

植物 CBL/CIPK 网络系统逆境应答研究进展

赵晋锋¹, 余爱丽², 王高鸿¹, 田 岗¹, 王寒玉², 杜艳伟¹, 常海霞¹

(1. 山西省农业科学院谷子研究所, 山西 长治 046011; 2. 河北农业大学生命科学学院, 河北 保定 071000)

摘 要:大多数信号转导过程都伴随着细胞内钙离子浓度变化, CBL/CIPK 信号系统是近几年在高等植物中发现的一类依赖于钙离子的信号系统, 包括感知钙离子浓度变化的 CBL 蛋白 (calcineurin B-like proteins) 和与之互作的 CIPK 蛋白 (CBL-interacting protein kinase)。研究表明 CBL/CIPK 信号系统在植物对逆境应答过程中起重要作用。在介绍 CBL 和 CIPK 的结构和特征基础上对不同植物 CBL/CIPK 信号系统在逆境应答中的研究现状进行了综述, 以期为基因工程改良作物抗逆育种提供新的思路和种质资源。

关键词: CBL; CIPK; 蛋白激酶; 逆境应答

doi:10.3969/j.issn.1008-0864.2011.04.05

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 1008-0864(2011)04-0032-07

Progress of CBL/CIPK Signal System in Response to Stresses in Plant

ZHAO Jin-feng¹, YU Ai-li², WANG Gao-hong¹, TIAN Gang¹, WANG Han-yu²,
Du Yan-wei¹, CHANG Hai-xia¹

(1. Millet Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Shanxi Changzhi 046011;

2. College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Hebei Baoding 071000, China)

Abstract: Most of the signal transduction process is accompanied by the changes of intracellular calcium concentration. CBL (calcineurin B-like proteins) / CIPKs (CBL-interacting protein kinases) network as an emerging signal system for Ca^{2+} decoding were reported in higher plants recently. The system include the Ca^{2+} sensors CBLs and their targets CIPKs. In higher plants, the recent studies revealed that CBL-CIPK network play an important role in stresses signal transduction pathway. Based on the structure introduced, characteristics of CBL and CIPK, the recent CBL / CIPK research of different plants response to stresses were reviewed in the paper. Understanding the stress response mechanisms of CBL-CIPK will help for improving crop resistance to provide new ideas and germplasm resources.

Key words: calcineurin B-like proteins; CBL-interacting protein kinase; protein kinase; stress response

植物在生长过程中经常受到干旱、盐碱、低温等各种逆境的胁迫, 因此在长期进化过程中形成了一系列完整而复杂的逆境信号应答机制。细胞中游离 Ca^{2+} 是植物细胞信号转导最基本的第二信使, 它几乎介导植物生长发育的所有生理生化过程。在逆境胁迫条件下, 植物细胞质内 Ca^{2+} 浓度在时间和空间上都会出现特异性变化, Ca^{2+} 感应蛋白监测到细胞内 Ca^{2+} 浓度时空变化后, 把钙信号以特定方式传递从而引起细胞内一系列生物化学反应使植物适应或抵制各种逆境胁迫。CBL

(calcineurin B-like proteins) 是植物中存在的一类能够结合钙离子的小蛋白家族^[1]。研究表明 CBL 及其靶蛋白 CIPK (CBL-interacting protein kinase) 构成 CBL/CIPK 信号网络系统在植物逆境胁迫应答中起重要作用。了解和明确植物 CBL/CIPK 系统逆境应答作用机制、功能对利用基因工程方法改良作物抗逆性具有广泛的学术意义和应用价值。本文对 CBL 和 CIPK 的结构特征、逆境应答机制以及不同植物中 CBL/CIPK 信号网络系统研究现状进行了简单介绍。

收稿日期: 2011-05-24; 接受日期: 2011-06-22

基金项目: 山西省自然科学基金项目 (2011011028-2); 山西农科院博士科研启动基金项目 (YBSJJ1002) 资助。

作者简介: 赵晋锋, 助理研究员, 博士, 主要从事玉米、谷子功能基因组与分子育种研究。Tel: 0355-2204080; E-mail: zhaojf074@yahoo.com.cn。通讯作者: 余爱丽, 副教授, 博士, 主要从事植物基因工程研究。E-mail: yuailimail@126.com

1 CBL/CIPK 信号网络系统

1.1 CBL 蛋白简介

CBL 和动物中的 CNB (B subunit of calcineurin)、NCS (neuronal calcium sensor) 具有较高的序列同源性,因此被命名为 CBL^[2,3]。CNB、NCS 这些多肽可被折叠成两个球形结构域,中间有一个较短的连接区域。对于植物而言,每个 CBL 上含有四个保守性不同的 EF 手型结构。如图 1 所示,螺旋-环-螺旋是 EF 功能域的典型结构,其中的环由 12 个氨基酸组成,两边各有一个 α 螺旋,在 EF 手型结构域上 1(X),3(Y),5(Z),7(-Y),9(-X)和 12(-Z)位置上的氨基酸是结合 Ca^{2+} 必需的^[4,5]。

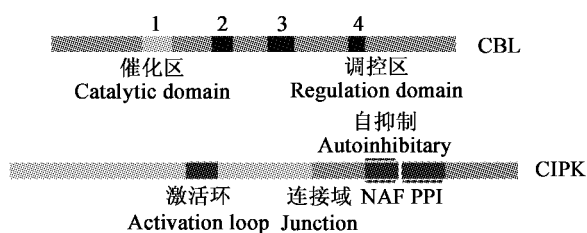


图 1 CBL 和 CIPK 结构示意图^[4]

Fig. 1 Schematic diagram of CBL and CIPK^[4].

CBL 包含 4 个 EF 手型结构(1~4)。CIPK 整体结构可分为 N 端激酶区和 C 端调控区,由中间的连接域连接;N 端激酶区内有一个激活环,C 端调控区内有两个明显功能域,一个是 NAF 结构,另一个是 PPI 结构。

The overall structure of CBLs consists of four EF-hands (1~4). The overall structure of CIPKs consists of an N-terminal kinase domain, which harbors the activation loop and a regulatory C-terminal domain, which has two interaction domains, NAF domain and PPI domain.

1.2 CIPK 蛋白简介

CBL 蛋白自身没有活性结构,其信号的传递要靠与靶蛋白 CIPK 互作进行。CIPK 是植物中特有的一类含有丝氨酸/苏氨酸功能域的蛋白激酶。CIPK 是 CBL 的下游靶蛋白,含有 N 端激酶区和 C 端调控区两个功能域。C 端调控区内有两个明显功能域,NAF 结构和 PPI (protein phosphatase interaction) 结构,它们中间有一个连接域(见图 1)。NAF 结构域由 24 个氨基酸组成,该结构是与 CBL 互作所必需的,PPI 结构域是 CIPK 与蛋白磷酸酶的作用位点^[4]。

2 CBL/CIPK 信号系统特征及其作用机制

2.1 CBL/CIPK 信号系统特征

Kolukisaoglu 等^[6]对拟南芥 10 个 CBLs 进行研究,发现只有一少部分 CBL 含有规范的 EF 手型结构,CBL1 和 CBL9 含有 2 个规范的 EF 手型结构,CBL6、CBL7 和 CBL10 只含有一个规范的手型结构,而剩余的 CBL2、CBL3、CBL4、CBL5 和 CBL8 都不含规范的 EF 手型结构。在所有拟南芥 CBL 中,N 端、C 端长度有所不同,但 EF 手型结构数目和空间结构是绝对不变的,表明 CBL 在三维结构上具有保守性^[7]。CBLs 蛋白中规范 EF 手型结构的数目和排列方式的不同,导致其对 Ca^{2+} 的亲合能力也不同,这也是有限的 CBLs 钙信号元件能对环境中众多刺激做出应答的原因。

CIPK 蛋白 N 端含有一个催化激酶结构域,该催化域含有 11 个典型的功能域,不同 CIPK 之间催化结构域相似性很高;C 端含有一个特异性很高的调控区,不同 CIPK 之间调控域相似性不高。CIPK 催化域有一个由苏氨酸残基组成的活化环,该环位于 N 端 DFG 和 C 端 APA 结构域之间^[6]。研究表明活化环中的苏氨酸突变为天门冬氨酸后,CIPK 突变为一个超活性的组成型表达酶,它的活性也不再依赖于 CBL^[8,9]。推测可能存在某种激酶也参与调控 CIPK 的活性,CIPK 可能和植物细胞中其他信号途径中的某些组分发生对话。C 端调控区的 NAF 是与 CBL 互作所必需的功能域,其结构高度保守,但其本身并不具备互作空间,因此 CIPK 基因中其他一些周围区域更有可能来承担 CIPK 与 CBL 的互作^[10]。此外 NAF 结构对激酶活性具有抑制作用,一旦缺失 NAF 结构,CIPK 也会突变为不依赖于 CBL 的具有组成性激酶活性的蛋白。研究表明 NAF 是 CIPK 与蛋白磷酸酶 2C ABI1 (ABA-insensitive1)、ABI2 (ABA-insensitive2) 互作时必需的,同时与 PPI 相互作用的 ABI 互补功能域变异程度也决定了与 CIPKs 作用的特异性^[10,11]。CBL 与 CIPK 的这些特征决定了 CBL/CIPK 系统的复杂性与多样化。

2.2 CBL/CIPK 信号系统作用机制

大多数植物信号传导过程都伴随着细胞内 Ca^{2+} 浓度变化,每一个钙信号都要被详细解译, Ca^{2+} 信号的微小变化可能是某种特异应答的主要暗示。原始信号经过一系列的中间过程最终使植物对外界刺激做出应答^[12]。CBL 和 CIPK 是 CBL/CIPK 系统中必不可少的重要成份。Liu 等^[13]用图位克隆方法得到了 *AtCBL4* (*AtSOS3*) 和 *AtCIPK24* (*AtSOS2*), 它们都对 NaCl 敏感, 接下来的遗传学研究和生化分析表明这两个蛋白质都在盐胁迫应答途径中作用并且这两个蛋白质是直接互作的。当植物受到盐胁迫时, 植物细胞内 Ca^{2+} 浓度发生变化。 *AtCBL4* 感应到胞质中游离 Ca^{2+} 变化并与之结合, 随后发生肉豆蔻酰化, 肉豆蔻酰化后的 *AtCBL4* 和 *AtCIPK24* 结合。附着在质膜

上的 *AtCBL4/AtCIPK24* 复合体经磷酸化后能激活 *NHX* (Na^+/H^+ antiporters)、*HKT* (High-affinity K^+ transporter) 和 *AtSOS1* 三个基因的表达(图 2)^[14]。*NHX* 基因编码 Na^+/H^+ 反向转运蛋白, 可以把盐胁迫下细胞内过多 Na^+ 隔离在液泡膜内, 使细胞在 Na^+ 过度水平下维持细胞膨胀, 保护了细胞质内基本的酶反应; *HKT* 是植物体内普遍存在的一类转运蛋白, 主要功能是参与 Na^+/K^+ 在植物体内的选择性转运。该通路阻止了 Na^+ 进入植物细胞, 在一定程度上减轻了毒害作用; *SOS1* 是在盐胁迫下特异表达行使离子交换器功能的基因, 能将细胞内多余的 Na^+ 运出细胞保持细胞内的盐离子平衡。SOS 系统通过三条信号途径将细胞内的 Na^+ 浓度保持在相对较低的水平, 保证了正常的细胞反应使植物在整体上表现耐盐性^[12,13]。

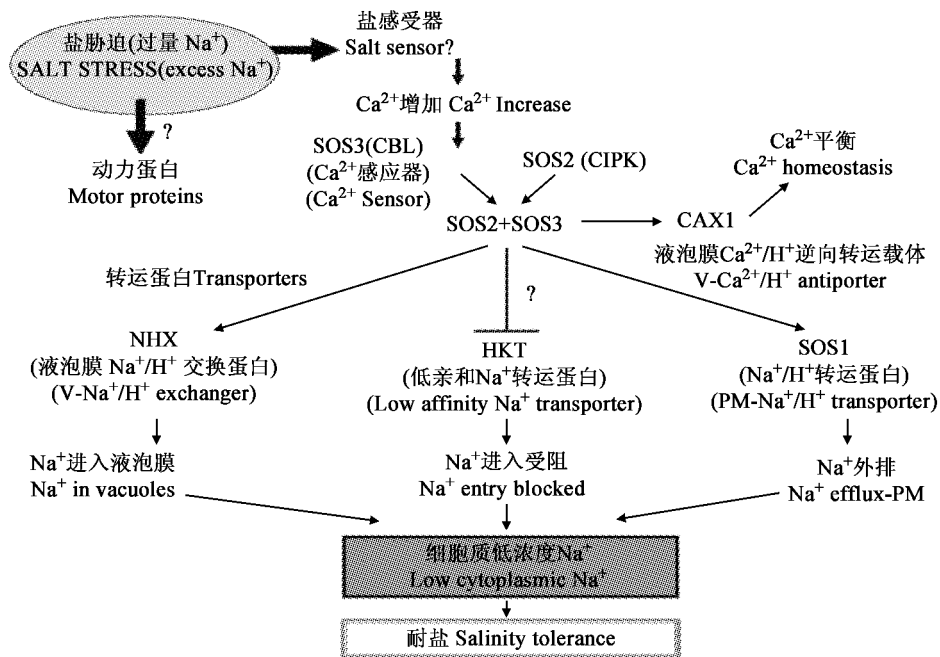


图 2 SOS 信号通路^[14]

Fig. 2 SOS signaling pathway^[14].

综上所述 CBL/CIPK 网络系统中 CBL、CIPK 蛋白活性的激活、CBL/CIPK 复合体结合蛋白磷酸酶是信号通路传递 Ca^{2+} 信号以及与靶蛋白作用和引发下游一系列酶促反应的基础, 也是 CBL/CIPK 信号系统的重要特征。

3 CBL/CIPK 网络系统与逆境应答关系

CBL 与 CIPK 是多基因家族, 到目前为止拟

南芥中发现了 10 个 *CBL* 和 25 个 *CIPK* 基因; 在水稻中至少发现了 10 个 *CBL* 和 31 个 *CIPK* 基因; 杨树中发现了 10 个 *CBL* 和 27 个 *CIPK* 基因^[6,15,16]; 而玉米中推测有 10 个 *CBL* 和 43 个 *CIPK* 基因^[17~20]。此外, 其他多种植物中都有相关报道, 在此主要对拟南芥、水稻和玉米中的研究进展进行介绍。

3.1 拟南芥中 CBL/CIPK 研究

由于模式作物拟南芥基因的插入和缺失突变

体库制备较为完备,针对每一个基因的突变体材料比较容易得到,加上拟南芥基因组较小、生育期短、研究方便等特点,因此 CBL、CIPK 的基因功能以及 CBL/CIPK 网络在逆境胁迫条件下的作用机制在模式作物拟南芥中的研究较为透彻。研究表明盐胁迫引起的 Ca^{2+} 浓度变化信号同时被 *AtCBL1* 和 *AtCBL4* 感知,这两个基因都与它们的靶蛋白 *AtCIPK24* 作用,*CBL4* 与 *AtCIPK24* 互作主要在根中起作用,而 *AtCBL1* 在整株水平上介导了对盐胁迫的应答^[21]。对 *AtCIPK1* 基因和与其互作的 *AtCBL1* 和 *AtCBL9* 基因突变体研究表明,缺失 *AtCIPK1* 和缺失 *AtCBL1* 或 *AtCBL9* 一样造成会对渗透胁迫的超敏感。*AtCBL1* 与 *AtCBL9* 都能和 *AtCIPK1* 强烈互作,*AtCIPK1/AtCBL1* 和 *AtCIPK1/AtCBL9* 复合物被定位在质膜上。*AtCIPK1* 参与调控逆境应答,并且参与了依赖于 ABA 和不依赖于 ABA 的逆境信号途径的对话^[22]。*AtCIPK23* 由 *LKS1* (Low- K^{+} -Sensitive) 编码,在缺失了 *AtCIPK23* 后,植株对 K^{+} 吸收明显降低,并且植株叶片萎蔫发黄生长受到严重抑制,而在超表达的转基因植株中对 K^{+} 的吸收明显增强,植株在低 K^{+} 条件下的耐性比对照显著增强。*AtCBL1* 和 *AtCBL9* 在功能上具有冗余互补作用,*AtCIPK23* 可以被 *AtCBL1* 或 *AtCBL9* 激活^[23]。据报道拟南芥中的 *AtCIPK3* 基因不仅受低温、干旱、ABA、高盐的诱导而且参与拟南芥幼苗对逆境的应答,在 *AtCIPK3* 突变体中种子萌发延迟,一些逆境标志基因在逆境条件下的诱导也出现了延迟现象^[24]。Pandey 等^[25] 报道在低温、高盐、甘露醇、机械损伤和低浓度 K^{+} 胁迫条件下,*AtCIPK9* 的表达水平上调,而且在 K^{+} 匮乏的情况下 *AtCIPK9* 在植株的根部与茎部表达增强,表明 *AtCIPK9* 作为一个关键应答因子在拟南芥低钾胁迫条件下对 K^{+} 的感知和利用起重要作用。秦玉芝等^[26] 以 *AtCIPK14* 的 T-DNA 插入突变体为材料,系统研究了 *AtCIPK14* 基因在不同组织与生长发育期的表达情况和 *AtCIPK14* 在胁迫应答过程中的作用,结果表明 *AtCIPK14* 基因激活 ABA 和盐胁迫应答信号途径中胁迫相关转录因子。对 *AtCIPK8* 的研究表明该基因参与了早期的硝酸盐应答反应而且其表达水平能够被硝酸盐迅速诱导,此外 Hu 等^[27] 还发现 *AtCIPK8* 参与调控了硝酸盐胁迫下初生根的生长和液泡内苹果酸盐转运蛋白的表

达。拟南芥中 CBL/CIPK 相关研究表明,CBL/CIPK 信号途径作为众多网络信号系统途径中的一个在植物对逆境应答的信号传导和应答过程中起关键作用。

3.2 水稻中 CBL/CIPK 研究

近几年,水稻中的 *CBL*、*CIPK* 基因在逆境应答中的功能研究报道也逐渐增多。对水稻中 30 个 *CIPK* 基因在不同非生物逆境下的转录水平分析表明有 20 个 *OsCIPK* 基因的表达至少被一种逆境(干旱、盐、低温、ABA 和 PEG)诱导上调。大部分被干旱和盐诱导的 *CIPK* 基因也被 ABA 诱导但却不被低温诱导。三个分别受低温、干旱和高盐强烈诱导的 *OSCIPK3*、*OSCIPK12* 和 *OSCIPK15* 基因被转入具有日本晴血源的水稻品系“中华 11”中,在三组转不同基因超表达株系中对低温,干旱和高盐的抗性均比对照有了显著的提高。并且发现在 *OsCIPK3* 和 *OsCIPK12* 转基因株系中脯氨酸和可溶性糖的含量比对照有明显增加^[28]。最近水稻中的 SOS 信号途径也被揭示,*OsSOS1* 与 *AtSOS1* 同源,具有和 *AtSOS1* 相似的作用,能够把细胞内多余的 Na^{+} 运出细胞从而保持细胞内的盐离子平衡。随后又得到了 *AtSOS2* 和 *AtSOS3* 的同源基因 *OsSOS2* 和 *OsSOS3*,并且在拟南芥中证明 *OsSOS1*、*OsSOS2* 和 *OsSOS3* 具有拟南芥中 SOS 途径相似的功能^[29]。对 *OSCIPK31::Ds* 突变体研究表明 *OSCIPK31* 参与了水稻非生物逆境胁迫下种子萌发和幼苗生长过程中的逆境应答^[15]。这些实验结论表明水稻 *CIPK* 基因参与了不同逆境胁迫下的应答反应,其中一些基因对于提高水稻的抗逆性具有广阔的应用前景。

3.3 玉米中 CBL/CIPK 研究

玉米作为全世界广为栽培的重要禾谷类作物,又是对干旱、高盐、养分缺乏和低温等逆境胁迫较为敏感的作物。逆境胁迫造成的危害一直是制约玉米高产优质的主要自然因素,但是玉米中 CBL/CIPK 相关研究比拟南芥水稻中的相对滞后,报道较少。玉米中 *ZmCBL4* 的功能类似于 *AtCBL4* 功能,它主要在植物应答盐胁迫,尤其是 LiCl 胁迫中起一定作用^[30]。*ZmCIPK16* 基因受 ABA 和多种非生物逆境胁迫的强烈诱导,在拟南芥 *sos2* 突变体中超表达该基因,发现转基因植株萌发率和幼苗耐盐性有很大提高,而且在转基因

植株中, *SOS2* 下游基因 *SOS1* 表达也被大量诱导^[1]。 *ZmCIPK3* 在甘露醇、NaCl、ABA 和 4℃ 低温条件下其转录水平在 12 h 内呈上升趋势^[31]。 *ZmCIPK31* 在正常生长条件的玉米的茎、根、幼胚、花丝、种子及叶中均有一定量的基础表达, 在花丝中的相对表达量最大, 并且受盐、冷和 PEG 的诱导表达, 而不受 ABA 和脱水处理诱导^[32]。对玉米基因组进行生物学分析推测可能有 43 个 *CIPK* 基因存在, 逆境表达分析结果表明大部分玉米 *CIPK* 基因参与了 ABA、干旱、高温、低温等逆境应答^[19,20]。拟南芥、水稻和玉米三个不同物种 *CIPK* 基因家族参数特征分析表明这三个基因家族参数特征具有很高的共线性。玉米 *CIPK* 基因系统发育进化分析表明玉米 *CIPK* 基因分成两组, 一组为少内含子 (≤ 2) 基因, 另一组为多内含子 (≥ 11) 基因, 不同 *CIPK* 家族系统发育比较分析表明 *CIPK* 基因家族分为多内含子和少内含子两个亚族的现象早在单双子叶植物分离之前就存在。单子叶和双子叶植物中 *CIPK* 基因在长期进化过程中, 部分 *CIPK* 基因扩增存在物种特异性扩增^[19]。

3.4 其他物种中 CBL/CIPK 研究

CBL、*CIPK* 基因除了在模式作物拟南芥、重要作物水稻、玉米中有较多报道外, 近几年其他物种(例如高粱、大白菜、沙冬青、豌豆、棉花)中的 *CBL* 和 *CIPK* 基因也不断被报道。李利斌等^[33,34] 用生物信息学手段对高粱和大白菜中的 *CBL* 进行预测, 分别发现了 10 个和 13 个可能的 *CBL* 基因并对其遗传进化和蛋白基序进行了系统分析。丁志强等^[35] 纯化了沙冬青 *CBL1* 蛋白并对其特性进行了研究。陈伟等^[36] 分析了甘蓝基因组得到两个 *CBL* 基因并对其结构、遗传进化和顺式元件进行了分析。豌豆中的一个 *PsCIPK* 基因和与之互作的 *PsCBL* 基因被克隆, 免疫共沉淀和酵母双杂试验证明这两个基因可以互作, 免疫荧光试验表明 *PsCBL* 被定位在胞质中而 *PsCIPK* 被定位在胞质和外膜上。此外盐、低温、机械损伤、 Ca^{2+} 和水杨酸处理都可以使这两个基因转录水平提高, 但对于干旱和 ABA 处理其表达却不明显^[37]。夏新莉等^[38] 研究了胡杨中的 *CBLs* 基因在不同非生物逆境下的转录水平, 结果表明 *PeCBL1*、2、3、4、5、9 和 *PeCBL10* 在相应的外界刺

激与胁迫应答中起了很重要的作用。夏桂先等^[39] 从陆地棉中鉴定了 4 个 *CBL* 基因, 其中 *GhCBL2* 和 *GhCBL3* 在棉纤维伸长细胞中有较强的表达, 通过酵母双杂试验, 与 *GhCBL2* 和 *GhCBL3* 互作的 *GhCIPK1* 也被鉴定和克隆, 他们的结果表明 *CBL/CIPK* 信号系统在调节棉纤维的伸长方面起了很重要的作用。

以上研究结果表明 *CBL/CIPK* 网络系统在植物对于旱、高盐、ABA、低温、高温等非生物逆境应答以及植物的生长发育等信号转导过程中起重要作用。通过对 *CBL*、*CIPK* 基因功能的深入研究了解植物 *CBL-CIPK* 系统逆境应答作用机制可为改良作物抗逆性提供新的思路和后备基因, 对于基因工程方法改良作物抗逆性具有重要应用价值与理论意义。

4 展望

综上所述, *CBL/CIPK* 互作模式不同于已有的逆境应答模式, 它在植物对非生物逆境的应答过程中起重要作用。 *CBL/CIPK* 信号系统在植物中应答逆境胁迫的机制实质上是通过 *CBLs* 和 *CIPKs* 复合体传递逆境 Ca^{2+} 信号的过程。本质上就是把环境刺激引起的 Ca^{2+} 信号变化传递到终端, 从而引起下游一系列胁迫响应基因的表达变化适应胁迫平衡, 使植物在整体上表现出对环境刺激的应对。

尽管目前对 *CBLs/CIPKs* 已做了很多详尽的研究, 但是众多 *CBLs*、*CIPKs* 体外功能依然扑朔迷离。现有研究表明 *CBL/CIPK* 互作而构成的转导 Ca^{2+} 信号的调控体系是非常复杂的, 由于 *CBL* 和 *CIPK* 都是以基因家族形式存在, *CBL* 和 *CIPK* 基因家族的成员彼此之间有较高的同源性, 所以同一个 *CBL* 可能和一个或几个 *CIPK* 作用; 同样, 同一个 *CIPK* 也可能和一个或几个 *CBL* 基因作用(图 3)。不同的 *CBL/CIPK* 之间的互作可以是协调的互相促进作用, 也可以是相反的抑制作用^[12]。另外, *CDPK* 或 *MAPK* 也是植物体内存在的其他 Ca^{2+} 信号途径。研究表明这些 Ca^{2+} 信号途径和 *CBL/CIPK* 信号系统也会发生交叉^[9]。因此要更清楚地理解这样复杂的调控通路, 只能依赖于对更多的 *CBL* 和 *CIPK* 基因功能的解析。今后运用反向遗传学方法对这两个蛋白质家族突变

体成员的研究会让 CBL/CIPK 系统作用模式清晰地呈现。因此应把研究重点放在植物对逆境应答而引起的钙信号途径上,但不能全部集中在某单一模式上,而应把各种信号模式整合在一起进行

系统研究,比如 CBL/CIPK、CDPKs、双组分系统、MAPK 级链系统等,只有把这些系统有机的整合在一起进行研究,才能更清楚地阐述植物对非生物逆境的应答机制。

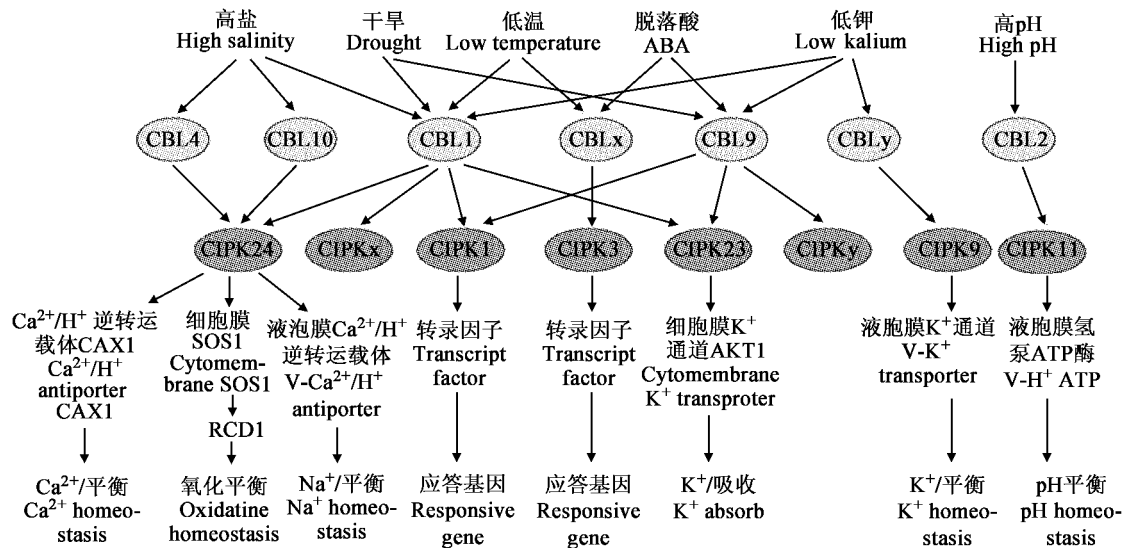


图3 拟南芥 CBL-CIPK 逆境信号应答途径^[40]

Fig. 3 Arabidopsis CBL-CIPK stress signal response pathway^[40].

CBLx 代表和 CIPK3 互作但未确定的 CBL 基因, CBLy 代表和 CIPK9 互作但未确定的 CBL 基因, CIPKx 代表和 CBL1 互作但未确定的 CIPK 基因, CIPKy 代表和 CBL9 互作但未确定的 CIPK 基因。

CBLx represents undetermined CBL gene interacts with CIPK3; CBLy represents undetermined CBL gene interact with CIPK9; CIPKx represents undetermined CIPK gene interact with CBL1; CIPKy represents undetermined CIPK gene interact with CBL9.

基因工程改良作物抗逆性的基本方法是转化抗逆性密切相关的关键基因,目前其瓶颈是缺少与植物抗逆性关键基因。研究表明 CBL/CIPK 信号系统作为植物逆境胁迫响应的关键途径参与并调控多种逆境胁迫响应,因此 CBL/CIPK 信号系统可以作为基因工程方法改良作物抗逆性的基因来源,并且很容易与分子设计育种相结合实现定向、高效、多种抗逆性聚合育种。所以明确植物响应逆境胁迫的分子机制,分析鉴定植物 CBL/CIPK 信号系统中每个成员在逆境应答中的功能,发掘与植物逆境应答的关键 CBL/CIPK 基因在植物抗逆性改良方面具有广阔的应用前景。

参 考 文 献

[1] Zhao J F, Sun Z F, Zheng J, et al. Cloning and characterization of a novel CBL-interacting protein kinase from maize[J]. Plant Mol. Biol., 2009, 69:661-674.
 [2] Zhu J K, Liu J, Xiong L. Genetic analysis of salt tolerance in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 1998, 10:1181-1191
 [3] Kudla J, Xu Q, Harter K, et al. Genes for calcineurin B-like

proteins in Arabidopsis are differentially regulated by stress signals[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1999, 96:4718-4723.

- [4] Batistic O, Kudla J. Plant calcineurin B-like proteins and their interacting protein kinases [J]. Biochim. Biophys. Acta, 2009, 1793:985-992.
 [5] Lewit B A, Rety S. EF-hand calcium-binding proteins [J]. Curr. Opin. Struct. Biol., 2000, 10:637-643.
 [6] Kolukisaoglu U, Weint S, Blazevic D, et al. Calcium sensors and their interacting protein kinases: Genomics of the Arabidopsis and rice CBL-CIPK signaling networks[J]. Plant Physiol., 2004, 134:43-58.
 [7] Waadt R, Schmid L, Hashimoto K, et al. Multicolor bimolecular fluorescence complementation reveals simultaneous formation of alternative CBL/CIPK complexes in planta [J]. Plant J., 2008, 56:505-516.
 [8] 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, 13:1383-1400.
 [9] 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, 130:256-264.
 [10] Kudla J, Batistic O. Integration and channeling of calcium

- signaling through the CBL calcium sensor/CIPK protein kinase network[J]. *Planta*, 2004, 219:915-924.
- [11] Halfter U, Ishitani M, Zhu J K. The *Arabidopsis* SOS2 protein kinase physically interacts with and is activated by the calcium-binding protein SOS3 [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97:3735-3740.
- [12] Luan S, Kudla J, Rodriguez-Concepcion M, et al. Calmodulins and calcineurin B-like proteins: calcium sensors for specific signal response coupling in plants[J]. *Plant Cell*, 2002, 14 (Suppl):389-400.
- [13] Liu J, Zhu J K. A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance [J]. *Science*, 1998, 280:1943-1945.
- [14] Mahajan S, Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: an overview [J]. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2005, 444:139-158.
- [15] Piao H L, Xuan Y H, Park S H, et al. OsCIPK31, a CBL-interacting protein kinase is involved in germination and seedling growth under abiotic stress conditions in rice plants[J]. *Mol. Cells*, 2010, 30:19-27.
- [16] Yu Y H, Xia X L, Yin W L, et al. Comparative genomic analysis of CIPK gene family in *Arabidopsis* and *Populus*[J]. *Plant Growth Regul.*, 2007, 52:101-110.
- [17] 郭喜英. 植物 CBLs 基因家族的进化与表达分析及玉米部分 CBL 基因的功能初探[D]. 北京: 中国农业大学, 硕士学位论文, 2007.
- [18] 李利斌, 刘开昌, 王殿峰. 玉米 CBL 基因的生物信息学分析[J]. *玉米科学*, 2010, 18(1):6-11.
- [19] 赵晋锋. 玉米 CIPK 基因家族进化分析及 CIPK23 基因功能初步研究[D]. 北京: 中国农业大学, 博士学位论文, 2009.
- [20] Chen X F, Gu Z M, Xin D D, et al. Identification and characterization of putative CIPK genes in maize[J]. *J. Genet. Gen.*, 2011, 38:77-87.
- [21] Liu J, Ishitani M, Halfter U, et al. The *Arabidopsis thaliana* SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97:3730-3734.
- [22] D'Angelo C, Weint S, Batistic O, et al. Alternative complex formation of the Ca²⁺-regulated protein kinase CIPK1 controls abscisic acid dependent and independent stress responses in *Arabidopsis*[J]. *Plant J.*, 2006, 48:857-872.
- [23] 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, 125:1347-1360.
- [24] Kim K N, Cheong Y H, Grant J J, et al. CIPK3, a calcium sensor-associated protein kinase that regulates abscisic acid and cold signal transduction in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2003, 15:411-423.
- [25] Pandey G K, Cheong Y H, Kim B G, et al. CIPK9: a calcium sensor-interacting protein kinase required for low-potassium tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Cell Res.*, 2007, 17:411-421.
- [26] 秦玉芝, 李旭, 郭明, 等. 钙传感蛋白互作激酶 CIPK14 参与拟南芥盐和 ABA 胁迫应答调节[J]. *中国科学(C 辑)*, 2008, 38(5):446-457.
- [27] Hu H C, Wang Y Y, Tsay Y F. AtCIPK8, a CBL-interacting protein kinase, regulates the low-affinity phase of the primary nitrate response[J]. *Plant J.*, 2009, 57:264-278.
- [28] Xiang Y, Huang Y, Xiong L Z. Characterization of stress-responsive CIPK genes in rice for stress tolerance improvement [J]. *Plant Physiol.*, 2007, 144:1416-1428.
- [29] Martínez A J, Jiang X, Garciadeblas B, et al. Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice[J]. *Plant Physiol.*, 2007, 143:1001-1012.
- [30] Wang M Y, Gu D, Liu T S, et al. Overexpression of a putative maize calcineurin B-like protein in *Arabidopsis* confers salt tolerance[J]. *Plant Mol. Biol.*, 2007, 65:733-746.
- [31] 边鸣镛, 李文亮, 郭庆勋. 非生物胁迫诱导的玉米蛋白激酶基因 *ZmCIPK3* 的 cDNA 克隆和表达特性[J]. *玉米科学*, 2008, 16(6):52-57.
- [32] 张成伟. 玉米 *ZmCIPK31* 基因的克隆与功能分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 博士学位论文, 2009.
- [33] 李利斌, 刘开昌, 王殿峰, 等. 高粱 CBL 家族基因的鉴定和初步分析[J]. *山东农业科学*, 2009, 6:1-5.
- [34] 李利斌, 刘开昌, 王殿峰, 等. 大白菜 CBL 家族基因的鉴定和遗传进化分析[J]. *山东农业科学*, 2009, 5:4-7, 11.
- [35] 丁志强, 尚桂军, 李娜, 等. 沙冬青 CBL1 蛋白纯化及性质研究[J]. *中国生物工程杂志*, 2011, 31(2):23-29.
- [36] 陈伟, 范华, 刘贤娟, 等. 两个甘蓝 CBL 基因的基因组解析[J]. *山东农业科学*, 2011, 3:8-10.
- [37] Mahajan S, Sopory S K, Tuteja N. Cloning and characterization of CBL-CIPK signaling components from a legume (*Pisum sativum*) [J]. *FEBS J.*, 2006, 273:907-925.
- [38] Zhang H C, Yin W L, Xia X L. Calcineurin B-Like family in *Populus*: comparative genome analysis and expression pattern under cold, drought and salt stress treatment[J]. *Plant Growth Regul.*, 2008, 56:129-140.
- [39] Gao P, Zhao P M, Wang J, et al. Co-expression and preferential interaction between two calcineurin B-like proteins and a CBL-interacting protein kinase from cotton[J]. *Plant Physiol. Biochem.*, 2008, 46(10):935-940.
- [40] 张俊文, 魏建华, 王宏芝, 等. CBL-CIPK 信号系统在植物应答逆境胁迫中的作用与机制[J]. *自然科学进展*, 2008, 18(8):841-846.