

DOI:10.3969/j.issn.1003-0972.2015.04.038

结瘤信号途径中相关调控蛋白的研究进展

柯丹霞*,李祥永

(信阳师范学院 生命科学学院,河南 信阳 464000)

摘要:以模式豆科植物与根瘤菌的共生固氮为视角,介绍近年来在结瘤信号途径中筛选到的能够与已知关键调控蛋白相互作用的新蛋白,综述了相关新蛋白在共生结瘤过程中发挥的重要作用,进一步补充和完善了结瘤早期信号转导途径,为豆科植物与根瘤菌共生关系的研究提供参考。

关键词:豆科植物;根瘤菌;共生结瘤;信号转导

中图分类号:Q945.13 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-0972(2015)04-0621-06

Research Progress of Key Regulatory Proteins in Nodulation Pathway

Ke Danxia*, Li Xiangyong

(College of Life Sciences, Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China)

Abstract: Focused on the symbiotic nitrogen fixation between model legume and rhizobium, the new proteins identified in recent years which can interact with some key regulatory proteins involved in nodule formation process were introduced. The important function of the new proteins in the process of the symbiosis was summarized and sorted out, which will further supplement and improve the early signal transduction pathway. The certain theoretical reference for the revealing of symbiotic mechanism between legume and rhizobium will be provided.

Key words: legume; rhizobium; symbiosis nodulation; signal transduction

0 引言

宿主豆科植物与根瘤菌之间的共生固氮是自然界中最主要的一种生物固氮形式。根瘤器官的形成是豆科植物与根瘤菌之间相互识别,信号分子之间相互作用的结果。根瘤菌首先感知豆科植物根际分泌的类黄酮信号,随后激活结瘤基因的表达,合成和分泌结瘤因子,宿主植物体内启动一系列早期结瘤反应:根毛顶端卷曲,形成牧羊拐结构;根瘤菌在卷曲根毛顶端增殖,侵入线形成;根皮层细胞迅速分裂,形成根瘤原基;侵入线内的根瘤菌释放,进入根瘤原基。根瘤菌感染和根瘤器官发生这两个过程协同发展最终形成有固氮功能的根瘤^[1]。

豆科植物与根瘤菌共生关系的建立极为复杂,但有序。通过对豆科植物不结瘤突变株的研究,

结瘤早期信号转导途径开始逐步明晰。早在1985年,Carrol和Gresshoff等人就通过EMS化学诱变的方法从大豆中分离到超量结瘤和不结瘤突变株^[2],接着在其他豆科植物如豌豆、三叶草,以及模式豆科植物百脉根和苜蓿中也获得超量结瘤和不结瘤突变株。自2002年以来,随着两大模式豆科植物百脉根(*Lotus japonicus*)和蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)中关键共生调控基因的陆续发现,结瘤早期信号转导模型初步建立起来,见图1^[3]。目前单一的对某个蛋白在共生互作中功能的研究已经达到饱和,以此结瘤信号转导模型为基础,检测信号途径中已知蛋白间的相互作用,确定蛋白质相互作用的活性位点,寻找与已知蛋白相互作用的新蛋白,从生化和分子水平上进一步研究蛋白调控网络已成为当今共生固氮领域新的研究热点。近年来,许多与已知关键调控蛋白互作

收稿日期:2015-06-10;修订日期:2015-08-01; *通信联系人, E-mail: kdx_029@163.com

基金项目:国家自然科学基金项目(31400213);信阳师范学院青年科研基金项目(2014-QN-059);信阳师范学院青年骨干教师资助计划项目

作者简介:柯丹霞(1983-),女,湖北十堰人,讲师,博士,主要从事根瘤菌与豆科植物共生互作的分子机理研究;李祥永(1993-),男,河南信阳人,硕士研究生。

的新蛋白已经从模式豆科植物中被筛选出来,并且这些蛋白也被证实在根瘤共生过程中发挥重要作用,结瘤早期信号转导途径因此得到进一步的补充和完善.本文以根瘤共生为视角,主要介绍参与早期共生信号转导的关键调控蛋白特别是与已知蛋白互作的新蛋白的最新研究进展,以期为豆科植物与根瘤菌共生关系的研究提供参考.

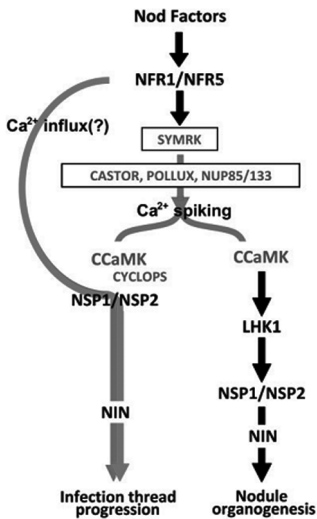


图 1 结瘤信号传导模式图

Fig. 1 Nodulation signaling transduction pattern.

1 结瘤因子受体激酶及其互作蛋白

不同种类豆科植物的结瘤因子受体蛋白激酶陆续被筛选出来:包括百脉根中的 LjNFR1 和 LjNFR5^[4-5];苜蓿中的 MtLYK3/MtLYK4 和 MtNFP^[6-8];豌豆中的 PsSYM37 和 PsSYM10^[9]以及大豆中的 GmNFR1 α/β 和 GmNFR5 α/β ^[10].不同豆科植物中鉴定到的结瘤因子受体被统一归为 LysM 类受体激酶(LysM-RLKs),由膜内的丝/苏氨酸蛋白激酶结构域、中部跨膜结构域和膜外 2~3 个 LysM 结构域共同组成.

在大多数真核生物的蛋白激酶中,调节激酶活性的激活环位于蛋白的激酶结构域,而磷酸化位点一般位于激活环(activation loop).模式豆科植物百脉根的结瘤因子受体蛋白激酶 LjNFR1 和苜蓿的结瘤因子受体蛋白激酶 MtLYK3 均含有激活环,因此具有蛋白激酶活性.另外的两个结瘤因子受体蛋白激酶 LjNFR5 和 MtNFP 因为缺少激活环而不具备磷酸化活性.体外实验也证实 LjNFR1 是典型的蛋白激酶,具有自磷酸化和底物水平磷酸化活性.LjNFR1 通过磷酸化 LjNFR5,将结瘤因子信号传递到下游.与此同时,LjNFR1 和 LjNFR5

可以在烟草和韭葱细胞内形成异源二聚体^[11],并且 LjNFR1 和 LjNFR5 能够高亲和性地直接结合结瘤因子(NF)^[12].最新研究发现 LjNFR5 的 LysM2 结构域结合 NF,由此引起 LysM2 结构域构象发生变化^[13].这些生化上的直接证据进一步证实结瘤因子受体蛋白激酶可能以异源二聚体的形式与 NF 相结合,共同参与接收 NF 信号,然后通过两个激酶结构域之间的转磷酸作用传递 NF 信号,见图 2^[1].

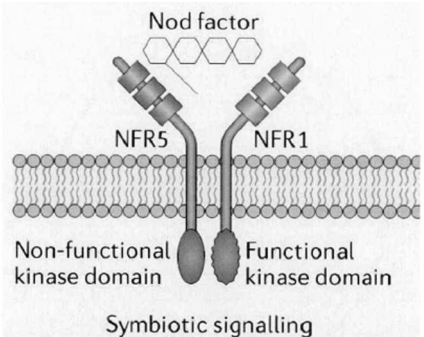


图 2 NFR1 和 NFR5 共同识别结瘤因子

Fig. 2 Perception of nod factors by NFR1 and NFR5.

NFR5 如何将 NF 信号传递到下游,这一过程是否需要新的蛋白参与.笔者前期利用酵母双杂交技术在百脉根中筛选到与 NFR5 相互作用的小 G 蛋白 ROP6.证实 NFR5 与 ROP6 在植物细胞的细胞膜相互作用,ROP6 基因的表达依赖于根瘤菌的侵染,其 RNA 干扰实验导致侵染线形成和根瘤数目下降,表明 ROP6 作为正调节子参与根瘤菌对豆科植物的侵染和根瘤的发育^[14].ROP 作为分子开关,有着极其复杂和保守的调控机制,ROP 与 RopGAP、RopGEF 和 RopGDI 作为一个调控体系共同发挥功能.因此,为了阐明 ROP6 对其互作蛋白 NFR5 的调控机制,下一步必须寻找 ROP6 相对应的调节子 RopGAP、RopGEF 和 RopGDI,即将 ROP 类小 G 蛋白介导的信号通路引入共生信号转导途径中.

在苜蓿中利用酵母双杂交技术也筛选到 MtLYK3(LjNFR1 的同系物)的相互作用蛋白 PUB1.生物信息学分析表明 PUB1 含有植物保守的 U-box 结构域,体外蛋白实验证实 PUB1 具有 E3 泛素连接酶活性.MtLYK3 的激酶结构域能够磷酸化 PUB1,二者共定位于植物的细胞膜.PUB1 的超表达和 RNAi 实验显示 PUB1 负调控根瘤菌的侵染过程,是共生信号转导途径的一个新的负调节子^[15].此外,苜蓿中的 MtSYMREM1 能够分别与 MtLYK3 与 MtNFP 互作,MtSYMREM1 属

于 Remorin 蛋白,是一个新发现的与质膜/脂筏相连的植物专一性蛋白家族.对 MtSYMREM1 的表达谱和功能缺失突变体研究发现 MtSYMREM1 参与调控侵染线的形成.MtSYMREM1 在质膜通过调控受体蛋白参与侵染早期过程,影响侵染线的极性生长以及根瘤菌的释放^[16].随后,在百脉根中也克隆到 MtSYMREM1 的同系物 LjSYMREM1.LjSYMREM1 能够与受体蛋白在体内瞬时互作,在体外 LjSYMREM1 的 N-端结构域能够被受体蛋白磷酸化.进一步的生物学功能研究证实其在根瘤菌侵染中发挥作用^[17].

综上,一些与结瘤因子受体蛋白互作的新蛋白被发现,并且越来越多的蛋白也被证实调控根瘤菌早期侵染过程,但是这些蛋白与结瘤因子受体蛋白是如何协作共同调控早期侵染过程的,以及这些蛋白之间的网络调控关系是怎样的目前仍不清楚,还需要将来更深入和细致的研究来揭示和阐明.

2 共生受体激酶及其互作蛋白

最初在百脉根中克隆到的共生受体激酶基因是 SymRK(symbiosis receptor kinase)^[18],其编码富含亮氨酸重复序列的类受体激酶(LRR-RLK).SymRK 定位于质膜和侵入线膜上.在蒺藜苜蓿中的同源基因为 DMI2(do not make infections),紫花苜蓿中为 NORK(nodulation receptor kinase)^[19].

通过酵母双杂交的方法,以 MtDMI2 的蛋白激酶结构域为诱饵,在苜蓿中筛选到甲羟戊酸合酶 HMGR1.甲羟戊酸是植物类固醇类激素、细胞分裂素等特定类异戊二烯类物质的重要前体,而研究人员筛选到的 HMGR1 蛋白能够催化甲羟戊酸这一重要物质的合成.基因沉默实验表明 HMGR1 参与根瘤菌的侵染及根瘤器官发生两个过程^[20].在百脉根中通过酵母双杂交的方法,以 LjSymRK 的蛋白激酶结构域为诱饵,相继筛选到 ARID 型 DNA 结合蛋白 LjSIP1,E3 连接酶 LjSINA4 和 LjSIE3,以及 MAP 激酶激酶 LjSIP2.LjSIP1 为一个具有 DNA 结合功能的转录因子,主要和富含 AT 的序列结合(ARID),并且能特异结合起始结瘤基因 NIN 的启动子序列.LjSIP1 蛋白在细胞中定位于细胞核,它并不是 SymRK 蛋白的磷酸化底物^[21].后续的研究发现了 SIP1 的变异体 SIP1L,SIP1L 在 C 端含有额外的 17 个氨基酸.与

SIP1 不同的是,SIP1L 不能够与 SymRK 互作.SIP1L 和 SIP1 能够形成异源二聚体.SIP1-RNAi 转基因植株抑制结瘤,超表达 SIP1L 和 SIP1 都能够增加根瘤数目,说明 SIP1 正调控结瘤过程^[22].Wang (2013) 等推测在进化过程中 SIP1L 在百脉根中的功能丧失,由较短的剪接变体 SIP1 与 SymRK 互作将共生信号传递到下游.此外,研究发现来自两个不同家族的 E3 泛素连接酶 LjSINA4 和 LjSIE3 均能与 SymRK 蛋白互作.LjSINA4 负调控根瘤菌的侵染过程,而与之相反的是 LjSIE3 正调控根瘤菌的侵染过程.异位表达 LjSINA4 导致侵染线不能正常发育,SymRK 的蛋白表达也受到抑制^[23].LjSIE3 在植物体内具有介导 SymRK 泛素化修饰的功能,而不能介导 SymRK 蛋白泛素化降解.基因超表达和 RNA 干扰研究表明,LjSIE3 正调控根瘤菌侵染过程^[24].两种不同的 E3 泛素连接酶虽然都能与 SymRK 蛋白互作,但是由于作用机制不同,导致两种蛋白在调控根瘤菌侵染过程中功能相反.MAP 激酶激酶参与植物体内多种生理活动,在百脉根早期结瘤信号途径中,也筛选到一个 MAP 激酶激酶 LjSIP2 能够与 SymRK 相互作用.体外磷酸化实验表明 SIP2 和 SymRK 不能互为磷酸化底物,但是 SymRK 能够负调控 SIP2 的激酶活性.RNAi 分析表明,SIP2 表达量的减少导致侵染线和根瘤原基数目明显减少^[25].Remorin 家族蛋白 LjSYMREM1 和 MtSYMREM1 也能够分别与共生受体激酶 SymRK 和 DMI2 互作,推测其在共生过程中可能作为支架蛋白从空间上参与调控信号传导复合物的装配^[16-17].

上述的研究结果说明,共生受体激酶可能与这些蛋白之间形成复杂的蛋白网络共同调控豆科植物与根瘤菌的共生过程.Chen 等(2012)首次在根瘤共生信号途径中发现 MAP 激酶的踪迹,该研究补充和完善了 MAPK 信号传递网络,也为共生固氮领域的研究提供了新的视角.水稻 OsRac1(LjROP6 的同系物)通过 OsMAPK3/6 级联调控下游转录因子 RAI1,从而将天然免疫信号传递到下游^[26].由此推测,笔者前期鉴定的 LjROP6 是否也与 MAPK 级联成员 LjSIP2 存在一定的联系,从而通过 NFR5 → ROP6 → SIP2 信息流将共生信号传递到下游,这个推测还需要大量的实验数据来证实.此外,植物体内为什么存在三个受体激酶,结瘤因子受体激酶与共生受体激酶之间的关系又是怎么样的也是研究人员一直困惑

并试图解决的难题。

3 钙离子与钙调素依赖的蛋白激酶及其互作蛋白

CCaMK 编码钙离子和钙调素依赖的蛋白激酶^[27]。生化分析表明 CCaMK 受 Ca^{2+} 和 CaM 双调控,使得 CCaMK 能够识别复杂的钙离子信号,是解码共生信号传导中 Ca^{2+} 振荡信号的主要候选蛋白。CCaMK 参与根瘤菌侵染过程,在根瘤器官发生过程中也发挥重要调控作用^[28]。2008 年,研究人员利用酵母双杂交技术,在百脉根中筛选出一个新的蛋白 CYCLOPS 与 CCaMK 相互作用,在苜蓿中也鉴定出一个新蛋白 IPD3^[29-30]。CYCLOPS/IPD3 是 CCaMK 的磷酸化底物,CCaMK 通过磷酸化 CYCLOPS/IPD 从而参与调控根瘤菌侵染过程,但是并不影响根瘤的器官发生^[30]。2011 年,研究人员在百脉根中鉴定到一个 CCaMK 相互作用的新蛋白 CIP73。体外蛋白实验证实 Ca^{2+} 和 CaM 存在时,CIP73 的 N 端 1~413 位氨基酸区域能够被 CCaMK 磷酸化。RNAi 分析表明 CIP73 参与根瘤的器官发生过程,而不影响根瘤菌的侵染^[31]。上述研究表明,CCaMK 能够通过与不同的蛋白相互作用分别激活根瘤菌侵染和根瘤器官发生两个过程。

4 NSP 转录因子及其互作蛋白

在百脉根和苜蓿中,NSP1 和 NSP2 都属于 GRAS(GAI,RGA,SCR) 家族蛋白^[32-33]。这两个转录因子参与调控结瘤因子诱导的早期结瘤基因表达、根瘤形成等过程。生化研究表明,LjNSP2 能够与自身结合形成同源二聚体^[34]。苜蓿中 NSP1 和 NSP2 在细胞核内形成异源蛋白复合体,并且能够结合 ENOD11、NIN 和 ERN 等早期结瘤素基因的启动子^[35]。NSP1 与 NSP2 结合可以作为强调节子正调控 ERN1 和 ENOD11 的翻译。在根瘤菌侵染前期,ERN1 专一性地激活由 NF 诱导的 ENOD11 的表达,在随后的根瘤菌侵染过程中,NSP1/NSP2 介导 ENOD11 表达^[36]。

研究人员试图通过筛选酵母双杂交文库鉴定与 NSP 转录因子相互作用的新蛋白。最新的研究显示,一个 MYB 类转录因子能够特异的与 NSP2 相互作用,命名为 IPN2。IPN2 具有转录自激活活性,并且能够结合 NIN 基因的启动子。在酵母中进一步确定两种蛋白相互作用的活性位点发现 NSP2 的 GRAS 结构域和 IPN2 的卷曲-卷曲结构

域是二者相互作用所必需的关键作用区段。利用百脉根毛根转化技术发现 NSP2 和 IPN2 共定位于毛根细胞的细胞核中。RNA 干扰实验表明 IPN2 在根瘤器官发生过程中行使重要功能^[37]。IPN2 的发现将 MYB 类转录因子引入共生信号转导途径中,进一步补充和完善了豆科植物与根瘤菌的早期信号转导途径。

5 结瘤起始蛋白 NIN 及其相关蛋白

结瘤起始蛋白 NIN 是一个转录因子,含有一个 DNA 结合结构域和一个跨膜结构域。研究表明,NIN 不影响结瘤因子的感知,根毛的变形等早期反应,但 NIN 参与侵染线的形成,控制结瘤数量,推测其可能通过调控早期结瘤素基因 ENOD11 的空间表达从而发挥功能^[38]。两个核因子 LjNF-YA1 和 LjNF-YB1 作为 NIN 的转录靶物,二者在根瘤原基中表达,在植物细胞中形成 NF-Y 蛋白复合物。LjNF-YA1 敲除实验抑制根瘤器官发生。超表达 NIN,在不接种根瘤菌的情况下,皮层细胞也能够分裂形成类似根瘤原基的结构。豆科植物根瘤的发育与 NIN 功能的变化紧密相连,NIN 的一个重要功能就是调控根瘤器官发生过程中的细胞分裂^[39]。NIN 是结瘤起始关键蛋白,在豆科植物中特异存在,而 NF-Y 在真核生物中普遍存在。

最新的研究又发现了两个在根瘤器官发生过程中行使功能的调控蛋白 LjIPT3 正调控结瘤过程,RNAi 植株侵染线和结瘤数目减少。LjIPT3 介导的 CRE1 依赖的细胞分裂素途径参与调控结瘤过程,LjIPT3 调控结瘤起始和发育,不参与早期侵染事件^[40]。LjVAG1 介导的皮层细胞核内复制是引导共生根瘤菌进入宿主植物分生组织细胞所必需的,因此 LjVAG1 也在根瘤器官发生过程中发挥作用^[41]。

6 结语

近 10 年来,豆科植物与根瘤菌共生固氮的分子机理研究取得了重大进展。利用模式豆科植物遗传资源,研究人员鉴定出大量与结瘤相关的关键基因。但是基因产物的确切生物学功能以及调控机制还不甚明晰;通过正向遗传学方法从传统诱导得到的共生突变体中分离基因似乎也已经达到饱和;当前的研究依然停留在鉴定涉及共生信号途径某一阶段的功能上。因此,如何将这些已知调控蛋白从生化上彼此联系起来,明确蛋白与蛋白之

间的时空调控,上位/下位关系,筛选新的相互作用蛋白,进而将这些蛋白与不同的共生过程包括共生信号识别、根瘤菌侵染、根瘤器官发生、根瘤形成以及有功能(固氮)共生体建立等相对应,从而建立一个完整的植物与微生物共生调控网络将是下一步亟待解决的问题。

豆科植物在环境及农业上的应用长期以来一直受到人们的广泛关注.在过去十年里,积累了大量的共生突变体和基因,随着转录组、蛋白质组、

代谢组等分析方法的完善和大量创新工具的快速建立,不仅在模式豆科植物上,甚至在重要的豆科农作物大豆上将会有更多全新的有意义的研究成果诞生.更深远的是人们期望能够通过遗传工程的方法将豆科植物与根瘤菌之间的这一复杂但精细的共生调控网络转移到非豆科粮食作物上,实现重要谷类作物的共生固氮.随着技术的不断创新和新资源平台的出现,我们有理由相信实现非豆科植物的根瘤共生已经成为可能。

参考文献:

- [1] Oldroyd G E. Speak, friend, and enter: signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11(4):252-263.
- [2] Carroll B J, Mcneil D L, Gresshoff P M. A supernodulation and nitrate-tolerant symbiotic (nts) soybean mutant[J]. *Plant Physiol*, 1985, 78(1): 34-40.
- [3] Kouchi H, Imaizumi-Anraku H, Hayashi M, et al. How many peas in a pod? Legume genes responsible for mutualistic symbioses under-ground[J]. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51(9): 1381-1397.
- [4] 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(6958): 637-640.
- [5] Radutoiu S, Madsen L H, Madsen E B, et al. Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases[J]. *Nature*, 2003, 425(6958): 585-592.
- [6] Limpens E, Franken C, Smit P, et al. LysM domain receptor kinases regulating rhizobial Nod factor-induced infection[J]. *Science*, 2003, 302(5645): 630-633.
- [7] Arrighi J F, Barre A, Ben Amor B, et al. The medicago truncatula lysin [corrected]motif-receptor-like kinase gene family includes NFP and new nodule-expressed genes[J]. *Plant Physiol*, 2006, 142(1): 265-279.
- [8] Smit P, Limpens E, Geurts R, et al. Medicago LYK3, an entry receptor in rhizobial nodulation factor signaling[J]. *Plant Physiol*, 2007, 145(1): 183-191.
- [9] Zhukov V, Radutoiu S, Madsen L H, et al. The pea Sym37 receptor kinase gene controls infection-thread initiation and nodule development[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2008, 21(12): 1600-1608.
- [10] Indrasumunar A, Searle I, Lin M H, et al. Nodulation factor receptor kinase 1a controls nodule organ number in soybean (*Glycine max* L. Merr) [J]. *Plant J*, 2011, 65(1): 39-50.
- [11] Madsen E B, Antolin-Llovera M, Grossmann C, et al. Autophosphorylation is essential for the in vivo function of the *Lotus japonicus* Nod factor receptor 1 and receptor-mediated signalling in cooperation with Nod factor receptor 5[J]. *Plant J*, 2011, 65(3): 404-417.
- [12] Broghammer A1, Krusell L, Blaise M, et al. Legume receptors perceive the rhizobial lipochitin oligosaccharide signal molecules by direct binding[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(34):13859-13864.
- [13] SΦrensen K K, Simonsen J B, Maolanan N N, et al. Chemically synthesized 58-mer LysM domain binds lipochitin oligosaccharide [J]. *Chembiochem*, 2014, 15(14): 2097-2105.
- [14] Ke D X, Fang Q, Chen C F, et al. The small GTPase Rop6 interacts with NFR5 and is involved in nodule formation in *Lotus japonicus*[J]. *Plant Physiol*, 2012, 159(1): 131-143.
- [15] Mbengue M, Camut S, De Carvalho-Niebel F, et al. The *Medicago truncatula* E3 ubiquitin ligase PUB1 interacts with the LYK3 symbiotic receptor and negatively regulates infection and nodulation[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(10): 3474-3488.
- [16] Lefebvre B, Timmers T, Mbengue M, et al. A remorin protein interacts with symbiotic receptors and regulates bacterial infection [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(5): 2343-2348.
- [17] Tóth K, Stratil T F, Madsen E B, et al. Functional domain analysis of the Remorin protein LjSYMREM1 in *Lotus japonicus*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1):e30817.
- [18] Stracke S, Kistner C, Yoshida S, et al. A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis[J]. *Nature*, 2002, 417(6892): 959-962.
- [19] Endre G, Kereszt A, Kevei Z, et al. A receptor kinase gene regulating symbiotic nodule development[J]. *Nature*, 2002, 417(6892): 962-966.
- [20] Kevei Z, Lounnon G, Mergaert P, et al. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase 1 interacts with NORK and is crucial for

- nodulation in *Medicago truncatula*[J]. *Plant Cell*, 2007, 19(12): 3974-3989.
- [21] Zhu H, Chen T, Zhu M S, et al. A novel ARID DNA-binding protein interacts with SymRK and is expressed during early nodule development in *Lotus japonicus*[J]. *Plant Physiol*, 2008, 148(1): 337-347.
- [22] Wang C, Zhu H, Jin L, et al. Splice variants of the SIP1 transcripts play a role in nodule organogenesis in *Lotus japonicus*[J]. *Plant Mol Biol*, 2013, 82(1/2):97-111.
- [23] Den Herder G, Yoshida S, Antolin-Llovera M, et al. *Lotus japonicus* E3 ligase SEVEN in ABSENTIA4 destabilizes the symbiosis receptor-like kinase SYMRK and negatively regulates rhizobial infection[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(4): 1691-1707.
- [24] Yuan S, Zhu H, Gou H, et al. A ubiquitin ligase of symbiosis receptor kinase involved in nodule organogenesis[J]. *Plant Physiol*, 2012, 160(1): 106-117.
- [25] Chen T, Zhu H, Ke D X, et al. A MAP kinase kinase interacts with SymRK and regulates nodule organogenesis in *Lotus japonicus* [J]. *Plant Cell*, 2012, 24(2): 823-838.
- [26] Kim S H, Oikawa T, Kyozuka J, et al. The bHLH Rac Immunity1 (RAI1) is activated by OsRac1 via OsMAPK3 and OsMAPK6 in rice immunity[J]. *Plant Cell Physiol*, 2012, 53(4):740-754.
- [27] Levy J, Bres C, Geurts R, et al. A putative Ca²⁺ and calmodulin-dependent protein kinase required for bacterial and fungal symbioses[J]. *Science*, 2004, 303(5662): 1361-1364.
- [28] Gleason C, Chaudhuri S, Yang T B, et al. Nodulation independent of rhizobia induced by a calcium-activated kinase lacking autoinhibition[J]. *Nature*, 2006, 441(7097): 1149-1152.
- [29] Messinese E, Mun J H, Yeun L H, et al. A novel nuclear protein interacts with the symbiotic DMI3 calcium - and calmodulin-dependent protein kinase of *medicago truncatula*[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2007, 20(8): 912-921.
- [30] Yano K, Yoshida S, Muller J, et al. CYCLOPS, a mediator of symbiotic intracellular accommodation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(51): 20540-20545.
- [31] Kang H, Zhu H, Chu X J, et al. A novel interaction between CCaMK and a protein containing the scythe_N ubiquitin-like domain in *Lotus japonicus*[J]. *Plant Physiol*, 2011, 155(3): 1312-1324.
- [32] 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(5729): 1786-1789.
- [33] 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(5729): 1789-1791.
- [34] Murakami Y, Imaizumi-Anraku H, Kouchi H, et al. The transcription activation and homodimerization of *Lotus japonicus* nod factor signaling Pathway2 protein[J]. *Plant Signal Behav*, 2013, 8(12):e26457.
- [35] Hirsch S, Kim J, Muñoz A, et al. GRAS proteins form a DNA binding complex to induce gene expression during nodulation signaling in *Medicago truncatula*[J]. *Plant Cell*, 2009, 21(2): 545-557.
- [36] Cerri M R, Frances L, Laloum T, et al. *Medicago truncatula* ERN transcription factors: regulatory interplay with NSP1/NSP2 GRAS factors and expression dynamics throughout rhizobial infection[J]. *Plant Physiol*, 2012, 160(4):2155-2172.
- [37] Kang H, Chu X, Wang C, et al. A MYB coiled-coil transcription factor interacts with NSP2 and is involved in nodulation in *Lotus japonicus*[J]. *New Phytol*, 2014, 201(3):837-849.
- [38] Marsh J F, Rakocevic A, Mitra R M, et al. *Medicago truncatula* NIN is essential for rhizobial-independent nodule organogenesis induced by autoactive calcium/calmodulin-dependent protein kinase[J]. *Plant Physiol*, 2007, 144(1): 324-335.
- [39] Soyano T, Kouchi H, Hirota A, et al. Nodule inception directly targets NF-Y subunit genes to regulate essential processes of root nodule development in *Lotus japonicus*[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(3):e1003352.
- [40] Chen Y, Chen W, Li X, et al. Knockdown of LjIPT3 influences nodule development in *Lotus japonicus* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2014, 55(1):183-193.
- [41] Suzuki T, Ito M, Yoro E, et al. Endoreduplication-mediated initiation of symbiotic organ development in *Lotus japonicus*[J]. *Development*, 2014, 141(12):2441-2445.

责任编辑:任长江