

## 植物 U-box/ARM 蛋白

杨佳, 蓝兴国, 李玉花\*

东北林业大学生命科学学院, 发育生物学研究室, 哈尔滨 150040

### U-box/ARM Proteins in Plants

YANG Jia, LAN Xing-Guo, LI Yu-Hua\*

Department of Developmental Biology, College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

摘要: 文章介绍了高等植物特有的 U-box/ARM 蛋白在结构、植物自交不亲和性、抗病性和激素信号转导等方面的研究进展。

关键词: U-box/ARM 蛋白; 自交不亲和; 抗病性; 激素信号转导

ARM 功能域(armadillo repeat domains)是由多个约含有 40 个氨基酸残基的 ARM 基序(Arm repeats)串联组成的一个超螺旋结构,最初是从果蝇肢节极性基因编码的 $\beta$ 连环蛋白( $\beta$ -catenin)中鉴定出来的(Riggelman 等 1989)。后来,在动物和酵母细胞中也发现有 ARM 功能域。ARM 功能域主要参与蛋白-蛋白间的相互作用,在细胞内的信号传递,细胞骨架的调控,核输入和转录调控等过程中起作用(Coates 2003)。

目前在植物基因组中,发现了大量编码 ARM 蛋白(Arm repeat proteins)的基因。并且在已发现的 ARM 蛋白中,ARM 功能域常与其他功能域组合在一起共同完成其生理功能(Mudgil 等 2004)。其中 U-box 功能域与 ARM 功能域组合的 U-box/ARM 蛋白的数目最多,是 ARM 蛋白中最大的家族(Samuel 等 2006)。U-box/ARM 蛋白是植物中特有的一类蛋白,迄今只在拟南芥和水稻等高等植物中发现,而在动物及藻类等低等植物中尚未找到。U-box 功能域是一种修饰的 RING 指(RING-finger)功能域,大多数含有 U-box 功能域的蛋白都具有 E3 泛素连接酶的活性,参与泛素/26S 蛋白酶复合体的降解过程(Aravind 和 Koonin 2000)。

本文就植物中 U-box/ARM 蛋白的结构及其在植物自交不亲和性、抗病性和激素信号转导中的功能研究进展作一介绍。

#### 1 U-box/ARM 蛋白的结构

**1.1 ARM 功能域的结构** ARM 功能域属于螺旋重复(helical repeat)功能域家族,该功能域家族除含有 ARM 基序外,还包括 HEAT, 三十四肽(tetratricopeptide)和富含亮氨酸多变重复(leucine-

rich variant repeat)基序等(Groves 和 Barford 1999)。ARM 基序本身并不具有功能,但多个基序相互衔接形成一个特异的超螺旋结构,提供了与蛋白相互作用的独特区域(Groves 和 Barford 1999)。

ARM 基序在氨基酸序列上的保守性很低,不仅在不同 ARM 蛋白中,甚至在同一蛋白中 ARM 基序的一级结构(即氨基酸序列)保守性都很差,但 ARM 功能域在空间结构上却表现出高度的保守性(图 1)。对 $\beta$ 连环蛋白和 Importin- $\alpha$  蛋白的晶体结构研究表明,每个 ARM 基序都是由 3 个 $\alpha$ 螺旋(H1、H2 和 H3)组成,其中两个较长的 $\alpha$ 螺旋(H2 和 H3)

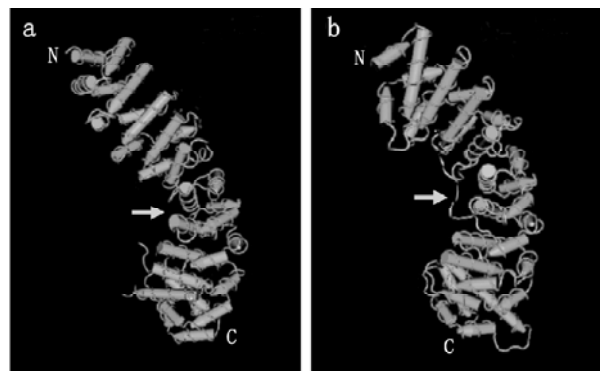


图 1 ARM 功能域的结构(Coates 2003)

a: 鼠 $\beta$ 连环蛋白的 ARM 功能域的三维结构; b: 酵母 Importin- $\alpha$  蛋白的 ARM 功能域的三维结构。箭头所示与靶蛋白相结合的区域; N 指氨基端, C 指羧基端。

收稿 2008-07-30 修订 2008-09-22

资助 国家自然科学基金(30371189)和国家高技术研究“863”计划(2006AA10Z129)。

\* 通讯作者(E-mail: lyhshen@126.com; Tel: 0451-82191783)。

紧密相互作用形成一个反向平行排列的发卡结构, 而较短的 $\alpha$ 螺旋(H1)通常垂直于发卡结构(Huber等1997; Conti等1998; Coates 2003) (图1)。多个这样的 $\alpha$ 螺旋三联体重复紧密的组装在一起, 形成一个右手 $\alpha$ 超螺旋结构, 并且该结构形成的ARM功能域是一个连续的疏水中心。此外, 在超螺旋的表面还形成了一条大沟(图1箭头表示), 提供了与靶蛋白结合的区域(Huber等1997; Harris和Peifer 2005) (图1)。

ARM功能域存在于所有真核生物体的蛋白质组中, 如参与蛋白质核输入的Importin- $\alpha$ 蛋白(Conti等1998; Goldfarb等2004), 酵母液泡分化的Vac8p蛋白(Catlett和Weisman 2000), 以及上述的 $\beta$ 连环蛋白等。 $\beta$ 连环蛋白参与Wnt/Wingless信号通路, 还作为钙粘素复合体中的一种衔接蛋白, 调控细胞间的粘连和细胞的移动(Nelson和Nusse 2004)。

**1.2 U-box功能域的结构** U-box功能域最初是在酵母的UFD2蛋白中发现的, 约由70个氨基酸残基组成(Koegl等1999)。U-box功能域在结构上与RING指功能域相似, 两者不仅具有相似的氨基酸排列顺序和 $\beta\beta\alpha\beta$ 的折叠结构, 而且在相同的部位暴露出疏水氨基酸和芳香族氨基酸残基(Andersen等2004)。但与典型的RING指功能域不同的是: U-box功能域用盐键和氢键来稳定其结构, 而不是通过螯合 $Zn^{2+}$ 来稳定其结构(图2) (Ohi等2003)。

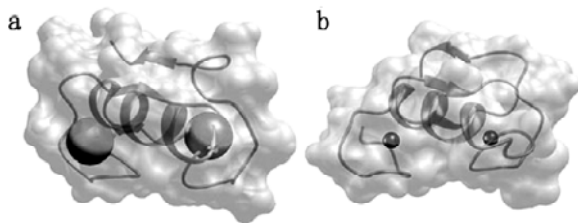


图2 U-box功能域与RING指功能域结构的比较 (Ohi等2003)

a: Prp19p的U-box功能域的结构, 球体代表氢键网络; b: c-CBL的RING指功能域的结构, 球体代表 $Zn^{2+}$ 。

U-box功能域是一类具有E3泛素连接酶活性的功能域, 它的缺失或碱基替换可使E3泛素连接酶的活性丧失(Hatakeyama和Nakayama 2003)。U-box功能域在酵母、植物和动物等真核生物中都存在, 并具有高度的保守性。在人类基因组中含有两个UFD2蛋白的同源物, 以及其他19个含有U-

box功能域的蛋白。在拟南芥基因组中发现有62个含有U-box功能域的蛋白, 远远多于其他生物中U-box蛋白的数量(Azevedo等2001; Wiborg等2008)。

**1.3 植物U-box/ARM蛋白的结构** U-box/ARM蛋白是高等植物特有的一类蛋白, 也是ARM蛋白中数量最多的一类蛋白(Mudgil等2004)。通过对拟南芥、水稻及衣藻中的ARM蛋白聚类分析(cluster analysis)发现, 拟南芥的94个ARM蛋白中有41个是U-box/ARM蛋白, 水稻中鉴定出的84个ARM蛋白中有43个是U-box/ARM蛋白, 各约占其总数的一半, 而在低等植物衣藻中不含有U-box/ARM蛋白(Samuel等2006)。在其他高等植物中, 已经鉴定出有U-box/ARM功能域的蛋白有: 油菜中的ARC1蛋白(Stone等2003)、烟草中的ACRE276蛋白(Yang等2006)和PUB4蛋白(Kim等2003)、马铃薯PHOR1蛋白(Amador等2001)、欧芹(*Petroselinum crispum*) CMPG1蛋白(Kirsch等2001)、红树植物木榄(*Bruguiera gymnorhiza*) BG55蛋白(Banzai等2002)和水稻SPL11蛋白(Zeng等2004)。

在这些U-box/ARM蛋白中, ARM功能域通常位于蛋白的C末端, U-box功能域通常位于ARM功能域的前面, 更靠近蛋白的N末端。基于对 $\beta$ 连环蛋白结构的研究, 目前认为6个串联的ARM基序是形成ARM功能域的最小单元, 通常含有6~12个ARM基序(Huber等1997)。此外, 在一些U-box/ARM蛋白中还含有一个保守的UND功能域(U-box N-terminal domain), 通常位于蛋白的N末端(Mudgil等2004)。UND功能域可能含有多个保守的功能域, 如亮氨酸拉链功能域(leucine zipper domain), 卷曲螺旋功能域(coiled-coil domain)等(Stone等2003)。拟南芥和水稻的U-box/ARM蛋白中, 各有16个蛋白含有UND功能域; 油菜ARC1、烟草ACRE276和PUB4以及木榄BG55也含有UND功能域(Samuel等2006)。

## 2 U-box/ARM蛋白的功能

**2.1 U-box/ARM蛋白与植物自交不亲和性** 自交不亲和性(self-incompatibility, SI)是植物在进化过程中形成的一种促进异交, 避免自交的机制(Takayama和Isogai 2005)。芸苔属植物SI的信号转导是由花粉中的配体SCR/SP11 (*S*-locus cysteine rich/*S*-locus protein 11)与柱头乳突细胞中的SRK (*S*-locus

receptor kinase, SRK)受体相互作用,引起柱头细胞内信号级联反应导致的。SRK具有三个功能域:胞外域、跨膜域和具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性的胞内域(Goring 和 Rothstein 1992; Stein 和 Nasrallah 1993; Naithani 等 2007)。当花粉落到柱头乳突细胞上,花粉中的SI信号分子SCR转运到柱头乳突细胞的表面,被受体SRK的胞外域识别(Kachroo等 2001; Takayama 等 2001; Kemp 和 Doughty 2007)。这种受体与配体的识别引起了SRK胞内域的磷酸化(Cabrillac等 2001),磷酸化的SRK与另一种非受体蛋白激酶MLPK (*M locus protein kinase*)形成信号复合体(Murase 等 2004; Kakita 等 2007a, b)。

ARC1 (arm repeat containing 1)是SRK信号复合体的下游信号传递因子。ARC1的C末端含有一个由6~7个ARM基序形成的ARM功能域,中间有一个U-box功能域, N末端含有一个UND功能域(Stone 等 2003)。ARC1的ARM基序R1、R2和R5与 $\beta$ 连环蛋白的ARM基序R12、R2和R10的同源性分别为29%、19%和24%, R3和R4与 $\beta$ 连环蛋白的R6的同源性分别为33%和29%。ARC1特异性地在柱头乳突细胞中表达,并且在酵母双杂交及体外结合实验发现,ARC1通过其C末端ARM功能域特异地与磷酸化的SRK<sub>910</sub>和SRK<sub>A14</sub>的激酶域结合,但不与拟南芥的类受体激酶(receptor-like kinase, RLK)RLK4和RLK5的激酶域相互作用(Gu 等 1998)。此外,在转基因实验中,导入ARC1反义基因的植株有部分打破SI的现象(Stone 等 1999)。

ARC1具有依赖于U-box功能域的E3泛素连接酶活性(Stone 等 2003)。将U-box功能域删除或将U-box功能域中保守的脯氨酸(Pro)突变掉,底物蛋白则不能被泛素化。26S蛋白酶体/CSN (COP9 Signalosome)是泛素化蛋白降解的主要场所,因此被ARC1进行泛素化标记的蛋白只能通过26S蛋白酶体/CSN的作用才能被降解掉。ARC1能够在细胞核、细胞溶胶和26S蛋白酶体/CSN之间穿梭,但当删除全部或部分U-box功能域,或将U-box功能域中保守的脯氨酸(Pro)残基替换成丙氨酸(Ala)残基时,ARC1不能定位到26S蛋白酶体/CSN上,这些说明U-box功能域对于ARC1定位到26S蛋白酶体/CSN上是必需的(Stone 等 2003)。

ARC1的UND功能域含有亮氨酸拉链、螺旋

卷曲等结构,但其功能目前还不清楚,推测它们可能结合ARC1的下游底物。结合底物的ARC1通过U-box功能域与泛素结合酶E2作用使底物泛素化,然后共同运输到蛋白酶体上。在蛋白酶体中,泛素化的底物被降解,导致SI反应的发生。目前,对于ARC1结合的底物还不清楚,推测它们是促进花粉水合、萌发和花粉管生长的雌性亲和因子。

最近的研究发现,另一个U-box/ARM蛋白,拟南芥的PUB8也参与了SI反应,它能够调节*A. lyrata*中SRK基因的转录水平(Liu 等 2007)。

**2.2 U-box/ARM蛋白与植物的抗病性** 目前,在植物的抗病性反应中发现有U-box/ARM蛋白的作用,如水稻的SPL11 (Zeng 等 2004), 欧芹、番茄、烟草等植物中的CMPG1 (González-Lamothe等 2006), 烟草中的ACRE276及拟南芥中的AtPUB17 (Yang 等 2006)等。

水稻的*spl11* (*spotted leaf11*)突变体是利用化学诱变剂乙基甲磺酸(ethyl methane sulfonate, EMS)诱变获得的一个类病变突变体(lesion mimic mutant)。*spl11*突变体植株能够在没有病原体侵染的情况下发生系统性的自主死亡过程,叶片出现病斑,同时植株对一些真菌和细菌性病原体的抗性增强,如稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)和白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) (Yin等 2000; Zeng 等 2002; Zeng 等 2004)。SPL11与油菜ARC1具有相似的结构,即含有一个UND功能域,一个U-box功能域和一个由6个ARM基序构成的ARM功能域。体外泛素化分析表明,SPL11具有E3泛素连接酶的活性。将U-box功能域中高度保守的缬氨酸(Val<sup>290</sup>)点突变为精氨酸(Arg<sup>290</sup>),会导致整个蛋白丧失E3泛素连接酶活性,表明U-box功能域是E3泛素连接酶活性所必需的。此外,*spl11*基因在叶、茎、根中都有表达,在受到病原体侵染后其mRNA水平有所增加。这些表明SPL11参与水稻对病原体侵染的基础防御,并且负调控细胞死亡,但其机制还不清楚(Zeng 等 2004)。

与SPL11的负调控抗病性功能相反,番茄、烟草及欧芹中的CMPG1能够正调控植物的抗病性(González-Lamothe 等 2006)。植物*Avr9/Cf-9*互作系统符合典型的“基因对基因”模型,*Avr9*能诱导含有*Cf-9*基因的植株产生过敏反应(hypersensitive response, HR)。在烟草悬浮细胞中已分离鉴定出

多个 *Avr9/Cf-9* 诱发 HR 时特异性表达的基因——*ACRE* (*Avr9/Cf-9 Rapidly Elicited*) 基因 (Durrant 等 2000)。烟草 *ACRE74* 基因编码的 *NtCMPG1* 与欧芹和番茄中的 *CMPG1* 以及拟南芥的 *AtPUB20*、*AtPUB21* 同源, 它们的 N 末端都含有一个高度保守的 U-box 功能域, C 末端都含有一个 ARM 功能域。烟草和番茄含 *Cf-9* 植株内的 *CMPG1* 受 *Avr9* 激发表达量会上升。如果将 *NtCMPG1* 沉默掉, 则 *Avr9/Cf-9* 引起的 HR 会明显减轻, 而过量表达 *NtCMPG1* 则会增强 HR。同样, 将番茄的 *CMPG1* 基因沉默, 可使植株对叶霉菌 (*Cladosporium fulvum*) 的抗性减弱。另外, *NtCMPG1* 具有 E3 泛素连接酶活性, 一旦将 U-box 功能域中保守的氨基酸突变掉, 就导致 E3 泛素连接酶活性的丧失。但是目前 *CMPG1* 通过什么机理、以何种作用方式促进 HR 来调控植物的抗病性还不清楚, 推测 *CMPG1* 可能是通过泛素化作用激活某个正调因子, 或是降解某些负调因子来发挥作用 (González-Lamothe 等 2006)。

另一个烟草 *ACRE* 基因——*ACRE276* 编码的蛋白 *NtACRE276* 也是一个具有 E3 泛素连接酶活性的 U-box/ARM 蛋白, 并且受 *Avr9* 诱导后表达上调 (Rowland 等 2005)。在结构上, *NtACRE276* 与 *AtPUB17* 及油菜 *ARC1* 具有较高的同源性。*ACRE276* 沉默可减弱 *Cf* 抗病基因和 *N* 抗病基因介导 HR 反应。番茄的 *ACRE276* 是含 *Cf-9* 植株抗叶霉菌所必需的。同样, *NtACRE276* 和 *AtPUB17* 也都具有 E3 泛素连接酶活性。在 *ACRE276* 沉默的含 *Cf-9* 烟草植株中瞬时表达 *PUB17* 可恢复植株的 HR, 表明 *PUB17* 与 *ACRE276* 功能性同源; 而瞬时表达 U-box 功能域点突变的 *PUB17* 则不能恢复 *ACRE276* 沉默植株的 HR, 这表明 E3 泛素连接酶活性是激发植株抗病反应所必需的。此外, *AtPUB17* 还在抗病基因 *RPM1*、*RPS4* 介导的抗病性中起到重要作用 (Yang 等 2006)。

**2.3 U-box/ARM 蛋白与植物激素信号转导** *PHOR1* (*photoperiod-responsive1*) 是在马铃薯叶片中通过 mRNA 差异显示技术筛选到的一个在短日照条件下上调表达的基因 (Amador 等 2001)。反义抑制 *PHOR1* 的表达会导致植株的半矮化, 使植株对外源赤霉素 (gibberellin, GA) 的敏感性下降, 而内源的 GA 水平增高, 并且导致植株块茎形成较早, 数量较多。而过量表达 *PHOR1* 则会使植株节间过长, 对 GA 抑

制剂的抵抗力增强。这些表明 *PHOR1* 参与 GA 信号转导, 是 GA 信号转导途径中的一个正调因子。*PHOR1* 的 C 末端含有一个由 7 个 ARM 基序组成的 ARM 功能域, N 末端有一个 U-box 功能域。在使用 GFP (green fluorescent protein) 蛋白进行亚细胞定位的研究发现, 没有 GA 或施加 GA 生物合成抑制剂时, *PHOR1*-GFP 融合蛋白定位在细胞质中; 而用外源 GA 处理后, 可使 *PHOR1*-GFP 融合蛋白转移定位到细胞核内。缺失突变实验表明, *PHOR1*-GFP 融合蛋白的核定位是 ARM 功能域介导的, 而 U-box 功能域参与介导了 *PHOR1* 的细胞质定位 (Amador 等 2001)。拟南芥中的 *HIM1*、*HIM2* 和 *HIM3* 蛋白与马铃薯的 *PHOR1* 具有较高的同源性, 但它们在 GA 反应中功能还不清楚 (Monte 等 2003)。此外, *PHOR1* 还参与了马铃薯叶片对光周期的应答反应 (Amador 等 2001)。

此外, 烟草的 *NtPUB4* (plant U-box protein 4) 参与了 *CHRK1* (chitinase-related receptor kinase-1) 介导的植物发育及细胞分裂素 (cytokinin) 信号转导过程。*CHRK1* 是烟草中一类新型类受体激酶, 它的胞外域含有一个类几丁质酶的结构, 参与调控发育信号转导以及内源细胞分裂素的平衡 (Kim 等 2000; Lee 等 2003)。*NtPUB4* 是利用酵母双杂交系统从烟草花芽 cDNA 文库中筛出的一个与 *CHRK1* 激酶域相互作用的蛋白 (Kim 等 2003)。*NtPUB4* 的 N 末端具有一个 UND 功能域, 中间有一个 U-box 功能域, C 末端含有一个由 7 个 ARM 基序构成的 ARM 功能域, 与 *AtPUB4* 及油菜的 *ARC1* 同源。体外结合实验表明, *NtPUB4* 蛋白 C 末端的 ARM 功能域介导了 *NtPUB4* 与 *CHRK1* 激酶域的结合。此外, *NtPUB4* 与 *CHRK1* 具有相似的表达模式, 即在已开的花中大量表达, 在秧苗、根、茎、叶和幼花中有少量表达。这些表明 *NtPUB4* 是 *CHRK1* 的下游作用因子。*CHRK1* 与 SRK 类受体激酶家族聚类在一起, 而 *NtPUB4* 与 *ARC1* 的结构相似。从而推测 *NtPUB4* 在 *CHRK1* 信号转导过程中与 *ARC1* 的功能相似, 参与泛素化的降解过程 (Kim 等 2003)。

**2.4 U-box/ARM 蛋白的其他功能** 在木榄中, 盐碱胁迫可诱导 *U-box/ARM* 基因 *bg55* 的表达上调 (Banzai 等 2002)。与此一致的是, 在拟南芥中, 一些 *U-box/ARM* 基因受 NaCl 胁迫诱导表达 (Samuel 等 2006)。因此, 在盐碱及 NaCl 胁迫反应中也可

能有 U-box/ARM 蛋白的参与。

此外,通过酵母双杂交系统大规模筛选与水稻类受体蛋白激酶相互作用的蛋白时,分离鉴定出两个 *O<sub>s</sub>*U-box/ARM 蛋白。这两个蛋白具有较近的亲缘关系,可与 *At*PUB4 及 *Nt*PUB4 聚类在一起。它们与四个水稻类受体蛋白激酶相互结合,但这四个类受体蛋白激酶不仅不同于芸苔属的 SRK 而且它们的系统发育关系也较远。上述四个类受体蛋白激酶的胞内域包含一个蛋白水解基序(P/GX5 - 7P/G),研究已证实这个基序参与介导了抗病蛋白XA21的降解(Xu 等 2006)。研究还指出,这四个类受体蛋白激酶只是 50 个随机选取进行酵母双杂交实验的类受体蛋白激酶中的 8%,而在水稻基因组中预测约含有 750 个类受体蛋白激酶,这些表明这两个 *O<sub>s</sub>*U-box/ARM 蛋白可能与更多的类受体蛋白激酶有相互作用。但是它们的生物学功能还不清楚(Samuel 等 2006)。

最近 Samuel 等(2008)研究发现,拟南芥中的 U-box/ARM 蛋白家族可与拟南芥 SD1 受体蛋白激酶亚家族(S-domain-1 receptor kinase subfamily)相互结合,该受体蛋白激酶亚家族与 SRK 具有相似的结构。酵母双杂交实验表明 *At*U-box/ARM 蛋白的 ARM 功能域可与 SD1 受体蛋白激酶的激酶域相互结合。此外,在体外 SD1 受体蛋白激酶也可使 U-box/ARM 蛋白的 ARM 功能域磷酸化,导致它们的亚细胞定位发生变化,这与 ARC1 和 SRK 间的相互作用类似。这表明 *At*U-box/ARM 蛋白是保守的 SD1 受体蛋白激酶家族信号传递因子,参与调控植株的多个生理过程。

通过对芯片数据库(microarray database)的数据分析,发现脱落酸(ABA)处理可迅速升高 *At*PUB9 转录水平(Toufighi 等 2005; Zimmermann 等 2005)。最近的研究也表明 ABA 处理可使 *At*PUB9 的亚细胞定位发生变化。插入含有 *At*PUB9 的 T-DNA 片段的突变植株与野生型植株相比,对 ABA 的敏感性更高,种子萌发时发芽率降低。这些都表明, *At*PUB9 参与 ABA 的信号转导(Samuel 等 2008)。

### 3 结束语

自发现 U-box/ARM 蛋白并研究其功能以后,人们对植物生命活动的许多方面都有了更深入的理解。在已鉴定的植物 U-box/ARM 蛋白中,ARM 功能域一般约由 6 个 ARM 基序构成,通常与植物类受

体蛋白激酶功能域发生相互作用,将细胞外的信号在细胞内进一步传递,引起细胞内的级联反应。U-box/ARM 蛋白一般都具有依赖于 U-box 功能域的 E3 泛素连接酶活性,参与泛素/26S 蛋白酶复合体途径介导的蛋白降解。在蛋白降解过程中,泛素连接酶通过酶促级联反应使泛素与底物蛋白共价结合,引起底物蛋白被 26S 蛋白酶复合体降解。其中,E3 泛素连接酶在这一过程中具有决定底物特异性的功能。虽然,大部分 U-box/ARM 蛋白都具有 E3 泛素连接酶的活性,但其下游底物的许多特点至今还不清楚。

迄今为止,虽然对 U-box/ARM 蛋白的结构及功能研究取得了较大的进展,但对大部分 U-box/ARM 蛋白的生物学功能及潜在调控网络知之甚少。U-box/ARM 蛋白是高等植物特有的一类蛋白,它们可能涉及到植物中一些特有的生物反应过程。因此,深入研究 U-box/ARM 蛋白功能及鉴定其下游底物,将有可能揭示植物生长发育过程中的一些机制,从而对植物的生命活动有进一步的认识。

### 参考文献

- Amador V, Monte E, García-Martínez JL, Prat S (2001). Gibberellins signal nuclear import of PHOR1, a photoperiod-responsive protein with homology to *Drosophila* armadillo. *Cell*, 106: 343~354
- Andersen P, Kragelund BB, Olsen AN, Larsen FH, Chua NH, Poulsen FM, Skriver K (2004). Structure and biochemical function of a prototypical *Arabidopsis* U-box domain. *J Biol Chem*, 279: 40053~40061
- Aravind L, Koonin EV (2000). The U box is a modified RING finger - a common domain in ubiquitination. *Curr Biol*, 10: R132~R134
- Azevedo C, Santos-Rosa MJ, Shirasu K (2001). The U-box protein family in plants. *Trends Plant Sci*, 6: 354~358
- Banzai T, Hershkovits G, Katcoff DJ, Hanagata N, Dubinsky Z, Karube I (2002). Identification and characterization of mRNA transcripts differentially expressed in response to high salinity by means of differential display in the mangrove, *Bruguiera gymnorrhiza*. *Plant Sci*, 162: 499~505
- Cabrillac D, Cock JM, Dumas C, Gaude T (2001). The S-locus receptor kinase is inhibited by thioredoxins and activated by pollen coat proteins. *Nature*, 410: 220~223
- Catlett NL, Weisman LS (2000). Divide and multiply: organelle partitioning in yeast. *Curr Opin Cell Biol*, 12: 509~516
- Coates JC (2003). Armadillo repeat proteins: beyond the animal kingdom. *Trends Cell Biol*, 13: 463~471
- Conti E, Uy M, Leighton L, Blobel G, Kuriyan J (1998). Crystallographic analysis of the recognition of a nuclear localization signal by the nuclear import factor karyopherin  $\alpha$ . *Cell*,

- 94: 193~204
- Durrant WE, Rowland O, Piedras P, Hammond-Kosack KE, Jones JD (2000). cDNA-AFLP reveals a striking overlap in race-specific resistance and wound response gene expression profiles. *Plant Cell*, 12: 963~977
- Goldfarb DS, Corbett AH, Mason DA, Harreman MT, Adam SA (2004). Importin  $\alpha$ : a multipurpose nuclear-transport receptor. *Trends Cell Biol*, 14: 505~514
- González-Lamothe R, Tsitsigiannis DI, Ludwig AA, Panicot M, Shirasu K, Jones JD (2006). The U-Box protein CMPG1 is required for efficient activation of defense mechanisms triggered by multiple resistance genes in tobacco and tomato. *Plant Cell*, 18: 1067~1083
- Goring DR, Rothstein SJ (1992). The *S*-locus receptor kinase gene in a self-incompatible *Brassica napus* line encodes a functional serine/threonine kinase. *Plant Cell*, 4: 1273~1281
- Groves MR, Barford D (1999). Topological characteristics of helical repeat proteins. *Curr Opin Struct Biol*, 9: 383~389
- Gu T, Mazzurco M, Sulaman W, Matias DD, Goring DR (1998). Binding of an arm repeat protein to the kinase domain of the *S*-locus receptor kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 382~387
- Harris TJ, Peifer M (2005). Decisions, decisions:  $\beta$ -catenin chooses between adhesion and transcription. *Trends Cell Biol*, 15: 234~237
- Hatakeyama S, Nakayama KI (2003). U-box proteins as a new family of ubiquitin ligases. *Biochem Biophys Res Commun*, 302: 635~645
- Huber AH, Nelson WJ, Weis WI (1997). Three-dimensional structure of the armadillo repeat region of  $\beta$ -catenin. *Cell*, 90: 871~882
- Kachroo A, Schopfer CR, Nasrallah ME, Nasrallah JB (2001). Allele-specific receptor-ligand interactions in *Brassica* self-incompatibility. *Science*, 293: 1824~1826
- Kakita M, Murase K, Iwano M, Matsumoto T, Watanabe M, Shiba H, Isogai A, Takayama S (2007a). Two distinct forms of *M*-locus protein kinase localize to the plasma membrane and interact directly with *S*-locus receptor kinase to transduce self-incompatibility signaling in *Brassica rapa*. *Plant Cell*, 19: 3961~3973
- Kakita M, Shimosato H, Murase K, Isogai A, Takayama S (2007b). Direct interaction between *S*-locus receptor kinase and *M*-locus protein kinase involved in *Brassica* self-incompatibility signaling. *Plant Biotechnol*, 24: 185~190
- Kemp BP, Doughty J (2007). *S* cysteine-rich (SCR) binding domain analysis of the *Brassica* self-incompatibility *S*-locus receptor kinase. *New Phytol*, 175: 619~629
- Kim M, Cho HS, Kim DM, Lee JH, Pai HS (2003). CHRK1, a chitinase-related receptor-like kinase, interacts with NtPUB4, an armadillo repeat protein, in tobacco. *Biochim Biophys Acta*, 1651: 50~59
- Kim YS, Lee JH, Yoon GM, Cho HS, Park SW, Suh MC, Choi D, Ha HJ, Liu JR, Pai HS (2000). CHRK1, a chitinase-related receptor-like kinase in tobacco. *Plant Physiol*, 123: 905~915
- Kirsch C, Logemann E, Lippok B, Schmelzer E, Hahlbrock K (2001). A highly specific pathogen-responsive promoter element from the immediate-early activated *CMPG1* gene in *Petroselinum crispum*. *Plant J*, 26: 217~227
- Koegl M, Hoppe T, Schlenker S, Ulrich HD, Mayer TU, Jentsch S (1999). A novel ubiquitination factor, E4, is involved in multiubiquitin chain assembly. *Cell*, 96: 635~644
- Lee JH, Takei K, Sakakibara H, Cho HS, Kim DM, Kim YS, Min SR, Kim WT, Sohn DY, Lim YP, Pai HS (2003). CHRK1, a chitinase-related receptor like kinase, plays a role in plant development and cytokinin homeostasis in tobacco. *Plant Mol Biol*, 53: 877~890
- Liu P, Sherman-Broyles S, Nasrallah ME, Nasrallah JB (2007). A cryptic modifier causing transient self-incompatibility in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol*, 17: 734~740
- Monte E, Amador V, Russo E, Martínez-García J, Prat S (2003). PHOR1: a U-box GA signaling component with a role in proteasome degradation? *J Plant Growth Regul*, 22: 152~162
- Mudgil Y, Shiu SH, Stone SL, Salt JN, Goring DR (2004). A large complement of the predicted *Arabidopsis* ARM repeat proteins are members of the U-box E3 ubiquitin ligase family. *Plant Physiol*, 134: 59~66
- Murase K, Shiba H, Iwano M, Che FS, Watanabe M, Isogai A, Takayama S (2004). A membrane-anchored protein kinase involved in *Brassica* self-incompatibility signaling. *Science*, 303: 1516~1519
- Naithani S, Chookajorn T, Ripoll DR, Nasrallah JB (2007). Structural modules for receptor dimerization in the *S*-locus receptor kinase extracellular domain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 12211~12216
- Nelson WJ, Nusse R (2004). Convergence of Wnt,  $\beta$ -catenin, and cadherin pathways. *Science*, 303: 1483~1487
- Ohi MD, Vander Kooi CW, Rosenberg JA, Chazin WJ, Gould KL (2003). Structural insights into the U-box, a domain associated with multi-ubiquitination. *Nat Struct Biol*, 10: 250~255
- Riggleman B, Wieschaus E, Schedl P (1989). Molecular analysis of the armadillo locus: uniformly distributed transcripts and a protein with novel internal repeats are associated with a *Drosophila* segment polarity gene. *Genes Dev*, 3: 96~113
- Rowland O, Ludwig AA, Merrick CJ, Baillieux F, Tracy FE, Durrant WE, Fritz-Laylin L, Nekrasov V, Sjölander K, Yoshioka H, Jones JD (2005). Functional analysis of *Avr9/Cf-9 rapidly elicited* genes identifies a protein kinase, ACIK1, that is essential for full Cf-9-dependent disease resistance in tomato. *Plant Cell*, 17: 295~310
- Samuel MA, Salt JN, Shiu SH, Goring DR (2006). Multifunctional arm repeat domains in plants. *Int Rev Cytol*, 253: 1~26
- Samuel MA, Mudgil Y, Salt JN, Delmas F, Ramachandran S, Chillelli A, Goring DR (2008). Interactions between the *S*-domain receptor kinases and AtPUB-ARM E3 ubiquitin ligases suggest a conserved signaling pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 147: 2084~2095
- Stein JC, Nasrallah JB (1993). A plant receptor-like gene, the *S*-locus receptor kinase of *Brassica oleracea* L., encodes a functional serine/threonine kinase. *Plant Physiol*, 101: 1103~1106

- Stone SL, Arnoldo M, Goring DR (1999). A breakdown of *Brassica* self-incompatibility in ARC1 antisense transgenic plants. *Science*, 286: 1729~1731
- Stone SL, Anderson EM, Mullen RT, Goring DR (2003). ARC1 is an E3 ubiquitin ligase and promotes the ubiquitination of proteins during the rejection of self-incompatible *Brassica* pollen. *Plant Cell*, 15: 885~898
- Takayama S, Isogai A (2005). Self-incompatibility in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 56: 467~489
- Takayama S, Shimosato H, Shiba H, Funato M, Che FS, Watanabe M, Iwano M, Isogai A (2001). Direct ligand-receptor complex interaction controls *Brassica* self-incompatibility. *Nature*, 413: 534~538
- Toufighi K, Brady SM, Austin R, Ly E, Provart NJ (2005). The Botany Array Resource: e-Northern, Expression Angling, and promoter analyses. *Plant J*, 43: 153~163
- Wiborg J, O'Shea C, Skriver K (2008). Biochemical function of typical and variant *Arabidopsis thaliana* U-box E3 ubiquitin-protein ligases. *Biochem J*, 413: 447~457
- Xu WH, Wang YS, Liu GZ, Chen X, Tinjuangjun P, Pi LY, Song WY (2006). The autophosphorylated Ser686, Thr688, and Ser689 residues in the intracellular juxtamembrane domain of XA21 are implicated in stability control of rice receptor-like kinase. *Plant J*, 45: 740~751
- Yang CW, González-Lamothe R, Ewan RA, Rowland O, Yoshioka H, Shenton M, Ye H, O'Donnell E, Jones JD, Sadanandom A (2006). The E3 ubiquitin ligase activity of *Arabidopsis* PLANT U-Box17 and its functional tobacco homolog ACRE276 are required for cell death and defense. *Plant Cell*, 18: 1084~1098
- Yin Z, Chen J, Zeng L, Goh M, Leung H, Khush GS, Wang GL (2000). Characterizing rice lesion mimic mutants and identifying a mutant with broad-spectrum resistance to rice blast and bacterial blight. *Mol Plant Microbe Interact*, 13: 869~876
- Zeng L, Yin Z, Chen J, Leung H, Wang GL (2002). Fine genetic mapping and physical delimitation of the lesion mimic gene Spl11 to a 160-kb DNA segment of the rice genome. *Mol Genet Genomics*, 268: 253~261
- Zeng LR, Qu S, Bordeos A, Yang C, Baraoidan M, Yan H, Xie Q, Nahm BH, Leung H, Wang GL (2004). *Spotted leaf11*, a negative regulator of plant cell death and defense, encodes a U-box/armadillo repeat protein endowed with E3 ubiquitin ligase activity. *Plant Cell*, 16: 2795~2808
- Zimmermann P, Hennig L, Grussem W (2005). Gene-expression analysis and network discovery using Genevestigator. *Trends Plant Sci*, 10: 407~409