

早期生长素响应蛋白在生长素信号转导中的作用

蒋素梅 陶均 李玲*

华南师范大学生命科学学院, 广州 510631

The Roles of Early Auxin Response Proteins in Auxin Signal Transduction

JIANG Su-Mei, TAO Jun, LI Ling*

College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631

提要 3种早期生长素响应蛋白——生长素/吲哚乙酸蛋白(Aux/IAAs)、生长素响应因子(ARFs)和泛素介导的蛋白降解途径组分在生长素的信号转导中起着关键性的作用。目前的研究结果支持负调控模型的说法,即Aux/IAAs蛋白以生长素依赖的方式通过泛素相关的蛋白降解机制为26S蛋白酶降解。当Aux/IAAs-Aux/IAAs以及Aux/IAAs-ARFs二聚体含量降低时,ARFs-ARFs水平升高,ARFs-ARFs结合在生长素调控基因启动子的生长素响应元件(AuxREs)上调节一系列基因的表达,进而引导植物的正常生长和发育。

关键词 Aux/IAAs; ARFs; SCF系统; 泛素依赖性降解途径; 基因表达; 生长素信号转导

作为主要植物激素的生长素,调控众多的生理反应,如细胞分裂、分化和扩大,初生根和次生根之间以及茎端分生组织之间的生长协调等^[1,2]。生长素还能改变离子的跨膜运输和影响基因的表达^[3,4]。植物对生长素的响应很复杂。生长素可以直接作用于细胞膜或胞内组分而影响一些细胞反应(如细胞扩大和极性形成等)。生长素也可以间接调控基因表达,基因产物参与许多与发育相关的过程^[5]。生长素信号转导途径并不是单一的,目前对其认识还不甚清楚。生长素信号转导包括信号识别和下游生长素相关基因的表达以及最终表现出生理反应。最近,有人用突变技术和分子生物学分析鉴定了与生长素信号转导相关的3类主要蛋白组分,即生长素/吲哚乙酸蛋白(auxin/indoleacetic acids proteins, Aux/IAAs)、生长素响应因子(auxin response factors, ARFs)和SCF复合体^[6]。本文介绍这个领域的研究进展和生长素信号转导途径的最新模型。

1 生长素/吲哚乙酸蛋白(Aux/IAAs)

人们已从不同植物中分离鉴定了3类主要的早期生长素响应基因: *Aux/IAA*、*SAUR*、*GH3*^[5]。其它基因如1-氨基环丙烷-1-羧酸合成酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, ACS)基因和谷胱甘肽转硫酶(glutathione-S-transferases,

GST)基因也受生长素诱导早期表达^[7]。此类基因中大多数编码短命蛋白,在正常情况下抑制早期响应基因的表达,原因在于蛋白质合成抑制剂环己亚胺能诱导 *Aux/IAA*、*SAUR*、*GH3* 和 *ACS* 基因表达^[8~11]。由于它们能受生长素快速诱导,所以称之为早期响应基因(或称为初级响应基因)。

大多数早期响应基因以及其它一些生长素相关基因启动子含有功能性生长素响应元件(auxin response elements, AuxREs)。这些AuxREs含有几个保守的核心序列(5' TGTCNC 3', 通常为5' TGTCTC 3')^[5,12,13]。一些AuxREs可能还含有其它的保守序列。例如,大豆 *GH3* 启动子除含有核心保守序列外,还有两个TGA框(TGA-box)元件(TGACGTAA和TGACGTGGC)^[14]。AuxREs能与ARFs相互作用,进而影响这类基因的表达。

Aux/IAAs 是研究得最清楚的生长素响应基因。在拟南芥中,已鉴定了25种此类基因^[15]。*IAA1*和 *IAA14*的转录分析表明,生长素诱导的基因表达具有不同的空间表达模式和表达特征^[9]。并不是所有的Aux/IAAs都是早期响应基因。一些

收稿 2004-06-10 修定 2004-10-25

资助 广东省自然科学基金(003062)。

* 通讯作者(E-mail: lilingscnu.edu.cn, Tel: 020-85211378)。

基因如 *IAA3* 和 *IAA6* 能在几分钟内诱导表达, 2 h 后便回到基态水平。但如 *AXR/IAA7* 和 *IAA8* 等基因诱导表达的速度较慢, 即须依赖于新蛋白质的合成^[13]。后者称为后期响应基因(或称次级响应基因)。

Aux/IAAs 是一类核蛋白, 作为转录因子调控基因表达。Aux/IAAs 基因的半显性突变导致多效生长素相关表型(pleiotropic auxin-related phenotypes), 表明 Aux/IAAs 在生长素信号转导中起作用^[15]。Aux/IAAs 除参与生长素信号转导外, 还与其它信号转导密切相关^[15]。

Aux/IAAs 蛋白具有 4 个高度保守的结构域——I、II、III、IV(图1)。结构域 I 参与 Aux/IAAs 的同源二聚化; 结构域 III 和 IV 参与其同源二聚化或与 ARFs 异源二聚化^[16, 17]。结构域 III 具有原核生物抑制蛋白特征, 含有一个 $\beta\alpha\alpha$ 基元(motif), 可形成四聚体结合 DNA^[18, 19]。体外 AXR 结构域 III 能形成二聚体、三聚体和四聚体^[17], 表明 Aux/IAAs 能形成高度有序的多聚体而与 DNA 结合。结构域 II 含有一个非常保守的氨基酸序列(VGWPPV), 其中任何氨基酸的改变都可以稳定其蛋白, 进而提高其功能。这表明结构域 II 在体内可能是降解信号^[17, 20, 21]。结构域 II 突变会提高基因表达的抑制作用, 但是结构域 I 和 III 突变只能部分减轻这种抑制^[22]。这些说明结构域 II 在调控生长素信号转导中起关键性的作用。

瞬时表达研究的结果表明 Aux/IAAs 能抑制 AuxRE 介导的报告基因表达^[23]。最近, Tian 等^[13]报道, *Shy2/IAA3* 能影响许多业已鉴定的生长素诱导基因如 *Aux/IAA*、*SAUR*、*GH3*、*ACS* 等的表达, 也能影响原来并不知道的生长素响应基因如 *HAT2*、锌指蛋白(zinc finger protein)基因、*ARF19*、细胞色素 P450 和羽扁豆醇合成酶(lupeol synthase)等基因的表达。*Shy2/IAA3* 还能负调控自身的表达。当 *Aux/IAAs* 基因融合形成异源的 DNA 结合结构域时, 连续表达其报告基因并以生长素依赖和剂量依赖的方式抑制其转录。与非融合荧光素酶相比, 融合了 Aux/IAAs 结构域的荧光素酶活性低; 在转染的原生质体中, 有生长素存在时活性进一步降低。结构域 II 突变能提高融合蛋白荧光素酶活性, 但结构域 I 突变却削弱融合

蛋白荧光素酶的活性^[22]。到目前为止, 还没有证据说明 Aux/IAAs 能直接与 DNA 结合, 因此 Aux/IAAs 需与其它蛋白因子如 ARF 等结合方可调控基因表达。

2 生长素响应因子(ARFs)

ARF 家族也是一类核蛋白, 作用是转录因子。在拟南芥中至少已分离到了 23 个 *ARF* 基因^[13]。一些 *ARFs*(如 *ARF5*、*ARF6*、*ARF7*、*ARF8*) 是转录抑制子; 其它(但不是所有的)如 *ARF1* 能活化基因的表达, 造成这种差异的原因可能是不同 *ARFs* 具有不同的结构所致。与 Aux/IAAs 相似, *ARFs* 也含有 4 个保守的结构域, 分别称为 N 末端 DNA 结合结构域(DBD)、中间区域(MR)、结构域 III 和 IV(两者合称为 C 末端二聚化结构域 CTD)(图1)。不同结构域具有不同的功能, DBD 能直接与生长素调控基因启动子的 AuxREs 结合, 但是 DBD 不能决定其调控特性。当 ARF DBD 为芽殖酵母 *GAL4* 基因 DNA 结合结构域取代时, AuxREs- 报告基因融合蛋白即可表达, 其结果与正常的 ARF 一样^[25]。另外, ARF DBD 不能有效地募集 ARFs 到其目标 DNA 位点^[26]。因此, 具有 AuxRE 启动子的生长素诱导性依赖于 ARFs 的中间区域和 C 末端区域。采用转染原生质体的方法得到的结果表明: *ARFs* 富含 Q 的 MRs 能起激活子的作用, 但其它的(并不是全部)ARFs 却抑制基因表达。当其作用于 *GAL4* DBD 报告基因时, ARF MR 即能单独作为激活或抑制区域起作用, 生长素并不影响

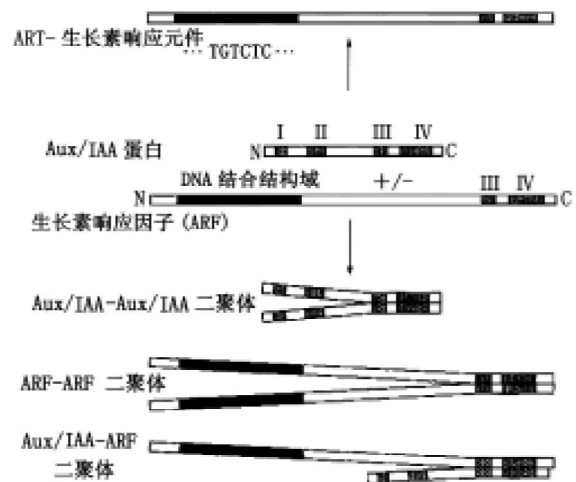


图1 Aux/IAAs和ARFs的结构域和二聚化^[24]

这个激活或抑制途径。ARF CTDs(连同富含Q的MR)对生长素的应答是必需的,无论是用ARF DBD还是GAL4 DBD与ARF CTDs和MR融合,结果都是如此。这些结果表明:生长素响应是通过ARFs的富含Q的MR和CTD介导的Aux/IAAs结合早期响应基因启动子实现的^[24,26]。在ARF和Aux/IAAs C末端的结构域III和IV都高度保守,CTD是介导Aux/IAAs和ARFs同源二聚化和异源二聚化的区域^[18],这种二聚化作用调节ARFs与AuxREs的结合和生长素响应基因的表达。

3 泛素介导的蛋白质降解途径组分(SCF系统)

泛素介导的蛋白质降解对细胞功能来说如同蛋白质的翻译后修饰一样重要。目标蛋白通过3个主要步骤加入泛素链后被26S蛋白酶选择性地降解^[27]。3个酶组成一个复合体使目标蛋白泛素化。E1为泛素活化酶,通过ATP使泛素活化;E2为泛素连接酶,借助E3(泛素蛋白连接酶)的辅助作用使活化的泛素转移到目标上。由于26S蛋白体的底物是至少具有4个泛素分子的蛋白质,所以泛素链的延伸还需另外一个酶E4(多泛素链装配因子)^[28,29]。目前认为介导底物识别的关键酶E3是SCF(Skp1、cullin/CDC53、F-box蛋白,一类真核生物中的泛素连接酶)^[30,31]。SCF复合体由一个cullin蛋白家族成员为核心外加至少4个蛋白亚基组成^[32](图2)。Skp1结合F-box蛋白,cullin蛋白再结合SKP1^[33]。F-box蛋白含有蛋白质与蛋白质相互作用的区域,能介导其与目标蛋白的结合,从而使目标蛋白与E2-SCF复合体靠近。在

RBX1(SCF复合体的一个亚基)存在时,cullin能与E2酶相互作用催化多泛素链的形成^[34]。

近年来,研究突变体的结果表明泛素化在生长素信号转导中起作用。*Tir1*突变体对抑制性的生长素浓度有强烈的抗性,并可抑制生长素的响应^[35]。*TIR1*编码一F-box蛋白。*TIR1*能与拟南芥类Skp蛋白如ASK1、ASK2相互作用,也能与cullin蛋白AtCUL1(拟南芥中的cullin相关蛋白,能互补酵母cdc53突变)相互作用^[31]。它们相互作用可形成一个有生物功能的SCF复合体(SCF^{TIR1})^[36,37]。*TIR1*及其同源物的C末端区含有富含亮氨酸的重复序列,这些重复与目标蛋白的识别和选择有关^[35,38]。*Ask1*突变体也可降低生长素响应,因此Skp蛋白也影响生长素调控的基因表达^[39]。最近发现了一个新的突变体*sirl*。它对一能激活大量生长素诱导基因表达和促进与生长素相关的小分子化合物Sirtinol具有抗性。*SIRI*编码一个具有类E1结构域和一个与脯氨基异构酶同源的硫氰化酶(rhodanese)结构域的蛋白质^[40]。另一个SCF亚基CUL1也已鉴定。CUL1对拟南芥整个生命周期的生长素信号转导都有作用。另外,CUL1在茎顶端分生组织及花芽分生组织的侧生器官起始形成过程中扮演重要角色。*Axr6*突变影响CUL1装配形成稳定的SCF复合体,从而减少SCF^{TIR1}的底物AXR2/IAA7的降解。这些结果表明:胚胎性*axr6*表型与SCF的功能缺失及BDL/IAA12的积累有关^[41]。以上结果表明泛素化显著调控生长素信号的转导。

4 生长素信号转导模型

ARFs、Aux/IAAs和SCF系统组分协调作用调控一些基因的表达,但是这些组分是怎样相互作用形成功能性信号中间体的呢?目前的研究结果倾向于负调控模型的假说,即Aux/IAAs蛋白以生长素依赖的方式通过泛素相关的蛋白降解机制被26S蛋白酶降解。当Aux/IAAs-Aux/IAAs以及Aux/IAAs-ARFs二聚体含量降低时,ARFs-ARFs水平升高,ARFs-ARFs结合在生长素调控基因启动子的生长素响应元件(AuxREs)上,从而调节一系列基因的表达,进而引导植物的正常生长和发育^[42]。

生长素能使目标蛋白Aux/IAAs泛素化并使其进一步降解,但是连接生长素和Aux/IAAs之间的

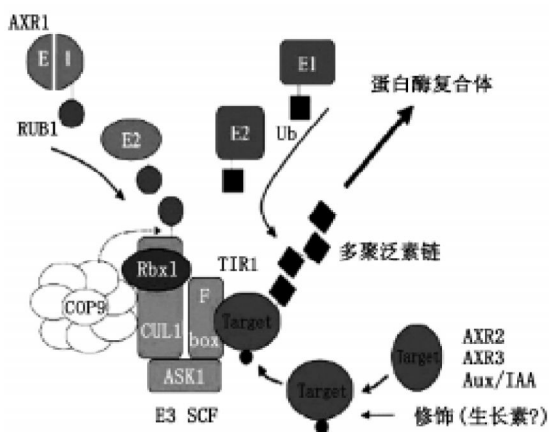


图2 SCF系统的功能^[6]

证据还不够清楚。一些研究表明细胞表面的生长素和载体能识别生长素信号并将其转移至细胞内。也有一些受体在胞内结合生长素。一些生长素转入/转出载体的结构类似于芽殖酵母的氨基酸转运子(Ssy1)和Glc转运子(Snf3和Rgt2)^[43~45]。由于Ssy1和Snf3/Rgt2传导信号需要SCF^{Grr1}(含有TIR1同源物Grr1的E3连接酶)的参与^[35, 46, 47]以及IAA与色氨酸有结构上的相似性, 所以这类特化的Ssy1和Snf3/Rgt2可能会在生长素和SCF之间起作用。一种生长素作用的抑制剂YKB(yokonolide B)能在SCF组分AXR和TIR的上游阻断Aux/IAAs的降解^[48]。这表明Aux/IAAs被降解的决定发生在Aux/IAAs与SCF^{TIR1}相互作用之前, 因此说明一定还有其它的因子连接生长素和SCF组分。另外一些研究表明SIR1能通过其单拷贝的类硫氧化酶结构域与拟南芥脯氨酸异构酶结合形成一种复合体。这种复合体能以一种生长素依赖的方式调控Aux/IAAs的关键性脯氨酸的构象, 并可将其这种构象变化作为一种信号通过SIR1的N末端区域的E1酶活性传递给蛋白质^[39]。Eta3影响Aux/IAAs的降解。Eta3突变能与tir1-1协同作用可以增强tir1的突变表型, 如根生长中受生长素的抑制性、侧根发育、高温下的下胚轴延长以及顶端优势等。ETA3

编码SGT1b。SGT1b参与植物疾病抗性的信号传导。大麦和马铃薯SGT1可与SCF泛素连接酶相互作用。这些现象均说明ETA3/SGT1b参与SCF^{TIR1}介导的Aux/IAAs降解。

根据上述, 可以认为存在一个生长素诱导基因表达的新的调控模型(图3)。先是生长素结合到特异性受体或载体上并将生长素信号传递给Aux/IAAs, 然后Aux/IAAs上的关键性脯氨酸残基发生构象变化, 这种改变通过E1或其它SCF系统组分影响SCF^{TIR1}后产生Aux/IAAs泛素化的信号进而使Aux/IAAs泛素化, 26S蛋白酶可识别和降解这种修饰的蛋白质。最后, 随着Aux/IAAs的降解和丰度的下降, Aux/IAA同源二聚体和异源二聚体以及Aux/IAA-ARF二聚体丰度减少, ARF-ARF二聚体增加, ARF-ARF二聚体结合生长素诱导基因的AuxREs元件并增强其转录。一些ARFs(如ARF5、ARF6、ARF7、ARF8等)在其MR区具有富含谷氨酰胺的序列将会激活基因转录, 不具有此序列的ARFs(如ARF1)可能起相反的作用^[25]。对Aux/IAAs而言, 同一Aux/IAAs(如SHY2/IAA3)既可抑制也可激活早期生长素响应基因的表达^[13, 50]。从这些结果可以看出, 随着Aux/IAAs以生长素依赖的方式被SCF系统降解, ARF-ARF二

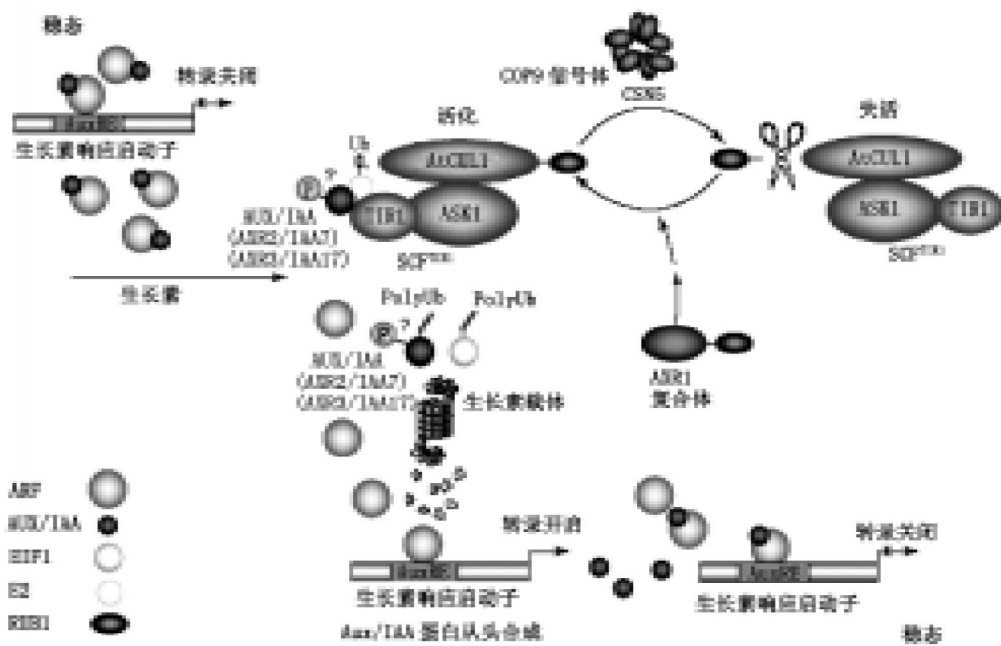


图3 生长素信号转导的新模型^[49]

聚体结合到 AuxREs 元件上调控基因的表达可能存在两种调控策略。(1)如果不同的基因能选择结合不同的 ARF-ARF 二聚体, 则生长素上调基因可结合富含谷氨酰氨序列的 ARF-ARF 二聚体; 而生长素下调基因则结合不具有富含谷氨酰氨序列的 ARF-ARF 二聚体。在细胞基态水平上 Aux/IAAs 与 ARFs 形成二聚体进而结合在上调基因上; 但在生长素下调基因的启动子上, 一些转录因子比 Aux/IAAs 二聚体具有更强结合 AuxREs 元件的能力, 因而生长素下调基因表达, 上调基因受到抑制。当生长素水平提高时, Aux/IAAs 即降解, 于是 ARF-ARF 二聚体能有效地结合到 AuxREs 元件上, 富含谷氨酰氨序列的 ARF-ARF 二聚体结合在上调基因的 AuxREs 元件上激活转录; 而不具有富含谷氨酰氨序列的 ARF-ARF 二聚体则结合到下调基因启动子上, 由于这种二聚体比转录因子对启动子具有更强的亲和力, 因而此类基因表达受抑。(2)如果 AuxREs 元件没有选择性结合 ARF-ARF 二聚体的能力, 必然还存在其它的机制。根据一些 Aux/IAAs 能抑制自身基因的转录^[13]和 Aux/IAAs 能够形成多聚体^[18]的特性, 某些生长素上调基因编码的蛋白质可能是作为抑制子抑制自身和其它上调基因转录的; 但生长素下调基因编码的蛋白质并不抑制自身及其它下调基因的表达。从基态水平上来说, Aux/IAAs 和 ARFs 形成多聚体 (Aux/IAAs 围绕 ARFs 形成多聚体使 ARF 失去结合 DNA 的能力), 这种多聚体不结合任何 AuxREs 元件, 因而不影响相关基因的表达, 这时的转录因子结合启动子启动特定基因表达 (上调基因受到抑制, 而下调基因被激活)。当生长素水平升高时, ARFs 核心暴露, ARF-ARF 二聚体以特定的方式影响转录因子, 进而激活上调基因并抑制下调基因。

5 展望

生长素信号转导的调控模型以及早期生长素响应蛋白在生长素信号转导中的作用可以解释大量的实验现象和结果, 但是生长素信号转导的很多细节和可能机制还不甚清楚, 仍需大量的工作来丰富和完善。生长素诱导的 Aux/IAAs 构象变化以及 SCF 系统识别这种变化的机制也不清楚。虽然 Aux/IAAs 二聚化或多聚化能阻断活化的 ARFs 和 ARF-ARF 二聚体的募集, 但需要多大的 Aux/IAAs/ARF-ARF 比例才能有效地抑制或激活特定细

胞的特定基因表达, ARFs 基因是如何被调控以及 ARFs 自身的代谢, 都需进一步研究。ARFs 和 Aux/IAAs 基因敲除和转录因子的分析, 可能更好地阐述生长素的信号转导机制; 另外, 继续分离、鉴定一些新的信号转导激活子和抑制子以及筛选和分离突变体, 将会进一步促进生长素信号转导的研究。

参考文献

- 1 Thimann KV. Hormone Action in the Whole Life of Plants. Amherst, MA: University of Massachusetts Press, 1997
- 2 Sachs T. Pattern formation in plant tissues. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1991
- 3 Davies PJ. Plant Hormone Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Acad Publ, 1995
- 4 Berleth T, Sachs T. Plant morphogenesis: Long-distance coordination and local patterning. *Curr Opin Plant Bio*, 2001, 4: 57~62
- 5 Guilfoyle TJ. Auxin-regulated genes and promoters. In: Hooykaas PJJ, Hall M, Libenga KL (eds). *Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones*. Leiden, the Netherlands: Elsevier, 1999. 423~459
- 6 Kepinski S, Leyser O. Ubiquitination and auxin signaling: a degrading story. *Plant Cell*, 2002, (supp): S81~S95
- 7 Abel S, Nguyen MD, Chow W et al. ASC4, a primary indoleacetic acid-responsive gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 1995, 270: 19093~19099
- 8 Franco AR, Gee MA, Guilfoyle TJ. Induction and superinduction of auxin-responsive mRNAs with auxin and protein synthesis inhibitors. *J Biol Chem*, 1990, 265: 15845~15849
- 9 Abel S, Nguyen MD, Theologis A. The Ps-IAA4/5-like family of early auxin-inducible messenger-RNAs in *Arabidopsis thaliana*. *J Mol Biol*, 1995, 251: 533~549
- 10 Roux C, Perrot-Rechenmann C. Isolation by differential display and characterization of a tobacco auxin-responsive cDNA *Nt-gh3*, related to *GH3*. *FEBS Lett*, 1997, 419: 131~136
- 11 Hsieh HL, Okamoto H, Wang M et al. *FIN219*, an auxin-regulated gene, defines a link between phytochrome A and the downstream regulator COP1 in light control of *Arabidopsis* development. *Genes Dev*, 2000, 14: 1958~1970
- 12 Hagen G, Guilfoyle T. Auxin-responsive gene expression: Genes, promoters, and regulatory factors. *Plant Mol Biol*, 2001, 15: 1985~1997
- 13 Tian Q, Uhlir NJ, Reed JW. *Arabidopsis* SHY2/IAA3 inhibits auxin-regulated gene expression. *Plant Cell*, 2002, 14: 301~319
- 14 Liu ZB, Ulmasov T, Shi X et al. Soybean GH3 promoter contains multiple auxin-inducible elements. *Plant Cell*, 1994, 6: 645~657
- 15 Reed J. Roles and activities of Aux/IAA proteins in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci*, 2001, 6: 420~425

- 16 Kim J, Harter K, Theologis A. Protein-protein interactions among the Aux/IAA proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 11786~11791
- 17 Ouellet F, Overvoorde PJ, Theologis A. IAA17/AXR3: Biochemical insight into an auxin mutant phenotype. *Plant Cell*, 2001, 13: 829~841
- 18 Abel S, Oeller PW, Theologis A. Early auxin induced genes encode short-lived nuclear proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 326~330
- 19 Morgan KE, Zarembinski TI, Theologis A et al. Biochemical characterization of recombinant polypeptides corresponding to the predicted beta alpha alpha fold in Aux/IAA proteins. *FEBS Lett*, 1999, 454: 283~287
- 20 Worley CK, Zenser N, Ramos J et al. Degradation of Aux/IAA proteins is essential for normal auxin signalling. *Plant J*, 2000, 21: 553~562
- 21 Ramos JA, Zenser N, Leyser O et al. Rapid degradation of auxin/indoleacetic acid proteins requires conserved amino acids of domain II and is proteasome dependent. *Plant Cell*, 2001, 13: 2349~2360
- 22 Tiwari SB, Wang X-J, Hagen G et al. AUX/IAA proteins are active repressors, and their stability and activity are modulated by auxin. *Plant Cell*, 2001, 13: 2809~2822
- 23 Ulmasov T, Murfett J, Hagen G et al. Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell*, 1997, 9: 1963~1971
- 24 Guilfoyle TJ. Aux/IAA proteins and auxin signal transduction. *Trends Plant Sci*, 1998, 3: 205~207
- 25 Ulmasov T, Hagen G, Guilfoyle TJ. Activation and repression of transcription by auxin-response factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 5844~5849
- 26 Tiwari SB, Hagen G, Guilfoyle T. The roles of auxin response factor domains in auxin-responsive transcription. *Plant Cell*, 2003, 15: 533~543
- 27 Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70: 503~533
- 28 Koegl M, Hoppe T, Schlenker S et al. A novel ubiquitination factor, E4, is involved in multiubiquitin chain assembly. *Cell*, 1999, 96: 635~644
- 29 Azevedo C, Santos-Rosa MJ, Shirasu K. The U-box protein family in plants. *Trends Plant Sci*, 2001, 6: 354~358
- 30 Xiao WY, Jang JC. F-box proteins in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci*, 2000, 5: 454~457
- 31 Shen W-H, Parmentier Y, Hellmann H et al. Null mutation of *AtCUL1* causes arrest in early embryogenesis in *Arabidopsis*. *Mol Cell Biol*, 2002, 22: 1916~1928
- 32 Mathias N, Johnson SL, Winey M et al. Cdc53p acts in concert with cdc4p and cdc34p to control the G(1)-to-S-phasetransition and identifies a conserved family of proteins. *Mol Cell Biol*, 1996, 16: 6634~6643
- 33 Patton EE, Willems AR, Tyers M. Combinatorial control in ubiquitin-dependent proteolysis: Don't Skp the F-box hypothesis. *Trends Genet*, 1998, 14: 236~243
- 34 Seol JH, Feldman RMR, Zachariae W et al. Cdc53/cullin and the essential Hrt1 RING2 subunit of SCF define a ubiquitin ligase module that activates the E2 enzyme Cdc34. *Genes Dev*, 1999, 13: 1614~1626
- 35 Ruegger M, Dewey E, Gray WM et al. The TIR1 protein of *Arabidopsis* functions in auxin response and is related to human SKP2 and yeast Grr1p. *Genes Dev*, 1998, 12: 198~207
- 36 Gray WM, del Pozo JC, Walker L et al. Identification of an SCF ubiquitin-ligase complex required for auxin response in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Dev*, 1999, 13: 1678~1691
- 37 Gray WM, Kepinski S, Rouse D et al. Auxin regulates SCFTIR1-dependent degradation of Aux/IAA proteins. *Nature*, 2001, 414: 271~276
- 38 Hsiung WG, Chang HC, Pellequer JL et al. F-box protein Grr1 interacts with phosphorylated targets via the cationic surface of its leucine-rich repeat. *Mol Cell Biol*, 2001, 21: 2506~2520
- 39 Zhao D, Yu Q, Chen M et al. The *ASK1* gene regulates B function gene expression in cooperation with *UFO* and *LEAFY* in *Arabidopsis*. *Development*, 2001, 128: 2735~2746
- 40 Zhao Y-D, Dai X-H, Blackwell HE et al. SIR1, an upstream component in auxin signaling identified by chemical genetics. *Science*, 2003, 301: 1107~1110
- 41 Hellmann H, Hobbie L, Chapman A et al. *Arabidopsis AXR6* encodes CUL1 implicating SCF E3 ligases in auxin regulation of embryogenesis. *EMBO J*, 2003, 22(13): 3314~3325
- 42 Hellmann H, Estelle M. Plant development: Regulation by protein degradation. *Science*, 2002, 297: 793~797
- 43 Didion T, Regenberg B, Jorgensen MU et al. The permease homologue Ssy1p controls the expression of amino acid and peptide transporter genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Microbiol*, 1998, 27: 643~650
- 44 Özcan S, Dover J, Johnston M. Glucose sensing and signaling by two glucose receptors in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J*, 1998, 17: 2566~2573
- 45 Iraqui I, Vissers S, Bernard F et al. Amino acid signaling in *Saccharomyces cerevisiae*: A permease-like sensor of external amino acids and F-box protein Grr1p are required for transcriptional induction of the *AGPI* gene, which encodes a broad-specificity amino acid permease. *Mol Cell Biol*, 1999, 19: 989~1001
- 46 Li F, Johnston M. Grr1 of *Saccharomyces cerevisiae* is connected to the ubiquitin proteolysis machinery through Skp1: Coupling glucose sensing to gene expression and cell cycle. *EMBO J*, 1997, 16: 101~110
- 47 Bernard F, Andre B. Ubiquitin and the SCF^{Grr1} ubiquitin ligase complex are involved in the signalling pathway activated by external amino acids in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett*, 2001, 496: 81~85
- 48 Hayashi K-I, Jones AM, Ogino K et al. Yokonolide B, a novel inhibitor of auxin action, blocks degradation of AUX/IAA factors. *J Biol Chem*, 2003, 278: 23797~23806
- 49 Frugis G, Chua N-H. Ubiquitin-mediated proteolysis in plant hormone signal transduction. *Trends Cell Biol*, 2002, 12: 308~311
- 50 Oono Y, Chen QG, Overvoorde PJ et al. *age* mutants of *Arabidopsis* exhibit altered auxin-regulated gene expression. *Plant Cell*, 1998, 10: 1649~1662