آبشارهای پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن در سیگنالینگ و تکامل رشد گیاه

فاطمه پژم (نویسنده مسئول) [۱*] و طاهره میراخورلی [۲]

۱*- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده کشاورزی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران،
pezhamf@gmail.com

۲- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده کشاورزی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران، t_mirakhorli@yahoo.com

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۶

Mitogen-activated protein kinase cascades in signaling plant growth and development

Fatemeh Pezham (Correspondinga author)[1*] and Tahereh Mirakhorli[2]

1- Ph.D Student, Biology Department, Agriculture college, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, pezhamf@gmail.com*

2- Ph.D Student, Biology Department, Agriculture college, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, t_mirakhorli@yahoo.com

Received: June 2017 *Accepted: July 2017*

چکیده

آبشارهای پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK)، سیگنالینگ فراگیری در یوکاریوت ها هستند. تحقیقات اولیهٔ انجام شده روی MAPK های گیاهی، بر عملکرد آنها در پاسخ‌های ایمنی و تنش متمرکز شدند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که MAPK ها در رشد و توسعهٔ گیاهان در پایین دستِ پروتئین کینازهای گیرنده- مانند (RLK ها)، نقش مهمی ایفا می‌کنند. تنها در تعداد محدودی از اجزای MAPK، مسیرهای عملکردی چندگانه‌ای که از گیرنده‌های مختلف آغاز می‌شوند، اغلب اجزای MAPK مشترک و یا حتی یک آبشار MAPK کامل دارند. در این مقاله مروری، به بحث در مورد این موضوع پرداخته می‌شود که چگونه آبشارهای MAPK بعنوان سوئیچ‌های مولکولی در واکنش به تعاملاتِ خاصِ زمان فضایِ لیگاند- گیرنده و دسترس پذیریِ بسترهای پایین دست عمل می‌کنند. بعلاوه، در مورد دیگر مکانیزم های احتمالیِ مربوط به ویژگی عملکردیِ آبشارهای MAPK گیاه نیز بحث می‌گردد.

کلمات کلیدی: آبشارهای پروتئین کیناز، آرابیدوپسیس، مپ کیناز

Abstract

Mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascades are ubiquitous signaling modules in eukaryotes. Early research of plant MAPKs has been focused on their functions in immunity and stress responses. Recent studies reveal that they also play essential roles in plant growth and development downstream of receptor-like protein kinases (RLKs). With only a limited number of MAPK components, multiple functional pathways initiated from different receptors often share the same MAPK components or even a complete MAPK cascade. In this review, we discuss how MAPK cascades function as molecular switches in response to spatiotemporalspecific ligand–receptor interactions and the availability of downstream substrates. In addition, we discuss other possible mechanisms governing the functional specificity of plant MAPK cascades, a question central to our understanding of MAPK functions.

Keywords: Arabidopsis, MAPK, Protein kinase cascades

فصلنامه زیست شناسی سلولی و مولکولی گیاهی
سال ۱۳۹۶، دوره ۱۲، شماره ۱، صص ۵۲-۴۳

مقدمه و کلیات

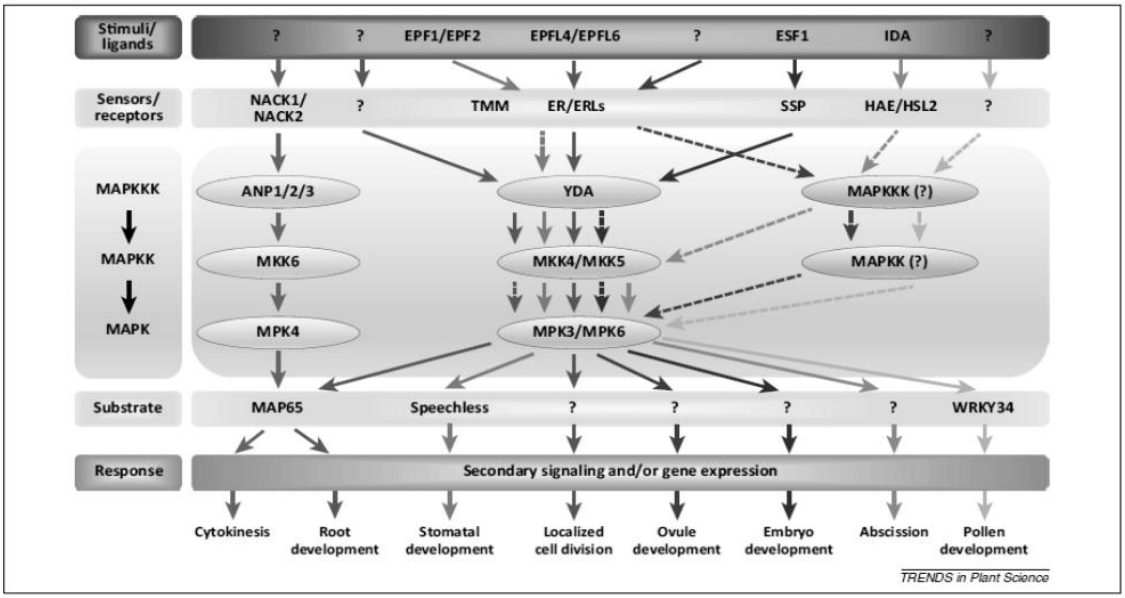
رشد و نمو گیاه نیازمندِ وجودِ هماهنگی دقیق بین سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها است. در یوکاریوت ها، ارتباطاتِ سلولی- سلولی و سلولی- محیطی، اغلب گیرنده‌های سطح سلولی را شامل می‌شود. اتصال گیرندهٔ لیگاندها و یا حساسیت محرک، باعث فسفوریلاسیون پروتئین می‌شود. لازم به ذکر است که فسفوریلاسیون پروتئین، یک مکانیسم سیگنالینگ جهانی می‌باشد که تقریباً در تمام فرآیندهای سلولی پایه، دخیل است. گیاهان، خانواده‌های RLK ها را با بیش از ۶۰۰ عضو در آرابیدوپسیس تالیانا گسترش داده‌اند. به اثبات رسیده است که بسیاری از آنها نقش مهمی در رشد و تکامل گیاهان ایفا می‌کنند. این مطالعهٔ مروری، بر یافته‌های اخیر مبنی بر نقش آبشارهای MAPK به عنوان سیگنالینگِ اصلیِ پایین دست RLK ها در تنظیم انواع فرآیندهای رشدی و تکاملی گیاه تاکید می‌کند. مکانیزم های حاکم بر ویژگی‌های سیگنالی آبشارهای MAPK نیز مورد بحث قرار می‌گیرد. این پژوهش با هدف بررسی آبشارهای MAPK بعنوان سوئیچ‌های مولکولی در واکنش به تعاملاتِ خاصِ زمان فضایِ لیگاند- گیرنده و دسترس پذیریِ بسترهای پایین دست انجام شد.

آبشارهای MAPK گیاه: آبشارهای MAPK، سیگنالینگ بسیار محافظت شده در یوکاریوت ها هستند. هر آبشار MAPK، از مجموعه‌ای از سه پروتئین کینازِ تشکیل شده است که به صورت متوالی عمل می‌کنند. یک MAPK (MPK) فسفریل شده و در نتیجه، با کیناز MAPK بالادست خود، فعال می‌شود (MAPKK، MKK، یا MEK). فعالیت MAPKK، به واسطهٔ فسفوریلاسیون، با بالاترین عضو تنظیم می‌شود. و کیناز MAPKK (MAPKKK یا MEKK)، به صورت مستقیم یا غیرمستقیم، سیگنال را از گیرنده‌ها/سنسورها دریافت می‌کند. در آرابیدوپسیس، MAPK۲۰ ، ۱۰ MAPK و تقریباً MAPKKK۶۰ مفروض، وجود دارد. در میانِ ۶۰ MAPKKK مفروض، ۱۲ مورد، متعلق به زیر گروه MEKK و بقیه متعلق به زیرگروه CTR1 می‌باشند. شواهد بیوشیمیایی و ژنتیکی حاکی از آن است که حداقل برخی از ۱۲ عضو MEKK، MAPKKK های صحیحی هستند. در مقابل، به اثبات رسید که دو نمونه اولیهٔ گروه CTR1، یعنی CTR1 و EDR1، از طریق مکانیسم‌های دیگر عمل می‌کنند. مطالعات اولیه روی MAPK های گیاهی، بر سه MAPK آرابیدوپسیس (یعنی MPK3، MPK6 و MPK4) و ارتولوگ های آن‌ها در سایر گونه‌های گیاهی متمرکز شدند؛ زیرا می‌توان فعالیت آنها را به راحتی با استفاده از آزمون‌های فعالیت کیناز در طول پاسخ ایمنی و تنشی گیاه، شناسایی کرد. مطالعات ژنتیکی معکوس، همراه با نجات شرطی، بسیاری از عملکردهای کلیدی اجزای MAPK رشد و توسعهٔ گیاه را نشان داده‌اند (شکل ۱). همچنین، چندین آبشار کامل MAPK نیز تثبیت شده است.

آبشارهای MAPK در رشد و نمو گیاهان: آبشارهای MAPK در تقریباً همه جنبه‌های رشد و توسعه گیاه، از جمله گامتوژنسیس، جنین زایی، مورفوژنز، پیری، ریزش، لقاح، و تشکیل دانه دخیل هستند (جدول ۱). آن‌ها هم در تکثیر سلولی و هم در تمایز سلولی، که هر دو از فرآیندهای کلیدی در رشد و توسعه یک ارگانیسم محسوب می‌شوند، نقشی کلیدی ایفا می‌کنند. بعلاوه، چند پروتئین فسفاتاز در تنظیم منفی فعالیتِ MAPK دخیل هستند (جدول ۱).

MAPK ها در تقسیم سلولی گیاهی: یک آبشار MAPK متشکل از NPK1-NQK1-NRK1، نقشی اساسی در سیتوکینز گیاهی در نیکوتیانا تاچاکوم ایفا می‌کند. از طریق اتصال NACK1/NACK2، که دو پروتئینِ کیناز- مانند در استوای فراگموپلاست هستند،NPK1(که یک MAPKKK است) در اواخر مرحله M چرخه سلولی، به منظور هماهنگ کردنِ تشکیلِ صفحه سلولی، فعال می‌شود. به طور مشابه، ANP1/ANP2/ANP3 که سه آرتولوگ مرتبطِ NPK1 در آرابیدوپسیس هستند، نیز در بافت‌های دارایِ تقسیم سلولی فعال، بیان می‌شوند و در سیتوکینز در پایین دستِ MKK6/ANQ1 و MPK4 دخیل هستند. یکی دیگر از آبشارهای کامل MAPK در آرابیدوپسیس، که متشکل از YODA(YDA)، یک MAPKKK)، MKK4/MKK5 و MPK3/MPK6 است، با ارتقاء تکثیر سلولیِ موضعی در پایین دستِ خانوادهٔ ERECTA (ER) متعلق به RLK ها، نقش مهمی در تنظیم مهندسیِ گل آذین ایفا می‌کند. از بین رفتنِ عملکرد در هر سطح از سیگنالینگ مسیر، به رویش ساقه‌های کوتاه و گل آذین خوشه‌ای منجر می‌شود؛ این نتیجه، حاصلِ کاهش تقسیم سلولی موضعی می‌باشد. اخیراً مشخص شده است که YDA و MPK6، جهت گیری تقسیم سلولی و سیتوکینز در ریشه‌های اولیه و جانبی آرابیدوپسیس را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

MAPK ها در تمایز و توسعه سلولی: تقسیم سلولی نامتقارن، یک مکانیزمِ تمایز سلولی مهم برای تولید الگوها و اجدادهای سلولی جدید می‌باشد. YDA نقشهای مهمی در تنظیمِ تمایز سلولی در جنین زودرس و شکل گیری روزنه‌ای ایفا می‌کند. زیگوت های هومیوزیک فاقد موتانت yda، به دلیل تقسیم سلولی نامتقارن غیرطبیعی، قادر به تمایز دادنِ یک سوسپانسور نیستند. بعلاوه، گیاهان Yda، دارای تقسیم سلولی نامتقارن غیرطبیعی در طی توسعه اپیدرمی هستند، که این امر، باعث ایجادِ اختلال در قاعدهٔ فاصله بندی تک سلولی در الگوی روزنه‌ای و شکل گیریِ روزنهٔ خوشه‌ای می‌شود. بیان ΔN-YDA، که یک YDA فعال سازنده بدونِ ترمینوس است، منجر به رشد خارق العادهٔ سوسپانسور، سرکوب رشد جنین، و مهار تشکیل روزنه می‌شود. زیگوت های هوموزیگوسِ mpk6 mpk3 دارای موتانت های دوگانه، یک تقسیم سلولیِ غیرطبیعی را به نمایش می‌گذارند؛ یک فنوتیپ شبیه به موتانت yda، نشان می‌دهد که در جنین زایی، MPK3/MPK6 نیز می‌تواند در پایین دستِ YDA عمل کند.



شکل ۱: نمودار نشان دهندهٔ کیناز پروتئین‌های MPK3، MPK6 و MPK4 فعال شده با میتوژن در آرابیدوپسیس

Fig 1: A diagram depicting the functions of Arabidopsis mitogen-activated protein kinases (MAPK) MPK3, MPK6, and MPK4.

MAPK ها در بـاز- زایـشِ گیـاهی: MAPK هـا علاوه بر نقش مهـم خـود در جنـین زایـی، در دیگـر مراحل باززایشِ گیاهی از جملـه رشـد اوول، تکامـل گرده، روش لوله گرده، و رشد دانه نیـز نقـش مهمـی ایفا می‌کنند. ساختار زیرسلولی و یا تقسیم سلولی غیر طبیعی، علـتِ برخـی از فنوتیپهـای موتانـت، از قبیـلِ غشاء پلاسمایی مختل شده و ساختار واکوئل- مانندِ غیرطبیعـی در گـرده map3ke2 map3ke1، رشـد غیرطبیعی با تقسـیم سـلولی محبـوس شـده در اوول های mpk6 +/ mpk3 و سیتوکینز می‌وزی غیرطبیعـیِ گـرده mpk4، مـی‌باشـد. وجـود MPK3 و MPK6 مربوط به آرابیدوپسیس، نیز برای لوله گـرده گیاهچـه مورد نیاز مـی‌باشـد. گـرده موتانـت دو گانـهٔ mpk3 mpk6، از رشـد لولـه گـرده و میکـروپیلار طبیعـی برخوردار است، اما اخلال در لولـه گـردهٔ فونیکـولار حـاکی از آن اسـت کـه MPK3/MPK6 در مسـیر سیگنالینگی عمل می‌کند که بطور خاص درگیر ارتباط بین لوله‌های گرده و فونیکولی است.

MAPK ها در پیری برگ و ریزش اندامهای گیـاه: پیریِ برگ گیاه، یک فرایند مهم رشـدی در انتقـال از مرحلهٔ رویشی به زایشی محسوب می‌شـود. MKK9-MPK6، در تنظیم رونـدِ پیـری بـرگ، دخیـل اسـت. پیری در برگهای جدا شده از گیاهـانِ موتانـت mkk9 یـا mpk6، بـه تعویـق مـی افتـد؛ در حالیکـه فرابیـانِ MKK9، باعث پیری زودرس برگی مـی‌شـود کـه در زمینهٔ mpk6 سرکوب شده است. براساس ایـن یافتـه کـه فعالسـازی MPK3/MPK6 بـا MKK9، بیوسـنتز اتیلن را موجب می‌شود، پیری برگِ ناشی از MKK9-MPK6 را می‌توان به عملکرد آن در ایجادِ اتیلن ربـط داد. همچنین گزارش شده است که MEKK1، عضـو MAPKKK بوده و از یـک زیرگـروه A1 اسـت کـه می‌تواند با هدف قـرار دادن مسـتقیمِ ناحیـهٔ پروموتر WRKY53 – که فاکتورِ رونویسی مهمی در رابطه بـا پیری محسوب می‌گـردد–، بـه عنـوان یـک پـروتئینِ اتصـال DNA بـرای تنظـیم پیـری بـرگ عمـل کنـد. ریزش، یک فرایند رشدی است که منجـر بـه ریخـتن فعالِ اندام‌هـای آلـوده و یـا غیرکـارکردیِ بدنـهٔ گیـاه

می‌شود. سرکوب RNAi حاصل از MKK4 و MKK5 و یا سرکوب منفی غالبِ MPK6 در یک زمینهٔ موتانت mpk3، ریزش گلبرگ گل در آرابیدوپسیس را مهار می‌کند. در گیاهانِ سرکوب شده با -MAPKK یا -MAPK، منطقه ریزش در پایهٔ گلبرگ گل، طبیعی است، اما جدایی برنامه ریزی شدهٔ سلول‌ها در منطقه ریزش، روی نمی‌دهد. لازم به ذکر است که جدایی برنامه ریزی شدهٔ سلول‌ها در منطقه ریزش، علیرغم فرایند پیری طبیعی، باعث ماندنِ گلبرگ گل در نهنج می‌شود.

عملکرد آبشارهای MPK3/MPK6 در پایین دست RLK ها و لیگاندهای آنها: اگر چه سنسورها/گیرنده‌های مسئولِ فعالسازیِ اکثر MAPK های گیاهی، ناشناخته هستند، اما به اثبات رسیده که تعدادی از RLK ها، در بالادست MPK3 و MPK6 عمل می‌کنند. در ایمنی گیاه، MPK3 و MPK6، بوسیلهٔ گیرنده‌های تشخیص الگو ازجمله FLS2 (*Flagellin Sensitive 2*) و EFR (*Elongation Factor Tu Receptor*) فعال سازی می‌شوند. جالب توجه است که مشخص شده تعداد فزایندهٔ ای از RLK های دخیل در رشد و توسعهٔ گیاه، از طریق MPK3 و MPK6 عمل می‌کنند (شکل ۱).

جفت لیگاند- گیرندهٔ IDA–HAE/HSL2: هم RLKها و هم MAPK ها، در رشد گیاه نقش دارند. اولین گزارشِ حاکی از حضور هر دوی آنها در مسیر سیگنالینگ، درپژوهش روی ریزش اندامهای گلِ آرابیدوپسیس، حاصل شد. HAESA (HAE) که یکی از اولین RLK های آرابیدوپسیسِ شناسایی شده، بود، در مناطق ریزش اندامهای گل، بیان شد. سرکوب آنتی سنسِ HAE، باعث ریزش اندامهای معیوبِ گل می‌شود. تحلیلِ موتانت حاکی از آن است که HAESA-like2 (HSL2)، همراه با HAE، در این روند، فعالیت دارد. IDA (*Inflorescence Deficient in Abscission*)، یک پروتئین کوچک با یک پپتید سیگنالِ ترمینال N را کدگذاری کرده و احتمالاً به عنوان لیگاندِ HAE/HSL2 RLKs در فعال کردنِ ریزش، عمل می‌کند. فقدانِ عملکرد MKK4/MKK5 یا MPK3/MPK6 به ایجادِ همان فنوتیپی در ریزش، می‌انجامد که در موتانت های hae hsl2 یا ida موجود است. به علاوه، تحلیلِ اپیستاتیک، حاکی از آن است که MKK4/MKK5-MPK3/MPK6 در پایین دستِ HAE/HSL2 و IDA عمل می‌کند. بیانِ MKKهای فعال، فنوتیپِ معیوبِ ریزشیِ موتانت hae hsl2 یا ida را نجات می‌دهد. بعلاوه، در گیاهانِ hae hsl2 و ida، فعالیت MAPK در نهنج کاهش می‌یابد.

جفت گیرنده- لیگاند EPFL4/EPFL6–ER: ER یکی از اولین RLK های دخیل در رشد گیاه می‌باشد که نقش مهمی در فعالسازیِ تکثیر سلولِ موضعی ایفا می‌کند و مهندسی گل آذین، شکل اندام، و اندازه آن را تعیین می‌کند. درست همانندِ یک موتانت er، فقدانِ عملکرد MPK3/MPK6 و یا MAPKK های بالادست آنها، یعنی MKK4/MKK5، به کوتاه شدنِ ساقه و گل آذین خوشه‌ای منجر می‌شود. تحلیلِ اپیستاتیک نشان می‌دهد که افزایش عملکرد ترانس ژنهای MKK4 و MKK5 می‌تواند فنوتیپ های موتانت er را نجات دهد؛ به این ترتیب شواهدی ژنتیکی مبنی بر این موضوع ارائه می‌دهد که MPK6 /MKK4/MKK5-MPK3، پایین دست گیرندهٔ ER است. بعلاوه، YDA بر اساسِ بدست آوردن کاربری و از دست دادن کاربری، در بالادست MKK4/MKK5 و پایین دست ER، در تنظیم مهندسی گل آذین عمل می‌کند. همچنین ER، دارای

دو همولوگ کاملاً مرتبط، یعنی ER-Like 1(ERL1) و ERL2 می‌باشد که تاحدی مازاد هستند. اخیراً، دو پپتیدِ ترشح شده به نام‌های EPFL4 و EPFL6 به عنوان مؤلفه‌های بالادستِ مازادِ رشدِ گل آذینِ با واسطهٔ ER، شناسایی شده‌اند که احتمالاً به عنوان لیگاند در فرایند سیگنالینگ عمل می‌کنند. احتمال دارد که لیگاندهای حاصل از سلولهای منبع، با گیرنده‌های خانوادهٔ ER در سطح سلولیِ سلولهای اطراف، سِنس شوند. تکثیر سلولی، از طریق روند سیگنالینگ درون سلولی با واسطهٔ آبشارِ MPK3/MPK6، در موضعی سازیِ یک راه برای کنترل مورفوژنزِ اندام، هماهنگ می‌شود.

جفت گیرنده- لیگاند –EPF1/EPF2 ER/ERL1/ERL2: موتانت های موجود در ژنهای کدکنندهٔ TMM(پروتئین رسپتورهای غنی از لوسین)، تراکم روزنه‌ای و توزیع ۱(یک پروتئاز سرینی)، و ER/ERL1/ERL2، همگی الگودهیِ روزنه‌ای را مختل می‌کنند و روزنهٔ خوشه بندی شده را منجر می‌شوند. مطرح شده است که لیگاندهای ناشناختهٔ پردازش شده با SDD1 به گیرنده‌های TMM/ER/ERL1/ERL2 درسلولهای هدف، متصل می‌شوند. درنتیجه، آبشارِ YDA–MKK4/MKK5– MPK3/MPK6 فعال شده و مانع از نمو روزنه می‌شود. با انجام مطالعات اخیر، EPF1 و EPF2 به عنوان لیگاندهای پپتیدیِ گیرنده‌های خانواده ER در تعیین الگودهیِ روزنه‌ای، شناسایی شده‌اند. در حال حاضر، مشخص نیست که آیا SDD1، در پردازش این لیگاندها دخیل می‌باشد یا خیر. مطالعاتِ بیوشیمی حاکی از آن است که EPF1 و EPF2 می‌توانند MPK6 را فعال کنند، که این امر، به فسفوریلاسیون و بی ثباتی SPCH و کاهشِ متعاقبِ سلول‌های اجداد روزنه‌ای، منجر می‌شود.

جفت گیرنده- لیگاندِ ESF1–SSP: در جنین گیاه، هم YDA و هم MPK3/MPK6 در ایجاد یک بنیانگذاری محور پایه‌ای- رأسی دخیل هستند. با انجامِ غربال گریهای ژنتیکی، مشخص شده است که SSP (Short Suspensor)، یک RLK، و ESF1 (Embryo Surrounding Factor 1) که یک پپتید کوچکِ غنی از سیستئین می‌باشد، در راستایِ تنظیم اجداد سلول پایه‌ای زیگوتی و الگودهیِ پیش جنینی در آرابیدوپسیس، در این مسیر عمل می‌کنند. تحلیل‌های بیوشیمی، ساختاری، و ژنتیکی نشان می‌دهد که لیگاند بالغِ ESF1، از کلیواژِ پروپپتیدهای ESF1 بدست آمده و همراه با SSP RLK، تحریک بلندشدن سوسپانسور را از طریق YDA بهبود می‌بخشد.

سوب استراتهای MAPK در رشد و تکامل گیاه: غربالگرهای مخمر دوهیبریدی، آرایه‌های پروتئینی با توان عملیاتی بالا، و فسفوپروتئومیکس ها، سوب استرات های MAPK مفروض بسیاری را شناسایی کرده‌اند. با این حال، تنها تعداد انگشت شماری از سوب استرات های MAPK، با شواهد کاربردی پشتیبانی می‌شوند که سه مورد از آنها، نقش مهمی در رشد و تکامل گیاه ایفا می‌کنند. پروتئین ۶۵ وابسته به میکروتیوبول (MAP65)، که یک پروتئینِ میانی ضروری برای پایداری دوک آنافازی، در طول سیتوکینز محسوب می‌گردد، مورد هدفِ آبشارِ توتونِ NPK1–NQK1– NRK1 و مسیر آرابیدوپسیس ارتولوگِ آن قرار می‌گیرد. فسفوریلاسیون Nrk ایزوفرم MAP65-1 توتون در Thr-579 در دامنهٔ اتصالِ میکروتوبول، تمایلِ MAP65-1 برای

میکروتوبول را کاهش می‌دهد؛ این موضوع، به نوبه خود، به بی ثباتی و جابجاییِ میکروتوبول ها در خط استوایی فراگموپلاسم (اکواتور فراگموپلاسم) منجر شده و درنتیجه گسترش فراگموپلاسم و تقسیم سلولی را تسهیل می‌کند. در آرابیدوپسیس، MAP65-1، همراه با MAP65-2 و MAP65-3، بوسیلهٔ MPK4 و در طول سیتوکینز، فسفریله می‌شوند. بعلاوه ممکن است MAP65-1 به وسیلهٔ MPK6، و در درون موجود زنده نیز فسفوریله شود. SPCH (Speechless)، که یک عامل رونویسیِ مارپیچی- حلقه‌ای- پایه‌ای است، شروعِ تقسیم نامتقارنِ سلولی را فعال می‌کند. این امر، به نوبه خود، ایجادِ تحریک روزنه‌ای را موجب می‌شود. تحلیل ژنتیکی حاکی از آن است که فنوتیپِ روزنه‌ای مازادِ موتانت YDA در یک زمینهٔ spch حذف می‌شود؛ این موضوع نشان می‌دهد که SPCH، پایین دست آبشارِ YDA–MKK4/MKK5–MPK3/MPK6 است. MPK3/MPK6، SPCH را در چند باقیماندهٔ Ser/Thr در دامنهٔ هدفِ به اصطلاح MAPK در شرایط آزمایشگاهی، فسفوریله می‌کند. موتانت یا حذف این محل‌های فسفوریلاسیون در SPCH، فعالیت آن را در تقویت شکل گیریِ روزنه‌ای در داخل بدن موجود زنده افزایش می‌دهد، که این موضوع، خود با تجمعِ پرتئینِ SPCH غیرقابل فسفوریله، همبستگی دارد. درنتیجه، ممکن است فسفوریلاسیونِ SPCH MAPK، منجر به بی ثباتی پروتئین SPCH شده و مانع از تشکیل سلولهای اجداد روزنه‌ای شود. WRKY34 که یک عامل رونویسی WRKY خاص گرده می‌باشد، به وسیلهٔ MPK3/MPK6 در داخل بدن، به یک شیوهٔ وابسته به زمان- فضا، بین مراحلِ دوسلولی و سه سلولی و در طول تکاملِ گرده، فسفریله می‌شود. موتانت WRKY34 و WRKY2، که یک هومولوگ نزدیک به WRKY34 هستند، به ایجاد فنوتیپ های معیوبِ گرده‌ای منجر می‌شود که از جمله آن‌ها می‌توان به کاهش درصد زنده بودن گرده، جوانه زنی، و رشدِ لولهٔ گرده اشاره کرد. موتانت محل‌های فسفوریلاسیون MPK3/MPK6 (SER به ALA) در WRKY34، قابلیت آن را در تکمیلِ یک موتانت wrky2 wrky34 به خطر می‌اندازد؛ این موضوع، حاکی از اهمیتِ فسفوریلاسیون MPK3/MPK6 در حفظ عملکردِ WRKY34 می‌باشد. تحلیل برهم کنشِ اپیستازی نیز تأیید کرد که MPK6، متعلق به همان مسیر ژنتیکیِ WRKY34 و WRKY2 در تکاملِ گردهٔ آرابیدوپسیس است. ویژگی سیگنالی مسیرهای کارکردیِ مختلف با مؤلفه‌های MAPK مشترک ممکن است آبشارهای مختلفِ MAPK، دارای یک مولفهٔ مشترک باشند. و همچنین ممکن است یک آبشار MAPK در چند فرآیند بیولوژیکی مختلف، دخیل باشد (شکل ۱). چگونگیِ حفظِ ویژگی در زمانیکه چند مسیرِ عملکردی متمایز، مؤلفه‌های مشترکی دارند، نقطهٔ محوریِ درک ما از عملکردهای MAPK است. مطالعات انجام شده روی گیاهان نشان می‌دهد که می‌توان ویژگیِ سیگنالینگِ MAPK را از طریق راه‌های زیر کنترل کرد (الف) حضورِ آبشارهای مستقلِ MAPK؛ (ب) بیان فضایی- زمانیِ RLK های بالادست، لیگاندهای RLK، و سوب استرات های MAPK پایین دست (ج) آستانه‌های سیگنالینگ MAPK موردنیاز برای فرآیندهای بیولوژیکی مختلف؛ بعبارت دیگر، اثر دوز-ژن؛ و (د) تلفیق دیگر مسیرهای سیگنالینگ. با بیشتر شدنِ اطلاعات و دانش

ما، احتمالاً مکانیسم‌های مازادی ظهور خواهند کرد (شکل ۲).

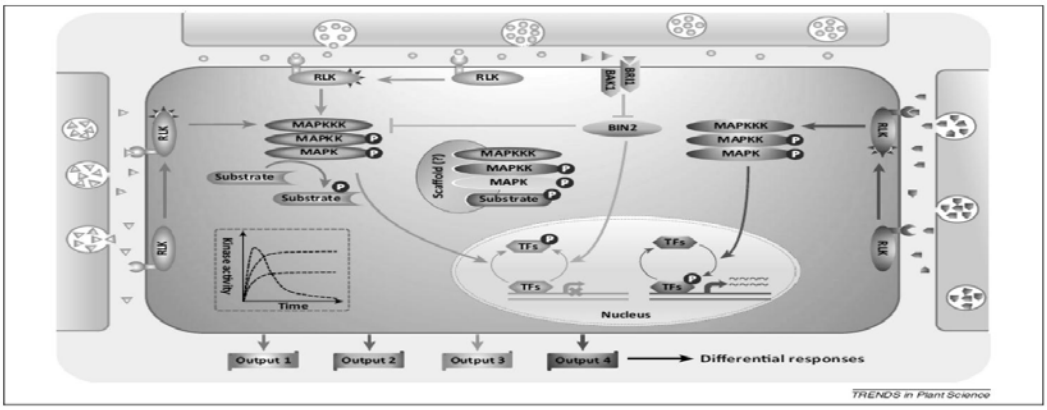
آبشارهای منحصر به فرد MAPK: آرابیدوپسیس دارای بیست MAPK، ده MAPKK و تقریباً بین دوازده الی شصت MAPKKK می‌باشد. آن‌ها می‌توانند بطور بالقوه، ترکیباتِ مختلف بسیاری (تا ۲۰ * ۱۰ *۶۰) از آبشارهای MAPK، به منظور انجام وظایف مختلف، تشکیل دهند. با این حال، شواهد ژنتیکی، از تشکیلِ «ترکیب و تناسبِ» آبشارهای MAPK در گیاهان پشتیبانی نمی‌کنند. فنوتیپ های از بین برندهٔ موتانت های منفرد (به عنوان مثال، YDA و mpk4)، موتانت های دوتایی (mpk3 mpk6, mkk4 mkk5, and map3ke1 map3ke2) و موتانت های سه تایی (به عنوان مثال، anp1 anp2 anp3) نشان می‌دهند که مؤلفه‌های MAPK موجود در هر ردیف، بسیار خاص هستند، و نمی‌توانند با دیگر همولوگ ها جایگزین شوند. حتی اگر ما هر کدام از آبشارهای MAPK دارای یک مولفهٔ متفاوتِ واحد در آبشار سه کیناز را به عنوان آبشارهای مختلفِ MAPK در نظر بگیریم، احتمالاً تعداد کل آبشارهای MAPK در یک گونهٔ گیاهی، بسیار محدود می‌باشد. با این حال، القای سیگنال از طریق آبشارهای مختلف MAPK، باید یکی از مکانیسم‌های کلیدی برای ویژگیِ کارکردی آنها باشد.

اثرِ آستانه/ دوز- ژنِ سیگنالینگ MAPK: ER/ERL1/ERL2 و MPK3/MPK6، هر دو، عملکردِ سلولیِ وابسته به دوز- ژن نشان می‌دهند. موتانت ژنهای ERL1 و/یا ERL2، طول ساقهٔ موتانت er را بیشتر کاهش می‌دهد و به گل آذینِ خوشه‌ای بیشتری منجر می‌شود. به طور مشابه، گیاهانِ mpk6 mpk3/+ در مقایسه با موتانت واحدِ mpk6، گل آذینِ خوشه‌ای بیشتری را به نمایش می‌گذارند. بعلاوه، در زمانی که هم ER و هم ERL1 جهش می‌یابند، ERL2 برای حفظ تکثیر سلولیِ طبیعی، هاپلویِ ناکافی محسوب می‌شود. به طور مشابه، MPK3 در زمینهٔ موتانت mpk6، هاپلوی ناکافی است و به یک فنوتیپ نازای تقریباً مشابه به فنوتیپ نازای گیاهانِ er-105 erl1-2 erl2 1/+ منتهی می‌گردد. اثر دوز-ژن احتمالاً یکی از نتایجِ کاهش در قدرتِ سیگنالینگ در موتانت است. اگرچه گیاهان mpk6 mpk3/+، نازا هستند و گل آذین خوشه‌ای و دمگل‌های کوتاه دارند، اما دارای نمو روزنه‌ای نرمالی می‌باشند. تنها موتانت دوتاییِ mpk6 mpk3، الگودهی و نمو روزنه‌ای غیرنرمالی دارد؛ این موضوع حاکی از آن است که به فعالیتِ MPK3/MPK6 کمتری برای حفظ توسعه اپیدرمی طبیعی، نیاز است. درنتیجه، مدت زمان/قدرت سیگنالینگِ MAPK می‌تواند برای عملکردهای بیولوژیک آنها حائز اهمیت باشد. همچنین ممکن است فرآیندهای مختلف، تعدادی آستانه سیگنالِ تفاضلی داشته باشند (قدرت و/یا مدت زمان)، که می‌توانند مشخص کنندهٔ عملکردِ MAPK در یک روشِ کمّی باشند.

نتیجه‌گیری کلی

در ۲۰ سال گذشته، پیشرفت‌های بزرگی در درک ما از آبشارهای MAPK گیاه صورت گرفته است. بدیهی است که اگرچه ساختار آبشارهای MAPK، کاملاً حفظ شده، اما MAPK های گیاهی، برای انجام عملکردهای خاصِ گیاهی تکامل یافته‌اند؛ درست همانطور که با سوب استرات های پروتئینیِ خاصِ گیاه، لیگاندها/گیرنده‌های خاصِ گیاه، و فنوتیپِ موتانت های خاصِ گیاه، نشان داده شد. در حال

حاضر، یکی از مواردِ از قلم افتاده در درک ما از سیگنالینگ MAPK، چگونگیِ القای سیگنالها به آبشارهای MAPK به وسیلهٔ گیرنده‌ها می‌باشد. در طول دورهٔ تکامل، تعداد RLK ها از گیاهان پایین‌تر به گیاهان بالاتر، به سرعت گسترش می‌یابد؛ با این حال، تعدادِ مؤلفه‌های پایین دست، ازجمله مؤلفه‌های MAPK، به تناسب افزایش نمی‌یابد. این احتمال وجود دارد که RLK های بیشتری برای به کارگیریِ آبشارهای MAPK، و در راستایِ انجام عملکردشان، یافت شود. ما در تحقیقاتِ آتی خود همچنان روی شناسایی و تحلیل عملکردیِ آبشارهای MAPK، گیرنده‌ها/لیگاندهای بالادست آنها و سوب استرات های پایین دست آنها متمرکز می‌شویم. در این راستا، تولید ابزارهای جدید حائز اهمیت خواهد بود. ازجملهٔ این ابزارها می‌توان به «سیستم‌های شرطیِ بدست آوردن و از بین بردن کاربری» اشاره کرد که امکان ایجادِ یک خط زمانی از رویدادها و تشریح عملکرد آنها در فرآیندهای بیولوژیکی مختلف را فراهم می‌آورد و مشکلاتِ مرگبارِ گیاهان موتانت/تراریخت را از بین می‌برد و امکان مطالعهٔ دیگر عملکردهای آبشارِ MAPK را برای ما فراهم می‌آورد. پس از آنکه مسیرهای خطیِ زیربناییِ هر یک از عملکردهای MAPK به یکدیگر پیوند خوردند، حال توانیم شبکه‌های سیگنالینگ پیچیده‌تری را کشف کنیم؛ شبکه‌هایی که عملکرد همهٔ MAPK ها در رشد و تکامل گیاه را در بر می‌گیرند. با قرار دادن اطلاعات فضایی- زمانیِ این مؤلفه‌ها و فعالیت‌های آنها در شبکه‌های عملکردی، قادر به درک تداخل بین مسیرهای مختلف کاربردی و چگونگیِ حفظِ ویژگی سیگنال خواهیم بود.



شکل ۲: نشان دادن مکانیزم های سیگنالینگ پروتئین کینازهای فعال شده با میتوزن در شد و نمو گیاهان

Fig2: To illustrate the mechanisms of mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling

منابع

1- Brock, A.K. *et al*. 2010. The Arabidopsis mitogen-activated protein kinase phosphatase PP2C5 affects seed germination, stomatal aperture, and abscisic acid-inducible gene expression. Plant Physiol. 153, 1098–1111.

2- Bush, S.M. and Krysan, P.J. 2007. Mutational evidence that the Arabidopsis MAP kinase MPK6 is involved in anther, inflorescence, and embryo development. J. Exp. Bot. 58, 2181–2191.

3- Chaiwongsar, S. *et al*. 2006. The protein kinase genes MAP3Ke1 and MAP3Ke2 are required for pollen viability in Arabidopsis thaliana. Plant J. 48, 193–205.

4- Cristina, M.S. *et al*. 2010. Mitogen-activated protein kinase signaling in plants. Annu. Rev. Plant Biol. 61, 621–649.

5- De Smet, I. and Beeckman, T. 2011. Asymmetric cell division in land plants and algae: the driving force for differentiation. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 12, 177–188.

5- De Smet, I. *et al*. 2009. Receptor-like kinases shape the plant. Nat. Cell

6- Gish, L.A. and Clark, S.E. 2011. The RLK/Pelle family of kinases. Plant J. 66, 117–127.
7- Guan, Y. *et al*. 2014. Phosphorylation of a WRKY transcription factor by MAPKs is required for pollen development and function in Arabidopsis. PLoS Genet.
8- Guan, Y. *et al*. 2014. Two mitogen-activated protein kinases, MPK3 and MPK6, are required for funicular guidance of pollen tubes in Arabidopsis. Plant Physiol. 165, 528–533.
9- Hord, C.L.H. *et al*. 2008. Regulation of Arabidopsis early anther development by the mitogen-activated protein kinases, MPK3 and MPK6, and the ERECTA and related receptor-like kinases. Mol. Plant 1, 645–658.
10- Ichimura, K. *et al*. 2002. Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. Trends Plant Sci. 7, 301–308 Pawson, T. and Scott, J.D. Protein phosphorylation in signaling– 50 years and counting. Trends Biochem. Sci. 30, 286–290.
11- Kosetsu, K. *et al*. 2010. The MAP kinase MPK4 is required for cytokinesis in Arabidopsis thaliana. Plant Cell 22, 3778–3790.
12- Lo´pez-Bucio, J.S. *et al*. 2014. Arabidopsis thaliana mitogen-activated protein kinase 6 is involved in seed formation and modulation of primary and lateral root development. J. Exp. Bot. 65, 169–183.
13- Nishihama, R. *et al*. 2002. Expansion of the cell plate in plant cytokinesis requires a kinesin-like protein/MAPKKK complex. Cell 109, 87–99.
14- Qiu, J-L. *et al*. 2008. Arabidopsis mitogen-activated protein kinase kinases MKK1 and MKK2 have overlapping functions in defense signaling mediated by MEKK1, MPK4, and MKS1. Plant Physiol. 148, 212–222.
15- Shiu, S-H. and Bleecker, A.B. 2003. Expansion of the receptor-like kinase/Pelle gene family and receptor-like proteins in Arabidopsis. Plant Physiol. 132, 530–543.
16- Takahashi, Y. *et al*. 2010. HINKEL kinesin, ANP MAPKKKs and MKK6/ANQ MAPKK, which phosphorylates and activates MPK4 MAPK, constitute a pathway that is required for cytokinesis in Arabidopsis thaliana. Plant Cell Physiol. 51, 1766–1776.
17- Umbrasaite, J. *et al*. 2010. MAPK phosphatase AP2C3 induces ectopic
18- Wang, H. *et al*. 2007. Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in Arabidopsis. Plant Cell 19, 63–73.
19- Wang, H. *et al*. 2008. Haplo-insufficiency of MPK3 in MPK6 mutant background uncovers a novel function of these two MAPKs in Arabidopsis ovule development. Plant Cell 20, 602 613.
20- Wen, X. *et al*. 2012. Activation of ethylene signaling is mediated by nuclear translocation of the cleaved EIN2 carboxyl terminus. Cell Res. 22, 1613–1616
21- Xu, J. *et al*. 2008. Activation of MAPK kinase 9 induces ethylene and
22- Zeng, Q. et al. 2011. AtMPK4 is required for male-specific meiotic cytokinesis in Arabidopsis. Plant J. 67, 895–906.
23- Zhang, S. 2009. Mitogen-activated protein kinase cascades in plant signaling. Annu. Plant Rev. Intracellular Signal. Plants 33, 100–136.
24- Zhao, C. *et al*. 2014. EDR1 physically interacts with MKK4/MKK5 and negatively regulates a MAP kinase cascade to modulate plant innate immunity. PLoS Genet. 10, e1004389
25- Zhou, C. *et al*. 2009. An Arabidopsis mitogen-activated protein kinase cascade, MKK9-MPK6, plays a role in leaf senescence. Plant Physiol. 150, 167–177.