

植物泛素/26S蛋白酶体通路的生理功能和分子生物学

郭启芳 邹琦 王玮*

山东农业大学生命科学学院, 泰安 271018

Physiological Function of Plant Ubiquitin/26S Proteasome Pathway and Its Molecular Biology

GUO Qi-Fang, ZOU Qi, WANG Wei*

College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018

提要 介绍泛素/26S蛋白酶体通路的分子生物学研究最新进展, 并对其同源异形性及在植物激素信号、抗病和衰老、光形态建成、植物逆境信号转导中的功能进行了讨论。

关键词 泛素; 26S蛋白酶体; 生理功能; 分子生物学

蛋白质的产生和翻译后的修饰以及降解是植物生命周期中的一系列必不可少的过程。植物中至少含有1 500多种影响转录的因子^[1]; 翻译后过程对于调控蛋白质的定位、结合以及活性也是至关重要的。但是, 直到近几年人们才开始认识到蛋白质降解的重要性。在某些情况下, 蛋白质的降解与蛋白质的产生及其翻译后过程一样, 对植物的生理代谢和生长发育起调节作用^[2]。业已发现, 蛋白质的降解过程几乎涉及到植物生命活动的各个方面, 包括细胞周期、胚胎发育、光形态建成、昼夜节律、植物激素信号、同源异形性、抗病和衰老等。

泛肽(泛素, ubiquitin, Ub)是一个由76个氨基酸残基组成的非常保守的小蛋白, 由于它在生物体中存在的普遍性, 所以称为泛肽或者遍在蛋白。泛肽依赖的蛋白质降解途径(ubiquitin-dependent proteolytic pathway)是已知的最重要的、有高度选择性的蛋白质降解途径, 简称为Ub途径或泛素/26S蛋白酶体通路^[3]。泛素/26S蛋白酶体通路由Ub、E1(Ub活化酶)、E2(Ub结合酶)、E3(Ub-蛋白质连接酶)、DUB(Ub-C末端水解酶)和26S蛋白酶体组成。研究拟南芥基因组的结果表明, 仅编码泛素/26S蛋白酶体通路核心组分的基因就有1 300多种, 编码的蛋白质约占拟南芥总蛋白的5%^[4]。有关Ub/26S蛋白酶体途径的组成及蛋白质降解机制已经有不少报道^[5]。本文介绍这一系统的生理功能及其分子生物学研究的进展。

1 与Ub/26S蛋白酶体系统相关的基因

Ub基因是一个多基因家族, 而且都是以融合基因的形式存在。可分为两类: 一类称为多聚Ub基因(polyubiquitin genes), 另一类称为C末端延伸Ub基因(C-terminal extension genes)。多聚泛肽基因编码多个Ub重复单元, 构成一个Ub基因亚家族。多聚泛肽基因与协同进化有关, 一个多聚泛肽基因里Ub编码单元彼此之间的相似性比来自其它物种的(定向进化同源基因, orthologous gene)Ub编码单元同源性高。Nenoi等^[6]分析哺乳动物多聚泛肽基因的同源性时, 发现了存在同源定向进化(orthologous, 基因的同源性)与物种进化关系)关系的两组多聚泛肽基因。根据不同物种的多聚Ub基因座位同义替代几率的差别, 分析种间多聚Ub基因协同进化事件的频率时, 发现大鼠(rats)和中国仓鼠(Chinese hasters)的多聚Ub基因协同进化的频率比人、奶牛和绵羊中多聚Ub基因高。荷兰猪的多聚Ub基因处于中间, 小鼠(mouse)的协同进化频率比其它啮齿类动物显得更低。

F-box蛋白(含有F-box结构域的蛋白)家族是目前植物中发现的最大的一类蛋白质家族^[7], Ub/26S蛋白酶体系统中的很多成员属于这一蛋白家

收稿 2003-11-03 修定 2004-04-05

资助 国家重点基础研究发展规划项目(G1998010100)、山东省自然科学基金及山东农业大学博士后基金。

* 通讯作者(E-mail: wangw@sdau.edu.cn, Tel: 0538-8242656x 8234)。

族。编码这些蛋白的基因序列的进化, 似乎从局部的大量重复演变到序列分散^[8]。但同时也发现有几种拟南芥组分还是具有明显的序列多样性,

这意味着它们可能还有其它未知的作用^[7,9]。不同的F-box蛋白参与不同的生理活动, 如激素响应、花的同源异形、昼夜节律和病原体防御等(表1)。

表1 拟南芥中Ub/26S蛋白酶体通路中部分成员的相关基因及其功能

基因或突变体	蛋白类型	功能	文献
<i>UFO</i>	E3 (F-box)	花器官发育	10
<i>TIR1</i>	E3 (F-box)	生长素应答反应	11
<i>COL1</i>	E3 (F-box)	茉莉酸应答反应	12
<i>FKF1/ZTL/LKP2</i>	E3 (F-box)	生物钟	13, 14
<i>EID1</i>	E3 (F-box)	光形态建成	15
<i>ORE9/MAX2</i>	E3 (F-box)	衰老	16, 17
<i>SON1</i>	E3 (F-box)	病原反应	18
<i>SKP2;1</i>	E3 (F-box)	E2F 降解	19
<i>ASK1</i>	E3 (SKP)	生长素反应, 形态改变(如花及侧根减少等)	20
<i>CUL1</i>	E3 (Cullin)	胚胎发生	21
<i>RBX</i>	E3 (RBX)	生长素应答反应	22, 23
<i>SGT1</i>	E3 (SGT1-SCF)	病原反应	24~26
<i>COP10</i>	E2-like	光形态建成	27
<i>COP1</i>	E3 (Ring HC)	光形态建成	28
<i>CER3</i>	E3 (Ring HC)	蜡质合成	29
<i>PRT1</i>	E3 (Ring HC)	N 末端规则底物	30
<i>SIANT5</i>	E3 (Ring HC)	生长素应答反应	31
<i>UPL3</i>	E3 (HECT)	毛状体发育	32
<i>HOBBIT</i>	E3 (APC)	细胞周期	33
<i>RPN12a</i>	26S 蛋白酶体盖	细胞分离素应答反应	34
<i>RPN10</i>	26S	ABA 应答反应	35
<i>UBP1</i> 和 <i>2</i>	DUB	不正常蛋白的降解	9
<i>UBP14</i>	DUB	胚胎发生	36,37
<i>AXR1</i>	E1 RUB 活化酶	抗生长素, 降低株高, 减轻地上部休眠, 叶片起皱, 非正常开花, 减少侧根, 减弱生长素诱导的基因表达	38

ABA: 脱落酸; APC: [分裂]后期启动复合体; E2: 泛素结合酶; E3: 泛素-靶蛋白连接酶; HECT: E6-AP C-末端同源物(homology to E6-AP C-terminus); SCF: Skp、CDC53、F-box 蛋白复合体; Ring HC: Ring-finger 基序的一种; Ub: 泛素。

拟南芥Ub/26S蛋白酶体系统的复杂性特别体现在E3S(泛素-靶蛋白连接酶)中, 这些酶的主要作用是帮助选择那些需要泛肽化的蛋白质。至今为止, 根据亚基组成和作用机制, 可以把酵母和动物中的E3分为5种类型: HECT (homology to E6-AP C-terminus)、SCF(Skp、CDC53、F-box complex)、VBC-Cu12 (VCB-Cu12 complex)、Ring/U-box(含有Ring-finger 基序)和APC(anaphase-promoting complex)^[2]。通过寻找特征序列基序已从拟南芥中检测到了除VBC-Cu12 E3s外其它几种典型的E3s。表1中列出了部分已知的、与泛素/26S蛋白酶体系统有关的基因及其编码蛋白质的类型和功能, 从中可以了解这些蛋白的特点以及泛素/26S蛋白酶体蛋白降解系统的相关功能。据统计,

真核生物总蛋白的10%受Ub/26S蛋白酶体系统的调控, 拟南芥中大约有1 200种E3, 2 500种底物, 也就是说, 用近1 200种不同的E3组分泛肽化2 500种靶蛋白, 估计大多数靶蛋白都有它们特异的泛肽化级联系统, 每一条级联反应途径都可以作为一种特异的方法识别特殊的降解信号^[4]。

2 Ub/26S蛋白酶体的定位

Ingvarsdén和Veierskov^[39]用免疫组织化学定位的方法研究半日花(*Helianthus annuus* cv. Giganteus)分生组织、叶子、茎和根中的泛素及蛋白酶体的定位时, 发现泛素和蛋白酶体的细胞定位很相似。在根和茎的顶端分生组织、叶原基和维管组织中抗原信号最强。分析认为, 在根和

茎的分生组织及侧根原基中高表达量的原因,可能是由于泛素/26S蛋白酶体途径通过降解细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂,调控细胞周期中G₁/S的转换。而且,依赖细胞周期蛋白的激酶就定位在玉米和小萝卜的根中,与泛素和蛋白酶体的定位相似^[39]。形成层中的表达量低于顶端分生组织。插条在形成不定根的过程中,分生组织中泛素和蛋白酶体的抗原信号没有明显增加,但是随着器官发生的进程,抗原信号在正在发育的根中逐渐增强。这些研究进一步表明,泛素和蛋白酶体途径在植物器官发生和发育中发挥着重要作用。彭世清和陈守才^[40]发现橡胶树乳胶中的橡胶粒子膜上存在遍在蛋白,Northern blot分析表明,多聚泛肽基因在橡胶叶片、树皮和胶乳中都有表达,在胶乳中的表达量比树皮和叶片中的高。

3 Ub/26S蛋白酶体途径的生理功能

越来越多的遗传分析资料表明,Ub/26S蛋白酶体途径在植物生理过程中扮演着角色,如胚胎发育、激素响应、昼夜节律、花的同源异形性(homeosis)、光形态建成、细胞分化、衰老和病原防御等(表1)。突变体研究时发现,与该途径有关的基因的突变,会造成不同的生理过程受到阻遏。这些结果为人们进一步了解Ub/26S蛋白酶体系统的调控机制提供了线索。

3.1 Ub/26S蛋白酶体途径与植物激素 目前了解最深入的是Ub/26S蛋白酶体途径参与植物生长素诱导响应的过程。生长素可以指导短命的AUX/IAA(auxin/indole-3-acetic acid)蛋白家族的降解。这些蛋白质通过与Ub/26S蛋白酶体结合,并封闭转录因子中的ARF(auxin response factor)家族,起生长素响应抑制剂的作用。ARF家族可以上调生长素诱导基因的表达^[2]。有生长素时,含有TIR1 F-box蛋白的SCF复合体(SCF^{TIR1})通过识别AUX/IAA靶蛋白上的保守区域(domain II)引发AUX/IAA的降解^[11]。SCF^{TIR1}泛肽化AUX/IAA蛋白的位点可能发生在domain II上一个保守的赖氨酸上,但到目前还未在体内检测到这样的中间体。生长素是如何启动SCF^{TIR1}识别AUX/IAA蛋白的,目前还不清楚。一种可能是生长素诱导AUX/IAA蛋白质的修饰作用(如磷酸化),或者激素直接活化SCF^{TIR1}复合体。关于SCF^{TIR1}的活化问题,研究表明,

SCF^{TIR1}复合体的Cullin亚基(CUL1)翻译后可被第二种肽标签RUB(与泛素相关)所修饰^[41]。将RUB附件共价连接到CUL1的一个特异的赖氨酸上的一系列连接酶与Ub/26S蛋白酶体中的连接酶类似,但不完全相同。阻断RUB附件的拟南芥突变体会削弱生长素敏感性的事实表明,SCF^{TIR1}活性和随后的生长素响应都需要这种修饰^[41]。在TIR1下游,生长素刺激侧根产生的信号是通过转录因子NAC1转导的,位于核中的E3 SINAT5对这个蛋白起负调控作用^[31]。总之,生长素可能通过诱导一系列修饰作用,而最终影响生长素抑制剂和激活剂,也就是说,通过这种修饰作用适当上调和下调激素信号。

植物对ABA、细胞分裂素、赤霉素(GA)、乙烯和油菜素类固醇(BR)、茉莉酸、水杨酸的响应,可能都依赖于蛋白质降解。在拟南芥中,蛋白酶体亚基RPN12的丢失会导致细胞分裂素缺乏,这意味着细胞分裂素响应可能依赖于一种或更多种蛋白质的降解^[34]。Chen等^[42]用mRNA差异显示技术在水稻种子中发现一种受GA诱导的UBC基因,它与GA诱导的 α -淀粉酶基因的表达有关。就GA的作用来说,拟南芥中的RGA(repressor of gal³)蛋白是GA反应的抑制剂,用GA处理时RGA就会降解掉^[43]。RGA中的一个基序(即DELLA序列)的缺失则起稳定RGA的作用,并减弱GA响应^[44]。水稻中RGA的直系同源基因SLR1也是以依赖GA的方式降解^[45]。在马铃薯块茎中,乙烯可诱导Ub基因表达,ACC合成酶是个短寿命蛋白,它的降解是一个能量依赖过程,受蛋白磷酸化/脱磷酸化调节,Ub途径是否参与这一过程还不清楚^[46]。戴良英等^[47]用生物化学和分子生物学手段证明拟南芥中ASK1(apoptosis Skp1-like 1)和F-box蛋白COI1发生相互作用,并在植物体内形成复合体。这种复合体可能参与泛素介导的蛋白质降解途径,而ASK1可能与植物的雄性不育调控有关。用外源乙烯和茉莉酸对未开割橡胶树和开割橡胶树进行处理后,均可引起多聚泛素基因表达增强,未开割橡胶树比开割橡胶树反应灵敏^[40]。水杨酸强烈地诱导多聚泛肽基因在叶片中表达^[48]。

3.2 Ub/26S蛋白酶体途径与信号转导 植物细胞中的钙调素和光敏素都可与泛素结合。植物细胞中

Pfr型光敏素的量是严格控制的,一旦产生就会迅速被降解,而泛素/26S蛋白酶体途径介导Pfr的降解^[49]。BZR1和BES蛋白是与BR(油菜素内酯)信号相关的核蛋白,可以启动BR响应,BIN2蛋白是糖原合酶激酶3的类似激酶,具有BR响应负调节剂的功能。BR对BZR1和BES有两方面的影响:一方面可诱导二者的去磷酸化及积累。26S蛋白酶体抑制剂mg132也能加强BZR1的稳定性,这意味着BR可能阻止BZR1和BES依赖于蛋白酶体的降解。另一方面,BIN2磷酸化BZR1并阻止其积累,说明BR在某种程度上可以通过调节BZR1和BES的磷酸化状态而使它们稳定^[2]。干旱条件下UbEP蛋白增加,可能与ABA信号途径有关。

3.3 Ub/26S蛋白酶体途径与植物抗病 当有病原体侵入时,拟南芥抗性蛋白(RPM1)的半衰期即急剧下降,这一发现首次表明Ub/26S蛋白酶体途径参与病原体防御^[50]。RPM1在引起过敏反应(一种由病原体入侵引起的局部细胞死亡)中的这一作用表明,RPM1的诱导周转可以增加植物防御能力。在寻找与RAR1(由多种抗性基因触发的抗性信号所需的大麦蛋白^[24,25])相互作用的蛋白质以及在拟南芥中寻找可以取消R基因介导(R-gene-mediate)的防御突变体工作中^[53],有几个实验室都各自鉴定到酵母SGT1的植物直系同源基因(plant ortholog of yeast SGT1)。SGT1也是一种抗性蛋白介导的防御反应中的重要基因。酵母SGT1基因最初鉴定为着丝粒蛋白^[54],与SCF复合体的Skp和Cullin亚基有关,据推测它可以增强它们的活性。植物SGT1(也与SCF复合体相关联)对各种病原体的早期防御是必需的,这意味着它们参与不同抗性蛋白指导下的某个反应^[24,26,52]。最令人感兴趣的是,抗性蛋白是SGT1-SCF复合体的靶蛋白,亲和性的病原体侵入后引发SGT1-SCF复合体的连接和降解。Kim和Delaney^[18]的研究还发现,防御反应的其他步骤似乎也需要Ub/26S蛋白酶体途径。例如,最近鉴定出的一种与SON1 F-box蛋白相关的SCF复合体,对于下游更多的独立于系统信号之外的防御反应来说是一种重要的负调节基因。

3.4 Ub/26S蛋白酶体途径与光形态建成 泛素/26S蛋白酶体系统可以介导Pfr的降解^[49]。在光形态建成中,受光调节的多种调节物都是通过Ub/26S蛋白酶体途径去除的。众所周知,植物中phyA光

受体的水平在光照条件下急剧下降,这种下降是特异性远红光吸收型光敏素(Pfr-specific)泛肽化引发的,与降解信号有关^[53]。相反,光也会加强bZIP转录因子的HY5家族成员的稳定性,HY5家族成员负责光形态建成过程中所需的许多基因的光诱导上调表达^[28,54];暗中这些因子急剧降解,从而阻止光形态建成。这种降解需要一套结构光形态建成蛋白(constitutive photomorphogenesis, COP)。Schwechheimer等^[55]在遗传筛选中首次通过突变体鉴定出一种COP,发生这种突变的植物在暗中进行光形态建成。HY5的降解通过一种复合体(包括Ring E3 COP1和E2-like蛋白COP10)完成^[27]。光通过控制胞内COP1的定位和HY5的磷酸化状态抑制HY5降解^[56],暗中COP1可以自由地进入核中稳定其靶蛋白。

人们曾经推测Ub/26S蛋白酶体途径的选择性可能大部分来自泛肽化反应。但最近的遗传分析发现,26S蛋白酶体的19S调节亚单位(RP)在选择性中也起作用。影响拟南芥RP亚单位的突变体有一系列表型,每一种都与不同系列的靶蛋白的降解有关^[34,35]。例如,一个影响RPN12a的突变体,表现为细胞分裂素敏感度降低;而影响RPN10的突变体则表现为ABA过敏。rpn10-1突变体可以降解HY5和PhyA,但是却可以显著地稳定ABA响应调节因子ABI5,表明RPN10只能影响Ub/26S蛋白酶体底物的一个亚型(subset)^[35]。一个RP亚单位怎样区别不同的底物还不清楚,但RP亚基(如RPN10和RPN1)可以与穿梭蛋白(如RAD23、DSK、DSK2)发生特异响应,从而促进底物传输给26S蛋白酶体^[57]。

3.5 Ub/26S蛋白酶体途径与植物的环境胁迫抗性

蛋白降解的一个重要的、基本的功能是在细胞内环境维持中的作用。细胞内由于种种原因(如突变、瞬间变性及自由基引起的伤害等)经常产生各种异常的或受损的蛋白质。它们在诸如热激、干旱、高强度光、疾病、营养缺乏、重金属或氨基酸衍生物胁迫下会加速积累。这些异常蛋白如果在细胞内积累过多,定会影响细胞的各种代谢,从而破坏细胞结构和功能的完整性。虽然细胞内有一套完整的自由基防御和清除系统,可以减少自由基的伤害,在许多情况下,受损蛋白在各种分子伴侣的协助下可以得到一定程度的修复或重新

折叠^[35]。但是一旦异常蛋白积累过高, 蛋白降解就成了一种重要的解决方式。

O'Mahony等^[58]在墙藓(*Tortula ruralis*, 一种十分耐旱的植物, 其营养组织可以经受快速干燥)中发现3种Ub转录产物, 分子量分别为0.65、1.3和1.9 kb。1.3 kb转录产物在快速和缓慢干燥时积累增加, 但对复水时的表现则不同, 只有快速干燥的组织复水时才增加; 这与其它复水因子的转录产物相反, 它们只有缓慢干燥的组织复水时才会增加积累。快速失水的墙藓配子体复水时继续积累1.3 kb转录产物, 表明快速失水对墙藓的细胞伤害比逐渐失水严重, 因而需要更多的修复。墙藓在缓慢失水后复水时, 可诱导的Ub转录产物减少, 而Ub蛋白复合物在失水过程中则加倍。这暗示清除一些失水过程中的异常蛋白, 可有利于缓慢干燥组织的快速修复。由此可知, Ub是一种逆境响应蛋白, 它对植物失水的响应可能是一种普遍性的现象。关于泛素/26S蛋白酶体对高温、干旱、冷害、伤害、光辐射的效应已经有相关的报道^[59], 这里不再重述。

4 结语与展望

尽管我们对植物中Ub/26S蛋白酶体的认识已有了很大进展, 但仍有许多问题没有解决。E2s和E3s家族中只研究过少数成员, 因此要鉴定其功能还为时过早^[2]。另外, 鉴定靶蛋白及这些靶蛋白如何被识别也很重要。所有细胞内的短命蛋白质都是潜在的底物, 但至今为止只有一小部分得到证实。Ub/26S蛋白酶体系统在植物中的功能与作用机制还有大量的工作要做。根据目前的研究结果, 我们认为以下几个方面的问题值得深入探讨:

(1) Ub/26S蛋白酶体途径与植物激素作用的调控。众所周知, 生长素在促进植物生长方面有双重作用, 即低浓度促进生长, 而高浓度抑制生长^[60]。多年来, 植物生理教科书中对这一问题的解释是: 高浓度生长素可诱导乙烯的产生, 后者可抑制植物的生长。根据上述Ub/26S蛋白酶体途径与植物激素关系的结果, 我们是否可以推测, 高浓度生长素可能与Ub/26S蛋白酶体途径协同作用, 激活某些蛋白质(如转录抑制剂)或者阻断一些蛋白质(转录激活剂)编码基因的表达, 而这些

基因可能与乙烯合成有关。到底如何, 还未见报道。

(2) Ub/26S蛋白酶体途径与植物逆境信号转导。逆境条件下, 植物首先接收逆境信号, 然后通过一定的传递与转导途径将胞外信号转化为胞内信号, 最后通过蛋白质(如酶和转录因子)的磷酸化和去磷酸化作用启动生理反应和基因表达^[61], 这就是植物的逆境信号转导途径。逆境诱导产生的蛋白(逆境蛋白)往往是小分子蛋白, 同时也是短命蛋白^[62]。一旦信号转导过程结束, 这些蛋白质的任务即宣告完成, 这些蛋白质的去向如何? 它们是否参与Ub/26S蛋白酶体途径而被降解? 这一过程应该非常迅速, 一般来说信号终止比信号接收反应更迅速, 否则信号一旦启动不能及时终止, 植物的生长发育过程将会变得无法控制。逆境信号在启动逆境蛋白的合成后, 是否随后或者同时启动了这些蛋白质的降解系统? 我们认为, 研究逆境信号分子的清除与这些分子的产生过程同样重要。最近, 我们从小麦中克隆了一个泛素基因, 初步研究发现, 逆境诱导该基因的转录表达。逆境诱导泛素基因表达的信号途径还未见报道。

(3) Ub/26S蛋白酶体途径与转录调控和蛋白激酶系统之间的关系。植物基因转录调控的研究已积累了不少资料^[1]。蛋白激酶的研究工作近年来也不断增多^[63]。相比之下, 蛋白质降解途径的研究就显得非常薄弱。基因转录调控系统、蛋白激酶级联系统、Ub/26S蛋白酶体蛋白降解途径三者之间的关系如何协调, 也是今后应该研究的一个方面。

(4) 特异Ub/26S蛋白酶体途径相关基因的克隆与调控。拟南芥基因组研究的结果已经明确, 参与Ub/26S蛋白酶体途径核心组分的蛋白约占体内总蛋白量的5%, 这些蛋白质由1 300多个基因编码^[4]。拟南芥基因组比一般作物的基因组(如小麦、玉米、大麦等)小得多, 可以想象, 在作物中, 参与蛋白质降解途径的基因要多出很多倍。但到目前为止, 作物中Ub/26S蛋白酶体途径基因的克隆与研究依然很少, 有待开展。

参考文献

- 1 Riechmann JL, Heard J, Martin G et al. *Arabidopsis* tran-

- scription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 2000, 290: 2105~2110
- 2 Hellmann H, Estelle M. Plant development: regulation by protein degradation. *Science*, 2002, 297:793~797
- 3 王高鸿, 黄久常. 蛋白质的选择性降解. *生命科学*, 1999, 11: 24~30
- 4 Vierstra R. The ubiquitin/26S proteasome pathway, the complex last chapter in the life of many plant proteins. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 135~142
- 5 Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Ann Rev Biochem*, 1998, 67: 425~479
- 6 Nenoï M, Ichimura S, Mita K. Interspecific comparison in the frequency of concerted evolution at the polyubiquitin gene locus. *J Mol Evol*, 2000, 51:161~165
- 7 Gagne JM, Downes BP, Shiu SH et al. The F-box subunit of the SCF E3 complex is encoded by a diverse superfamily of genes in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 11519~11524
- 8 Initiative AG. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 2000, 408: 796~815
- 9 Yan N, Doelling J, Falbel T et al. The ubiquitin specific protease family from *Arabidopsis*. AtUBP1 and 2 are required for the resistance to the amino acid analog canavanine. *Plant Physiol*, 2000, 124:1828~1843
- 10 Samach A, Klenz JE, Kohalmi SE et al. The UNUSUAL FLORAL ORGANS gene of *Arabidopsis thaliana* is an F-box protein required for normal patterning and growth in the floral meristem. *Plant J*, 1999, 20: 433~445
- 11 Gray WM, Kepinski S, Rouse D et al. Auxin regulates SCFTIR1-development degradation of AUX/IAA proteins. *Nature*, 2001, 414:271~276
- 12 Xu L, Liu F, Lechner E et al. The SCF(CO11) ubiquitin-ligase complexes are required for jasmonate response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2002, 14:1919~1935
- 13 Somers DE, Schultz TF, Milnamow M et al. ZEITLUPE encodes a novel clock-associated PAS protein from *Arabidopsis*. *Cell*, 2000, 14:319~329
- 14 Nelson DC, Lasswell J, Rogg LE et al. *FKF1*, a clock-controlled gene that regulates the transition to flowering in *Arabidopsis*. *Cell*, 2000, 101:331~340
- 15 Dieterle M, Zhou YC, Schafer E et al. EID1, an F-box protein involved in phytochrome A-specific light signaling. *Genes Dev*, 2001, 15:939~944
- 16 Woo HR, Chung KM, Park JH et al. ORE9, an F-box protein that regulates leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2001, 13: 1779~1790
- 17 Stirnberg P, van De Sande K, Leyser HM. MAX1 and MAX2 control shoot lateral branching in *Arabidopsis*. *Development*, 2002, 129: 1131~1141
- 18 Kim HS, Delaney TP. *Arabidopsis* SON1 is an F-box protein that regulates a novel induced defense independent of both salicylic acid resistance. *Plant Cell*, 2002, 14:1469~1482
- 19 del Pozo JC, Boniotti MB, Gutierrez C. *Arabidopsis* E2Fc functions in cell division and is degraded by the ubiquitin-SCF^{SKP2} pathway in response to light. *Plant Cell*, 2002, 14: 3057~3071
- 20 Yang M, Nadeau JA, Zhao L et al. The *Arabidopsis* SKP1-LIKE1 gene is essential for male meiosis and may control homologue separation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 11416~11421
- 21 Shen WH, Parmentier Y, Hellmann H et al. Null mutation of AtCUL1 causes arrest in early embryogenesis in *Arabidopsis*. *Mol Biol Cell*, 2002, 13: 1916~1928
- 22 Gray WM, Hellmann H, Dharmasiri S et al. Role of the *Arabidopsis* RING-H2 protein RBX1 in RUB modification and SCF function. *Plant Cell*, 2002, 14: 2137~2144
- 23 Lechner E, Xie D, Grava S et al. The AtRBX1 protein is part of plant SCF complexes and its down-regulation causes severe growth and developmental defects. *J Biol Chem*, 2002, 277: 50069~50080
- 24 Austin MJ, Muskett P, Kahn K et al. Regulatory role of SGT1 in early *R* gene-mediated plant defenses. *Science*, 2002, 295:2077~2080
- 25 Azevedo C, Sadanandom A, Kitagawa K et al. The RAR1 interactor SGT1, an essential component of *R* gene-triggered disease resistance. *Science*, 2002, 295: 2073~2076
- 26 Tör M, Gordon P, Cuzick A et al. *Arabidopsis* SGT1b is required for defense signaling conferred by several downy mildew resistance genes. *Plant Cell*, 2002, 14:993~1003
- 27 Suzuki G, Yanagawa Y, Kwok SF et al. *Arabidopsis* COP10 is a ubiquitin-conjugating enzyme variant that acts together with COP1 and the COP9 signalosome in repressing photomorphogenesis. *Genes Dev*, 2002, 16: 554~559
- 28 Osterlund MT, Hardtke CS, Wei N et al. Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of *Arabidopsis*. *Nature*, 2000, 405: 462~466
- 29 Hannoufa A, Negruk V, Eisner G et al. The CER3 gene of *Arabidopsis thaliana* is expressed in leaves stems, roots, flowers and apical meristems. *Plant J*, 1996, 10: 459~467
- 30 Potuschak T, Stary S, Schlögelhofer P et al. PRT1 of *Arabidopsis thaliana* encodes a component of the plant N-end rule pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 7904~7908
- 31 Xie Q, Guo HS, Dallman G et al. SINAT5 promotes ubiquitin-related degradation of NAC1 to attenuate auxin signals. *Nature*, 2002, 419:167~170
- 32 Downes BP, Stupar RM, Gingerich DJ et al. The HECT ubiquitin-protein ligase (UPL) family in *Arabidopsis*: UPL3 has a specific role in trichome development. *Plant J*, 2003, 35: 729~742
- 33 Blilou I, Frugier F, Folmer S et al. The *Arabidopsis* *HOBBIT* gene encodes a CDC27 homolog that links the plant cell cycle

- to progression of cell differentiation. *Genes Dev*, 2002, 16: 2566~2575
- 34 Smalle J, Kurepa J, Yang P et al. Cytokinin growth responses in *Arabidopsis* involve the 26S proteasome subunit RPN12. *Plant Cell*, 2002, 14: 17~32
- 35 Smalle J, Kurepa J, Yang P et al. The pleiotropic role of the 26S proteasome subunit RPN10 in *Arabidopsis* growth and development supports a substrate-specific function in abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 2003, 15:965~980
- 36 Doelling JH, Yan N, Kurepa J et al. The ubiquitin-specific protease UBP14 is essential for early embryo development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2001, 27: 393~405
- 37 Tzafrir I, McElver JA, Liu CM et al. Diversity of TITAN functions in *Arabidopsis* seed development. *Plant Physiol*, 2002, 128, 38~51
- 38 Timpte C, Lincoln C, Pickett FB et al. The *AXR1* and *AUX1* genes of *Arabidopsis* function in separate auxin-response pathways. *Plant J*, 1995, 8:561~569
- 39 Ingvarsdson C, Veierskov B. Immunohistochemical localization of ubiquitin and the proteasome in sunflower (*Helianthus annuus* cv. Giganteus). *Planta*, 2001, 213:333~341
- 40 彭世清, 陈守才. 巴西橡胶树多聚遍在蛋白基因的表达分析. *热带作物学报*, 2002, 23(3):32~35
- 41 del Pozo JC, Dharmasiri S, Hellmann H et al. AXR1-ECR1-dependent conjugation of RUB1 to the *Arabidopsis* Cullin AtCUL1 is required for auxin response. *Plant Cell*, 2002, 14: 421~433
- 42 Chen XF, Wang BY, Wu R. A gibberellin-stimulated ubiquitin-conjugating enzyme gene is involved in α -amylase gene expression in rice aleurone. *Plant Mol Biol*, 29:787~795
- 43 Silverstone A, Jung H, Dill A et al. Repressing a repressor gibberellin-induced rapid reduction of the RGA protein in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2001, 13:1555~1566
- 44 Dill A, Jung HS, Sun TP. The DELLA motif is essential for gibberellin-induced degradation of RGA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 14162~14167
- 45 Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sato Y et al. The gibberellin signaling pathway is regulated by the appearance and disappearance of SLENDER RICE1 in nuclei. *Plant Cell*, 2002, 14:57~70
- 46 Vierstra RD. Proteolysis in plants: Mechanisms and functions. *Plant Mol Biol*, 1996, 132:275~302
- 47 戴良英, 徐领会, 黄大昉等. 拟南芥 ASK1 与 COI1 形成蛋白复合体并控制雄性不育. *中国科学(C辑)*, 2002, 32(5): 399~404
- 48 柴团耀, 张玉秀. 菜豆多聚泛肽基因在重金属胁迫下的表达. *植物学报*, 1999, 41(10):1053~1057
- 49 董发才, 宋纯鹏. 植物细胞中的泛素及其生理功能. *植物生理学通讯*, 1999, 35(1): 54~59
- 50 Boyes DC, Nam J, Dangl JL. The *Arabidopsis thaliana* RPM1 disease resistance gene product is a peripheral plasma membrane protein that is degraded coincident with the hypersensitive response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 15849~15854
- 51 Kitagawa K, Skowrya D, Elledge SJ et al. SGT1 encodes an essential component of the yeast kinetochore assembly pathway and a novel subunit of the SCF ubiquitin ligase complex. *Mol Cell*, 1999, 4:21~33
- 52 Peart JR, Lu R, Sadanandom A et al. Ubiquitin ligase-associated protein SGT1 is required for host and nonhost disease resistance in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 10865~10869
- 53 Clough RC, Jordan-Beebe ET, Lohman KN et al. Sequences within both the N- and C-terminal domains of phytochrome A are required for Pfr ubiquitination and degradation. *Plant J*, 1999, 17: 155~167
- 54 Holm M, Ma LG, Qu LJ et al. Two interacting bZIP proteins are direct targets of COP1-mediated control of light-dependent gene expression in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 2002, 16: 1247~1259
- 55 Schwecheimer C, Deng XW. COP9 signalosome revisited: a novel mediator of protein degradation. *Trends Cell Biol*, 2001, 11:420~426
- 56 Hardtke CS, Gohda K, Osterlund MT et al. HY5 stability and activity in *Arabidopsis* is regulated by phosphorylation in its COP1 binding domain. *EMBO J*, 2000, 19: 4997~5006
- 57 Gatenby AA, Viitanen PV. Structural and functional aspects of chaperonin-mediated protein folding. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1994, 45: 469~491
- 58 O'Mahony PJ, Oliver MJ. The involvement of ubiquitin in vegetative desiccation tolerance. *Plant Mol Biol*, 1999, 41: 657~667
- 59 侯学文, 郭勇. 泛素与植物逆境响应. *植物生理学通讯*, 1998, 34(6):474~478
- 60 Swarup R, Bennett M. Auxin transport: the fountain of life in plants? *Dev Cell*, 5: 824~826
- 61 Gonze D, Goldbeter A. A model for a network of phosphorylation-dephosphorylation cycles displaying the dynamics of dominoes and clocks. *J Theor Biol*, 2001, 210:167~186
- 62 Xiong L, Schumaker KS, Zhu JK. Cell signalling for cold, drought, and salt stresses. *Plant Cell*, 2002, 14, S165~S183
- 63 Cheng SH, Willmann MR, Chen HC et al. Calcium signaling through protein kinases. The *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase gene family. *Plant Physiol*, 2002, 129: 469~485