

水稻受体类激酶 OsSI-RLK2 抑制节间生长

哈 达^{①②*} 陈丽娟^{①②*} 董 亿^① 雷 刚^{①②} 贾发兴^① 张劲松^{①†} 陈受宜^{①†}

(① 中国科学院遗传与发育生物学研究所植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101; ② 中国科学院研究生院, 北京 100049. * 同等贡献. † 联系人, E-mail: sychen@genetics.ac.cn, jszhang@genetics.ac.cn)

摘要 受体类激酶是信号传递途径早期的参与者, 水稻基因组中的受体类激酶基因已被聚类分析. 本研究报道了一个水稻中受体类激酶基因 *OsSI-RLK2*. *OsSI-RLK2* 基因的表达受植物激素 ABA 的诱导. 自身磷酸化实验表明, *OsSI-RLK2* 在 Mn^{2+} 条件下具有自身磷酸化特征, 而在 Ca^{2+} 及 Mg^{2+} 条件下没有激酶活性. *OsSI-RLK2* 过量表达的转基因水稻具有矮化表型, 其各个节间明显缩短. 综上所述, *OsSI-RLK2* 可能代表一种新类型的受体类激酶, 在水稻节间伸长以及 ABA 应答中起着一定作用.

关键词 受体类激酶 激酶活性 *OsSI-RLK2* ABA 节间长度

植物在长期适应变化多端环境因素的过程中进化出了比动物更为复杂的信号传递途径. 这一点在受体类蛋白激酶(receptor-like protein kinase, RLK)家族中尤为明显. 在拟南芥中受体类激酶家族共有 610 个成员, 而在动物和疟原虫中仅有 1~6 个^[1]. 1990 年, Walker 和 Zhang^[2] 在玉米中发现了第一个受体类激酶. 受体类激酶的一般结构特征是: N 端带有胞外受体结构域, 具有一个跨膜结构域以及胞内的激酶结构域^[3]. 植物受体类激酶与动物的酪氨酸受体激酶类似, 所不同的是具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性. 受体类激酶的一个共同特征是, 尽管它们在细胞内的激酶结构域同源性很高, 但其胞外受体结构域的差异却非常明显, 这一点对其多种环境条件的适应性是必需的. 根据其胞外受体部分的不同, 可将植物受体类激酶细分为 21 个亚家族^[4]. 依据其生物学功能的不同, 植物受体类激酶大致可以分为两种类型^[4]: 第一类型的受体类激酶与植物生长发育有关, 包括影响植物茎和花分生组织有关的 CLAVATA1^[5], 调控脱落途径的 HAESA^[6] 以及控制叶表皮分化的 crinkly4^[7] 等; 第二类型包括与植物-共生物相互作用以及与外源环境胁迫有关的一些受体类激酶, 如 NORK/SYMRK 和 HAR1 与植物-真菌和植物-细菌相互作用有关系^[8,9]. BRI1 是个富含亮氨酸的受体类激酶, 被认为是一个可能的类固醇受体^[10]. Pi-d2 是 B-LRR 类型的受体类激酶, 在水稻中与病原防御有一定关系^[11].

受体类激酶的作用模式是, 胞外部分通常具有可以结合某种配体的受体结构域, 可以与特定的配体结

合, 将胞外信号传递到胞内; 胞内的 C 端部分有一个蛋白激酶结构域, 当胞外的受体结构域结合了配体以后, 胞内的激酶结构域中特定的氨基酸残基可以被磷酸化, 从而将信号传递下去. 目前, 已经有一些受体类激酶胞外区的配体和激酶区的结合蛋白相继被报道^[12-15]. 正是这些结果支持了这种作用模式.

水稻中共有 1131 个 RLK/pelle 家族成员, 接近于拟南芥中受体类激酶基因数目的两倍^[16]. 此前我们从北京基因组研究所的籼稻 9311 (*Oryza sativa Indica*) 基因组数据库中筛选出了 267 个受体类激酶类似基因^[17,18]. 本研究报道了一个含有未知胞外区的受体类激酶 *OsSI-RLK2* (*Oryza sativa* stress induced receptor like kinase 2, 结果未发表). 实验结果表明, *OsSI-RLK2* 基因的表达受植物激素 ABA 的诱导. *OsSI-RLK2* 具有体外自我磷酸化活性. *OsSI-RLK2* 过量表达的水稻表现出节间缩短的表型. 因此, *OsSI-RLK2* 可能与植物的 ABA 反应有关, 并在水稻的节间生长方面起着一定作用.

1 材料和方法

(i) *OsSI-RLK2* 基因的克隆. 通过在北京基因组研究所的籼稻 9311 基因组数据库中进行序列对比, 获得了 *OsSI-RLK2* 基因的部分序列^[17,18], 并用这段序列在 NCBI 序列数据库中比较得到了 *OsSI-RLK2* 基因的可读框(ORF)序列信息. 用下列引物 9left (5'-AGA-GATCTATGGACACGCCATTGCTGC-3') 和 9right (5'-AGGGGATCCTCACGCTGTGCTTCCCGGTG-3') 从水稻品系 TP309 cDNA 中 PCR 扩增得到 *OsSI-RLK2* 基因

的ORF序列,将此序列克隆到T载体(Promega),并测序.通过与数据库中基因组序列比对确定了*OsSI-RLK2*基因的内含子的位置.

(ii) DNA提取以及Southern杂交分析. 收集在大田生长45 d的水稻品系TP309的叶子,利用SDS提取法从水稻叶片中分离得到基因组DNA^[19].用*Dra* I和*Eco*R I酶切割基因组DNA(5 μ g),在0.8%(质量体积比)琼脂糖凝胶上电泳分离片段,并将目的片段转移到尼龙膜上用于Southern分析. Southern杂交所用探针为*OsSI-RLK2*基因的cDNA片段.

(iii) ABA处理、RNA提取和Northern杂交分析. 将水稻TP309的种子37°C萌发2~3 d,之后转移到26~28°C温室培养10 d.用0.1 mmol/L ABA处理水稻幼苗,在处理0.5, 1, 5, 12, 24 h收集材料,液氮冻融,-80°C保存.提取其总RNA^[20].杂交探针的模板与上述Southern杂交相同.

(iv) *OsSI-RLK2*蛋白的纯化. 用引物5'-GT-TAGATCTGTCCTTCAGCCAGCGGCTCGG-3'和5'-GTTGTCGACCAGCATCTCCAGCACCTTGCC-3'从全长*OsSI-RLK2* cDNA上扩增其激酶结构域部分(337~636 aa),并用*Bgl* II/*Sal* I酶切,将酶切产物克隆到pGEX4T-1中*Bam* HI/*Sal* I多克隆位点,构建表达载体.将表达载体转化到大肠杆菌BL21菌株中.挑取单斑,在5 mL 2 $\times$ YT培养基中37°C培养12 h,然后转到100 mL 2 $\times$ YT培养基中37°C培养12 h,冰上放置冷却,加IPTG至终浓度400 μ mol/L,30°C诱导培养3 h,离心收菌,加10 mL抽提缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.6, 100 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, 10% (体积比)甘油)及100 μ L PMSF悬浮,超声波处理10 min, 13000 r/min离心30 min.上清经GST亲和柱纯化.控制上样时流速<5 mL/min,上样后用洗涤缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.7, 100 mmol/L NaCl, 0.1% (体积比) Tween-20, 10% (体积比)甘油)洗柱至35倍柱床体积,然后用洗脱缓冲液(20 mmol/L 还原型谷胱甘肽, 100 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0)洗脱目的蛋白.用centriprep浓缩管(Gelman公司)去除游离的谷胱甘肽并交换缓冲液,使蛋白样品处于存储缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.6, 50 mmol/L KCl, 2 mmol/L DTT, 10% (体积比)甘油)中,-20°C保存.表达、纯化后的蛋白样品用10% SDS-PAGE分析,并用小鼠Anti-GST的单克隆抗体(Amersham Pharmacia)做Western blot鉴定.

(v) *OsSI-RLK2*蛋白的激酶活性分析. 纯化的GST融合蛋白用作激酶分析,以纯化的GST蛋白做对照.所有激酶反应均在25 μ L反应体系中进行,反应体系为50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.6), 50 mmol/L KCl, 2 mmol/L DTT, 10% (体积比)甘油, 1 μ g不同形式的GST融合蛋白.分别外加5 mmol/L $MnCl_2$, 5 mmol/L $CaCl_2$ 和5 mmol/L $MgCl_2$ 作为离子条件.磷酸化由加入12.5 μ Ci [γ -³²P]ATP (30 Ci/mmol) (1 Ci=3.7 $\times$ 10¹⁰ Bq)和10 μ mol/L自由ATP起始反应,22°C保温40 min,加入EDTA至终浓度为10 mmol/L终止反应.再加入5 μ L 6 $\times$ SDS上样缓冲液,70°C变性5 min,10% SDS-PAGE分离1 h,电转移至PVDF膜(Amersham Pharmacia)上.掺入的磷酸基团用放射自显影检测,同一张膜再用考马斯亮蓝染色以确认上样量的一致.

(vi) 转基因水稻的获得. 我们构建了过量表达载体pBin-*OsSI-RLK2*,并将pBin-*OsSI-RLK2*载体转入农杆菌AGL1中,转化水稻^[21].方法是:将成熟种子去壳后用20%次氯酸钠消毒40~60 min,无菌水漂洗3次,接种到NB固体培养基上,从胚中诱导愈伤组织.取生长状态良好的胚性愈伤组织团用已转化pBin-*OsSI-RLK2*载体的农杆菌侵染20~30 min后,转入覆盖一张滤纸的含AS (100 mmol/L)的R2固体培养基上,26°C暗培养12~16 h,转到含有抗生素的NB培养基上初筛.对过量表达株系采用80 mg/L G-418和500 mg/L头孢霉素筛选.将在初筛培养基上能正常生长的愈伤组织再转到含更高浓度抗生素的培养基上进行复筛,将在复筛培养基上依然能够生长的愈伤组织转到含抗生素的PR培养基上预分化,大约20 d后,转到RM培养基(1/2 MS, 0.5 mg/L NAA)上再生植株.再生的植株在RM培养基上诱导生根,长大后移栽到温室,并大田培养.

(vii) 转基因水稻的表型分析. 水稻种子在水中浸泡2 d,在土壤中培养45 d(依据生长气候条件有所不同),并插秧到大田里.农场所处位置为中国北京(39°48'N, 116°28'E).在成熟期测量株高和节间长度.

2 结果

2.1 水稻受体类激酶 *OsSI-RLK2* 的结构特征

*OsSI-RLK2*基因组DNA全长3715 bp,其中包含3个内含子,分别位于起始密码子ATG下游761~2214, 2251~2448和3671~3782 bp之间.*OsSI-RLK2*基因的可读框含有2052 bp,编码包括683个氨基酸的

蛋白. 用 SMART 程序预测了 OsSI-RLK2 蛋白所含有的结构域, 结果显示 OsSI-RLK2 在 263~285 aa 处含有一个跨膜结构域, 在 337~636 aa 处含有一个激酶结构域. OsSI-RLK2 的 N 端和已知的任何结构域都没有相似性, 因此 OsSI-RLK2 代表了一类未知功能结构域(DUF)的受体类激酶(图 1(a)). 将 OsSI-RLK2 的激酶结构域和其他植物受体类激酶激酶结构域进行比较(图 1(b)). 结果表明, OsSI-RLK2 激酶结构域和拟南芥受体类激酶 PR5K 具有最大相似性, 达到 52.2%. 相比之下, OsSI-RLK2 激酶结构域和其他受体类激酶相似性较低, 与拟南芥 BRI1, 大豆 GmRLK1, 水稻 RLK10 和 Xa21 的相似性分别为 32.2%, 29.0%, 33.1%和 21.5%. OsSI-RLK2 的 cDNA 序列的 GenBank 登录号为 EF560752.

2.2 OsSI-RLK2 在水稻基因组中的拷贝数

为了解 OsSI-RLK2 在水稻基因组中的结构特征, 我们提取了水稻 TP309 的总 DNA, 然后以 OsSI-RLK2 cDNA 为探针进行 Southern 杂交分析. 由于 OsSI-RLK2 序列中不包含 *Dra* I 和 *Eco* R I 限制性酶切位点, 所以用这两种内切酶酶解总 DNA. 图 2 显示, 2 个泳道均只有一条杂交带, 表明 OsSI-RLK2 在基因

组中以单拷贝形式存在. 与基因组序列的比对结果也表明该基因以单拷贝形式存在于基因组中, 位于第 1 号染色体上.

2.3 OsSI-RLK2 对 ABA 处理的应答分析

本研究分析了 OsSI-RLK2 在 ABA 处理下的应答反应. 用 0.1 mmol/L ABA 处理生长 7 d 的 TP309 幼苗, 分别于处理后 0.5, 1, 5, 12 及 24 h 收集材料. 以 OsSI-RLK2 cDNA 为探针进行 Northern 杂交分析. 结果如图 3 所示, OsSI-RLK2 的表达受 ABA 处理的诱导. ABA 处理 0.5~1 h 时 OsSI-RLK2 的表达被抑制, 5 h 时上升至本底水平, 在 12 h 时, 显著诱导了 OsSI-RLK2 的表达, 而 24 h 有下降趋势.

2.4 OsSI-RLK2 蛋白的激酶活性分析

受体类激酶在不同的植物中已经被发现具有激酶活性 [23~26]. 为确认 OsSI-RLK2 是否具有激酶活性, 将 OsSI-RLK2 的激酶结构域(337~636 aa)同 GST 形成融合蛋白在大肠杆菌中表达, SDS-PAGE 电泳显示纯化的蛋白具有预测的分子量(图 4(a)左). 随后用鼠抗-GST 单克隆抗体对 GST 融合蛋白进行了 Western 杂交鉴定(图 4(a)右). 之后对 OsSI-RLK2 纯化蛋白进行了体外激酶活性分析, 以 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ 为磷酸化标记

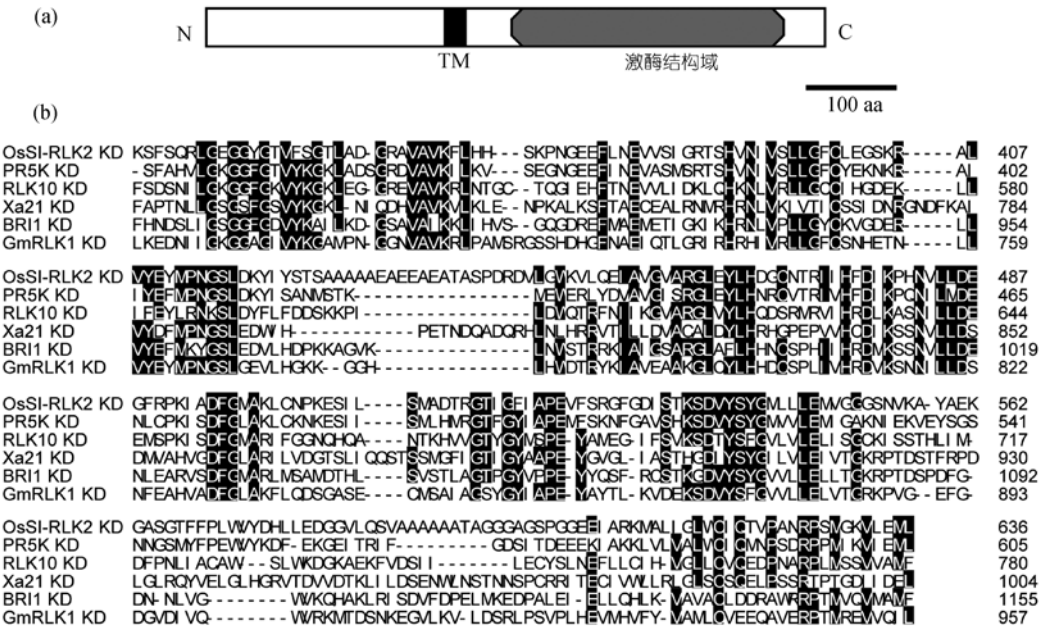


图 1 OsSI-RLK2 蛋白结构及与其他受体类激酶激酶结构域的序列比较

(a) OsSI-RLK2 蛋白结构的结构域, 示全长 683 aa OsSI-RLK2 蛋白. N和C表示N末端和C末端. 跨膜区(TM)和激酶结构域都在图中显示. (b) OsSI-RLK2 激酶激酶结构域与其他受体类激酶激酶结构域的序列比较. 所用的软件为DNASTAR中的MAGLIGN程序. 高度保守的氨基酸残基用黑框圈住. 高度保守的氨基酸残基用黑底显示 [22]. 比对的序列包括拟南芥BRI1(序列号: AAC49180)、大豆GmRLK1(AF244888)、拟南芥PR5K(NP_198644)、水稻 RLK10(AAM90694)和水稻 Xa21(A57676)

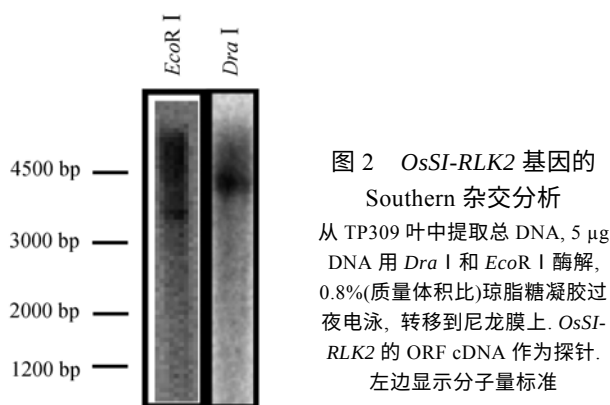


图2 *OsSI-RLK2* 基因的 Southern 杂交分析

从 TP309 叶中提取总 DNA, 5 μ g DNA 用 *Dra* I 和 *Eco*R I 酶解, 0.8%(质量体积比)琼脂糖凝胶过夜电泳, 转移到尼龙膜上. *OsSI-RLK2* 的 ORF cDNA 作为探针. 左边显示分子量标准

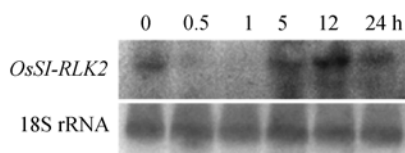


图3 植物激素 ABA 对 *OsSI-RLK2* 基因表达的影响
提取总 RNA, 以 *OsSI-RLK2* 基因 ORF cDNA 作为杂交探针, 以 18S rRNA 为对照

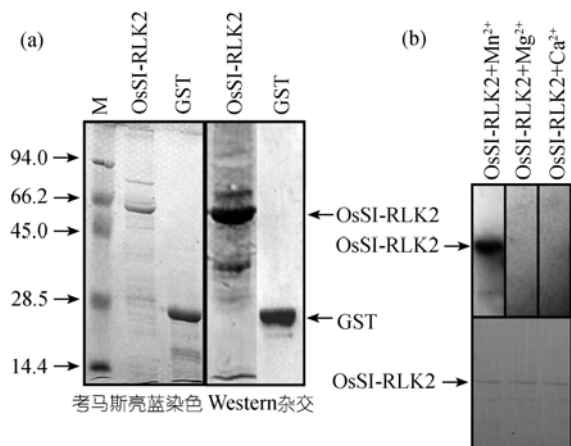


图4 *OsSI-RLK2* 蛋白的纯化和激酶活性分析

(a) 纯化蛋白的考马斯亮蓝染色(左)和 Western 杂交(右). Western 杂交以抗-GST 单克隆抗体进行. *OsSI-RLK2* 和 GST 的位置以箭头表示. M 示标准分子量. (b) 不同离子条件下 *OsSI-RLK2* 蛋白的激酶活性分析. 分别以 5 mmol/L Mg^{2+} , 5 mmol/L Mn^{2+} 和 5 mmol/L Ca^{2+} 作为离子条件. 磷酸化后的蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 并转移到 PVDF 膜上进行放射自显影检测(上)和考马斯亮蓝染色(下)

的底物. 在 Mn^{2+} 存在情况下, *OsSI-RLK2* 蛋白能够自我磷酸化, 而在 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 条件下, 不能自我磷酸化(图 4(b)). 结果表明, *OsSI-RLK2* 蛋白的自我磷酸化活性需要 Mn^{2+} 作为辅助因子.

2.5 *OsSI-RLK2* 过量表达水稻的表型分析

为了研究 *OsSI-RLK2* 基因的生物学功能, 将过量

表达载体 pBin-*OsSI-RLK2* 转化水稻 TP309, 获得了 20 个独立的株系, 其中 9 个株系中 *OsSI-RLK2* 的表达量明显高于对照. 本实验的水稻材料来自于大田种植后插秧期的对照 TP309 和转基因水稻. *OsSI-RLK2* 在对照 TP309 的本底表达水平很低, Northern 杂交难以检测到, 而在 9 个过量表达株系中均能检测到(图 5(a)). 田间观察表明, *OsSI-RLK2* 过量表达水稻株系呈现矮化表型, 图 5(b)和(c)显示了成熟期时, 其株高明显小于对照. 上述矮化现象在不同转基因株系中, 在程度上表现出了差异, 13-3 株系最为严重, 其株高只为对照的 73%, 而 18-1 株系最不明显, 其株高为对照的 97%. 为了进一步阐明 *OsSI-RLK2* 过量表达水稻株系矮化的原因, 我们对 15-2, 18-2 和 20-2 等 3 个株系的节间长度进行了统计分析. 结果表明, 这 3 个高表达株系的所有节间与对照相比都有不同程度的缩短, 而越靠近下部的节间其缩短程度越明显. 其中第 5 节间最为严重, 15-2, 18-2 和 20-2 等 3 个株系的第 5 个节间长度分别为对照的 65%, 60%和 69%, 而有些个体中缺乏第 5 节间(图 5(d)和(e)). 这些结果显示, *OsSI-RLK2* 过量表达水稻的矮化是由于其各个节间的缩短所导致的, 而不是由于个别节间的变短所致. 这种节间缩短在不同节间中有着程度上的差异, 在最接近下部的第五节间中最为明显.

3 讨论

受体类激酶基因在植物中代表了一个大的基因家族, 在水稻基因组中共有 1100 多个成员^[16]. 这些基因在植物的生长发育中起着重要的作用, 而到目前为止, 仅对其中的一部分基因进行了研究. 受体类激酶一般位于质膜上, 调控有关植物生长发育、植物和微生物的互作以及生物胁迫和非生物胁迫的信号传递途径^[27]. 此前, 我们鉴定了一个盐诱导的植物凝血素(lectin)类受体类激酶 AtLecRK2, 该激酶位于质膜上, 具有丝氨酸/苏氨酸的激活活性, 它的表达在盐胁迫下受乙烯信号通路的调节^[28].

本文鉴定了一个受 ABA 诱导的受体类激酶基因 *OsSI-RLK2*. *OsSI-RLK2* 的表达与 ABA 的关系较为复杂, 即先受 ABA 的抑制后受 ABA 的诱导, 其具体原因尚不清楚. 拟南芥中一个 LRR 类的受体类激酶 RPK1 的表达也受 ABA 的短暂诱导, 并在 ABA 信号途径的上游传递中起着作用^[29]. 结构分析表明, *OsSI-RLK2* 激酶结构域和 PR 类型的受体类激酶具有高的相似性^[30]. *OsSI-RLK2* 具有所有保守的激酶所需的亚

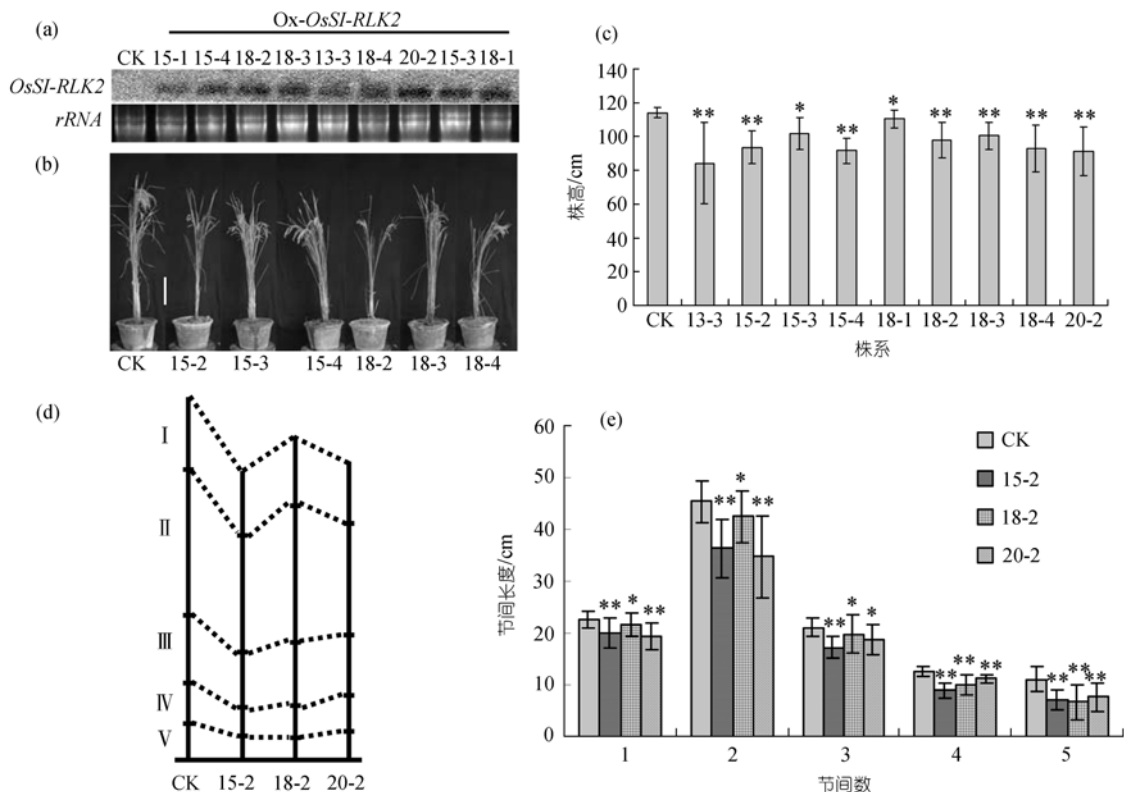


图 5 *OsSI-RLK2* 过量表达水稻的表型分析

(a) *OsSI-RLK2* 过量表达水稻株系中 *OsSI-RLK2* 基因的表达分析. 提取总 RNA, 以 *OsSI-RLK2* cDNA 为探针, 进行 Northern 杂交, 以 18S rRNA 为对照. (b) 成熟期时, *OsSI-RLK2* 过量表达水稻与对照 TP309 的表型比较. 标尺示 20 cm. (c) *OsSI-RLK2* 过量表达水稻与对照 TP309 的株高统计. (d)和(e) *OsSI-RLK2* 过量表达水稻与对照 TP309 的节间长度的比较. 转基因水稻的各个节间与对照相比均有不同程度的缩短, 尤以第 4 和第 5 节间最为明显. 第 1~5 节间分别以 I~V (d)和 1~5(e)表示

结构域. 在大肠杆菌中诱导表达的 *OsSI-RLK2* 在体外具有激酶活性, 这一点与拟南芥 PR5K 类似, 而 PR5K 的激酶结构域和 *OsSI-RLK2* 的同源性很高, 表明这一类的激酶具有自身磷酸化活性. *OsSI-RLK2* 具有激酶活性, 暗示它可能在水稻中是一个具有功能的激酶. 不同激酶所依赖的二价阳离子的类型有所不同. 我们曾经克隆了与细菌双组分系统蛋白同源的烟草乙烯受体 NTHK1 和 NTHK2, 其中 NTHK1 具有 Mn^{2+} 依赖的丝氨酸/苏氨酸激酶活性, 而 NTHK2 具有双重激酶活性, 即 Mn^{2+} 存在下的丝氨酸/苏氨酸激酶活性和 Ca^{2+} 存在下的组氨酸激酶活性 [31,32]. *OsSI-RLK2* 在 Mn^{2+} 条件下具有自身磷酸化活性, 而在 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 条件下没有这个活性, 说明它是以 Mn^{2+} 作为其激酶活性的辅助因子.

矮化是一种重要的农艺性状, 有助于作物的抗倒伏能力和产量的提高, 其中最为代表性的是“绿色革命”基因的研究 [33]. 许多基因的突变导致了矮化的表型, 如已经被克隆的细胞色素 P450 的成员 *ebisu*

dwarf (*d2*) [34], 编码赤霉素合成酶的 *Tan-Ginbozu* (*D35*) [35] 以及 BR 途径缺失突变体基因 *brd2* [36]. *OsGLU1* 属于吡咯-1,4- β -D-葡聚糖酶基因家族, 其突变体表现为矮化的表型且节间变短. *OsGLU1* 基因的表达受 GA 和 BR 的诱导, 而不受吡咯-3-乙酸、乙烯和脱落酸的影响 [21]. 水稻节间的伸长受多种因素的影响, 其中包括植物激素乙烯、GA 和 BR [37~39]. 有研究表明, 水稻节间中 ABA 浓度的降低有助于茎的伸长 [40]. 水稻中过量表达 *OsSI-RLK2* 会导致转基因水稻节间的变短, 尤其对最下面节间的影响最大. 相反, BR 和 GA 通路的突变体对最上面节间的影响比较大 [35,36]. *OsSI-RLK2* 的表达受 ABA 的诱导, 表明 *OsSI-RLK2* 可能通过 ABA 信号途径影响水稻节间的长度, 其细节尚有待进一步研究.

参 考 文 献

- Shiu S H, Bleecker A B. Expansion of the receptor-like kinase/Pelle gene family and receptor-like proteins in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2003, 132: 530—543 [DOI]

- 2 Walker J C, Zhang R. Relationship of a putative receptor protein kinase from maize to the S-locus glycoproteins of *Brassica*. *Nature*, 1990, 345: 743—746[DOI]
- 3 van der Geer P, Hunter T, Lindberg R A. Receptor protein-tyrosine kinases and their signal transduction pathways. *Annu Rev Cell Biol*, 1994, 10: 251—337[DOI]
- 4 Shiu S H, Bleecker A B. Plant receptor-like kinase gene family: Diversity, function, signaling. *Sci STKE*, 2001, 18: RE22
- 5 Clark S E, Williams R W, Meyerowitz E M. The CLAVATA1 gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis*. *Cell*, 1997, 89: 575—585[DOI]
- 6 Jinn T L, Stone J M, Walker J C. HAESA, an *Arabidopsis* leucine-rich repeat receptor kinase, controls floral organ abscission. *Genes Dev*, 2000, 14: 108—117
- 7 Becraft P W, Stinard P S, McCarty D R. CRINKLY4: ATNFR-like receptor kinase involved in maize epidermal differentiation. *Science*, 1996, 273: 1406—1409[DOI]
- 8 Endre G, Kereszt A, Kevei Z, et al. A receptor kinase gene regulating symbiotic nodule development. *Nature*, 2002, 417: 962—966[DOI]
- 9 Nishimura R, Hayashi M, Wu G J, et al. HAR1 mediates systemic regulation of symbiotic organ development. *Nature*, 2002, 420: 426—429[DOI]
- 10 Li J, Chory J. A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction. *Cell*, 1997, 90: 929—938[DOI]
- 11 Chen X, Shang J, Chen D, et al. A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. *Plant J*, 2006, 46: 794—804[DOI]
- 12 Li J, Wen J, Lease K A, et al. BAK1, an *Arabidopsis* LRR receptor-like protein kinase, interacts with BRI1 and modulates brassinosteroid signaling. *Cell*, 2002, 110: 213—222[DOI]
- 13 Braun D M, Stone J M, Walker J C. Interaction of the maize and *Arabidopsis* kinase interaction domains with a subset of receptor-like protein kinases: Implications for transmembrane signaling in plants. *Plant J*, 1997, 12: 83—95[DOI]
- 14 Bower M S, Matias D D, Fernandes-Carvalho E, et al. Two members of the thioredoxin-h family interact with the kinase domain of a *Brassica* S locus receptor kinase. *Plant Cell*, 1996, 8(9): 1641—1650[DOI]
- 15 Andrea L S, Andrew G M, Takeshi I, et al. Isolation and characterization of kinase interacting protein 1, a pollen protein that interacts with the kinase domain of prk1, a receptor-like kinase of petunia. *Plant Physiol*, 2001, 126: 1480—1492[DOI]
- 16 Shiu S H, Karlowski W M, Pan R, et al. Comparative analysis of the receptor-like kinase family in *Arabidopsis* and rice. *Plant Cell*, 2004, 16: 1220—1234[DOI]
- 17 Yu J, Hu S, Wang J, et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science*, 2002, 296: 79—92[DOI]
- 18 Dong Y, Zhang J G, Wang Y J, et al. Phylogenetic analysis of receptor-like kinases from rice. *Acta Bot Sin*, 2004, 46: 647—654
- 19 Chen S Y, Zhu L H, Hong J. Molecular biology identification of a salt-tolerant rice line. *Acta Bot Sin*, 1991, 33: 569—573
- 20 张劲松, 周骏马, 张弛, 等. 水稻耐盐突变体在环境因子胁迫下基因的表达特性. *中国科学*, B 辑, 1995, 25: 659—669
- 21 Zhou H L, He S J, Cao Y R, et al. OsGLU1, a putative membrane-bound endo-1,4-beta-D-glucanase from rice, affects plant internode elongation. *Plant Mol Biol*, 2006, 60: 137—151[DOI]
- 22 Hanks S K, Quinn A M. Protein kinase catalytic domain sequence database: identification of conserved features of primary structure and classification of family members. *Methods Enzymol*, 1991, 200: 38—62
- 23 Martine C, Krzysztof J, Bertha C R, et al. A receptor-like kinase from *Arabidopsis thaliana* is a calmodulin-binding protein. *Biochem J*, 2004, 379: 841—848[DOI]
- 24 Nancy F S, Daphne R G. The proline-rich, extensin-like receptor kinase-1 (PERK1) gene is rapidly induced by wounding. *Plant Mol Biol*, 2002, 50: 667—685[DOI]
- 25 Nishiguchi M, Yoshida K, Sumizono T, et al. A receptor-like protein kinase with a lectin-like domain from lombardy poplar: Gene expression in response to wounding and characterization of phosphorylation activity. *Mol Genet Genomics*, 2002, 267: 506—514[DOI]
- 26 Yoshida S, Parniske M. Regulation of plant symbiosis receptor kinase through serine and threonine phosphorylation. *J Biol Chem*, 2005, 280: 9203—9209[DOI]
- 27 Morris E R, Walker J C. Receptor-like protein kinases: The keys to response. *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 6: 339—342[DOI]
- 28 He X J, Zhang Z G, Yan D Q, et al. A salt-responsive receptor like kinase gene regulated by the ethylene signaling pathway encodes a plasma membrane serine/threonine kinase. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 337—383
- 29 Yuriko O, Kyonoshin M, Motoaki S, et al. Leucine-rich repeat receptor-like kinase1 is a key membrane-bound regulator of abscisic acid early signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2005, 17: 1105—1119[DOI]
- 30 Wang X, Zafian P, Choudhary M, et al. The PRSK receptor protein kinase from *Arabidopsis thaliana* is structurally related to a family of plant defense proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 2598—2602[DOI]
- 31 Xie C, Zhang J S, Zhou H L, et al. Serine/threonine kinase activity in the putative histidine kinase-like ethylene receptor NTHK1 from tobacco. *Plant J*, 2003, 33: 385—393[DOI]
- 32 Zhang Z G, Zhou H L, Chen T, et al. Evidence for serine/threonine and histidine kinase activity in the tobacco ethylene receptor protein NTHK2. *Plant Physiol*, 2004, 136: 2971—2981[DOI]
- 33 Peng J, Richards D E, Hartley N M, et al. 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 1999, 15, 400: 256—261[DOI]
- 34 Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Umemura K, et al. A rice brassinosteroid-deficient mutant, ebisu dwarf (d2), is caused by a loss of function of a new member of cytochrome P450. *Plant Cell*, 2003, 15: 2900—2910[DOI]
- 35 Itoh H, Tatsumi T, Sakamoto T, et al. A rice semi-dwarf gene, Tan-Ginbozu (D35), encodes the gibberellin biosynthesis enzyme, ent-kaurene oxidase. *Plant Mol Biol*, 2004, 54: 533—547[DOI]
- 36 Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Fujioka S, et al. The Rice brassinosteroid-deficient dwarf2 mutant, defective in the rice homolog of *Arabidopsis* DIMINUTO/DWARF1, is rescued by the endogenously accumulated alternative bioactive brassinosteroid, dolichosterone. *Plant Cell*, 2005, 17: 2243—2254[DOI]
- 37 Kende H, van der Knaap E, Cho H T. Deepwater rice: A model plant to study stem elongation. *Plant Physiol*, 1998, 118: 1105—1110[DOI]
- 38 van der Knaap E, Kim J H, Kende H. A novel gibberellin-induced gene from rice and its potential regulatory role in stem growth. *Plant Physiol*, 2000, 122: 695—704[DOI]
- 39 Yamamuro C, Ihara Y, Wu X, et al. Loss of function of a rice brassinosteroid insensitive1 homolog prevents internode elongation and bending of the lamina joint. *Plant Cell*, 2000, 12: 1591—1606[DOI]
- 40 Yang S H, Choi D. Characterization of genes encoding ABA 8'-hydroxylase in ethylene-induced stem growth of deepwater rice (*Oryza sativa* L.). *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 350: 685—690[DOI]