

· 综 述 ·

丛枝菌根共生的信号转导及其相关基因

朱先灿^{1,2}, 宋凤斌^{1*}

(1.中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 中国吉林 长春 130012; 2.中国科学院 研究生院, 中国北京 100049)

摘 要: 大多数植物根系能够与某些真菌形成相互依存、互惠互利的菌根共生关系。植物在提供给丛枝菌根真菌赖以生存的碳源的同时, 也通过真菌从土壤中吸取矿质营养。丛枝菌根能够促进植物生长, 提高植物抗逆性和抵御外界不良环境, 对提高农林业生产效率、增强生态系统稳定性及维护生物多样性具有重要的意义。菌根的形成是一系列信号分子交换传递和共生相关基因表达调控的结果。在信号转导途径中, 共生受体样蛋白激酶、离子通道和钙/钙调依赖性蛋白激酶基因的表达对菌根的形成是不可或缺的。就丛枝菌根共生的信号转导机制以及信号途径中 3 个必需基因的结构、功能及研究现状进行了综述。

关键词: 丛枝菌根; 信号转导; SYMRK; 离子通道; CCaMK

中图分类号: Q143^{+.2}

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2008)02-0095-05

Signaling and Genes in Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis

ZHU Xian-can^{1,2}, SONG Feng-bin^{1*}

(1.Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Science, Changchun 130012, Jilin, China; 2.Graduate University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

Abstract: Most plants can form a symbiosis in root with microorganisms for mutual benefit. Nutrient exchange is a central feature of the arbuscular mycorrhizal (AM) symbiosis, and AM fungi obtain carbon from their plant host while assisting the plant with the acquisition of mineral nutrition from the soil. They are crucial in the ecology and physiology of terrestrial plants, supporting plants under biotic or abiotic stress. The establishment of AM symbioses involved a series of molecular dialogue and symbiotic genes regulation. Symbiosis receptor-like protein kinase (SYMRK), ion channel and calcium- and calmodulin-dependent protein kinase (CCaMK) are required in signal transduction pathways. The progress of AM symbiotic signaling and three essential components of plant signaling network are reviewed.

Key words: arbuscular mycorrhizal; signal transduction; SYMRK; ion channel; CCaMK

(Life Science Research, 2008, 12 (2) : 095-099)

在自然界中, 许多植物能和微生物之间形成相互受益的共生关系。丛枝菌根(arbuscular mycorrhizal, AM) 是植物根系和真菌形成的共生体。丛枝菌根是一种非常古老的共生类型, 大约有 4 亿多年的历史, 大多数陆生植物(80%~90%)能和 AM 真菌形成共生关系^[1-3]。与植物共生的

AM 真菌分布广泛, 是绝对共生物, 具有非宿主专一性, 主要属于球囊菌门(Glomeromycota)^[4]。AM 真菌和植物之间进行双向的营养交换, AM 真菌从植物根部吸取碳水化合物完成其有性生活史, 植物通过 AM 真菌从土壤中吸取矿质营养元素, 特别是磷的吸收^[5]。并且, 菌根能够扩大植物

收稿日期: 2008-01-20; 修回日期: 2008-05-28

基金项目: 国家 863 计划项目 2006AA102227)

作者简介: 朱先灿(1983-), 男, 安徽太湖人, 博士研究生, 主要从事植物分子生态学研究; 宋凤斌(1963-), 男, 吉林前郭人, 中国科学院东北地理与农业生态研究所研究员, 博士生导师, 通讯作者, 主要从事作物生理生态研究, Tel: 0431-85542312, E-mail: Songfb@neigae.ac.cn

根的吸收面积; 提高植物的抗逆性和对外界不良环境的抵抗能力; 改善植物根际微环境, 提高植物群落和生态系统的多样性。

近年来, 丛枝菌根的研究取得了很大的发展. 特别是随着分子生物学及研究方法的发展, 菌根形成过程中的信号转导途径及参与共生信号传递途径的基因取得了突破性的进展 (见图 1). 菌根的形成可以人为的分为 AM 真菌接触植物根之前共生阶段和接触后的共生阶段. 由于信号的识别、转导和物质能量的传递, 引起共生双方生理代谢和形态结构的变化. 在根瘤共生研究的基础上, AM 菌根共生早期信号途径中相关基因被陆续分离, 包括共生受体样蛋白激酶 (Symbiosis receptor-like protein kinase, SYMRK)、离子通道 (Ion channel) 和钙/钙调依赖性蛋白激酶 (Calcium- and calmodulin-dependent protein kinase, CCaMK). 研究表明, 这些基因所编码的蛋白在植物识别和应答 AM 真菌早期信号途径中是必需的^[6-8].

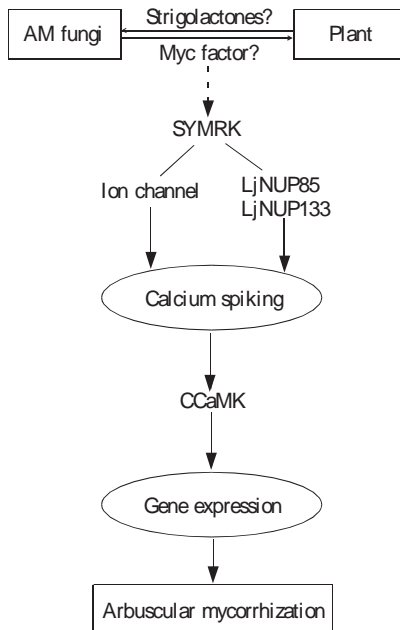


图 1 丛枝菌根形成的信号转导途径

Fig.1 Signal pathway of AM symbiosis

1 AM 真菌接触宿主前共生的信号识别

在没有接触宿主植物之前, AM 真菌以孢子的形式存在于土壤中. AM 真菌孢子萌发后, 会“寻找”宿主植物根系. 如果没有找到, 孢子萌发而产生的菌丝就会因为能量的耗尽而死亡. 当菌

丝识别宿主植物根系产生的信号后, 就会趋向性的向宿主植物根系延伸并形成分枝与植物根发生物理接触. AM 真菌识别的信号就是植物根系的分泌物, 包括无机离子、气体分子、黏液和有机化合物等^[9]. 由于根系分泌物结构成分复杂, 还不能确定是哪种或哪几种化合物具有信号分子的作用, 目前大多数研究主要集中在植物根系产生的次生代谢物上. 类黄酮是一类多酚类化合物, 在非常低的浓度下就可以刺激或阻遏 AM 菌丝的生成, 但研究表明, 这类化合物不是菌根形成所必需的^[10]. Akiyama 等从根系分泌物中分离到了一种倍半萜类 (sesquiterpenes) 物质——5-deoxy-strigol. 该物质能够诱发菌丝分枝, 并且该类物质的含量与 AM 真菌的宿主特异性相一致. 这一发现突出显示了植物和真菌之间的密切关系, 有可能为农业和自然生态系统中有益真菌共生体和破坏性杂草的控制提供一个新策略^[11].

与此同时, AM 真菌也会释放信号分子, 该信号分子被植物识别后能引起植物一系列的生理生化反应^[12,13]. AM 真菌释放的信号分子是什么? 植物又是怎样识别真菌信号的? 这些问题目前尚待阐明. Kosuta 等利用物理屏障将 AM 真菌和宿主植物隔开进行培养, 它们之间可以有信号分子的交换, 但是没有物理接触, 结果发现 AM 真菌能够释放某种信号分子被植物根系识别. 这种类似于结瘤因子 (Nod factor) 的菌根因子 (Myc factor) 能够诱导 MtENOD11 基因 (藜蒺苜蓿 (*Medicago truncatula*) 早期结瘤基因) 的表达, 而且只在邻近分枝菌根的根组织中表达. 这种 Myc 因子在致病真菌与植物根系双重培养实验中没有被检测到, 这表明植物在识别 AM 真菌信号后, 就打开了共生体形成的预期程序^[14]. 另外, 研究表明在根瘤的形成过程中, 植物具有接受结瘤因子的受体^[15-17], 使信号传递下去, 最终形成能够固氮的根瘤组织. 但是在菌根共生体中, 还没有关于发现 Myc 因子信号的受体的报道.

2 AM 真菌接触宿主后的信号转导及菌根的形成

当 AM 菌丝与宿主植物根系接触后, 在宿主植物根表形成附着胞 (appressoria) 结构, 真菌通过附着胞进入根系组织. 附着胞的形成意味着 AM 真菌和植物前共生的成功. AM 真菌不能在非宿主根表面或人工合成的纤维素和尼龙膜表面

形成附着胞^[18]。目前刺激 AM 真菌附着胞形成的信号还不清楚。

附着胞形成后, AM 菌丝穿过根表皮细胞、皮层细胞, 继而在根组织内增殖蔓延^[18]。目前的研究表明, 许多信号转导相关基因参与其中, 但大多数来自于对豆科植物突变体的研究, 尤其是藜蒺苜蓿和日本百脉根 (*Lotus japonicus*)^[19-26]。研究表明, 这些突变体不能形成根瘤和菌根, 虽然根瘤和菌根的形成过程有所不同, 但是它们有一条部分共享的信号转导途径^[27]。共生受体样蛋白激酶 (如 LjSYMRK、MtDMI2)、离子通道 (如 MtDMI1、LjCASTOR、LjPOLLUX) 和钙/钙调依赖性蛋白激酶 (如 MtCCaMK/MtDMI3) 被认为与 AM 真菌侵染有关, 它们调控真菌进入宿主细胞的过程, 在菌根真菌定殖的早期阶段发挥作用, 是菌根形成早期信号转导途径中不可或缺的信号元件^[19-24]。共生受体样蛋白激酶直接或间接识别 AM 真菌 Myc 因子后, 通过胞内蛋白激酶域向下传递信号。蛋白激酶对其底物蛋白质所特定的氨基酸残基进行磷酸化修饰, 通过磷酸化作用激活离子通道, 引起胞质钙离子浓度的变化以及钙峰 (calcium spiking) 的形成。钙离子是一个重要的第二信使, 钙离子摆动 (calcium oscillation) 具有从一个配合体信号或环境改变感知并转换信息的能力, 从而激活下游的反应^[28]。因而胞质钙离子浓度的变化激活下游钙/钙调依赖性蛋白激酶的反应, 从而诱导共生相关基因的表达。由于蛋白激酶的底物既可以是酶, 也可以是转录因子, 因而它们既可以直接通过对酶的磷酸化修饰来改变酶的活性, 也可以通过修饰转录因子而激活或抑制基因的表达, 从而使细胞对外来信号做出相应的反应。最终, AM 菌丝穿过根皮层细胞开始分枝, 并于特定的时期在细胞内分化, 形成丛枝结构^[18]。

另外, 在日本百脉根中发现了两个核孔类蛋白 LjNUP133 和 LjNUP85^[29,30]。定位实验表明, 它们位于核的边缘, 与核孔复合物装配在一起。它们都参与了根瘤及菌根共生的信号传递, 引起钙离子浓度的变化以及钙峰的形成。

3 AM 菌根共生相关基因的结构及功能

3.1 共生受体样蛋白激酶

SYMRK 属于富含亮氨酸重复序列 (Leucine-rich repeat, LRR) 型植物类受体蛋白激酶, 是一

类包含胞外受体结构域、跨膜域和胞内蛋白激酶结构域的蛋白分子 (见图 2A)。SYMRK 胞外结构域一般含有 3 个 LRRs 基序, 每个 LRR 基序一般含有 23~25 个氨基酸, 并且具有保守的序列: LxxLxLxxNxLxGxxIP。LRRs 基序参与蛋白质-蛋白质相互作用, 在分子识别过程, 如信号转导、细胞粘附、细胞发育、DNA 修复和 RNA 加工等过程中起重要作用^[31]。每一个 LRR 基序包含一个 α -折叠和一个 α -螺旋, 由一个环连接。其保守的疏水氨基酸残基位于立体结构的外表面, 可能与受体区结构形成有关^[32]。植物类受体激酶域具有相似的功能区, 均由 11 个保守的亚结构域组成。根据 2 个亚结构域氨基酸组成不同, 可以将蛋白激酶分为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶和酪氨酸蛋白激酶。共生受体样蛋白激酶属于丝/苏氨酸蛋白激酶^[33]。另外, 在 SYMRK 的 N 端含有一段短的疏水信号小肽, 一般由 25~30 个氨基酸组成, 在蛋白质合成过程中, 可能锚定蛋白质于内质网上。SYMRK 跨膜区通过碱性氨基酸与 C 端连接, 这种碱性氨基酸可能起“阻止转移信号”的作用^[34,35]。

目前, 已经从日本百脉根^[19]、苜蓿^[20]、山豆 (*Lathyrus sativus*)、白羽扇豆 (*Lupinus albus*)、欧洲椴木 (*Alnus glutinosa*)、旱金莲 (*Tropaeolum majus*)、番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 和玉米 (*Zea mays*)^[36] 中分离到了 SYMRK 基因。氨基酸序列分析表明, 胞内激酶区具有较高的同源性, 但是胞外区序列差异较大, 特别是玉米的 SYMRK。而且对 SYMRK 的研究很少, 非豆科植物 SYMRK 中, 仅仅知道其基因序列。

3.2 离子通道

MtDMI1、LjCASTOR、LjPOLLUX 是一类配体门控阳离子通道, 这种蛋白在被子植物和早期陆生植物中是高度保守的。在 N-端包含 4 个跨膜结构域, 在有些结构域中含有亮氨酸拉链 (leucine zipper) 和富含脯氨酸区域, 这些基序可能参与蛋白质-蛋白质相互作用^[37]。同时含有一个同源的配基结合区 RCK (regulate the conductance of K⁺), 响应胞质钙离子浓度的变化^[38]。另外, 在 N-端有一段长度不等的叶绿体转运多肽 (chloroplast transit peptide), LjCASTOR 和 LjPOLLUX 与绿色荧光蛋白融合表达后能够定位在质体中^[29] (见图 2B)。

Imaizumi-Anraku 等认为 LjCASTOR 和 LjPOLLUX 是根瘤和菌根形成所必需的共同的信

号因子, 它们能够调节质体和胞液之间的离子流量, 对钙峰的形成是必需的^[22]. 自从藜菎苜蓿、日本百脉根和豌豆 (*Pisum sativum*) 中分离到离子通道基因后, 关于菌根相关的离子通道的研究少见报道.

3.3 钙/钙调依赖性蛋白激酶

CCaMK 的蛋白结构一般包括 1 个激酶催化区、1 个自抑制区和 3 个 EF-hand 区 (见图 2C). 催化区具有典型的丝/苏氨酸蛋白激酶的亚结构域, 同源性较高. 钙调蛋白结合区 (calmodulin binding domain, CaMB) 能够结合钙调蛋白的钙离子; EF-hand 区能够结合游离的钙离子. CCaMK 调节钙可以分为 2 步: 首先, C-端的 EF-hand 与游离的钙离子结合后导致 CCaMK 的自磷酸化, 从而增强了与钙调蛋白的亲合力; 其次, CCaMK 与钙调蛋白的钙离子结合后, 启动底物磷酸化^[39]. 对于 CCaMK 的调节来自于自抑制区, 该抑制的解除可以通过其与钙调蛋白的结合来实现, 同时也使得激酶激活^[40, 41].

CCaMK 处于钙峰形成的下游, 涉及钙信号的解译, 响应钙离子浓度的变化和钙的摆动, 激活下游的调控基因^[23, 24, 42, 43]. 对菌根的形成至关重要, 是菌根形成必需的信号元件. 以前主要是在豆科植物突变体中研究 CCaMK 的功能. 最近, Chen CY 等利用 MtDMI3 同源的水稻 OsDMI3 突变体, 证明在非豆科植物中, CCaMK 是菌根形成的关键基因^[44]. 并且证实 OsDMI3 能够恢复藜菎苜蓿 MtDMI3 突变体的结瘤功能^[44, 45].

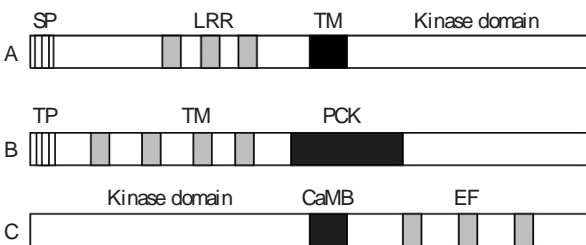


图 2 SYMRK (A)、离子通道 (B)、CCaMK (C) 结构示意图
Fig.2 Structure of SYMRK (A), ion channel (B) and CCaMK

SP: signal peptide; LRR: leucine-rich repeat; TM: transmembrane domain; TP: chloroplast transit peptide; RCK: regulate the conductance of K⁺; CaMB: calmodulin binding domain; EF: calcium-binding EF hand.

4 展望

自从菌根被发现以来, 菌根的结构及作用引

起研究者极大的关注和兴趣. 特别是近 10 年来, 关于 AM 菌根形成的分子机制研究取得了重大的突破, 一些与菌根共生相关的基因先后被克隆并阐述了其在菌根共生信号转导途径中的作用. 但是这还只是刚刚开始, 菌根在长期的进化过程中, 必然有一套完整的遗传与分子机制, 而我们目前的研究仅揭示了菌根信号途径中很小的一部分, 还有很多问题尚待解决, 比如: AM 真菌接触宿主根之前, 共生体是如何识别双方的信号; 双方所分泌释放的化合物; 植物接受 Myc 因子的受体; 信号途径中的关键因子等等. 而且目前菌根形成的分子机理大多数是根据根瘤形成的机理而推测出来的, 那么非豆科植物与豆科植物的信号途径是否有差异, 还需要进一步的确定.

由于 AM 菌丝的多核、不能纯培养等特点, 给菌根的研究带来了一定的难度. 随着研究方法和研究手段的不断完善, 特别是一些植物和真菌基因组的测序和功能基因组学的研究的兴起, 将会给菌根分子生物学和共生体双方相互作用的研究带来空前的机遇, 菌根共生的分子机理和信号转导机制将会逐渐被揭开, 使其在农业和自然生态系统中发挥更大的作用.

参考文献 (References):

- [1] HECKMAN D S, GEISER D M, EIDELL B R, et al. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants [J]. *Science*, 2001, 293: 1129-1133.
- [2] REDECKE R, KODNER D R, GRAHAM L E. Glomalean fungi from the Ordovician [J]. *Science*, 2000, 289: 1920-1921.
- [3] REMY W, TAYLOR T N, HASH, et al. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 11841-11843.
- [4] SCHÜSSLER A, SCHWARZOTT D, WALKER C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution [J]. *Mycol Res*, 2001, 105: 1413-1421.
- [5] SMITH S E, READ D J. *Mycorrhizal Symbiosis* [M]. Academic Press, San Diego, 1997.
- [6] HAUSE B, FESTER T. Molecular and cell biology of arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *Planta*, 2005, 221: 184-196.
- [7] HARRISON M. Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2005, 59: 19-42.
- [8] PASZKOWSKI U. A journey through signaling in arbuscular mycorrhizal symbioses 2006 [J]. *New Phytologist*, 2006, 172: 35-46.
- [9] BAIS H P, WEIR T L, PERRY L G, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57: 233-266.
- [10] BÉCARD G, TAYLOR L P, DOUDS D D, et al. Flavonoids are not necessary plant signals in arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 1995, 8: 252-258.

- [11] AKIYAMA K, MATSUZAKI K, HAYASHI H. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Nature*, 2005, 435: 824-827.
- [12] GIOVANETTI M, SBRANA C, AVIO L, et al. Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages[J]. *New Phytologist*, 1993, 125: 587-593.
- [13] BUÉE M, ROSSIGNOL M, JAUNEAU A, et al. The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2000, 13: 693-698.
- [14] KOSUTA S, CHABAUD M, LOUGNON G, et al. A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula* [J]. *Plant Physiology*, 2003, 131: 952-962.
- [15] LIMPENS E, FRANKEN C, SMIT P, et al. LysM domain receptor kinases regulating rhizobial Nod factor-induced infection[J]. *Science*, 2003, 302: 630-633.
- [16] RADUTOIU S, MADSEN L H, MADSEN E B, et al. Plant recognition of symbiotic bacterial requires two LysM receptor-like kinases[J]. *Nature*, 2003, 425: 585-592.
- [17] MADSEN E B, MADSEN L H, RADUTOIU S, et al. A receptor kinase gene of the LysM type is involved in legume perception of rhizobial signals[J]. *Nature*, 2003, 425: 637-640.
- [18] GIOVANETTI M, AVIO L, SBRANA C, et al. Factors affecting appressoria development in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicot. & Gerd.) Gerd and Trappe[J]. *New Phytologist*, 1993, 123: 114-122.
- [19] STRACKE S, KISTNER C, YOSHIDA S, et al. A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis[J]. *Nature*, 2002, 417: 959-962.
- [20] ENDRE G, KERESZT A, KEVEI Z, et al. A receptor kinase gene regulating symbiotic nodule development[J]. *Nature*, 2002, 417: 962-966.
- [21] ANE J M, KISS G B, RIELY B K, et al. *Medicago truncatula* DMI1 required for bacterial and fungal symbioses in legumes [J]. *Science*, 2004, 303: 1364-1367.
- [22] IMAIZUMI-ANRAKU H, TAKEDA N, CHARPENTIER M, et al. Plastid proteins crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots[J]. *Nature*, 2004, 433: 527-531.
- [23] LEVY J, BRES C, GEURTS R. A putative Ca^{2+} and calmodulin-dependent protein kinase required for bacterial and fungal symbioses[J]. *Science*, 2004, 303: 1361-1364.
- [24] MITRA R M, GLEASON C A, EDWARDS A, et al. A Ca^{2+} / calmodulin-dependent protein kinase required for symbiotic nodule development: Gene identification by transcript-based cloning[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2004, 101: 4701-4705.
- [25] CATOIRA R, GALERA C, de BILLY F, et al. Four genes of *Medicago truncatula* controlling components of a nod factor transduction pathway[J]. *Plant Cell*, 2000, 12: 1647-1666.
- [26] KISTNER C, WINZER T, PITZSCHKE A, et al. Seven *Lotus japonicus* genes required for transcriptional reprogramming of the root during fungal and bacterial symbiosis[J]. *Plant Cell*, 2005, 17: 2217-2229.
- [27] ZHU H, RIELY B K, BURNS N J, et al. Tracing non-legume orthologs of legume genes required for nodulation and arbuscular mycorrhizal symbioses[J]. *Genetics*, 2006, 172(4) : 2491-2499.
- [28] EHRHARDT D W, WAIS R, LONG S R. Calcium spiking in plant root hairs responding to rhizobium nodulation signals[J]. *Cell*, 1996, 85: 673-681.
- [29] KANAMORI N, MADSEN L H, RADUTOIU S, et al. A nucleoporin is required for induction of Ca^{2+} spiking in legume nodule development and essential for rhizobial and fungal symbiosis[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, 103: 359-364.
- [30] SAITO K, YOSHIKAWA M, YAN K, et al. NUCLEOPORIN85 is required for calcium spiking, fungal and bacterial symbioses, and seed production in *Lotus japonicus*[J]. *Plant Cell*, 2007, 19: 610-624.
- [31] KOBE B, DEISENHOFER J. A structural basis of the interaction between leucine-rich repeats and protein ligands[J]. *Nature*, 1995, 374: 183-186.
- [32] STASKAWICZ B J, AUSUKEL F M, BACKER B J, et al. Molecular genetics of plant disease resistance[J]. *Science*, 1995, 268: 661-67.
- [33] HANKS S S, QUINN A M, HUNTER T. The protein kinase family: conserved feature and deduced phylogeny of the catalytic domains[J]. *Science*, 1988, 241: 42-52.
- [34] WALKER J C. Structure and function of receptor-like protein kinase of higher plants[J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 26: 1599-1609.
- [35] ZHU X C, HU Y L, TAN Z J, et al. Progress in studies on plant symbiosis receptor-like kinase in nonlegumes[J]. *Chin J Biotech*, 2007, 23(3) : 363-366.
- [36] PASZKOWSKI U, JAKOVLEVA I, BOLLER T. Maize mutants affected at distinct stages of the arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. *The Plant Journal*, 2006, 47(2) : 165-173.
- [37] BORNBERG-BAUER E, RIVALSA E, VINGRON M. Computational approaches to identify leucine zippers[J]. *Nucl Acids Res*, 1998, 26: 2740-2746.
- [38] JIANG Y, PICO A, CADENE M, et al. Structure of the RCK domain from the *E. coli* K^{+} channel and demonstration of its presence in the human BK channel[J]. *Neuron*, 2001, 29: 593-601.
- [39] SATHYANARAYANAN P V, POOVAIAH B W. Autophosphorylation-dependent inactivation of plant chimeric calcium/calmodulin-dependent protein kinase[J]. *Eur J Biochem*, 2002, 269: 2457-2463.
- [40] TAKEZAWA D, RAMACHANDIRAN S, PARANJAPPE V, et al. Dual regulation of a chimeric plant serine/threonine kinase by calcium and calcium/calmodulin[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271: 8126-8132.
- [41] RAMACHANDIRAN S, TAKEZAWA D, WANG W, et al. Functional domains of plant chimeric calcium/calmodulin-dependent protein kinase: regulation by autoinhibitory and visinin-like domains[J]. *J Biochem*, 1997, 121: 984-990.
- [42] KALO P, GLEASON C, EDWARDS A, et al. Nodulation signaling in legumes requires NSP2, a member of the GRAS family of transcriptional regulators[J]. *Science*, 2005, 308: 1786-1789.
- [43] SMIT P, RAEDTS J, PORTYANKO V, et al. NSP1 of the GRAS protein family is essential for rhizobial nod factor-induced transcription[J]. *Science*, 2005, 308: 1789-1791.
- [44] CHEN C Y, GAO M Q, LIU J Y, et al. Fungal symbiosis in rice requires an ortholog of a legume common symbiosis gene encoding a Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase[J]. *Plant Physiology*, 2007, 145: 1619-1628.
- [45] GODFROY O, DEBELLE F, TIMMERS T, et al. A rice calcium- and calmodulin-dependent protein kinase restores nodulation to a legume mutant[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2006, 19: 495-501.