

生物和非生物胁迫下的植物细胞中丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号转导

赵琳琳^{1,2}, 徐启江¹, 姜勇², 李玉花^{1*}

¹东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040; ²南方医科大学广东省蛋白质组学重点实验室, 广州 510515

The Mitogen-activated Protein Kinase Signal Transduction in Plant Cell under Biotic and Abiotic Stress Conditions

ZHAO Lin-Lin^{1,2}, XU Qi-Jiang¹, JIANG Yong², LI Yu-Hua^{1*}

¹College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; ²Key Laboratory of Functional Proteomics of Guangdong Province, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

摘要: 介绍了生物和非生物胁迫下植物细胞中 MAPK 信号转导的研究进展。

关键词: 丝裂原活化蛋白激酶; 植物细胞; 胁迫; 信号转导

蛋白激酶是一类催化特定蛋白质侧链中的丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残基发生共价磷酸化的酶。残基磷酸化后蛋白激酶呈现活性并与其他分子相互作用。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是丝/苏氨酸蛋白激酶的一个大家族,丝/苏氨酸蛋白激酶在细胞的形态学和动力学以及细胞转化的调控中起作用。MAPK 是生物体内的信号转导系统之一,在真核生物(酵母、植物、哺乳动物及人)中普遍存在。这一通路将外源刺激转入胞内并引发细胞应答,参与介导细胞的生长、发育、分裂、分化、凋亡等多种过程,甚至生长素、脱落酸、乙烯和细胞分裂素的代谢都与 MAPK 通路有关(Mishra 等 2006)。本文就 MAPK 的基本组成和分类以及生物和非生物胁迫条件下 MAPK 通路的研究进展作介绍。

1 真核生物的 MAPK 通路

真核生物中 MAPK 通路由 MAPKKK-MAPKK-MAPK 三级激酶级联组成。MAPKKK 自身可通过中间桥联分子或者互联 MAPKKK 之后通过生理反应或 / 和受体自身的磷酸化而活化(Jonak 等 2002)。MAPKKK 通过磷酸化 MAPKK 保守区域中丝/苏氨酸残基将其激活。MAPKK 通过磷酸化 MAPK 的苏/酪氨酸双位点将其激活。活化的 MAPK 可进一步磷酸化多种底物,如转录因子,蛋白激酶和与细胞骨架结合的蛋白等(Morrison 和 Davis 2003)。MAPK 的活性调节是可逆的,MAPK 磷酸酶(MAPK phosphatase, MKP)通过对 MAPK 的

去磷酸化使其失活。

同一细胞中有多条 MAPK 通路,每条通路都与不同的上游信号和下游底物连接,各通路之间的功能既独立又相互作用,形成错综复杂的信号转导网络。

植物 MAPK 的研究始于上个世纪 90 年代后期,迄今,许多植物 MAPK 通路成员已得到克隆,其数量已超过酵母与动物。植物全基因组的序列测定表明,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中有 20 种 MAPK、10 种 MAPKK 和 60 种 MAPKKK,并提出一种拟南芥 MAPK 的统一命名法(MAPK Group 2002),但这是否能代表所有植物的 MAPK 通路尚存在争议。

植物的 MAPK 可分成 TEY (E: 谷氨酸)和 TDY (D: 天冬氨酸)2 个亚型(Jonak 等 2002)。与 TEY 亚型不同,所有的 TDY 亚型都有一长段羧基末端延长区域。迄今为止,TDY 亚型的研究只局限在小麦(*Triticum aestivum* L.)的 BWMK1 中(Cheong 等 2003; He 等 1999),而 TEY 亚型在许多植物中都有研究。其中 TEY 亚型又分 A、B、C3 个组,TDY 亚型为 D 组(Jonak 等 2002)。A 组的 MAPK 参与多种生物和非生物胁迫和植物激素的调节,如 AtSIPK 可受损伤、盐、渗透压和病原菌衍生物诱导,AtMPK3 参与脱落酸信号通路等(Nakagami

收稿 2007-11-09 修定 2008-01-08

资助 国家高技术研究发展计划(863 计划)(2006AA10Z129)。

* 通讯作者(E-mail: lyhshen@126.com; Tel: 0451-82191783)。

等 2005); B 组 MAPK 的研究较少, 但已证明, 它们参与环境胁迫反应和细胞分裂; C 组和 D 组的信息很有限, 最近在棉花(*Gossypium hirsutum* L.)中发现了 GhMAPK (*Gossypium hirsutum* MAPK), 氨基酸序列比对分析显示, 其与 C 组 MAPK 的氨基酸序列高度一致。Northern 分析显示, 在创伤、低温或盐胁迫下棉花幼苗中 GhMAPK 的转录物显著积累。另外, GhMAPK 还可被水杨酸、 H_2O_2 和病原菌等一些外源信号分子上调(Wang 等 2007)。

MAPKKK 可分为两大亚族: MEKK 亚型 (MEKK-type), 包括苜蓿属植物的 OMTK1, 拟南芥的 ANP1、ANP2、ANP3 和 MEKK1, 烟草的 NPK1 等; Raf 样激酶(Raf-like kinases), 包括拟南芥的 CTR1 和 EDR1 等。

2 生物和非生物胁迫下植物体内的 MAPK 信号转导

植物在生长发育过程中不断遭受各种胁迫。与能移动的动物不同, 植物在长期进化过程中发展起一套完善和适合其自身需要的信号转导系统以适应环境变化, 更好地生存。植物受到刺激后, 产生物理或化学信号, 这些信号到达靶细胞后转换成胞内信号, 并启动胞内各种信号转导系统, 继而对原初信号进行级联放大, 最终导致生理生化变化。越来越多的研究表明, 生物和非生物胁迫均可激活防御基因, 不同程度地影响植物细胞的氧化还原状态, 从而导致大量 MAPK 的激活, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生和积累, 以及 Ca^{2+} 跨质膜流动等反应的发生(Zhang 和 Klessig 2001)。这里谈到的是生物胁迫因子中的病原菌和非生物胁迫因子中的高光照光和紫外线、高盐、重金属、热胁迫等。

2.1 病原菌胁迫条件下 MAPK 的信号转导 植物除受食草动物(包括昆虫)的取食危害以外, 还常遭受真菌和细菌等病原菌的侵染而罹病。植物通过激活多级防御应答抵抗病原菌的侵染, 包括快速产生 ROS, 加固细胞壁, 诱导过敏反应(hypersensitive reaction, HR)和感染部位出现的细胞集中死亡等。通常情况下, 一般危害(如 H_2O_2 等)诱导水杨酸诱导的蛋白激酶(SA-induced protein kinase, SIPK)和 ROS 共同参与的系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR)的建立, 植物

产生系统获得性抗性后, 能在较长时间内保持对多种病原菌的增强抗性; 受到严重危害(如病原菌侵染)时则启动氧化爆发(oxidative burst, OXB)和过敏反应。植物细胞在氧化爆发时可以产生大量的活性氧, 同时激活防御基因参与的信号转导途径; 过敏反应是病原菌胁迫下植物细胞最典型的防御反应之一。

(1)烟草的 MEK2-SIPK/WIPK-NtWIF 通路。Zhang 和 Klessig (1998)用烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)感染烟草叶片后发现, TMV 对 SIPK 和创伤诱导的蛋白激酶(wound-induced protein kinase, WIPK)的活化依赖抗病基因 *N* (disease-resistance gene *N*)。由于 WIPK 的激活和表达与过敏反应对多种激发子(elicitors)和 TMV 侵染的初期应答有关, Zhang 等(2000)认为 WIPK 可能诱导过敏反应产生。Zhang 和 Liu (2001)认为 SIPK 的异位表达可以激活 MAPK 并诱导过敏反应的发生, WIPK 的异位表达既不活化激酶也不引起过敏反应。与发现 WIPK 与 SIPK 都是 MEK2 的作用底物相一致的是, 人们还发现 MEK2 的过表达可激活 MAPK 和过敏反应(Yang 等 2001)。Jin 等(2003)在研究烟草的 MEK2、SIPK 和 WIPK 的病毒所诱导的基因沉默(virus-induced gene silencing, VIGS)中证明这 3 种激酶的基因沉默会导致由 N 端介导的抗 TMV 能力的极大减弱。最近有发现一个由 648 个氨基酸编码的直接与 WIPK 作用的蛋白, 命名为烟草 WIPK 相互作用因子(*N. tabacum* WIPK-interacting factor, NtWIF)。NtWIF 是一种可直接为 WIPK 磷酸化的转录因子, 它对创伤和病原菌胁迫中的靶基因进行转录(Yap 等 2005)。

(2)烟草 MAPK 通路的多重调节作用。NPK1-MEK1-NTF6 通路中的 MEK1 和 NTF6 的 VIGS 会削弱氨基端介导的烟草抗 TMV 能力(Liu 等 2003)。NPK1 或 MEK1 的激酶缺失突变体的过表达会导致横壁不完整的多核细胞的产生, 即细胞的成膜体已经形成, 但未能伸展至整个细胞皮质(Soyano 等 2003), 而 NPK1 沉默会影响植物抗病基因 *N*、Bs2 和 Rx 的功能(Jin 等 2002)。Liu 等(2007)的最新研究发现, SIPK/NTF4/WIPK 通路激活后, 碳固定快速终止可导致光照条件下叶绿体产生 ROS, 而在暗中的叶绿体则不产生 ROS, 且细胞坏死显著延缓。所以他们认为活化的 SIPK/NTF4/WIPK 通

路可促进叶绿体中 ROS 的产生, 并导致植物发生过敏反应样细胞坏死。这些研究不仅显示 MAPK 通路对植物生理进程有调节作用, 还说明在不同背景下 MAPK 各组分的组合有其特殊功能。

(3)拟南芥的鞭毛蛋白(Flagellin)信号系统。Asai 等(2002)采用瞬时过表达, 生物化学和遗传学相结合的方法研究 MEKK1-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6 模型的结果显示: 该模型作用于鞭毛蛋白受体 FLS2 的下游以及 WRKY22 和 WRKY29 基因的上游。MEKK1 的瞬时过表达可活化 MKK4/MKK5, 并最终活化 WRKY29, 叶片因而有抗细菌和真菌侵染的能力。Ichimura 等(2006)从遗传学上检测该模型, 构建了 2 个 MEKK1 突变体。他们发现鞭毛蛋白触发的 MPK3 和 MPK6 的活化并不依赖 MEKK1, 而 MEKK1 对 MPK4 的活化是必要的, 并可下调对温度有敏感性和组织特异性的细胞坏死。Miao 等(2007)在研究拟南芥的老化相关转录因子 WRKY53 时发现, MEKK1 可在蛋白水平上通过与 WRKY53 的 DNA 启动子的结合直接与其相互作用, 还可在体外通过磷酸化 WRKY53 增加其 DNA 启动子与蛋白质的结合能力, 由此可见 MEKK1 可直接对转录因子进行磷酸化。

拟南芥的 MPK3、MPK4 和 MPK6 都可被含有病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)的细菌(如 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*)和真菌激活(Desikan 等 2001; Nühse 等 2000)。拟南芥 *mpk4* 突变体表型矮小, 对恶性病原菌的抗性强, 水杨酸含量高, 表现出系统获得性抗性, 可引起病程相关基因(pathogenesis-related genes)的表达(Petersen 等 2000)。相反, MPK6 沉默的拟南芥没有明显的表型, 缺少抗病原菌的能力(Menke 等 2004)。Feilner 等(2005)在用蛋白芯片的方法高通量研究拟南芥 MAPK 的潜在底物(potential substrates)中得到 48 和 39 个 MPK3 和 MPK6 的潜在底物, 其中有 26 个是两者共同的底物。有些底物的生理学功能还待实验验证。

2.2 MAPKs 与活性氧家族 植物细胞在受病原菌侵染时会产生 ROS (Apel 和 Hirt 2004)。烟草的 SIPK 和 WIPK 可为多种 ROS 激活(Samuel 等 2000)。臭氧可激活拟南芥的 MPK3 和 MPK6 (Ahlfors 等 2004)。通过对叶片损伤的观察, Miles 等(2005)认为 RNAi 介导的拟南芥 MPK6 基因沉默对臭氧更

敏感。臭氧刺激下, MPK6-RNAi 的植株具有比野生型 MPK3 的持续高活性; MPK3 缺失突变体对臭氧也敏感, 并显示出异常持久的(abnormally prolonged) MPK6 活性, 说明二者可以交互性的调节臭氧诱导的信号转导。ROS 诱导 MAPK 的活化说明 ROS 是作用 MAPK 的上游。但一项对马铃薯晚疫病病原(*Phytophthora infestans*)侵染本萨明那烟(*Nicotiana benthamiana*)的研究表明, MEK2 通路可能是呼吸爆发氧化酶同源(respiratory burst oxidase orthologue, rboh)基因上游众多通路之一, 该通路对植株受真菌侵染后产生 ROS 是必需的(Yoshioka 等 2003)。

OXI1 蛋白激酶是拟南芥在病原菌侵袭中产生 ROS 和活化 MPK3/MPK6 通路的上游调节物(Rentel 等 2004)。过氧化氢酶(catalase, CAT)和 H_2O_2 在各种胁迫应答中的作用已得到广泛研究。但人们对 CAT 的基因表达或 H_2O_2 的产生机制还知之甚少。最新的研究认为, 拟南芥的 AtMEK1 可通过触发 H_2O_2 的产生调节 ABA、干旱和盐胁迫诱导的 CAT1 表达。Xing 等(2007)进一步的研究表明, MEK1 突变体中气孔运动对 ABA 不敏感, 拟南芥中 AtMEK1 的过表达会增加植物对干旱或盐胁迫的耐受性, 这也说明 AtMEK1 是植物胁迫信号转导中的调节因子。

烟草细胞经臭氧处理后, 伴随着 ROS 产生的 MAPK 有 2 种: 高活性的 SIPK 和低活性的 WIPK (Kumar 和 Klessig 2000; Samuel 等 2000)。虽然 SIPK 和 WIPK 在多种生物胁迫和非生物胁迫过程中活性升高, 调节信号转导, 但其作用机制不同。在用臭氧长时间处理的 SIPK 过表达的烟草细胞中没有检测到 WIPK 活性, 这与烟草细胞中的 SIPK 抑制 WIPK 活性的结果一致; 抑制 SIPK 表达后, 在同样的处理条件下, WIPK 则呈现稳定的高活性(Samuel 和 Ellis 2002)。氧化胁迫可诱导 SIPK 的持续高活性, 而用外源高浓度(500 μmol)水杨酸处理后 SIPK 只能呈现较弱的活性(Samuel 等 2000), 可见 SIPK 主要是受 ROS 诱导的。

2.3 重金属胁迫下的 MAPK 信号转导 ROS 的产生和信号转导与植物对重金属胁迫的应答有着密切联系。某些重金属在植物的新陈代谢及生长发育中是必需的, 高浓度的重金属有很强的毒性, 会引起严重的细胞损伤。重金属可阻断功能团, 替代

生物分子(biomolecule)中的重要金属离子,具氧化还原能力的重金属可自动氧化,从而促进 Fenton 反应产生 ROS (Polle 和 Schutzendubel 2003)。最近有研究表明,重金属可激活高等植物的 MAPK (Jonak 等 2004; Yeh 等 2004)。苜蓿属植物幼苗暴露于过量的铜或镉离子下可以活化 SIMK、MKK2、MKK3 和 SAMK 这 4 种 MAPK (Jonak 等 2004)。苜蓿属植物原生质体中的 SIMKK 只激活 SIMK 和 SAMK,且只介导铜离子引起的活化。这些研究结果表明不同的 MAPK 通路由于不同重金属的参与而活化的细胞信号通路不同。

2.4 盐、低温、创伤及干旱胁迫下 MAPK 的信号转导 渗透应激可活化苜蓿和烟草的 MAPK (Jonak 等 2002)。非生物胁迫下 MAPK 信号转导的大部分研究结果都是通过分析拟南芥得到的:低温、盐胁迫、干旱、创伤及触碰均可活化 MPK4 和 MPK6 (Ichimura 等 2000)。MPK3 可为渗透应激活化(Droillard 等 2002)。MEKK1 可受盐胁迫、干旱、低温及创伤诱导,也可通过活化 MKK4 和 MKK5 调节鞭毛蛋白的信号转导(Asai 等 2002)。在创伤的幼苗中,活化的 MEKK1 可磷酸化下游的 MEK1 (Hadiarto 等 2006)。

Teige 等(2004)在对拟南芥原生质体的研究中发现, MKK2 可为低温、盐胁迫和 MEKK1 激活。MKK2 的无效突变体没有表型,但对低温和盐胁迫都高度敏感。相反, MKK2 过表达的植株可耐受低温和盐胁迫。分析 MKK2 过表达植株全基因组转录的结果显示,有 152 个基因的表达发生变化,这些基因可以参与信号转导、细胞防御 (cellular defense) 和胁迫代谢(stress metabolism)。原生质体瞬时表达分析显示, MEKK1 可通过激活 MKK2 来活化 MPK4 和 MPK6。

Seo 等(1995)认为创伤刺激可促使 WIPK 基因迅速转录和积累。但最近的研究表明 WIPK 不直接应答受伤信号,而是加强植物的抗病能力,因为其活性及其相应的基因表达是受 SIPK 调节的 (Liu 等 2003)。我们认为, WIPK 参与臭氧和受伤的作用机制可能不同, WIPK 可能受其他信号因子的介导,从而参与调节受伤信号的转导。Samuel 和 Ellis (2002)还发现,非生物胁迫诱导的 SIPK 活性是短暂的,而病原菌及与其类似作用的诱导蛋白则是通过 SIPK 长时间持续活性诱导细胞

死亡的。

Jonak 等(1996)报道,苜蓿中存在一种与 MAPK 同源的蛋白激酶 MMK4。干旱胁迫可诱导 MMK4 转录水平的升高,但不能诱导 MMK4 蛋白积累,表明 MMK4 激酶的活性是在翻译后的水平上调的; ABA 不能诱导 MMK4 的 mRNA 水平升高, MMK4 激酶活性也不能被 ABA 激活,这表明苜蓿中 MMK4 激酶介导的干旱胁迫信号传递途径不依赖于 ABA。

3 结语

植物 MAPK 的研究始于上个世纪 90 年代后期。迄今,许多植物 MAPK 成员已得到克隆。分析显示,这些 MAPK 家族的分子大多能被病原菌、创伤、低温、干旱、盐、渗透压、紫外线辐射和活性氧等胁迫激活。

与哺乳动物细胞一样,植物细胞 MAPK 信号转导通路也存在交互作用。如病原菌胁迫下,拟南芥的 MEKK1 可激活 MKK4 和 MKK5, MKK4 又可激活 MPK3 和 MPK6; 病原菌和 UV-B 都可激活番茄的 MPK1、MPK2 和 MPK3 等。尽管植物细胞 MAPK 信号转导存在交互作用,但是每种胁迫所引起的生理反应是特定的,如重金属可通过阻断功能团,替代生物分子中的重要金属离子来诱导 Fenton 反应产生活性氧; 烟草的 SIPK/NTF4/WIPK 通路可促进叶绿体中 ROS 的产生,并导致植物发生细胞坏死; 这说明每条转导通路又具有一定的独立性。但是最近发现同一模型在不同的细胞背景下有不同的功能,如前面提到的在病原菌防御和胞质分裂中具有双重功能的 NPK1-MEK1-NTF6 通路。所以,将不同的信号转导途径组成一个合理的信号转导网络进行研究已成为当前的首要任务。不同细胞途径间的“对话”(cross-talk)或许能解释由 NPK1 的过表达所引起的不同表型效应。如一些 NPK1 过表达植株显示出与植物生长素信号系统有关的胚芽致死表现型,其他植株对非生物胁迫有耐受性(Nakagami 等 2005)。在化学诱变剂和盐胁迫下, MKP1 突变体的两种相反表型可以看作是 MAPK 与其他信号通路对话的又一个例子(Ulm 等 2002)。

总之, MAPK 级联途径基因的克隆与鉴定,蛋白质结构与功能的分析,上下游事件的解析等一系列的研究为我们了解不同通路中 MAPK 的功

能提供了大量的信息, 尽管如此, 但要完全揭示 MAPK 级联途径的作用机制, 还需要进行以下几个方面的研究工作: (1) 可以采用目前应用比较广泛的方法(如噬菌体展示技术等), 用 MAPK 家族已知的一个分子作为靶分子, 如位于 MAPK 级联途径上游的膜蛋白受体、各级信号分子、下游的蛋白激酶和转录因子等, 筛选与其相互作用的其他分子; (2) 对筛选结果进行体内体外的进一步的功能验证; (3) 从通过功能验证得到的结果来深入了解 MAPK 级联途径各级成员的互作机制。此外, MAPK 级联途径成员磷酸化作用的调控机制以及级联途径的分子机制也有待进一步研究。

参考文献

- Ahlfors R, Macioszek V, Rudd J, Brosché M, Schlichting R, Scheel D, Kangasjärvi J (2004). Stress hormone-independent activation and nuclear translocation of mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis thaliana* during ozone exposure. *Plant J*, 40: 512~522
- Apel K, Hirt H (2004). REACTIVE OXYGEN SPECIES: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 55: 373~399
- Asai T, Tena G, Plotnikova J, Willmann MR, Chiu WL, Gomez-Gomez L, Boller T, Ausubel FM, Sheen J (2002). MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature*, 415: 977~983
- Cheong YH, Moon BC, Kim JK, Kim CY, Kim MC, Kim IH, Park CY, Kim JC, Park BO, Koo SC *et al.* (2003). BWMK1, a rice mitogen-activated protein kinase, locates in the nucleus and mediates pathogenesis-related gene expression by activation of a transcription factor. *Plant Physiol*, 132: 1961~1972
- Desikan R, Hancock JT, Ichimura K, Shinozaki K, Neill SJ (2001). Harpin induces activation of the *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinases AtMPK4 and AtMPK6. *Plant Physiol*, 126: 1579~1587
- Droillard M, Boudsocq M, Barbier-Brygoo H, Laurière C (2002). Different protein kinase families are activated by osmotic stresses in *Arabidopsis thaliana* cell suspensions. Involvement of the MAP kinases AtMPK3 and AtMPK6. *FEBS Lett*, 527: 43~50
- Feilner T, Hultschig C, Lee J, Meyer S, Immink RG, Koenig A, Possling A, Seitz H, Beveridge A, Scheel D *et al.* (2005). High throughput identification of potential *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinases substrates. *Mol Cell Proteomics*, 4: 1558~1568
- Hadiarto T, Nanmori T, Matsuoka D, Iwasaki T, Sato K, Fukami Y, Azuma T, Yasuda T (2006). Activation of *Arabidopsis* MAPK kinase kinase (AtMEKK1) and induction of AtMEKK1-AtMEK1 pathway by wounding. *Planta*, 223: 708~713
- He C, Fong SH, Yang D, Wang GL (1999). BWMK1, a novel MAP kinase induced by fungal infection and mechanical wounding in rice. *Mol Plant Microbe Interact*, 12: 1064~1073
- Ichimura K, Casais C, Peck SC, Shinozaki K, Shirasu K (2006). MEKK1 is required for MPK4 activation and regulates tissue-specific and temperature-dependent cell death in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 281: 36969~36976
- Ichimura K, Mizoguchi T, Yoshida R, Yuasa T, Shinozaki K (2000). Various abiotic stresses rapidly activate *Arabidopsis* MAP kinases AtMPK4 and AtMPK6. *Plant J*, 24: 655~665
- Jin H, Axtell MJ, Dahlbeck D, Ekwenna O, Zhang S, Staskawicz B, Baker B (2002). NPK1, an MEKK1-like mitogen-activated protein kinase kinase, regulates innate immunity and development in plants. *Dev Cell*, 3: 291~297
- Jin H, Liu Y, Yang KY, Kim CY, Baker B, Zhang S (2003). Function of a mitogen-activated protein kinase pathway in N gene-mediated resistance in tobacco. *Plant J*, 33: 719~731
- Jonak C, Kiegerl S, Ligterink W, Barker PJ, Huskisson NS, 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
- Jonak C, Nakagami H, Hirt H (2004). Heavy metal stress. Activation of distinct mitogen-activated protein kinase pathways by copper and cadmium. *Plant Physiol*, 136: 3276~3283
- Jonak C, Okrész L, Bögre L, Hirt H (2002). Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signalling. *Curr Opin Plant Biol*, 5: 415~424
- Kumar D, Klessig DF (2000). Differential induction of tobacco MAP kinases by the defense signals nitric oxide, allylic acid, ethylene, and jasmonic acid. *Mol Plant-Microbe Interact*, 13: 347~351
- Liu Y, Jin H, Yang KY, Kim CY, Baker B, Zhang S (2003). Interaction between two mitogen-activated protein kinases during tobacco defense signaling. *Plant J*, 34: 149~160
- Liu Y, Ren D, Pike S, Pallardy S, Gassmann W, Zhang S (2007). Chloroplast-generated reactive oxygen species are involved in hypersensitive response-like cell death mediated by a mitogen-activated protein kinase cascade. *Plant J*, 51: 941~954
- MAPK Group (2002). Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci*, 7: 301~308
- Menke FL, van Pelt JA, Pieterse CM, Klessig DF (2004). Silencing of the mitogen-activated protein kinase MPK6 compromises disease resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 897~907
- Miao Y, Laun TM, Smykowski A, Zentgraf U (2007). *Arabidopsis* MEKK1 can take a short cut: it can directly interact with senescence-related WRKY53 transcription factor on the protein level and can bind to its promoter. *Plant Mol Biol*, 65: 63~76
- Miles GP, Samuel MA, Zhang Y, Ellis BE (2005). RNA interference-based (RNAi) suppression of AtMPK6, an *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase, results in hypersensitivity to ozone and misregulation of AtMPK3. *Environ Pollut*, 138: 230~237
- Mishra NS, Tuteja R, Tuteja N (2006). Signaling through MAP kinase networks in plants. *Arch Biochem Biophys*, 452: 55~68

- Morrison DK, Davis RJ (2003) Regulation of MAP kinase signaling modules by scaffold proteins in mammals. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 19: 91~118
- Nakagami H, Pitzschke A, Hirt H (2005). Emerging MAP kinase pathways in plant stress signalling. *Trends Plant Sci*, 10: 339~346
- Nühse TS, Peck SC, Hirt H, Boller T (2000). Microbial elicitors induce activation and dual phosphorylation of the *Arabidopsis thaliana* MAPK 6. *J Biol Chem*, 275: 7521~7526
- Petersen M, Brodersen P, Naested H, Andreasson E, Lindhart U, Johansen B, Nielsen HB, Lacy M, Austin MJ, Parker JE *et al.* (2000). *Arabidopsis* map kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell*, 103: 1111~1120
- Polle A, Schutzendubel A (2003). Heavy metal signalling in plants: linking cellular and organismic responses. In: Hirt H, Shinozaki K (eds). *Plant Responses to Abiotic Stress*. Berlin / Heidelberg: Springer, 4: 187~215
- Rentel MC, Lecourieux D, Ouaked F, Usher SL, Petersen L, Okamoto H, Knight H, Peck SC, Grierson CS, Hirt H (2004). OXII kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in *Arabidopsis*. *Nature*, 427: 858~861
- Samuel MA, Ellis BE (2002). Double jeopardy: both overexpression and suppression of a redox-activated plant mitogen-activated protein kinase render tobacco plants ozone sensitive. *Plant Cell*, 14: 2059~2069
- Samuel MA, Miles GP, Ellis BE (2000). Ozone treatment rapidly activates MAP kinase signalling in plants. *Plant J*, 22: 367~376
- 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
- Soyano T, Nishihama R, Morikiyo K, Ishikawa M, Machida Y (2003). NQK1/NtMEK1 is a MAPKK that acts in the NPK1 MAPKKK-mediated MAPK cascade and is required for plant cytokinesis. *Genes Dev*, 17: 1055~1067
- Teige M, Scheikl E, Eulgem T, Dóczi R, Ichimura K, Shinozaki K, Dangl JL, Hirt H (2004). The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, 15: 141~152
- Ulm R, Ichimura K, Mizoguchi T, Peck SC, Zhu T, Wang X, Shinozaki K, Paszkowski J (2002). Distinct regulation of salinity and genotoxic stress responses by *Arabidopsis* MAP kinase phosphatase 1. *EMBO J*, 21: 6483~6493
- Wang M, Zhang Y, Wang J, Wu X, Guo X (2007). A novel MAP kinase gene in cotton (*Gossypium hirsutum* L.), GhMAPK, is involved in response to diverse environmental stresses. *J Biochem Mol Biol*, 40: 325~332
- Xing Y, Jia W, Zhang J (2007). AtMEK1 mediates stress-induced gene expression of CAT1 catalase by triggering H₂O₂ production in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 58: 2969~2981
- Yang KY, Liu Y, Zhang S (2001). Activation of a mitogen-activated protein kinase pathway is involved in disease resistance in tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 741~746
- Yap YK, Kodama Y, Waller F, Chung KM, Ueda H, Nakamura K, Oldsen M, Yoda H, Yamaguchi Y, Sano H (2005). Activation of a novel transcription factor through phosphorylation by WIPK, a wound-induced mitogen-activated protein kinase in tobacco plants. *Plant Physiol*, 139: 127~137
- Yeh CM, Hsiao LJ, Huang HJ (2004). Cadmium activates a mitogen-activated protein kinase gene and MBP kinases in rice. *Plant Cell Physiol*, 45: 1306~1312
- Yoshioka H, Numata N, Nakajima K, Katou S, Kawakita K, Rowland O, Jones JD, Doke N (2003). *Nicotiana benthamiana* gp91phox homologs *NbrbohA* and *NbrbohB* participate in H₂O₂ accumulation and resistance to *Phytophthora infestans*. *Plant Cell*, 15: 706~718
- Zhang S, Klessig DF (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 DF (2001). MAPK cascades in plant defense signaling. *Trends Plant Sci*, 6: 520~527
- Zhang S, Liu Y (2001). Activation of salicylic acid-induced protein kinase, a mitogen-activated protein kinase, induces multiple defense responses in tobacco. *Plant Cell*, 13: 1877~1889
- Zhang S, Liu Y, Klessig DF (2000). Multiple levels of tobacco WIPK activation during the induction of cell death by fungal elicitors. *Plant J*, 23: 339~347