

GCR1 和 GCR2 在 *N*-酰基高丝氨酸内酯调节拟南芥根生长中的作用

边子睿^{1,2}, 刘方¹, 张霞¹, 张哲^{1,2}, 宋水山^{1,*}

¹河北省科学院生物研究所, 石家庄 050051; ²河北工业大学化工学院, 天津 300130

摘要: *N*-酰基高丝氨酸内酯(AHLs)是革兰氏阴性细菌群体感应的信号分子。培养基中添加 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3OC6-HSL 和 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3OC8-HSL 可显著促进野生型拟南芥主根生长, 但拟南芥 G 蛋白偶联受体 *GCR1* 和 *GCR2* 基因缺失突变体 *gcr1-1* 和 *gcr2-2* 对 AHLs 处理不敏感; 实时荧光定量 PCR 分析显示, 这 2 种 AHLs 的处理可以使拟南芥 *GCR1* 和 *GCR2* 基因表达量上调 2~4 倍。结果表明, G 蛋白偶联受体 *GCR1* 和 *GCR2* 可能参与植物感应细菌信号进而做出根生长响应的信号转导。

关键词: G 蛋白偶联受体; *N*-酰基高丝氨酸内酯; 拟南芥; *GCR1*; *GCR2*

Involvement of GCR1 and GCR2 in the Regulation of Root Growth by *N*-Acyl-Homoserine Lactones in *Arabidopsis thaliana* L.

BIAN Zi-Rui^{1,2}, LIU Fang¹, ZHANG Xia¹, ZHANG Zhe^{1,2}, SONG Shui-Shan^{1,*}

¹Biology Institute, Hebei Academy of Sciences, Shijiazhuang 050051, China; ²College of Chemistry and Engineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China

Abstract: *N*-acyl-homoserine lactones (AHLs) is the quorum-sensing signal molecular in Gram-negative bacteria. Addition of 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3OC6-HSL or 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3OC8-HSL in the medium significantly promoted the root growth of wild type *Arabidopsis thaliana*. However, the two *Arabidopsis* mutants *gcr1-1* and *gcr2-2* lacking *GCR1* and *GCR2* respectively showed insensitive to these two signals. Real Time PCR analysis showed that the expression levels of *GCR1* and *GCR2* are increased 2–4 times by the treatment of these two AHLs. These results indicated that *GCR1* and *GCR2* might be involved in the signal transduction in *Arabidopsis* root response to bacterial quorum-sensing signals.

Key words: G protein-coupled receptor (GPCR); *N*-acyl-homoserine lactones; *Arabidopsis thaliana*; *GCR1*; *GCR2*

N-酰基高丝氨酸内酯(*N*-acyl-homoserine lactones, AHLs)是革兰氏阴性细菌群体感应系统中的胞间通讯信号分子, 由其介导的细菌群体感应参与细菌多种生物学功能的调控(Whithead 等 2001)。不同的革兰氏阴性细菌可以产生不同的信号分子 AHLs, 但是不同的 AHLs 都是由一个高丝氨酸内酯环和一个酰基侧链组成, 其特异性由酰基链的长度(4~18 个碳原子)、C₃ 位的取代基(羰基和羟基)和酰基链的饱和水平来决定(Camilli 和 Bassler 2006)。近年来的研究发现, AHLs 不仅被细菌自身感知, 而且也可以被其寄主植物感知, 进而调控真核生物的基因表达和细胞反应。Ortiz-Castro 等(2008)通过测定不同浓度 AHLs 处理后拟南芥生长的表型变化, 发现 AHLs 主要改变了拟南芥的根系结构, 影响主根的生长以及侧根和根毛的形成和发育。Mathesius 等(2003)利用蛋白组学的研究方

法, 发现用 *N*-3-羰基十二酰基高丝氨酸内酯(3OC12-HSL)和 *N*-3-羰基十六酰基高丝氨酸内酯(3OC16-HSL)处理藜苳苳的根后, 有 150 多种蛋白质的表达量发生变化, 包括参与植物防卫反应、胁迫响应、能量和代谢活性、转录加工、细胞骨架活性、激素响应等功能调控的蛋白质。Von Rad 等(2008)利用基因芯片研究用 AHLs 处理后拟南芥中基因表达谱的变化, 发现 *N*-六酰基高丝氨酸内酯(C6-HSL)可诱导拟南芥基因组转录水平的变化, 并

收稿 2010-10-12 修定 2010-11-08

资助 国家重点基础研究发展计划(2009CB126000)、河北省自然科学基金(C2006000707)和河北省重点基础研究计划项目(08965506D)。

* 通讯作者(E-mail: shuishans@hotmail.com; Tel: 0311-83999012)。

能够促进植物的生长发育。本实验室前期研究结果表明,用 *N*-四酰基高丝氨酸内酯(C4-HSL)、*N*-3-羰基六酰基高丝氨酸内酯(3OC6-HSL)和 *N*-3-羰基八酰基高丝氨酸内酯(3OC8-HSL)处理后,拟南芥的主根生长显著提高,并且能够显著提高拟南芥对软腐病的抗性以及在盐胁迫下的耐受性和存活率(待发表)。这些结果表明,植物可以感应细菌 AHLs,并做出相应的反应。但目前对于植物如何感应细菌 AHLs,通过何种信号转导途径向下游效应器级联传递知之甚少。

在高等真核生物中,异三聚体 G 蛋白参与的跨膜信号转导途径是一种常见且保守的作用机制。胞外信号通过与质膜相结合的 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)和质膜内侧的 G 蛋白,将信号转导给效应器并产生胞内第二信使,再由后者调节下游效应器及酶活性。大量的研究证据表明,植物异三聚体 G 蛋白参与如气孔开关、细胞周期调节、根的发育、激素响应等诸多生理过程,并在植物感知环境信号反应中起着重要的作用(Johnston 和 Siderovski 2007; Hemerly 等 1993; Doerner 等 1996; Hochhold 等 2001)。Okamoto 等(2009)研究发现, G 蛋白在拟南芥响应茉莉酸的信号传导过程中发挥着重要作用。Pandey 和 Assman(2004)利用拟南芥突变体,采用分子生物学方法找到植物中第一个 GPCR,进一步的研究表明, GCR1 是植物激素脱落酸(abscisic acid, ABA)的受体。Liu 等(2007)找到了另一个能够与 G 蛋白结合,转导 ABA 信号的 G 蛋白偶联受体 GCR2。Gookin 等(2008)利用生物信息学方法,从拟南芥全基因组中筛选出 7 种具有 7 个跨膜螺旋结构,并且 C 端在胞内与 G 蛋白结合的候选 G 蛋白偶联受体。前人的研究结果使我们不得不大胆的推测,植物 GPCR 可能在植物响应细菌 AHLs 的信号转导过程中发挥着重要的作用,抑或植物 GPCR 可能也是细菌 AHLs 的直接受体。

为验证上述推测,我们以拟南芥 GPCR 突变体 *gcr1-1* 和 *gcr2-2* 野生型拟南芥为材料,通过施加 2 种不同的 AHLs,对拟南芥主根生长进行观测比较;同时观察 AHLs 对拟南芥 *GCR1* 和 *GCR2* 基因表达的诱导效应,以期植物 GPCR 是否参与 AHLs 诱导的根生长发育调节提供科学依据。

材料与方法

1 材料和试剂

实验所用材料为拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)野生型 Col-0 以及拟南芥 G 蛋白偶联受体 GCR1 和 GCR2 的 T-DNA 插入缺失突变体(*gcr1-1* 和 *gcr2-2*), 2 个突变体购自 TAIR 库。

3OC6-HSL 和 3OC8-HSL 购自 SIGMA 公司, TaqTM DNA 聚合酶、Marker DL2000、TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0 试剂盒和 SYBR Premix Ex TaqTM (Perfect Real Time) 试剂盒购自 TaKaRa 公司(大连)。

2 引物

实验所用引物根据 TAIR 库提供的拟南芥突变体 CDS 区序列设计,由上海生工合成。突变体鉴定引物为 EF1 α L: 5' AGACCACCAAGTACTACTGCAC 3'; EF1 α R: 5' CCACCAATCTTGTACACATCC 3'; GCR1L: 5' GGATCGCAGCATTATTACGG 3'; GCR1R: 5' GTGATACCATTTCGCTTCGC 3'; GCR2L: 5' CGTTGACGAACTGCTATCAC 3'; GCR2R: 5' GTTCATAACCTGGAAACAGAGC 3'; 荧光定量 PCR 引物为 ACTINL2/8: 5' GGTAACATTGTGCTCAGTGGTGG 3'; ACTINR2/8: 5' AACGACCTTAATCTTCATGCTGC 3'; GCR1L': 5' ATGGGCATTCGGCATTATTA 3'; GCR1R': 5' TGGAAGCCATCGATATAGCC 3'; GCR2L': 5' TGCTGGTGTATGTGCTCTTGGTG 3'; GCR2R': 5' GGAA GCCTAATCCCTCGGAAACG 3'。

3 拟南芥突变体的鉴定

拟南芥种子经表面(无菌水洗 3 次, 75% 乙醇 30 s, 无菌水洗 3 次)和深层(25% 次氯酸钠 5 min, 无菌水洗 5 次)消毒后,播种在无菌的 MS 培养基中,避光 4 °C 春化 2 d,移入 23 °C, 12 h/12 h (光照 12 h, 不光照 12 h)白炽灯(光强 120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)光照培养室, 15 d 左右将无菌幼苗移入浸透营养液的蛭石中继续培养。取生长 1 个月左右的拟南芥叶子用 TRIzol 法提取总 RNA,以 RNA 为模板进行 RT-PCR。反应体系: 2 μL MgCl₂, 1 μL 10 \times RT 缓冲液, 1 μL dNTP 混合液, 0.25 μL RNase 抑制剂, 0.5 μL AMV 反转录酶, 0.5 μL Oligo dT-Adaptor Primer, 500 ng 实验样品 RNA,用 RNase Free dH₂O 补至 10 μL 。RT-PCR 反应条件: 30 °C 10 min, 42 °C 30 min, 99 °C 5

min, 5 °C 5 min, 共一个循环。经反转录合成 cDNA, 取 1 μL cDNA 为模板进行 PCR 检测, 反应体系: 2 μL 10×dNTP, 2 μL 10×PCR 缓冲液(Mg²⁺ Plus), 上下游引物终浓度各 1 pmol·L⁻¹, 模板 DNA 30 ng, TaqTM DNA 聚合酶 1 U, 用灭菌蒸馏水补至 20 μL。PCR 反应条件: 94 °C 50 s, 52 °C 50 s, 72 °C 1 min 30 s, 共 30 个循环。反应前 94 °C 变性 5 min, 反应后 72 °C 延伸 10 min。

4 拟南芥主根长度的测定

拟南芥种子经表面和深层消毒(方法同前)后播种在无菌的 MS 培养基中, 避光 4 °C 春化 2 d, 移入 23 °C, 12 h/12 h (光照 12 h, 不光照 12 h) 白炽灯(光强 120 μmol·m⁻²·s⁻¹) 光照培养室培养 3 d 后, 各品系分别移入 1/2MS、1/2MS+1 μmol·L⁻¹ 3OC6-HSL 和 1/2MS+10 μmol·L⁻¹ 3OC8-HSL 无菌培养基中培养 8 d 后测量根长, 不同品系的不同处理各取样 30 株, 3 次重复, 用 DPS V2.0 数据处理系统进行数据分析。

5 实时荧光定量 PCR 检测 GCR1 和 GCR2 基因的表达

拟南芥种子经表面和深层消毒(方法同前)后播种在无菌的 MS 培养基中, 避光 4 °C 春化 2 d, 移入 23 °C, 12 h/12 h (光照 12 h, 不光照 12 h) 白炽灯(光强 120 μmol·m⁻²·s⁻¹) 光照培养室培养 15 d 左右, 移入水培箱中培养 1 周, 配制 1 μmol·L⁻¹ 3OC6-HSL 和 10 μmol·L⁻¹ 3OC8-HSL 营养液分别培养拟南芥, 按照 0、3、6、12、24、48 h 取拟南芥全株用 TRIzol 法提取总 RNA, 进行 RT-PCR 反应。反应体系: 4 μL 5×PrimeScriptTM Buffer (for Real Time), 1 μL PrimeScriptTM RT 混合酶 I, 1 μL Oligo dT Primer (50 μmol·L⁻¹), 1 μL Random 6 mers (100 μmol·L⁻¹), 500 ng RNA 样品, 用 RNase Free dH₂O 补至 10 μL。反转录反应条件: 37 °C 15 min, 85 °C 5 s。荧光定量 PCR 反应体系: 10 μL SYBR Premix Ex TaqTM, PCR 正向引物 0.4 μL, PCR 反向引物 0.4 μL, 0.4 μL ROX Reference Dye II, DNA 模板 1 000 ng, 灭菌蒸馏水补至 20 μL。荧光定量反应条件: 95 °C 5 s, 60 °C 31 s, 共 40 个循环。反应前 95 °C 变性 10 s。

实验结果

1 拟南芥 T-DNA 插入突变体 *gcr1-1* 和 *gcr2-2* 的鉴定

为了研究拟南芥 GCR1 和 GCR2 的功能, 从

TAIR 库获得拟南芥突变体 *gcr1-1* 和 *gcr2-2* (图 1-A)。经抗性分析和 PCR 鉴定证实, 这两个突变体均为纯合体, 其遗传背景均为 Columbia-0 型拟南芥。RT-PCR 结果显示, 使用特异性引物进行扩增时, 野生型拟南芥可以在 981 和 1 137 bp 处扩增出目的条带, 分别对应于 GCR1 和 GCR2 基因, 而突变体都没有扩增出相应条带(图 1-B), 表明突变体 *gcr1-1* 和 *gcr2-2* 中无相应基因的转录本。

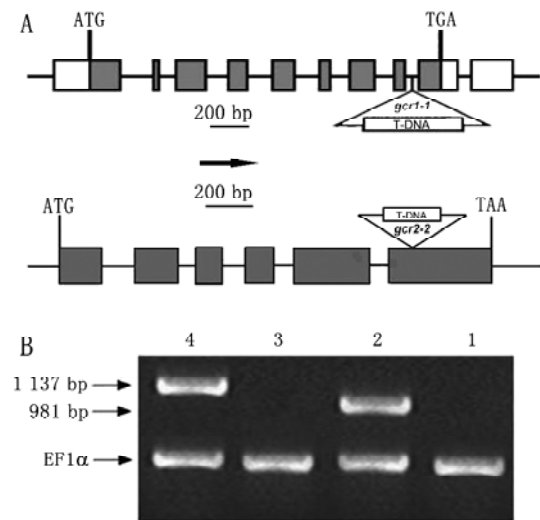


图 1 拟南芥 GCR1 和 GCR2 基因 T-DNA 插入位点及突变体鉴定

Fig.1 T-DNA insertion mutant of GCR1 and GCR2 in *Arabidopsis thaliana*

A: GCR1 和 GCR2 基因 T-DNA 插入位点(灰色方框代表外显子)。B: 突变体 RT-PCR 鉴定; 1 为突变体 *gcr1-1*, 2 和 4 为野生型 Col-0, 3 为突变体 *gcr2-2*。

2 AHLs 对不同基因型拟南芥主根生长的影响

根据前期的研究结果, 选用终浓度为 1 μmol·L⁻¹ 3OC6-HSL 和 10 μmol·L⁻¹ 3OC8-HSL 处理不同基因型拟南芥, 处理后 8 d 观测拟南芥主根长度发现, 1 μmol·L⁻¹ 3OC6-HSL 和 10 μmol·L⁻¹ 3OC8-HSL 对野生型主根生长有明显的促进效应, 与未处理对照相比, 主根长度分别增加了 17.6% 和 15.0% (图 2)。突变体 *gcr1-1* 和 *gcr2-2* 在未处理时主根长度与野生型无明显差异。1 μmol·L⁻¹ 3OC6-HSL 处理时, 突变体 *gcr1-1* 的主根长度比未处理对照降低 20.0%; 而突变体 *gcr2-2* 与未处理对照无显著差异(图 2)。10 μmol·L⁻¹ 3OC8-HSL 处理时, 突变体 *gcr1-1* 的主

根长度比未处理对照降低 15.0%; 突变体 *gcr2-2* 的主根长度比未处理对照降低 12.1%。在同一种信号分子处理时, 突变体的主根显著短于野生型的(图 2)。结果表明, 3OC6-HSL 和 3OC8-HSL 对拟南芥主根生长的促进效应在 *GCR1* 和 *GCR2* 缺失突变时被消减, 甚至起抑制作用。

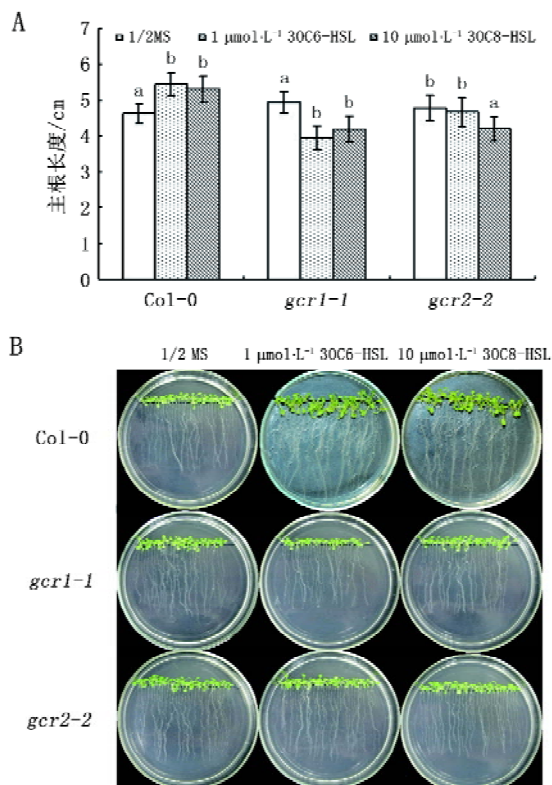


图 2 AHLs 对拟南芥 3 种基因型主根生长的影响
Fig.2 Effect of AHLs on primer root growth of three genotypes of *Arabidopsis thaliana*

A: AHLs 对拟南芥不同品系主根生长影响的数据; B: AHLs 对拟南芥不同品系主根生长影响的照片。

3 AHLs 对拟南芥 *GCR1* 和 *GCR2* 基因表达的影响

为探索拟南芥 *GCR1* 和 *GCR2* 的表达是否受 AHLs 诱导, 采用实时荧光定量 PCR 分析拟南芥 *GCR1* 和 *GCR2* 的表达情况。结果表明, *GCR1* 基因表达在 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3OC₆-HSL 处理 6、12、24 h 后与处理前比较分别提高了 2.8、2.4 和 3.1 倍; 而 *GCR2* 基因表达量在处理 12 h 后上调了 3.7 倍。10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3OC8-HSL 处理时, *GCR1* 基因表达在处理 6、12、24 h 后与处理前比较分别提高了 2.8、2.7

和 3.4 倍; 而 *GCR2* 基因表达量在处理 12 h 后上调了 2.2 倍(图 3)。

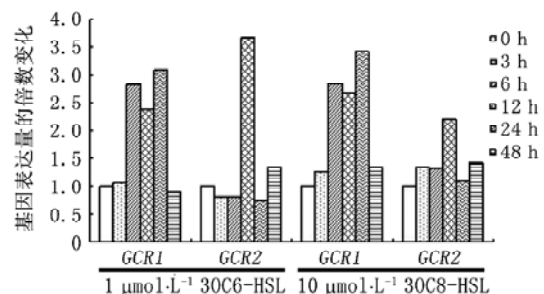


图 3 AHLs 对 *GCR1* 和 *GCR2* 基因表达的影响
Fig.3 Effect of AHLs on the expression of *GCR1* and *GCR2*

讨 论

作为细胞质膜上重要的跨膜信号转导分子, 异三聚体 G 蛋白在植物生长发育过程中发挥着重要作用。已知 G 蛋白参与种子萌发(Ullah 等 2002), 光控发育(Okamoto 等 2001), 以及包括生长素、赤霉素和脱落酸在内的多种植物激素(Assman 2002; Miller 2001; Ueguchi-Tanaka 等 2000)对植物生长发育的调控。GPCR 为具有 7 个跨膜结构的膜蛋白, 位于 G 蛋白信号转导途径的最上游, 负责接收胞外刺激信号, 并跨膜传递给胞内 G 蛋白的 $G\alpha$ 亚基。根据生物信息学数据推测, 拟南芥基因组中存在 7 个具有 7 个跨膜域并且可能属于 GPCRs 的基因(Gookin 等 2008), 其中对 *GCR1* 的研究较深入。Warpeha 等(2007)研究发现, *GCR1*、*GPA1*、*PRN1* 和 *NF-Y* 信号传递链介导拟南芥对蓝光和 ABA 的响应。Pandey 等(2006)报道 *GCR1* 与 G 蛋白 α 亚基互作调控拟南芥中 ABA 的信号转导。*GCR1* 还可能参与拟南芥中芸苔素内酯(BR)和赤霉素(GA)的信号转导过程(Chen 等 2004)。2007 年, Liu 等基于详实的实验数据指出, *GCR2* 可能为植物中 ABA 的受体蛋白, 尽管目前尚有争议。拟南芥基因组中只编码一个 G 蛋白 α 亚基(*GPA1*)。GPCR 与 $G\alpha$ 互作对拟南芥不同组织和不同发育时期的重要性说明, 高等植物中可能只有少量的信号转导基因, 植物对不同环境刺激信号的早期传递可能共用某些相同的信号转导机制。

细菌产生 AHLs 用于其群体内胞间通讯, 来协

调其群体行为。植物自身也能够产生与 AHLs 结构类似的化合物, 包括 *N*-酰基乙醇胺 (NAEs) 和椰油脂肪酸二乙醇酰胺 (alkamides) (Ortiz-Castro 等 2008)。这些化合物广泛分布于植物中并且具有强大的生物活性, 所以被人们认为是一类新型的植物激素 (Chapman 2004; Lopez-Bucio 等 2006)。Lopez-Bucio 等 (2007) 通过研究发现, 在拟南芥生长过程中, 一定浓度的 *N*-十二酰基乙醇胺 (NAE12:0) 可以抑制拟南芥幼苗主根的生长, 并刺激侧根的发育。同样, 从植物中分离出的椰油脂肪酸二乙醇酰胺, 可以通过影响细胞分裂和分化过程来改变拟南芥根和芽的系统结构 (Lopez-Bucio 等 2006, 2007; Campos-Cuevas 2008)。AHLs 和 NAEs、椰油脂肪酸二乙醇酰胺相似的化学结构 (图 4) 为植物可以感应细菌 AHLs 这一推断奠定了基础。植物通过感应 AHLs, 进而感知周围微生物群体的存在, 从而作出细胞响应。拟南芥感应 3OC6-HSL 和 3OC8-HSL 的处理, 明显促进其主根生长 (图 2), *GCR1* 和 *GCR2* 基因的表达量在受到 2 个信号分子的诱导后, 提高了 2~4 倍 (图 3)。*GCR1* 和 *GCR2* 突变导致拟南芥主根生长对 AHLs 不敏感, 抑或相反的效应; $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3OC6-HSL 抑制突变体 *gcr1-1* 的主根生长, 对突变体 *gcr2-2* 的主根生长没有明显影响; $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3OC8-HSL 抑制突变体 *gcr1-1* 和 *gcr2-2* 的主根生长。这些结果说明, *GCR1* 和 *GCR2* 有可能参与 AHLs 对植物根生长发育的调控, 在细菌 AHLs 信号在植物细胞中的信号转导过程中发挥着一定的作用。

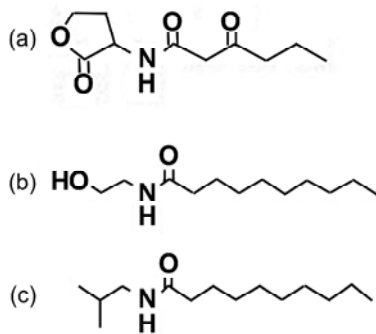


图 4 3OC6-HSL 与植物相关化合物的结构比较

Fig.4 Comparative structures of 3OC6-HSL and related compounds from plants

(a) *N*-3- 羧基六酰基高丝氨酸内酯; (b) *N*- 乙醇十二酰胺; (c) *N*- 异丁基十二酰胺。

本实验室的其他研究结果也有力地支持这一推测。研究发现, 经 3OC6-HSL 处理 10 d, 拟南芥 G 蛋白 ($G\alpha$) 过表达植株的根长比对照增长了 44.7%, 而 $G\alpha$ 突变体的根长却无显著变化; 用膜片钳检测细胞外 Ca^{2+} 内流的情况, 发现经 3OC8-HSL 处理的拟南芥细胞可促进胞外 Ca^{2+} 的内流增加达 3 倍之多; 用转水母发光蛋白的转基因拟南芥检测 AHLs 对根细胞质内 Ca^{2+} 浓度的影响, 发现包括 3OC6-HSL 和 3OC8-HSL 在内的几种 AHLs 可显著刺激 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ 浓度的瞬时升高。结合本实验结果, 我们可以推测植物可能先通过 *GCR1* 或 *GCR2* 接受 AHLs 信号分子, 激活胞内 G 蛋白的 $G\alpha$ 亚基, 进而激活质膜上的 Ca^{2+} 通道, 产生胞内 Ca^{2+} 信号, 通过一系列的级联反应向下游传递信号, 最终引起细胞反应。当然, GPCR 在 AHLs 介导植物细胞反应中的作用尚有许多问题需要研究, 如: *GCR1* 或 *GCR2* 是否可以直接结合 AHLs, *GCR1* 或 *GCR2* 的下游效应器是什么, 其他潜在的 GPCR 的作用如何等, 这些问题正在研究中。

参考文献

Assman SM (2002). Heterotrimeric and unconventional GTP binding proteins in plant cell signaling. *Plant Cell*, 14: S355~S373

Camilli A, Bassler BL (2006). Bacterial small-molecule signaling pathways. *Science*, 311: 1113 ~1116

Campos-Cuevas JC, Pelagio-Flores R, Raya-González J, Méndez-Bravo A, Ortiz-Castro R, López-Bucio J (2008). Tissue culture of *Arabidopsis thaliana* explants reveals a stimulatory effect of alkamides on adventitious root formation and nitric oxide accumulation. *Plant Sci*, 174: 165~173

Chapman KD (2004). Occurrence, metabolism, and prospective functions of *N*-acyl ethanolamines in plants. *Prog Lipid Res*, 43: 302~327

Chen JG, Pandey S, Huang JR, Alonso JM, Ecker JR, Assman SM, Jones AM (2004). *GCR1* can act independently of heterotrimeric G-protein in response to brassinosteroids and gibberellins in *Arabidopsis* seed germination. *Plant Physiol*, 135: 907~915

Doerner P, Jørgensen JE, You R, Steppuhn J, Lamb C (1996). Control of root growth, development by cyclin expression. *Nature*, 380: 520~523

Gookin TE, Kim J, Assmann SM (2008). Whole proteome identification of plant candidate G-protein coupled receptors in *Arabidopsis*, rice, and poplar: computational prediction and *in-vivo* protein coupling. *Genome Biol*, 9: R120.1~R120.26

- Hemerly AS, Ferveira P, Engler JA, Montagu MV, Engler G, Inze D (1993). *cdc2a* expression in *Arabidopsis* is linked with competence for cell division. *Plant Cell*, 5: 1711~1723
- Hochholdinger F, Park WJ, Feix GH (2001). Cooperative action of *SLR1*, *SLR2* is required for lateral root specific cell elongation in maize. *Plant Physiol*, 125: 1529~1539
- Johnston CA, Siderovski DP (2007). Receptor-mediated activation of heterotrimeric G-proteins: current structural insights. *Mol Pharmacol*, 72: 219~230
- Liu XG, Yue YL, Li B, Nie YL, Li W, Wu WH, Ma LG (2007). A G protein-coupled receptor is a plasma membrane receptor for the plant hormone abscisic acid. *Science*, 1126: 1~10
- Lopez-Bucio J, Acevedo-Hernandez G, Ramirez-Chavez E, Molina-Torres J, Herrera-Estrella L (2006). Novel signals for plant development. *Curr Opin Plant Biol*, 9: 523~529
- Lopez-Bucio J, Millan-Hernandez G, Ramirez-Chavez E, Molina-Torres J, Perez-Torres A, Higuchi M, Kakumoto T, Herrera-Estrella L (2007). Cytokinin receptors are involved in alkamide regulation of root and shoot development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 145: 1703~1713
- Mathesius U, Mulders S, Gao MS, Teplitski M, Caetano-Anolles G, Rolfe BG, Bauer WD (2003). Extensive and specific responses of a eukaryote to bacterial quorum-sensing signals. *Prog Natl Acad Sci USA*, 100: 1444~1449
- Miller PA (2001). Heterotrimeric G proteins in plant cell signaling. *New Phytol*, 151: 165~174
- Okamoto H, Gobel C, Capper RG, Saunders N, Feussner I, Knight MR (2009). The α -subunit of the heterotrimeric G-protein affects jasmonate responses in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 60: 1991~2003
- Okamoto H, Matsui M, Deng XW (2001). Overexpression of the heterotrimeric G-protein α -subunit enhances phytochrome-mediated inhibition of hypocotyls elongation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 13: 1639~1651
- Ortiz-Castro R, Martinez-Trujillo M, Lopez-Bucio J (2008). *N*-acyl-*L*-homoserine lactones: a class of bacterial quorum-sensing signals alter post-embryonic root development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*, 31: 1497~1509
- Pandey S, Assmann SM (2004). The *Arabidopsis* putative G protein-coupled receptor GCR1 interacts with the G protein α subunit GPA1 and regulates abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 16: 1616~1632
- Pandey S, Chen JG, Jones AM, Assmann SM (2006). G-protein complex mutants are hypersensitive to abscisic acid regulation of germination and postgermination development. *Plant Physiol*, 141: 243~256
- Ueguchi-Tanaka M, Fujisawa Y, Kobayashi M, Ashikari M, Iwasaki Y, Kitano H, Makoto M (2000). Rice dwarf mutant *dl*, which is defective in the α subunit of the heterotrimeric G protein, affects gibberellin signal transduction. *Prog Natl Acad Sci USA*, 97: 11638~11643
- Ullah H, Chen JG, Wang SC, Jones AM (2002). Role of a heterotrimeric G protein in regulation of *Arabidopsis* seed germination. *Plant Physiol*, 129: 897~907
- Von Rad U, Klein I, Dobrev PI, Kottova J, Zazimalova E, Fekete A, Hartmann A, Schmitt-Kopplin P, Durner J (2008). Response of *Arabidopsis thaliana* to *N*-hexanoyl-DL-homoserine lactone, a bacterial quorum sensing molecule produced in the rhizosphere. *Planta*, 229: 73~85
- Warpeha KM, Upadhyay S, Yeh J, Adamiak J, Hawkins SI, Lapik YR, Anderson MB, Kaufman LS (2007). The GCR1, GPA1, PRN1, NF-Y signal chain mediates both blue light and abscisic acid responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 143: 1590~1600
- Whithead NA, Banard AML, Slater H, Simpson NJL, Salmond GPC (2001). Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol*, 25: 365~404