选择性地磷酸化特定 MAPK 的 T 环上苏氨酸和酪氨酸残基。活化的 MAPK 可以在胞质中磷酸化靶蛋白并将信号传递下去,也可以在细胞核中通过磷酸化特异的转录因子来调控基因的表达^[13]。一个特定的 MAPK 级联能够将大量的底物或靶蛋白磷酸化,从而对外界刺激产生特定的应答,同时 MAPK 级联信号传递也与其他信号通路存在复杂的交叉^[14]。

2 水稻 MAPK 家族的命名和分类

从水稻中鉴定出的第一个 MAPK 基因是 *OsBWMK1*^[15],受稻瘟菌(*Magnaporthe grisea*)侵染和机械损伤诱导表达,说明水稻中可能存在参与防卫

机制的 MAPK。随后一系列的水稻 MAPK 基因被鉴定,其中 5 个证实与生物或非生物胁迫反应有关^[15-19]。通过水稻全基因组序列数据库检索和分析,Reyna 和 Yang 预测出 17 个编码 MAPK 的基因^[20],根据核苷酸序列推测的氨基酸序列显示,它们都有保守的蛋白激酶结构域 I~XI,分子量为 42~79 kDa^[4]。参考 Ichimura 等^[21]对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)蛋白激酶的命名,依据这些水稻 MAPK 在系统发生树上出现的顺序,这 17 个水稻 MAPK 基因分别被命名为 *OsMPK1*~*OsMPK17*。

对 20 个 AtMPKs 和 17 个 OsMPKs 进行进化分析和比较,水稻 MAPK 家族可划分为 A、B、C、D、E、F 共 6 组(图 1)^[20]。根据 TXY 基序中 X 的不同,这 6 组可分为两大类:含 TEY 基序的 MAPK 和 TDY 基序的 MAPK,其中 A、B、C 组 OsMPK 在活化位点上有 TEY 基序,并且有一个含 CD 区(common docking)的短 C 端,这个 CD 区可以作为 MAPKK、磷酸酶和底物蛋白的“停泊位点”(docking site)^[22]。D、E、F 组 OsMPK 有 TDY 基序,C 端相对较长但没有 CD 区^[20]。有趣的是,OsMPK7 和 OsMPK10 具有潜在的跨膜区域,提示这些 MAPKs 可能具有将胞外信号迅速传递到胞内的能力。

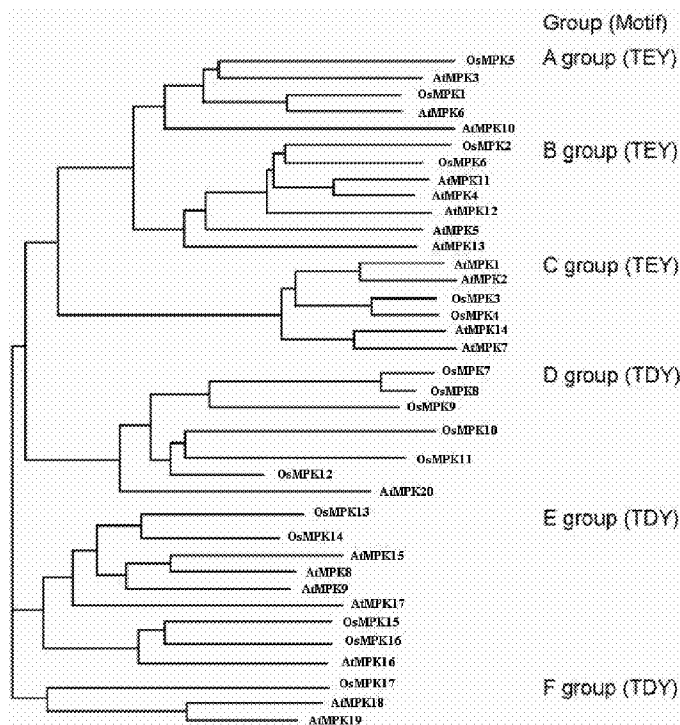


图 1 水稻和拟南芥 MAPKs 的系统关系(引自 Reyna 等^[20])

Fig. 1 MAPKs phylogenetic relationship between rice and *Arabidopsis* (Cited from Reyna, et al^[20])

3 水稻 MAPK 的作用

研究表明 MAPK 在水稻生长发育过程和生物与非生物胁迫应答中具有重要作用^[20,23-25]。

3.1 参与抗病反应

真菌、细菌、病毒和类病毒等植物病原通过机械损伤、昆虫介导、气孔、皮孔等途径侵染水稻,从而激活水稻的一系列抗病反应,其中 MAPK 级联反应起到了重要的信号传递作用^[9]。另外,MAPK 还能在一些抗病信号分子介导的防御反应中起调控作用。

3.1.1 参与生物胁迫应答

研究表明,水稻的 *OsMPK2*, *OsMPK4*, *OsMPK5*, *OsMPK7*, *OsMPK8*, *OsMPK12*, *OsMPK13*, *OsMPK15*, *OsMPK17* 都可以被稻瘟菌(*Magnaporthe grisea*)诱导激活^[20]。

苯并噻二唑(BTH)处理的水稻苗上接种稻瘟菌 36 h 后,以及在水稻-稻瘟菌非亲和互作反应中都能诱导 *OsMPK5* 产生,表明 *OsMPK5* 可能参与调节水稻抗瘟性的信号通路^[26]。通过 RNAi 抑制 *OsMPK5* 基因能提高病程相关基因(pathogenesis-related genes, PR)*PR1* 和 *PR10* 在转基因水稻中的组成型表达,并增强水稻对真菌、细菌感染的抵抗力,但转基因水稻对干旱、盐分和寒冷的忍耐性却明显下降。而 *OsMPK5* 过表达的转基因水稻对非生物胁迫的抵抗力则增加。这说明,*OsMPK5* 参与非生物胁迫的正调控,但负调控抗病基因表达及广谱抗病^[19]。

研究表明,与 *OsMPK5* 同在 A 组的 *OsMPK1* 参与了水稻悬浮培养细胞中依赖鞘脂类激发子的防御信号通路^[18]。RNAi 抑制 *OsMPK1* 基因表达的转基因植株中,病菌诱导的苯丙氨酸解氨酶基因表达水平显著下降。进一步研究表明,在用 RNAi 技术抑制小 GTPase 酶基因 *OsRac1* 表达的转基因植株中,或者利用功能突变导致 G 蛋白 α 亚基失活的植株中,*OsMPK1* 的蛋白水平和激酶活性都降低^[18]。这些结果证明,*OsMPK1* 参与水稻防卫基因表达的调控,而且其活性在蛋白水平上受 G 蛋白调节。

OsMPK12 基因的表达受稻瘟菌侵染的诱导,真菌激发子壳聚糖亦可激活其活性。Cheong 的研究表明 *OsMPK12* 磷酸化的底物是转录因子 *OsEREBP1*,而磷酸化的 *OsEREBP1* 与一些 PR 基因

启动子的 GCC 盒结合的功能增强^[23]。在拟南芥原生质体瞬时共表达中,*OsMPK12* 和 *OsEREBP1* 能够引发 GCC 盒驱动的报告基因 *Gus* 的表达增强。此外,在 *OsMPK12* 过表达的转基因烟草中,许多 PR 基因的表达水平提高,增强了转基因烟草(*Nicotiana tabacum*)对病原体感染的抗性^[23]。

在 BTH 诱导的抗病反应中,*OsMPK13* 基因的表达被活化,而且在水稻-稻瘟菌非亲和互作反应早期该基因也被激活。另外,过量表达 *OsMPK13* 的转基因烟草对番茄花叶病毒(*Tomato mosaicvirus*)和链格孢菌(*Alternaria alternata*)的抗性增强,表明 *OsMPK13* 在水稻抗病反应中具有重要作用^[27]。

3.1.2 参与抗病信号分子的传递

OsMPK5 基因的激活表达受到多种因子的调控,水稻幼苗经水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)、茉莉酸甲酯(MeJA)、乙烯(ET)等抗病信号分子,以及系统获得抗性诱导,如 BTH、2,6-二氯异烟酸(INA)、噻菌灵(PBZ)的处理后,*OsMPK5* 基因很快被激活^[26]。*OsMPK7* 在真菌感染的早期阶段可被 JA 诱导^[20],转基因研究表明,*OsMPK7* 参与了 JA 信号传导和水稻抗病反应。*OsMPK12* 基因也受抗病信号分子 SA、JA 和 ET 等处理所诱导表达^[28]。

3.2 参与非生物胁迫的应答

各种环境胁迫,如极端温度、干旱、盐害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^[29]。不同的是,各个 MAPK 在不同环境胁迫中的作用不同。

3.2.1 介导干旱、高盐和高/低温信号的传递

对水稻 MAPK 与干旱、高盐和高/低温关系的研究表明,不同的 MAPK 基因呈现出特定的表达特性。盐、干旱、37℃ 处理都能诱导 *OsMPK5* 的表达;而盐处理使 *OsMPK4* 组成型表达进一步提高,干旱、高/低温处理反而会降低其 mRNA 的本底水平^[6]。*OsMPK7* 受盐、干旱诱导表达,但并不受寒冷的诱导。在盐处理下,*OsMPK7* 过表达植株中的 K^+/Na^+ 比相对于抑制 *OsMPK7* 表达的植株高,这说明 *OsMPK7* 在盐胁迫下对维持良好的离子平衡起到了积极的作用^[30]。*OsMPK8* 在正常叶中表达水平高,在盐处理下没有明显变化,在干旱和 12℃ 下有略微的升高,而在低温下剧烈上升,37℃ 处理则会降低其表达^[6]。*OsMPK12* 同样受盐、干旱、37℃ 的诱导,但 12℃ 处理对其表达无影响^[28]。因

此推测,虽然许多 MAPK 基因参与了非生物胁迫应答,但它们的调控机制各不相同。

3.2.2 介导其他非生物信号的传递

植物生长调节剂、 H_2O_2 、臭氧、紫外线照射、重金属等非生物胁迫也能诱导水稻中各种 MAPK 的表达,但表达量不同。*OsMPK5* 能在这些非生物胁迫下正常表达^[31],*OsMPK4* 只有微弱的表达,而*OsMPK7* 受 ABA(脱落酸)和 H_2O_2 的诱导高度表达^[30],*OsMPK8* 在创伤、糖饥饿下没有变化,在 ABA、 H_2O_2 处理下有细微的升高,重金属处理下剧烈上升,紫外线处理则会降低其表达^[16]。*OsMPK12* 同样受创伤、ABA、 H_2O_2 和重金属的诱导,但紫外线照射对其表达无影响。另有报道 Pb^{2+} 处理诱导水稻根部产生 40 kDa 和 42 kDa 的 MAPK 蛋白^[32],但尚不清楚是哪一种 MAPK。

3.3 与生长发育的关系

已有的研究结果显示,*OsMPK5* 基因在水稻幼苗所有组织中均有表达,但生长后期仅在花器官中表达,说明 *OsMPK5* 基因在花的发育过程起作用^[33]。*OsMPK4* 在晚期的叶、根和圆锥花序中表达增加。*OsMPK7* 在根中有很强的组成型表达^[30],而*OsMPK8* 在正常叶中表达水平较高。水稻 MAPK 在不同组织器官中的差异表达说明,不同的 MAPK 参与水稻的不同生长发育过程。本实验室通过酵母双杂交筛选,从水稻雌雄蕊形成期的幼穗中克隆了 1 个 MAPK 的 cDNA 序列,命名为 *OsRP19* (GenBank 登录号: FJ919600),数据库检索和序列比对分析表明,与 *OsMPK14* 序列的同源性达到 99%^[4],有关该基因和水稻幼穗发育之间的关系正在研究中。

4 展望

MAPK 级联信号转导是细胞主要的信号转导途径之一,它可将胞外信号传递到胞内,使细胞对各种刺激作出反应。越来越多的证据表明 MAPK 不仅与生长发育有关,而且还参与逆境应答过程。对水稻 MAPK 的鉴定和功能研究,不仅丰富了我们对于植物 MAPK 的认识,同时还为耐逆转基因作物品种的培育开辟了新的途径。

当然,目前对水稻 MAPK 的研究距离其在实践中的应用还有较大差距,还有许多理论问题亟待解决,如 MAPK 级联下游的磷酸化底物及功能是什么? MAPK 级联与其他信号通路的关联等等,但

MAPK 在细胞信号转导中的重要作用以及潜在的应用前景有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Bogre L, Meskiene I, Heberle B E, et al. Stressing the role of the MAP kinase in mitogenic stimulation [J]. *Plant Mol Biol*, 2000, 43(5/6): 705-718.
- [2] Ligterink W, Hirt H. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways in plants: Versatile signaling tools [J]. *Int Rev Cytol*, 2001, 201: 209-275.
- [3] Zhang S, Klessig D F. MAPK cascades in plant defense signaling [J]. *Trends Plant Sci*, 2001, 6(11): 520-527.
- [4] Rohila J S, Yang Y N. Rice mitogen-activated protein kinase gene family and its role in biotic and abiotic stress response [J]. *J Integr Plant Biol*, 2007, 49(6): 751-759.
- [5] Lee M O, Cho K, Kim S H, et al. Novel rice *OsSIPK* is a multiple stress responsive MAPK family member showing rhythmic expression at mRNA level [J]. *Planta*, 2008, 227(5): 981-990.
- [6] Liu Q P, Xue Q Z. Computational identification and phylogenetic analysis of the MAPK gene family in *Oryza sativa* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2007, 45(1): 6-14.
- [7] Ning J, Yuan B, Xie K B, et al. Isolation and identification of SA and JA inducible protein kinase gene *OsSJMKI* in rice [J]. *Acta Genet Sin*, 2006, 33(7): 625-633.
- [8] Lin C W, Lin C Y, Chang C C, et al. Early signalling pathways in rice roots under vanadate stress [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47(5): 369-376.
- [9] Wu T(吴涛), Zong X J(宗晓娟), Gu L K(谷令坤), et al. MAPKs in plants and their functions in signal transduction [J]. *Biotechn Bull(生物技术通报)*, 2006(5): 1-7. (in Chinese)
- [10] Gong X W(龚小卫), Jiang Y(姜勇). The structural basis of biological function of mitogen-activated protein kinases [J]. *Chin J Biochem Mol Biol(中国生物化学与分子生物学报)*, 2003, 19(1): 5-11. (in Chinese)
- [11] Jiang Y, Li Z, Schwarz E M, et al. Structure-function studies of p38 mitogen-activated protein kinase, Loop 12 influences substrate specificity and autophosphorylation, but not upstream kinase selection [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272: 11096-11102.
- [12] Rispaal N, Soanes D M, Ant C, et al. Comparative genomics of MAP kinase and calcium-calcineurin signalling components in plant and human pathogenic fungi [J]. *Fung Genet Biol*, 2009, 46(4): 287-298.
- [13] Morris P C. MAP kinase signal transduction pathways in plants [J]. *New Phytol*, 2001, 151(1): 67-89.
- [14] Jonak C, Okresz L, Bogre L, et al. Complexity, crosstalk and integration of plant MAP kinase signaling [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5(5): 415-424.
- [15] He C, Fong S H, Yang D, et al. *BWMKI*, a novel MAP kinase induced by fungal infection and mechanical wounding in rice [J]. *Mol Plant Microb Interact*, 1999, 12(12): 1064-1073.
- [16] Agrawal G K, Agrawal S K, Shibato J, et al. Novel rice MAP

- kinases *OsMSRMK3* and *OsWJUMKI* involved in encountering diverse environmental stresses and developmental regulation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 300(3): 775–783.
- [17] Fu S F, Chou W C, Huang D D, et al. Transcriptional regulation of a rice mitogen-activated protein kinase gene, *OsMAPK4*, in response to environmental stresses [J]. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43(8): 958–963.
- [18] Lieberherr D, Thao N P, Nakashima A, et al. A sphingolipid elicitor-inducible mitogen-activated protein kinase is regulated by the small GTPase *OsRac1* and heterotrimeric G-protein in rice [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138(3): 1644–1652.
- [19] Xiong L Z, Yang Y N. 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.
- [20] Reyna N S, Yang Y. Molecular analysis of the rice MAP kinase gene family in relation to *Magnaporthe grisea* infection [J]. *Mol Plant Microb Interact*, 2006, 19(5): 530–540.
- [21] Ichimura K, Tena G, Sheen J, et al. Mitogen-activated protein kinase cascades in plant: A new nomenclature [J]. *Trend Plant Sci*, 2002, 7(7): 301–308.
- [22] Bardwell A J, Abdollahi M, Bardwell L. Docking sites on mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinases, MAPK phosphatases and the Elk-1 transcription factor compete for MAPK binding and are crucial for enzymic activity [J]. *Biochem J*, 2003, 370: 1077–1085.
- [23] Cheong Y H, Moon B C, Kim J K, et al. *BWMK1*, a rice mitogen-activated protein kinase, locates in the nucleus and mediates pathogenesis-related gene expression by activation of a transcription factor [J]. *Plant Physiol*, 2003, 132(4): 1961–1972.
- [24] Agrawal G K, Iwahashi H, Rakwal R. Rice MAPKs [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 302(2): 171–180.
- [25] Yuan B, Shen X, Li X, et al. Mitogen-activated protein kinase *OsMPK6* negatively regulates rice disease resistance to bacterial pathogens [J]. *Planta*, 2007, 226(4): 953–960.
- [26] Song F, Goodman R M. *OsBIMK1*, a rice MAP kinase gene involved in disease resistance responses [J]. *Planta*, 2002, 215(6): 997–1005.
- [27] Song D H, Chen J H, Song F M, et al. A novel rice MAPK gene, *OsBIMK2*, is involved in disease resistance response [J]. *Plant Biol*, 2006, 8(5): 587–596.
- [28] Agrawal G K, Tamogami S, Iwahashi H, et al. Transient regulation of jasmonic acid-inducible rice MAP kinase gene (*OsBWMK1*) by diverse biotic and abiotic stresses [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2003, 41(4): 355–361.
- [29] Colcombet J, Hirt H. *Arabidopsis* MAPKs: A complex signalling network involved in multiple biological processes [J]. *Biochem J*, 2008, 413(2): 217–226.
- [30] Jeong M J, Lee S K, Kim B G, et al. A rice (*Oryza sativa* L.) MAP kinase gene, *OsMAPK44*, is involved in response to abiotic stresses [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 2006, 85(2): 151–160.
- [31] Agrawal G K, Rakwal R, Iwahashi H. Isolation of novel rice (*Oryza sativa* L.) multiple stress responsive MAP kinase gene, *OsMSRMK2*, whose mRNA accumulates rapidly in response to environmental cues [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 294(5): 1009–1016.
- [32] Huang T L, Huang H J. ROS and CDPK-like kinase-mediated activation of MAP kinase in rice roots exposed to lead [J]. *Chemosphere*, 2008, 71(7): 1377–1385.
- [33] Huang H J, Fu S F, Tai Y H, et al. Expression of *Oryza sativa* MAP kinase gene is developmentally regulated and stress-responsive [J]. *Physiol Plant*, 2002, 114(4): 572–580.