

Bitkilerde Mitojenler Tarafından Aktive Edilen Protein Kinazlar (MAPK)

İsmail POYRAZ* Emel SÖZEN

Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26470 Eskişehir

* Sorumlu Yazar

e-posta: ismailpoyraz@anadolu.edu.tr

Özet

Mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolları maya, hayvan ve bitkiler dahil tüm ökaryotik organizmalarda sinyal iletiminde rol oynarlar. MAPK'lar büyük bir serin:treonin:kinaz ailesi tarafından kodlanır. MAPK sinyal yolu enzimleri (MAPK, MAPKK, MAPKKK) hücre dışından gelen farklı uyarıcılarla düzenlenir ve hücre içinde ilgili metabolik yollara sinyalleri ileterek hücresel cevabın oluşmasına neden olurlar. Bitkiler doğaları gereği hareketsizdirler ve dolayısıyla sıcaklık değişimleri, kuraklık, radyasyon ve rüzgâr gibi çok çeşitli çevresel streslere maruz kalmaktadır. Bitkilerde MAPK'ların abiyotik stres, patojen ve bitki hormonlarının bildiriminde rol oynadığı kanıtlanmıştır. Belirli MAPK'lara özel antikorların kullanıldığı moleküler ve biyokimyasal çalışmalarla MAPK aktivasyonunun patojen enfeksiyonu, yaralanma, düşük ısı, kuraklık, yüksek ve düşük ozmolarite, yüksek tuz, temas ve reaktif oksijen türleri gibi uyarıcılarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Uyarıcı sayısının farklılığı ile orantılı olarak bitkilerde MAPK enzimlerinin çok çeşitli olduğu da bilinmektedir. Bitkilerde MAPK sinyal yolları hakkında yoğun araştırmalar yapılmasına rağmen, çalışma mekanizması açıklanmamış birçok MAPK enzimi bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: MAPKlar, Sinyal iletimi, Bitkiler.

Mitogen Activated Protein Kinases (MAPKs) in Plants

Abstract

Mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascades play roles in signal transduction of eukaryotes, including yeasts, animals and plants. MAPKs are encoded by a large family of serine:threonine protein kinases. Distinct MAPK pathways (MAPK, MAPKK, MAPKKK) are regulated by different extracellular stimuli and lead to a cellular response by transducing the signals to the relevant metabolic pathways. Because of their sessile habit, plants are exposed to a variety of environmental stresses, such as changes in temperature, drought, radiation and wind. In plants there is evidence for MAPKs playing a role in the signaling of abiotic stresses, pathogens and plant hormones. Molecular and biochemical studies using specific antibodies to particular MAPKs have revealed that MAPK activation correlates with stimulatory treatments such as pathogen infection, wounding, low temperature, drought, hyper- and hypo-osmolarity, high salinity, touch, and reactive oxygen species. It is known that there are numerous of plant MAPK enzymes proportional to the diversity of stimuli. Although studies have been undertaken intensively on the plant MAPK pathways, working mechanisms of many MAPK enzymes need to be elucidated.

Key Words: MAPKs, Signal transduction, Plants.

GİRİŞ

Mitojenler tarafından aktive edilen protein kinazlar (MAPK) tek hücreli canlılardan bitki ve hayvanlara kadar tüm ökaryotlarda bulunan genel sinyal iletim modülleridir [1-2] ve serin/treonin protein kinazlar olarak bilinirler [3-5]. MAPK sinyal yolu enzimleri, ökaryotik hücrelerdeki gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar [6-7].

Bu protein fosforilasyon enzimleri, hücre içi iletişim ve hücre dışı uyarıların artırılmasında ve sonuçta uygun biyokimyasal ve fizyolojik hücresel cevabın oluşturulmasında aracılık yapmaktadırlar [1-8, 14-17, 41-45].

Tüm ökaryotlarda yüksek oranda korunmuş olan MAPK sinyal metabolik yolu [9]; büyüme [34], ölüm, farklılaşma, çoğalma ve stres uyarılarını düzenlemektedir [9, 41]. MAPK sinyal yollarının bitkilerde, maya ve hayvan

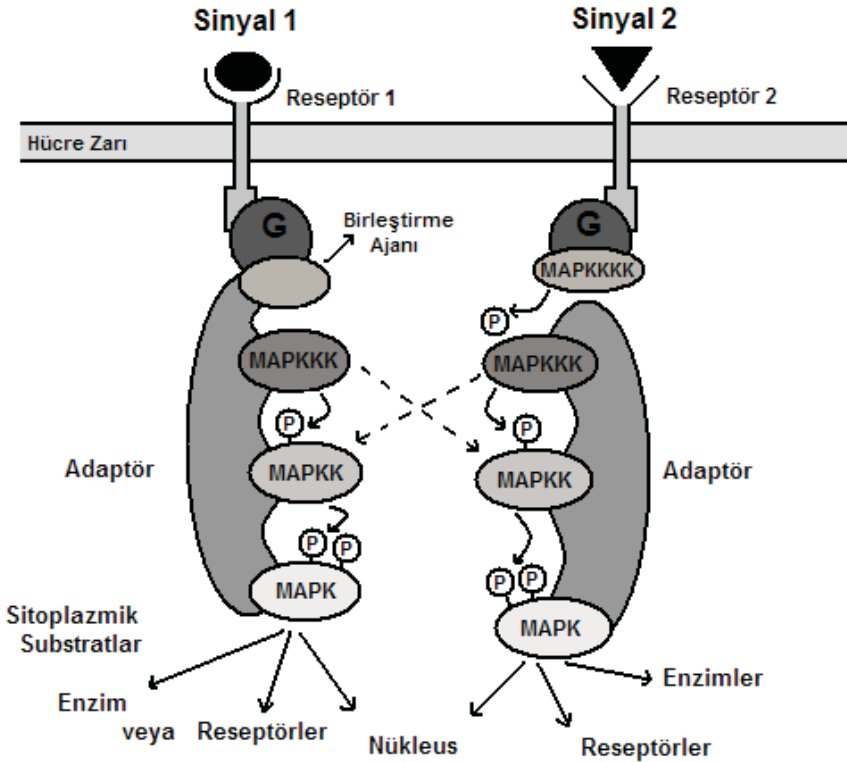
MAPK'larına göre daha çeşitli rollere sahip oldukları gösterilmiştir. Son zamanlarda bitkilerde yapılan çalışmalar, MAPK sinyal yolunun (kaskatlarının) hormonal yanıt, hücre döngüsünün düzenlenmesi, abiyotik stres sinyali ve savunma mekanizmasını içeren temel fizyolojik fonksiyonlarda hayati öneme sahip olduğuna işaret etmektedir [8]. Belli bazı MAPK'lar için spesifik antikolar kullanılarak yapılan çalışmalar, MAPK aktivasyonunun patojen enfeksiyonu, yaralanma [46], düşük ısı, kuraklık [18], yüksek ve düşük ozmolarite [30, 42], yüksek tuz [32-33], temas [18] ve reaktif oksijen türleri [31] gibi uyarılarla ilişkili olduğunu göstermiştir. MAPK sinyal yolunun Alfalfa kök hücrelerinde stres sinyaliyle hücre aktin iskeletinin düzenlenmesinde rol oynadığı da bulunmuştur [45].

Bitkilerde MAPK sinyal yolu etkin bir şekilde araştırılmasına rağmen çok farklı tipinin olması ve çok farklı metabolik yollarla ifade edilmesinden dolayı karmaşık bir yapıya

sahiptirler [10]. Değişik bitkilerde MAPK sinyal yollarında görev yapan enzimlerin bazıları klonlanarak karakterize edilmiştir [11]. Çalışılan MAPK sinyal yollarına örnek olarak dikotiledonlardan *Arabidopsis* (tere), *Nicotiana tabacum* (tütün), *Lycopersicon esculentum* (domates), *Pisum sativum* (bezelye), *Petunia* (petunya), *Medicago sativa* (yonca), *Beta vulgaris* (şeker pancarı) [42], *Hibiscus sabdariffa* [43] ile monokotiledonlardan *Oryza sativa* L. (piriç), *Zea mays* (mısır) ve *Avena* bitkileri verilebilir [9-10, 12, 13].

MAPK sinyal transfer yolu tüm ökaryotik organizmalarda üçlü kinaz şeklinde bulunur ve kısaca; MAPKKK-MAPKK-MAPK şeklinde ifade edilir (Şekil 1). MAPK enzimleri MAPKKK-MAPKK-MAPK olarak yukarıdan aşağıya reseptör-hedef şeklinde bağlantılıdır [9, 14-16].

MAPKKK'lar dıştan gelen sinyallerle aktif hale gelir ve MAPKK'ı serin/treonin motifinden fosforile eder. Aktif hale gelen MAPKK, substratı olan MAPK'nın treonin ve tirozin



Şekil 1. MAPK Sinyal iletim yolu şeması [13].

Tablo 1. Biyolojik fonksiyonlarına göre gruplandırılmış bitki MAPKKK'ları [1, 9, 23].

MAPKKK	Bitki Adı	Grup	Biyolojik Fonksiyonu
<i>AtMEKK1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A1	Soğuk, yüksek tuz, temas, bakteriyel kaynaklı sinyal, kuraklık
<i>MsOMTK1</i>	<i>Medicago sativa</i>	A1	Oksidatif stres, hücre ölümü
<i>AtYODA</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A2	Ekstra embriyonik hücre ölümü, stomata gelişimi
<i>NbMAPKKKCa</i>	<i>Nicotiana benthamiana</i>	A2	HR, hücre ölümü, bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>LeMAPKKKa</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	A2	HR, hücre ölümü, bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>AtANP1, AtANP2, AtANP3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A3	Oksidatif stres, sitokinezis, auxin sinyali
<i>NtNPK1</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	A3	Isı, soğuk, hiperosmotik stres, sitokinezis, auxin sinyali, patojenlere yanıt, kuraklık ve donmaya tolerans
<i>AtMPKKK1, AtMPKKK2</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A4	Hücre bölünmesi
<i>BnMAPKKK</i>	<i>Brassica napus</i>	A4	Hücre bölünmesi
<i>AtCTR1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	B	Etilen sinyali
<i>AtEDR1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	B	Fungal patojenlere yanıt
<i>LeCTR1</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	B	Etilen sinyali
<i>OsEDR1</i>	<i>Oryza sativa</i>	B	Savunma, stres sinyali ve Gelişim

Tablo 2. Biyolojik fonksiyonlarına göre gruplandırılmış bitki MAPKK'ları [1, 9, 23].

MAPKK	Bitki Adı	Grup	Biyolojik Fonksiyonu
<i>AtMKK1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A1	Soğuk, kuraklık, yüksek tuz, oksidatif stres, yaralanma, bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>AtMKK1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A1	Soğuk, yüksek tuz stresi
<i>MsPRKK</i>	<i>Medicago sativa</i>	A1	Fungal kaynaklı sinyal
<i>AtMKK6/AtANQ1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A2	Sitokinezis
<i>NtMEK1/NtNQK1</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	A2	Sitokinezis, hücre ölümü, bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>OsMEK1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A2	Soğuk stresi
<i>ZmMEK1</i>	<i>Zea mays</i>	A2	Kök apeksinin çoğalması
<i>AtMKK3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	B1	Çekirdek Taşıma Faktörü Sinyalizasyonu
<i>NtNPK2</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	B1	Çekirdek Taşıma Faktörü Sinyalizasyonu
<i>AtMKK4, AtMKK5</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	C1	Bakteriyel kaynaklı sinyal, HR
<i>MsSIMKK</i>	<i>Medicago sativa</i>	C1	Ağır metal, hiperosmotik stres, fungal kaynaklı sinyal, etilen sinyali
<i>NtMEK2</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	C1	HR, hücre ölümü, bakteriyel kaynaklı sinyal, etilen sinyali, polen çimlenmesi
<i>LeMKK2</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	C1	Bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>PcMKK5</i>	<i>Pisum</i>	C1	Fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>LeMKK4</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	D1	Bakteriyel kaynaklı sinyal

Tablo 3. Biyolojik fonksiyonlarına göre gruplandırılmış bitki MAPK'ları [1, 9, 23].

MAPK	Bitki Adı	Grup	Biyolojik Fonksiyonu
<i>AtMPK3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A1	Osmotik, oksidatif stres, bakteriyel kaynaklı sinyal, ABA (Absisik asit) sinyali
<i>MsSAMK</i>	<i>Medicago sativa</i>	A1	Ağır metal, soğuk, kuraklık stresi, temas, yaralanma, fungal kaynaklı sinyal
<i>NtWIPK</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	A1	Hiposmotik stres, yaralanma, HR, hücre ölümü, fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal, viral enfeksiyon
<i>NbWIPK</i>		A1	Fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>LeMPK3</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	A1	UV-B, fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal, mekanik stres, yaralanma
<i>PcMPK3</i>	<i>Pisum</i>	A1	Fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>OsMAPK5</i> <i>OsMAPK2</i> <i>OsMSRMK2</i> <i>OsMAP1/</i> <i>OsBIMK1</i>	<i>Oryza sativa</i>	A1	Ağır metal, sıcak, soğuk, kuraklık, yüksek tuz, oksidatif stres, UV-C, sukroz jasmonic asit, salisilik asit, etilen, ABA, patojenlere direnç, abiyotik strese tolerans
<i>AtMPK6</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A2	Soğuk, kuraklık, yüksek tuz, osmotik, oksidatif stres, temas, yaralanma, fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal, patojenlere direnç, etilen sinyali
<i>MsSIMK</i>	<i>Medicago sativa</i>	A2	Ağır metal, soğuk, kuraklık, hiperosmotik stres, yaralanma, fungal kaynaklı sinyal, etilen sinyali, Saçak tipte kök büyümesi
<i>NtSIPK</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	A2	Hiperosmotik ve hiposmotik stres, yaralanma, salisilik asit, HR, hücre ölümü, fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal, viral enfeksiyon, etilen sinyali, polen çimlenmesi
<i>NbSIPK</i>	<i>Nicotiana benthamiana</i>	A2	Fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>LeMPK1</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	A2	Elicitor sinyal, UV-B
<i>LeMPK2</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	A2	Elicitor sinyal, UV-B
<i>PcMPK6</i>	<i>Pisum</i>	A2	Ağır metal, oksidatif stres, fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>AtMPK10</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	A3	-
<i>AtMPK4</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	B1	Soğuk, hiperosmotik stres, temas, yaralanma, patojenlere direnç,
<i>MsMMK2</i>	<i>Medicago sativa</i>	B1	Ağır metal stresi, fungal kaynaklı sinyal
<i>MsMMK3</i>	<i>Medicago sativa</i>	B2	Ağır metal, oksidatif stres, fungal kaynaklı stres, sitokinezis, etilen sinyali, hücre ölümü
<i>NtNTF6/</i> <i>NtNRK1</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	B2	Sitokinezis, HR, hücre ölümü, fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal
<i>AtMPK7-</i> <i>AtMPK14</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	C1	24 saat ritminin düzenlenmesi
<i>OsMAPK4</i> <i>OsMSRMK3</i>	<i>Oryza sativa</i>	C2	Ağır metal, soğuk, kuraklık, tuz, oksidatif stres, yaralanma, şeker açlığı, sukroz, jasmonic asit, salisilik asit, etilen, ABA, chitosan
<i>OsBWMK1</i>	<i>Oryza sativa</i>	D1	Patojenlere direnç, hücre ölümü, fungal kaynaklı sinyal, oksidatif stres, salisilik asit, jasmonic asit
<i>OsWJUMK1</i>	<i>Oryza sativa</i>	D1	Ağır metal, soğuk, oksidatif stres

amino-asitlerini fosforile ederek MAPK'ı aktif hale getirir. Bu özelliklerinden dolayı MAPKK enzim ailesi treonin ve tirozini fos-

forile edebilen çift-spesifiteye sahip kinazlar olarak da adlandırılmaktadırlar [10, 14-16]. Aktif MAPK'lar sitoplazmada ve çekirdekteki

ilgili substratların serin/treoninlerini fosforile etmek suretiyle substratların aktif veya inaktif hale geçmelerini, böylece dışardan gelen sinyale göre hücrel mekanizmaların (transkripsiyon, translasyon, hücre metabolizması gibi) ayarlanmasını sağlarlar [10]. Fonksiyonel olarak birbiriyle ilişkili spesifik üç protein kinaz (MAPKKK, MAPKK, MAPK), temel bir MAPK metabolik yolu modülünü oluştururlar [13, 17]. Birkaç modül bir hücrede hücre zarıyla birlikte bulunabilir [36] ve Ras veya heterotrimerik kompleksler şeklinde MAPKKK kinaz (MAPKKKK) ya da G proteinleri olarak adlandırılan diğer kinazlarla etkileşerek daha yukarıdaki bir sinyal yoluyla birleşebilmektedir [37]. Bu MAPKKKK veya G proteinleri, plazma membranında bulunan hücre dışı uyarılara duyarlı bir reseptör protein ile bahsedilen MAPK modülü arasında bir birleştirme ajanı fonksiyonu görürler (Şekil 1) [13].

Medicago [8, 9, 18, 23], *Arabidopsis* [17, 22, 25, 38], *N. tabacum* [7], *Lycopersicon esculentum* (domates) [40] *Beta vulgaris* (pancar) [42], *Chorisporea bungeana* [50] ve *Oryza sativa* (pirinç) [27, 28] gibi bitkilerin genomik veya EST dizilerinin karşılaştırılması ve imza niteliğindeki motiflerin araştırılmasıyla, 20'den fazla MAPK [9, 18], 10 tane MAPKK ve 60 tane MAPKKK tanımlanmıştır [9, 19-20]. Sadece *Arabidopsis*'te 23 MAPK, 10 MAPKK ve 25'ten fazla MAPKKK [20] bahsedilen araştırmalar sonucu bulunmuştur.

MAPKKK

MAPKKK'lar substratı olan MAPKK'ları korunmuş serin/treonin bölgeleri olan S/T-X₃-S/T (X= farklı amino asiti temsil eder) motifindeki serin ve treonin amino asitlerini fosforile ederek aktive ederler [9, 10, 13 - 17, 39, 48].

MAPKKK ailesi çok geniş olup MAPK metabolik yolu bileşenlerinin en fazla heterojeniteye sahip grubudur ve sadece birkaç durumda bu kinazlar bir MAPKK aktivatörü olarak fonksiyon görürler. Bununla birlikte 60-80 kadar *Arabidopsis* kinazının sınıflandırılmasında MAPKKK'lar uyarıcı olarak dikkate alınmaktadır [9].

MAPKKK'lar, MEKK-benzeri kinazlar ve Raf-benzeri kinazlar olmak üzere iki büyük alt gruba ayrılırlar [9, 20-24, 35]. MEKK-benzeri kinazlara örnek olarak *Medicago OMTK1*, *Arabidopsis ANP1*, *ANP2*, *ANP3*, *MEKK1*, *YODA* ve tütün *NPK1* enzimleri örnek verilebilir. Raf-benzeri kinazlara bilinen iki örnek *Arabidopsis CTR1* ve *EDR1* enzimleridir [9, 29].

Bitki MAPKKK'ları yapısal özelliklerine göre ise *STE11* MEKK-benzeri, Raf-benzeri ve *NPK1*'in temelini oluşturduğu bitki-spesifik MAPKKK şeklinde üç temel grupta; tanımlanmıştır [13].

MAPKKK'ların MEKK-benzeri kinaz ailesinin spesifik motifi D-I-W-S-X-G-C-T-X-X-E-X-X-T-X-X-X-P, raf-benzeri kinaz ailesinin spesifik motifi ise G-V-X-X-W-E-L-X-T-X-X-X-P-W şeklindedir [8]. Tütün bitkisinde *NPK1* olarak adlandırılan 268 amino asitlik katalitik domeine sahip bir MAPKKK'nin bulunduğu rapor edilmiştir [44].

Buldukları bitki türlerine ve biyolojik fonksiyonları ve göre gruplandırılmış MAPKKK enzimleri Tablo 1.'de gösterilmiştir. A1 grubu MAPKKK'lar genel olarak yüksek tuz, kuraklık, temas gibi uyarılarda rol oynarlarken [1], A2 grubundakiler aşırı duyarlı cevap (Hypersensitive Response), hücre ölümü ve bakteriyel kaynaklı sinyallerde rol oynamaktadırlar [9]. A3 grubundaki MAPKKK'lar genel olarak sitokinezde, hücre döngüsünün M fazındaki sinyalizasyonda, oksidatif stresde ve oksin hormonu sinyalizasyonunda görev almaktadırlar [1, 9]. A4 grubu MAPKKK'ların genel olarak hücre bölünmesinde rol oynadıkları saptanmıştır [1]. B grubu MAPKKK'ların etilen sinyalinde, fungal saldırılarda, savunma ve gelişimde rol oynadıkları bulunmuştur [9].

MAPKK

MAPKK'lar çift özgülüğe sahip kinazlardır ve substratı olan MAPK'ları sahip oldukları T-X-Y motifindeki treonin ve tirozin amino asitlerinden fosforile ederek aktive ederler [9]. Tütün bitkisinde yaklaşık 52 kDa ağırlığında bir MAPKK (SIPKK) bulunmuştur [7].

MAPKK'ların MAPK sinyal modüllerinde en az üyeye sahip olduğu gözlenir. MAPKK'lar

yüksek substrat spesifitesine sahiptirler ve MAPK modülünün MAPKK → MAPK kısmının minimal varyasyonuna izin verir. İki protein kinazın birleşmesi olasılıkla sinyal gücünü artırıcı etki yapar ve sonrasında protein fosfatazlar tarafından feed back inhibisyonla sinyal sona erdirilerek sinyal aktivasyonunun süresi belirlenmiş olur [13].

MAPKK'lar korunmuş serin/treonin bölgeleri olan S/T-X_{3,5}-S/T motifindeki serin ve treonin amino asitlerinden fosforile olurlar [9, 48]. Bitki MAPKK'larında S/T-X₅-S/T motifi bulunurken hayvanlarda S/T-X₃S/T motifi bulunmaktadır [1, 7, 24-26, 48].

MAPKK analizlerinde, N terminallerinde MAPK-bağlanma bölgesi motifi K/R-K/R-K/R-X1-6-L-X-L/V/I [1, 3, 9, 19] *Medicago SIMKK* (stres-indükleyici MAPKK)'sinde [29] rastlanmış fakat bunun MAPKK aktivasyonu için yeterli olmadığı saptanmıştır [9]. Çünkü bu motife hayvan MAPKK'larında rastlanılmaktadır ve fonksiyoneldir [1]. Bitki MAPKK'larında aktif bölgedeki motif S-T-X-X-G-T-X-X-Y-M-X-P-E-R' dir [8].

Buldukları bitki türlerine ve biyolojik fonksiyonları ve göre gruplandırılmış MAPKK enzimleri Tablo 2.'de gösterilmiştir. A grubu MAPKK'lar tüm abiyotik streslerde aktive olmaktadır. Ayrıca hücre bölünmesinde de rol oynamaktadırlar. B grubu MAPKK'lar, NTF2 (çekirdek taşıma faktörü=nuclear transport factor) domeini'nin ender yapısal özelliklerini taşırlar. NTF2, RAN-GDP (RAN: Ras- ile ilgili çekirdek proteini-Guanozin difosfat)'ye bağlanarak RAN-GDP'nin çekirdek dışına taşınmasında arabuluculuk yapan küçük bir proteindir. C ve D grubu MAPKK'lar intron bölgeleri içermezler. C grubu MAPKK'lar, A grubu MAPKK'lar gibi stres-yanıtlama faktörlerini içerirler. Tuz ve uyarıcı (elisitör, elicitor) streslerinde uyarılırlar. D grubu MAPKK'ların fonksiyonları henüz bilinmemektedir [1].

MAPK

MAPK'lar; transkripsiyon faktörleri, protein kinazlar ve hücre iskeletiyle birlikte bulunan proteinleri susbtrat olarak kullanan çok geniş susbtrat yelpazesine sahip serin/treonin

kinazlardır [9-10]. Domates bitkisinde ısı stresıyla aktive olan 50 kDa moleküler ağırlığında bir MAPK ile *Arabidopsis*'de ABA (absisik asit) ile aktive olan 42 ve 46 kDa moleküler ağırlıkta iki MAPK bulunmuştur [20, 49]. Aynı büyüme koşulları altında 48 kDa ağırlığında üçüncü bir MAPK bulunmuş fakat aktivitesinin ABA ile etkilenmediği görülmüştür [49]. *Chorisporea bungeana* bitkisinde 369 amino asit uzunluğunda 42.5 kDa moleküler ağırlıkta bir MAPK klonlanmıştır [50]. Sadece *Arabidopsis*'de 20 tane MAPK bulunmaktadır [20].

Tüm bitki türlerinde MAPK'ların aktif bölgelerinde TEY veya TDY motifi bulunmaktadır [1, 13, 51]. TEY motifi MAPK'lara TDY motifli MAPKlerden daha fazla bulunmaktadır. TEY MAPK'larının aksine tüm TDY MAPK'ları daha uzun bir C terminal uzantısına sahiptirler. TDY motifli MAPK'lar pirinç (*Oryza sativa*)'te (*OsBWMK1* [9-10] ve *OsWJUMK1* [27]) ayrıca *Arabidopsis*'te (*AtMPK8* ve *AtMPK9* [8]) bulunmuştur. TEY motifli MAPK'lar *Arabidopsis*, yonca, tütün, domates, maydonoz [9] ve hatta pirinç gibi çoğu bitkide çalışılmıştır [28].

Bitki MAPK'larının amino asit zincirlerinin, serin/treonin protein kinazların katalitik fonksiyonları için gerekli olan 12. domeindeki yüksek oranda benzerlikleri, tüm zincirde yüksek oranda korunmuş olduklarını göstermektedir [13, 20]. 12. alt domeinin dışında N- ve C-uzantıları katalitik merkezden çok daha farklıdır, fakat yine de spesifik bitki MAPK'larının alt gruplarında korunmuşlardır ve substrat spesifitesine veya diğer proteinlerle etkileşime uyum sağlama gibi olası önemli biyolojik fonksiyonlar gösterirler. MAPK'ların aktivasyonu için fosforilasyonda gerekli olan treonin ve tirozin amino asitleri, tüm bitki MAPK'larında katalitik merkezin 6. ve 8. alt grupları arasında bulunur [13]. Spesifik motifleri T-X-Y-V-X-X-R-W-Y-R-A-P-E şeklindedir [8].

Buldukları bitki türlerine ve biyolojik fonksiyonları göre gruplandırılmış MAPK enzimleri Tablo 3.'de gösterilmiştir. A grubu MAPK'lar genelde çevresel ve hormonal cevaplarda rol oynamaktadırlar. B grubundakiler

çevresel streslerin yanında hücre bölünmesinde rol oynarlar [1]. C grubu MAPK'ların çevresel streslerde, hormonal cevaplarda [9] ve 24 saate göre ritmin düzenlenmesinde rol oynadıkları görülmüştür. *A. thaliana*'da *AtMPK7*'nin günlük ritmin düzenlenmesinde rol oynadığı bulunmuştur [1]. A, B ve C grubu MAPK'ların aktif bölgelerinde TEY motifi bulunurken [1], yaralanma ve fungal saldırılarda görev alan D grubu MAPK'ların [1, 9] aktif bölgelerinde TDY motifi bulunmaktadır [1].

SONUÇ

Bitkiler çevresel streslere karşı uyumu sinyal yolları vasıtasıyla sağlarlar [51-52]. Çevresel ve hücrel değişikliklerin algılanmasında ve cevap verilmesinde esas rolü oynayan ve diğer canlılarda da bulunan gelişmiş temel bir sinyal ağına sahiptirler [10]. Değişik bitkilerden MAPK sinyal yollarında görev yapan enzimlerin bir kısmının tanımlanması günümüzde artan düzeyde bir bilimsel ilgiyi göstermektedir [11]. *Arabidopsis*'de, tüm MAPK sinyal yolu üzerinde yapılan immünolojik deneylerde, lösince zengin tekrarlar içeren reseptör kinazın flagelin reseptör *FLS2*'nin altındaki fonksiyonel MAPK sinyal yolu üyeleri (*MEKK1*, *MKK4/MKK5*, *MPK3/MPK6*) ile *WRKY22/WRKY29* transkripsiyon faktörleri belirlenmiş olup bu sinyal yolunun bakteriyel ve fungal patojenler tarafından uyarılmasıyla bitkiye direnç kazandırdığı görülmüştür [47]. Yamamizo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; patates bitkisinde patojen uyarıcı promotörlerini kontrol eden bir MAPKK (*StMEK1^{DD}*)'nin sürekli aktif formunu taşıyan transgenik patatesler üretilmiş, erken çürümeye neden olan *Alternaria solani* ve *Phytophthora infestans* patojenlerine karşı yüksek dayanıklılık kazandıkları görülmüştür [53]. Bu tarz çalışmalar, MAPK sinyal yolunun bitkiler için önemini göstermektedir. MAPK sinyal yolu ailesinin karmaşık yapısı her geçen gün yeni bir MAPK geninin keşfedilmesiyle çözülmektedir, fakat yapılan yoğun çalışmalara rağmen bitki MAPK sinyal yollarıyla ilgili bilinmeyen ve araştırılarak aydınlatılmayı bekleyen halen birçok karanlık nokta bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Ichimura K et al. 2002. Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. Trends in Plant Science. Vol. 7, No. 7
- [2] Innes RW. 2001. Mapping out the roles of MAPK kinases in plant defense. Trends in Plant Science. Vol. 6, No. 9.
- [3] Cardinale F, Meskiene I, Qaked F and Hirt H. 2002. Convergence and divergence of stress-induced mitogen-activated protein kinase signaling pathways at the level of two distinct mitogen-activated protein kinase kinases. The Plant Cell. Vol. 14, 703-711.
- [4] Miyata Y, Adachi S, Mizuno H and Nishida E. 1999. A strategy to make constitutively active MAP kinase by fusing with constitutively active MAP kinase kinase. Biochemica et Biophysica Acta. 1451: 334-342.
- [5] Jonak C, Ligterink W and Hirt H. 1999. MAPK kinases in plant signal transduction. CMLS Cellular and Molecular Life Sciences. 55: 204-213.
- [6] Yang SH, Sharrocks AD and Whitmarsh AJ. 2003. Transcriptional regulation by the MAP kinase signaling cascades. Review. Gene. 320: 3-21.
- [7] Liu Y, Zhang S and Klessig DF. 2000. Molecular Cloning and Characterization of a Tobacco MAP Kinase that Interacts with SIPK. Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol. 13, No.1, 118-124.
- [8] Tena G, Asai T, Chiu WL and Sheen J. 2001. Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. Current Opinion in Plant Biology. 4: 392-400.
- [9] Nakagami H, Pitzschke A and Hirt H. 2005. Emerging MAP kinase pathways in plant stress signaling. Abiotic Stress Series Review. Trends in Plant Science. Vol. 10, No. 7.

- [10] Rakwal R and Agrawal GK. 2003. Wound signaling-coordination of the octadecanoid and MAPK pathways. *Plant Physiology and Biochemistry*. 41: 855-861.
- [11] Ligterink W and Hirt H. 2001. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways in plants: versatile signaling tools. *Int. Rev. Cytol.* 201: 209-275.
- [12] Sangwan V and Dhindsa RS. 2002. *In vivo* and *in vitro* activation of temperature-responsive plant MAP kinases. *FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Letters*. 531: 561-564.
- [13] Bögre L, Meskiene I, Heberle-Bors E. and Hirt H. 2000. Stressing the role of MAP kinases in mitogenic stimulation. *Plant Molecular Biology*. 43: 705-718.
- [14] Schenk PW and Snaar-Jagalska BE. 1999. Signal perception and transduction: the role of protein kinases. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1449: 1-24.
- [15] Mundy J and Schneitz K. 2002. Protein phosphorylation in and around signal transduction. *Trends in Plant Science*. Vol. 7, No.2, 54-56.
- [16] Su B and Karin M. 1996. Mitogen-activated protein kinase cascades and regulation of gene expression. *Current Opinion in Immunology*. 8: 402-411.
- [17] Mizoguchi T, Ichimura K, Irie K, Morris P, Giraudat J, Matsumoto K and Shinozaki K. 1998. Identification of possible MAP kinase cascade in *Arabidopsis thaliana* based on pairwise yeast two-hybrid analysis and functional complementation tests of yeast mutants. *FEBS Letters*. 437:56-60.
- [18] Zhang S and Klessig DF. 2001. MAPK cascades in plant defense signaling. Review. *Trends in Plant Science*. Vol. 6, No. 11.
- [19] Jonak C, Ökresz L, Börge L and Hirt H. 2002. Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signalling. *Current Opinion in Plant Biology*. 5: 415-424.
- [20] Zhang T, Liu Y, Yang T, Zhang L, Xu S, Xue L and An L. 2006. Diverse Signals converge at MAPK cascades in plant. *Plant Physiology and Biochemistry*. 44: 274-283.
- [21] Zang N, Wu B, Eudy N, Wang Y, Ye F, Powell D, Wissner A, Feldberg LR, Kim SC, Mallon R, Kovacs ED, Toral-Barza L and Kohler CA. 2001. MEK(MAPKK) inhibitors. Part 2: Structure-Activity Relationships of 4-Anilino-3-cyano-6,7-dialkoxyquinolines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 11: 1407-1410.
- [22] Huang Y, Li H, Gupta R, Morris PC, Luan S and Kieber JJ. 2000. *AtMPK4*, an *Arabidopsis* Homolog of mitogen-activated protein kinase, is activated *in vitro* by *AtMEK1* through threonine phosphorylation. *Plant Physiology*. Vol. 122, 1301-1330.
- [23] Kültz D. 1998. Phylogenetic and functional classification of mitogen- and stress-activated protein kinases. *Journal of Molecular Evolution*. 46: 571-588.
- [24] Wrzaczek M and Hirt H. 2001. Plant MAP kinase pathways: how many and what for?. *Biology of the Cell*. 93: 81-87.
- [25] Ichimura K, Mizoguchi T, Irie K, Morris P, Giraudat J, Matsumoto K and Shinozaki K. 1998. Isolation of *ATMEKK1* (a MAP Kinase Kinase Kinase)-Interacting Protein and Analysis of a MAP Kinase Cascades in *Arabidopsis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 253: 532-543.
- [26] Mizoguchi T, Ichimura K and Shinozaki K. 1997. Environmental stress response in plants: the role of mitogen-activated

- protein kinases. Tibtech, Elsevier Science. Vol. 15, 15-19.
- [27] Agrawal GK, Iwahashi H and Rakwal R. 2003. Rice MAPKs. Biochemical and Biophysical Research Communications. 302: 171-180.
- [28] Agrawal GK, Rakwal R and Iwahashi H. 2002. Isolation of novel rice (*Oryza sativa* L.) multiple stress responsive Map kinase gene, *OsMSRMK2*, whose mRNA accumulates rapidly in response to environmental cues. Biochemical and Biophysical Research Communications. 294: 1009-1016.
- [29] Quaked F, Rozhon W, Lecourieux D and Hirt H. 2003. A MAPK pathway mediates ethylene signaling in plant. EMBO Journal. Vol., 22, No., 6, 1282-1288.
- [30] Munnik T and Mijer HJG. 2001. Osmotic stress activates distinct lipid and MAPK signalling pathways in plants. FEBS Letters. 498: 172-178.
- [31] Kovtun Y, Chiu WL, Tena G and Sheen J. 2000. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascades in plants. PNAS, Vol., 97, No. 6, 2940-2945.
- [32] Zu JK. 2001. Cell signaling under salt, water and cold stress. Current Opinion in Plant Biology. 4: 401-406.
- [33] Zu JK. 2001. Plant salt tolerance. Trends in Plant Science. Vol. 6, No. 2.
- [34] Kovtun Y, Chiu WL, Zeng W and Sheen J. 1998. Suppression of auxin signal transduction by a MAPK cascade in higher plants. Nature. Vol., 395, 216-720.
- [35] Tang D and Innes RW. 2002. Overexpression of a kinase-deficient form of the *EDR1* gene enhances powdery mildew resistance and ethylene-induced senescence in *Arabidopsis*. The Plant Journal. 2: 975-983.
- [36] Baluska F, Samaj J, Wojtaszek P, Volmann D and Menzel D. 2003. Cytoskeleton-plasma membrane-cell wall continuum in plants. Emerging links revisited. Plant Physiology. Vol. 133. 482-491.
- [37] Xing T and Jordan M. 2000. Genetic engineering of plant signal transduction mechanisms. Plant Molecular Biology Reporter. 18: 309-318.
- [38] Asai T, Tena G, Plotnikova J, Willmann MR, Chiu WL, Gomez-Gomez L, Boller T, Ausubel FM and Sheen J. 2002. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. Nature. Vol. 415, 977-983.
- [39] Meskiene I, Bögre L, Glaser W, Balog J, Brandstötter M, Zwerger K, Amere G and Hirt H. 1998. MP2C, a plant protein phosphatase 2C, functions as a negative regulator of mitogen-activated protein kinase pathways in yeast and plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 95, 1938-1943.
- [40] Lu C, Han MH, Guevara-Garcia A and Fedoroff NV. 2002. Mitogen-activated protein kinase signaling in postgermination arrest of development by abscisic acid. PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of the America. 99: 15812-15817
- [41] Soyano T, Nishihama R, Mariyoko K, Ishikawa M and Machida Y. 2003. *NQK1/NtMEK1* is a MAPKK that acts in the *NPK1* MAPKKK-mediated MAPK cascade and is required for plant cytokinesis. Genes and Development. 17: 1055-167.
- [42] Mora-Álvarez YG, Nava-Vargas JM, Valle-Villanueva CH, López-Gómez R, López-Meza JE, Valdez-Alarcón JJ, Cano-Camacho HH and Baizabal-Aguirre VM. 2004. Osmotic stress induces the activation of a mitogen-activated protein kinase (MAPK) and a calcium-independent protein kinase from beet root (*Beta*

- vulgaris* L.]. *Plant Science*. 167: 561–567.
- [43] Lin HH, Chen JH, Kuo WH and Wang CJ. 2007. Chemopreventive properties of *Hibiscus sabdariffa* L. on human gastric carcinoma cells through apoptosis induction and JNK/p38 MAPK signaling activation. *Chemico-biological Interactions*. 165: 59-75.
- [44] Wang K. 2005. Genetic Acclimation for Freezing Tolerance. *ISB News Report*. January.
- [45] Samaja J, Oveckaa M, Hlavackab A, Lecourieuxa F, Meskienea I, Lichtscheidd I, Lenarta P, Salaje J, Volkmannb D, Bögre L, Baluskab F and Hirt H. 2003. Involvement of MAP kinase SIMK and actin cytoskeleton in the regulation of root hair tip growth. *Cell Biology International*. 27: 257-259.
- [46] Pedley KF and Martin GB. 2005. Role of Mitogen-activated protein kinases in plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology*. 8: 541-547.
- [47] Asai T, Tena T, Plotnikova J, Willmann MR, Chiu WL, Gomez-Gomez L, Boller T, Ausubel FM and Sheen J. 2002. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature*. 415: 977-983.
- [48] Zwerger K and Hirt H. 2001. Recent Advances in Plant MAP Kinase Signalling. *Biol. Chem*. 382: 1123-1131.
- [49] Lu C, Han MH, Guevara-Garcia A and Fedoroff NV. 2002. Mitogen-activated protein kinase signaling in postgermination arrest of development by abscisic acid. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of the America)*. 99: 15812-15817.
- [50] Zhang T, Liu Y, Xue L, Xu S, Chen T, Yang T, Zhang L and An L. 2006. Molecular cloning and characterization of a novel MAP kinase gene in *Chorispora bungeana*, *Plant Physiology and Biochemistry*. 44: 78–84.
- [51] Ortiz-Masia D, Perez-Amador MA, Carbonell J and Marcote MJ. 2007. Diverse stress signals activate the C1 subgroup MAP kinases of *Arabidopsis*. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. 581: 1834-1840.
- [52] Mishra NS, Tuteja R and Tuteja N. 2006. Signaling through MAP kinase networks in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 452: 55-68.
- [53] Yamamizo C, Kuchimura K, Kobayashi A, Katou S, Kawakita K, Jones JDG, Doke N and Yoshioka H. 2006. Rewiring Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade by Positive Feedback Confers Potato Blight Resistance. *Plant Physiology*. 140: 681-692.