

耐旱相关基因*SiUPF3*的克隆表达及生物信息学分析

戴一明, 安利佳*, 李文利

大连理工大学生命科学与技术学院, 辽宁大连116024

摘要: Upf3蛋白参与一种保守的mRNA降解系统即无义介导衰变(nonsense-mediated decay, NMD)。它主要存在于真核细胞中参与降解异常的mRNA。本文通过比较‘晋谷34’正常生长和干旱胁迫下谷子表达谱基因相对表达量的变化幅度大小, 筛选得到一个响应干旱同时能够编码Upf3蛋白的基因, 经谷子基因组在线数据查询并比对得到全长基因Si009903m的编码序列(coding sequence, CDS), 克隆该基因的CDS并命名为*SiUPF3*。*SiUPF3*长1 515 bp, 编码504个氨基酸。经实时定量PCR分析表明*SiUPF3*受ABA途径调控, 并且在干旱胁迫下显著上调。

关键词: *SiUPF3*; 谷子; 耐旱基因; ABA途径; 实时定量PCR

Expression and Bioinformatics Analysis and Cloning of the Drought-Resistant Gene *SiUPF3* in *Setaria italica*

DAI Yi-Ming, AN Li-Jia*, LI Wen-Li

School of Life Science & Biotechnology, Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning 116024, China

Abstract: Upf3 protein is one of the most important factors in the mRNA surveillance process. This process is a conservative mRNA degradation system which is mainly involved in the degradation of abnormal mRNA in eukaryotic cells. To study drought-tolerant genes, we compared the expression of ‘Jingu34’ under drought condition and normal one and filtrated drought-tolerant genes in the level of transcription. In this paper, we got the full length gene which is numbered Si009903m through searching the sequence within online *Setaria italica* genome data. Finally we cloned the coding sequence (CDS) of Si009903m and named it *SiUPF3* for the Upf3 protein it encoded. The CDS of Si009903m is 1 515 bp and encodes 504 amino acids. Quantitative RT-PCR analysis inferred that *SiUPF3* is regulated by ABA signal network and significantly upregulated under drought.

Key words: *SiUPF3*; *Setaria italica*; drought-tolerant genes; ABA pathway; quantitative RT-PCR

干旱作为主要的非生物胁迫因子之一严重影响着我国粮食产量。我国干旱半干旱地区占全国总面积的三分之一以上, 包括新疆、青海、甘肃、宁夏全境和陕西秦岭以北、内蒙古西部以及山西西部地区, 粮食种植直接受干旱制约和影响。谷子起源于我国黄河流域, 是一种常见的禾本科作物, 在我国北方干旱半干旱地区广泛种植。研究发现, 谷子属C₄代谢途径, 具有耐旱、抗病、抗倒伏等优良性状, 这与其基因组中含有的相关基因密不可分。随着2013年6月谷子的全基因组测序结果公布, 谷子中抗生物和非生物胁迫基因的挖掘工作全面展开(李国营等2008)。近几年, 陆续有研究表明谷子中存在响应干旱、高盐、低温等非生物胁迫的相关基因, *CBL* (赵晋锋等2013)、*GAPDH* (崔润丽等2009)和*SiFBX* (尹恒等2014)等耐旱相关基因相继被挖掘并进行了功能验证。

‘晋谷34’ (‘晋遗85-2’)是由山西省农科院遗传所选育的新品种, 具有较强的耐旱特性。为了筛选得到新的耐旱相关基因, 我们通过比较‘晋谷34’正常生长和干旱胁迫下表达谱数据中基因响应幅度差异, 在谷子转录组数据库中筛选出一个响应干旱的基因, 其编号为Unigene28220_DLYHJG34T。已证实该基因为谷子基因组中Si009903m基因CDS, 长1 515 bp, 编码谷子中的Upf3蛋白, 我们命名为*SiUPF3*。

研究显示, Upf3蛋白参与一种保守的mRNA降解途径, 该过程途径通常称为无义介导衰变(nonsense-mediated decay, NMD)。NMD途径主要

收稿 2015-01-28 修订 2015-03-09

资助 辽宁省科技厅农业攻关项目(2011208001)。

* 通讯作者(E-mail: bioeng@dlut.edu.cn; Tel: 0411-84706365)。

用于降解含有使翻译提前终止的密码子即无义密码子(premature termination codons, PTC)的mRNA。值得注意的是,在NMD途径中,由Upf3、Y14和RNPS1等作用因子组成的外显子连接复合体(exon-junction complex, EJC)能识别并结合到PTC位点上从而完成靶mRNA的识别(Kim等2001),Upf3蛋白在其中发挥重要作用。已有文献报道人体内Upf3蛋白作为穿梭蛋白参与NMD途径(Maquat和Serin 2001),相对于人、动物和酵母(Garre等2013)等Upf3蛋白的研究,对植物中Upf3蛋白生理功能尤其是抗生物和非生物胁迫的研究寥寥无几。但目前已有文献总结并得出结论: NMD途径是在植物中发现的3种主要mRNA降解途径之一(梁文星2012)。最新研究显示,Upf3作为NMD途径主要的参与者之一,在拟南芥抗生物和非生物胁迫方面发挥着重要作用(Shi等2012; Jeong等2011; Hori和Watanabe 2005)。脱落酸(abscisic acid, ABA)作为参与植物非生物胁迫调节最重要的激素之一能够诱导和调控*ABRE*、*DREB*和*F-box*等数十个耐旱相关基因的表达(吴耀荣和谢旗2006)。为了验证*Si-UPF3*的耐旱相关性,我们将PEG模拟干旱条件和ABA诱导下*SiUPF3*的表达量作为指标来检测并分析该基因与耐旱和ABA途径(王立磊和倪燕婕2013)的相关程度。实验结果表明*SiUPF3*可能成为继*CBL*、*GAPDH*和*SiFBX*等基因后又一被挖掘得到的重要耐旱相关基因。

材料与amp;方法

1 实验材料与试剂

由山西省农业科学院作物遗传研究所提供实验材料谷子[*Setaria italic* (L.) Beauv.]品种‘晋谷34’的种子;植物总RNA柱式提取试剂盒和脱落酸购买自上海生工生物公司(SANGON);PrimerScript RT Master Mix (Perfect Real-time)试剂盒、SYBR@Premix Ex Taq TM II (Tli RNaseH Time)试剂盒、样品保护液(Sample Protector for DNA/RNA)以及基因克隆所需要的pMD19 T-Vector、LA Taq酶等购买自大连宝生物公司(TaKaRa);聚乙二醇6000购于国药集团化学试剂有限公司。

2 生物信息学分析

用ProParam (<http://espasy.org/tools/protparam.html>)分析*SiUPF3*蛋白的物理和化学性质。用

Compute pI/Mw tool (http://web.expasy.org/cgi-bin/compute_pi/pi_tool)预测蛋白等电点。用PSIPRED (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>)预测*SiUPF3*蛋白二级结构及功能区域。利用TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM>)分析*SiUPF3*的蛋白跨膜结构域。在CCD数据库中分析该蛋白的保守结构域并确定该基因所属的蛋白家族,基于检索结果利用ClustalW进行多重序列比对,再使用MEGA6构建N-J系统进化树。利用在线预测工具Softberry (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml>)预测*Si-UPF3*的启动子结构。

3 *SiUPF3*的克隆

从谷子表达谱差异表达数据库中筛选上调表达基因,获得编码Upf3蛋白的基因Unigene28220_DLYHJG34T,通过在线谷子基因组数据库检索和序列比对证实该基因为Si009903m基因的CDS。将3~4叶期的谷子根部浸于含有20% PEG的1/2 Hoagland溶液中水培,取处理2 h谷子叶片添加保护液于-20 °C下保存。用植物总RNA柱式提取试剂盒提取样品RNA后反转录成cDNA作为基因克隆的模板。设计引物*SiUPF3-F*和*SiUPF3-R*(表1),添加*BamHI/SacI*酶切位点。再以上述引物进行PCR扩增目的基因片段,并对其进行测序(宝生物)。

4 植物材料的胁迫处理、RNA提取和Real-time PCR分析

将谷子种子播于苗床,控制适宜培养条件(温度25 °C,湿度70%)。取3~4叶期、长势大小一致的谷子幼苗分别进行1/2Hoagland配制的20% PEG-6000溶液水培处理和ABA (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)叶片喷施处理(Hu等2011)。PEG和ABA处理均按照0、0.5、1.0、2.0、4.0和8.0 h取样回收,每处理每次取10株用于3次重复。回收材料置于5 mL离心管,加适量样品保护液于-20 °C下保存。

以谷子的*Actin*基因作为内参,设计引物*Siactin-FW*和*Siactin-RV*(表1)。同时利用实时定量引物在线设计网站PrimerQuest (<http://www.idtdna.com/Primerquest/Home/Index>)设计引物RT-*SiUPF3-F*和RT-*SiUPF3-R*(表1)。提取谷子幼苗RNA,反转录成cDNA。取总RNA 200 ng加入5 \times PrimerScript RT Master Mix (for Real-time) 2 μL ,

表1 *Si009903m*基因克隆、实时定量PCR及谷子*Actin*基因引物Table 1 Primers of *Actin* and *SiUPF3* for cloning in *S. italica*

引物名称	引物序列(5'→3')	用途	碱基/nt
SiUPF3-F	<u>GGATCC</u> ATGAAGGACCCGGCGCACCG	PCR	26
SiUPF3-R	<u>GAGCTC</u> TCAAGAGCCTGAACTTGACT	PCR	26
Siactin-FW	CAAGGCTAACAGGGAGAAGATG	RT-PCR	22
Siactin-RV	CACCAGAGTCCAACACGATAC	RT-PCR	21
RT-SiUPF3-F	GATGGCCGTGAAGGAACTATTA	RT-PCR	22
RT-SiUPF3-R	CAGATGCTCAGTAGGCTTTGA	RT-PCR	21

下划线部分为酶切位点。

补加RNase Free dH₂O至10 μL。于PCR仪(TaKaRa)设定42 °C 15 min; 65 °C 5 s; 4 °C合成cDNA。使用荧光定量试剂盒进行实时定量PCR, 反应体系如下: 2×SYBR Premix Ex Taq II 12.5 μL; 引物各1 μL; ddH₂O 8.5 μL; cDNA 2 μL。以谷子*Actin*基因作为内参基因, 采用两步法进行实时荧光定量PCR扩增。反应条件如下: 95 °C预变性30 s; 95 °C变性5 s, 61 °C延伸30 s, 40个循环。使用SDS软件分析实时定量PCR结果。

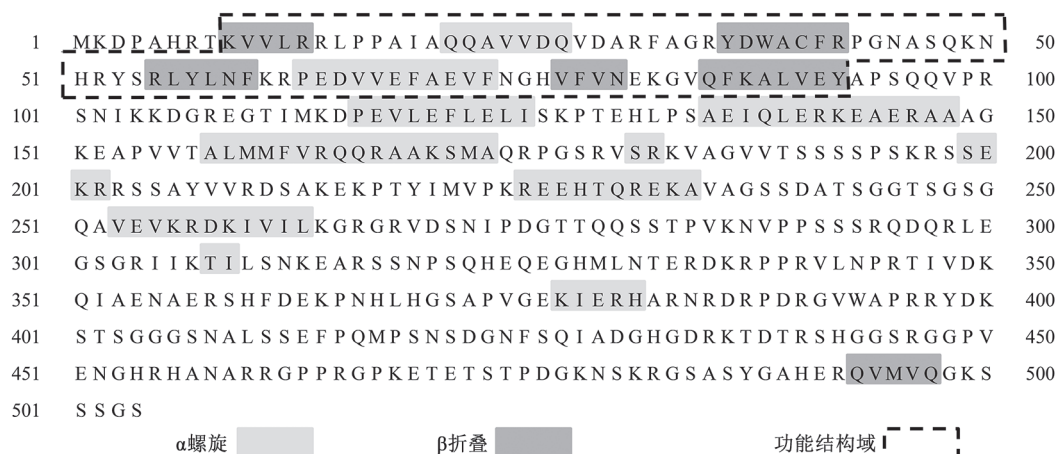
实验结果

1 *SiUPF3*基因的生物信息学分析

*SiUPF3*长1 515 bp, 编码504个氨基酸, 分子量55.69 kDa。用在线工具Compute pI/Mw tool预测该蛋白等电点为10.11。利用TMpred和TMHMM对该蛋白进行跨膜结构分析, 结果表明无跨膜结构。

用PSIPRED预测*SiUPF3*蛋白二级结构, 结果显示在氨基酸9~92区段交替出现alpha helix和beta sheet二级结构(即连续的两个βαβ结构), 这恰好是Upf3蛋白结合mRNA的重要结构(图1)。在KEGG上检索Upf3参与的代谢通路发现Upf3与Upf1、Upf2以复合体的形式参与了RNA转运和RNA监视信号通路。在NCBI的Protein项中检索获得18个禾本科Upf3蛋白检索结果并与*SiUPF3*编码的Upf3蛋白氨基酸序列录入生物信息学软件Bioedit, 通过MEGA6绘制其NJ进化树(重复1 000次)(图2)。

该进化树由上到下依次为水稻、玉米、高粱、谷子、短柄草和大麦等禾本科植物。其中, 高粱的子树中的Hypothetical protein与*SiUPF3*在各自子树中的位置类似。编码序列比对发现两种蛋白100%同源, 说明Upf3蛋白在高粱和谷子中高度保守。NCBI的CCD数据库显示*SiUPF3*蛋白所属的蛋白家族和超家族分别为Smg-4/UPF3和RNA识别

图1 *SiUPF3*二级结构示意图Fig.1 The secondary structure of *SiUPF3*

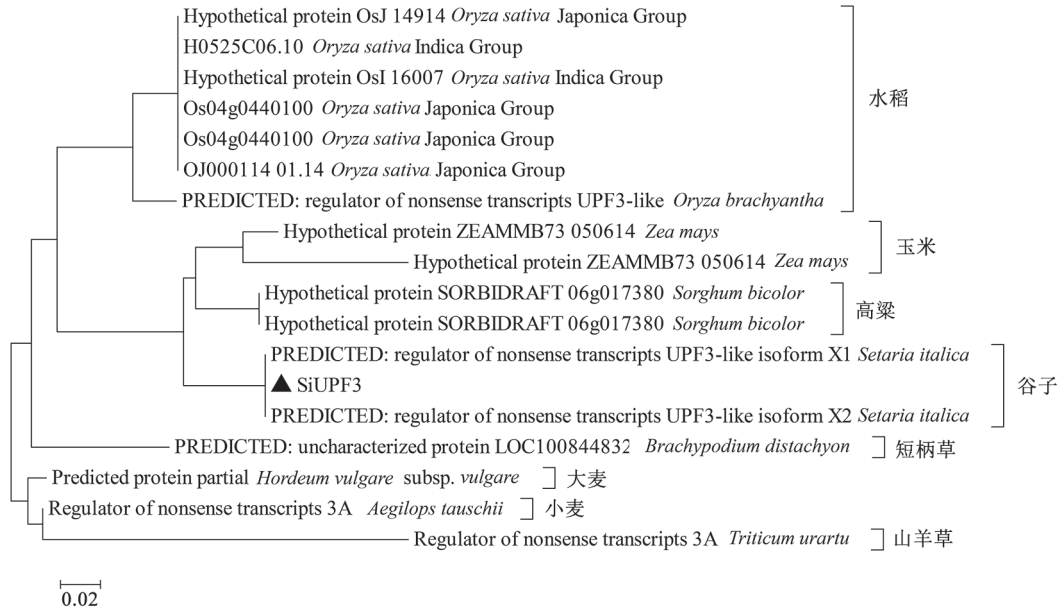


图2 禾本科植物Upf3蛋白NJ系统进化树
Fig.2 The Neighbor-Joining tree of the Upf3 proteins from Poaceae

基序(recognition motif, RRM)。此外,通过CD-search进行Blastp我们得到8个符合条件的蛋白(图3)。

这8个蛋白分别来自于酵母、真菌、人和植物,所有的保守结构域皆位于N端1~170氨基酸以内,而且在6~75的氨基酸序列区段有高度的CD重叠。而第一个检索到的蛋白中也出现了alpha-beta plait功能基序,再次验证了之前的蛋白质二级结构预测。

为了进一步描述SiUPF3在谷子基因组中的准确位置和基因结构,将SiUPF3序列与谷子基因组在线数据库比对(<http://www.phyto-zome.net/>)发现该基因位于谷子Scaffold_7区段的20 753 854~20 761 283位点,JBrowse预测显示该基因由12个外显子和11个内含子构成(图4-A)。以Si009903m基因的ATG为起点,截取其上游2 317 bp的核苷酸序列,利用Softberry在线预测该基因启动子的结构(图

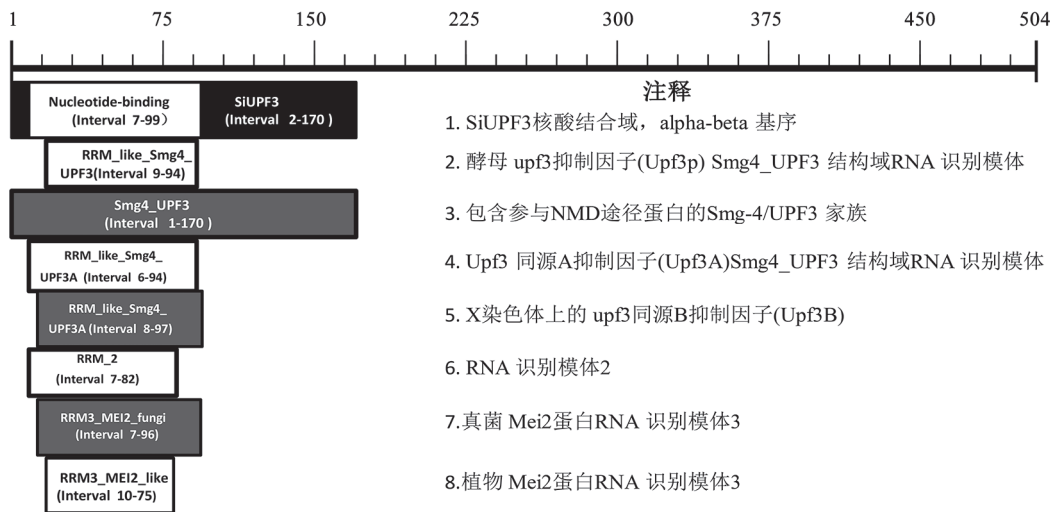


图3 SiUPF3的CD-search保守结构域分析结果
Fig.3 CD-Search results and analysis of SiUPF3

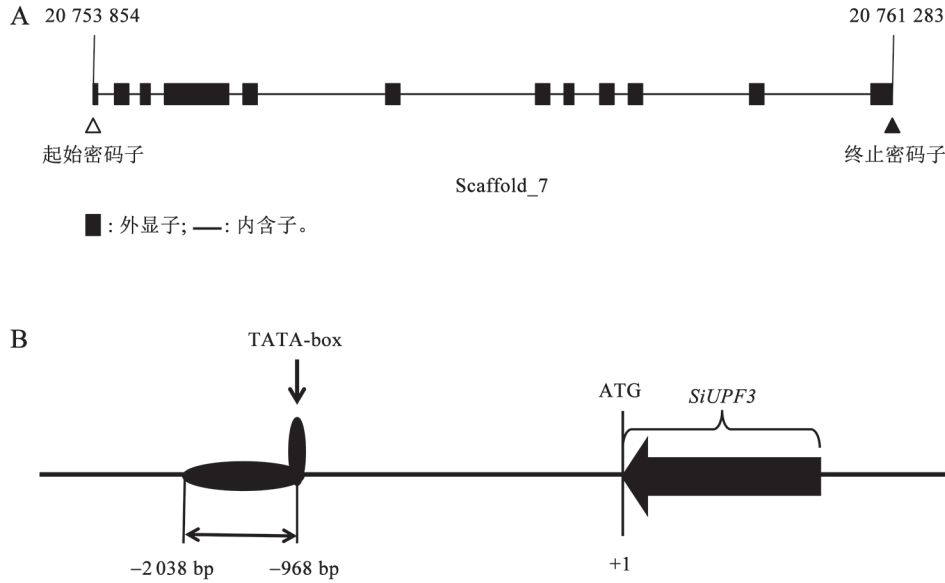


图4 *SiUPF3*在谷子基因组上的位置、结构(A)及启动子结构(B)
Fig.4 Location, structure (A) and promoter (B) of *SiUPF3* in the *S. italica* genome

4-B)。结果显示在该基因TATA-box区位于上游968 bp处。在上游968 bp至2 038 bp这一区段发现光照、干旱、细胞周期和激素等多种与非生物胁迫相关的顺式作用元件(郭晓芳和严海燕2005; Hu等2004; 胡帅等2012; 关秋玲等2009; 胡一兵等2011; Reidt等2000; 郑晓瑜等2011; 崔国新等2010)(表2)。

表2 *SiUPF3*基因上游调控区胁迫相关的启动子元件
Table 2 Stress-regulated element in upstream regions of *SiUPF3* gene

功能	启动子元件
光照响应	GT-box; AT-rich box3; Dof1
干旱响应	DRE/CRT (干旱响应元件和C重复元件)
细胞周期响应	CHR (细胞周期同源域)
激素响应	ABRE (ABA响应元件); Pyr-box
组织特异	RY repeat; AtMYB77; RAV1

2 *SiUPF3*的克隆

*SiUPF3*基因的PCR结果显示: 1号泳道在1 000~2 000 bp Marker之间出现*SiUPF3*特异性扩增条带(1 515 bp)。经全长测序证明该片段序列与在线谷子基因组数据库参考序列一致, 无碱基突变。

3 PEG和ABA分别处理的谷子幼苗中*SiUPF3*基因表达量的RT-PCR分析

取20% PEG和100 $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ABA处理的材料

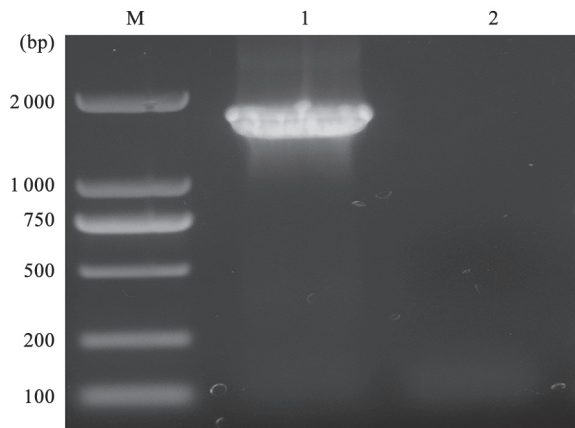


图5 *SiUPF3*基因PCR扩增结果
Fig.5 The PCR results of *SiUPF3* gene
M: DL2000 DNA Marker; 1: *SiUPF3*基因PCR扩增条带; 2: 阴性对照组PCR扩增结果。

于0、0.5、1.0、2.0、4.0和8.0 h共6个时间点按照根、茎、叶分别回收并提取RNA, 反转录为cDNA用于实时定量PCR。

20% PEG处理谷子幼苗0~8 h, 谷子根中*SiUPF3*的表达量表现出显著下调趋势, 其相对表达量减少了97.55% (图6-A); 茎中*SiUPF3*的相对表达量存在波动, 但整体仍表现为上调(图6-B); 而谷子叶中*SiUPF3*的相对表达量与根内该基因的表达趋势截然相反, 表现为显著上调, 在PEG处理4 h和8 h

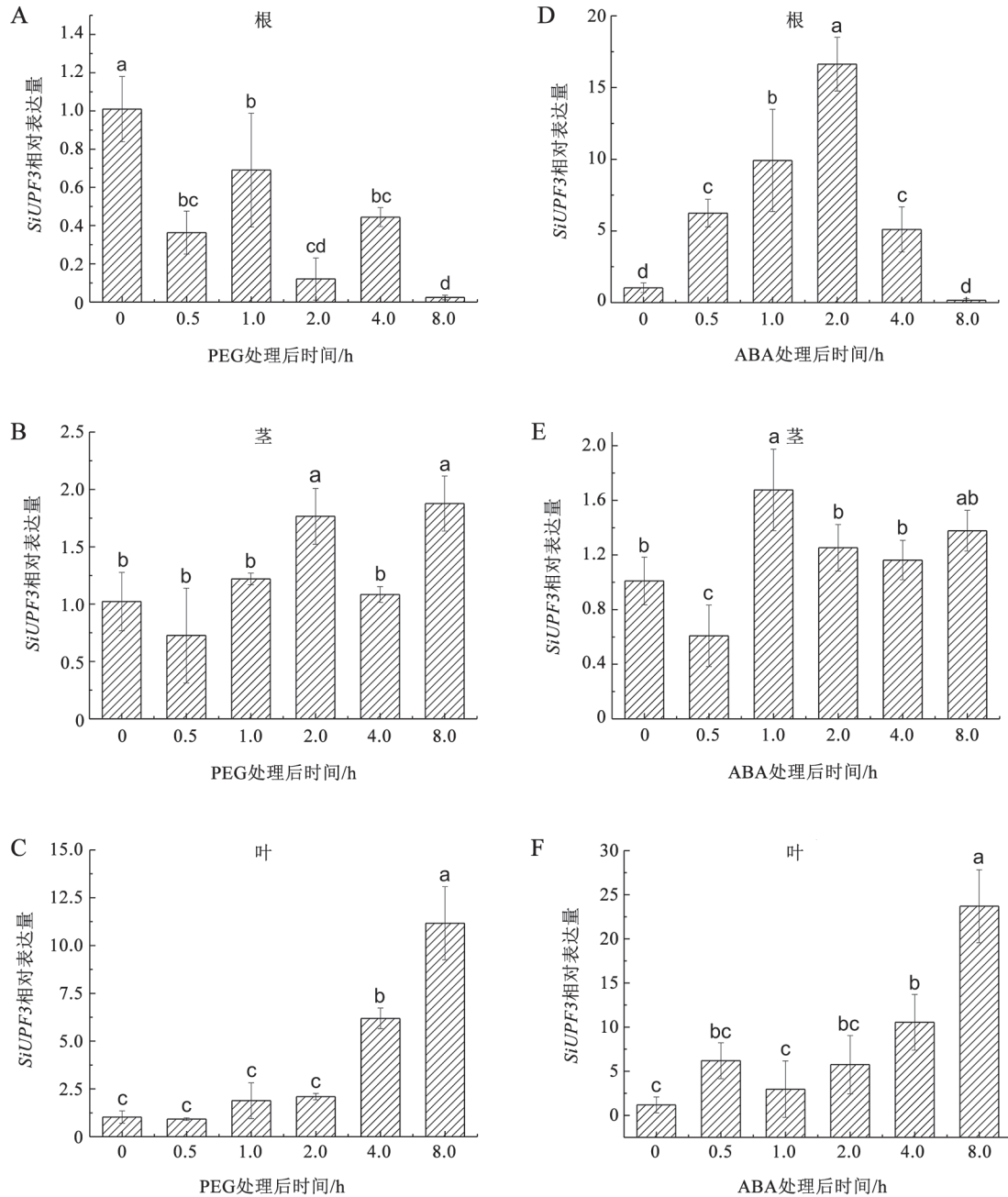


图6 PEG模拟干旱和ABA诱导下*SiUPF3*在谷子中相对表达量变化趋势

Fig.6 The relative expression level of *SiUPF3* in *S. italic* under PEG and ABA induction

柱上不同小写字母表示0.05水平的差异显著性。

时*SiUPF3*相对表达量分别达到了6.16和10.20倍(图6-C)。相比之下, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ABA诱导的谷子根中*SiUPF3*的相对表达量在前2 h内表现为显著上升趋势, 随后下降, 最高上调16倍(图6-D); 茎的相对表达量与PEG处理组的趋势和上调幅度大体一致(图6-E); 叶中*SiUPF3*的表达量在0~8 h内变化

趋势与PEG处理组大致相同, 但相对表达量上调更多, 高达25倍(图6-F)。

讨论

叶片和根部是合成ABA的重要器官, 且ABA具有双向运输的特性, 也就是说, 叶片合成的ABA

沿着韧皮部向根部运输,而根部合成的ABA沿着导管向叶片运输(梁建生和张建华1998)。显然ABA在导管中运输要比在韧皮部中快得多,因此当植物受到胁迫时,ABA会迅速在植物体叶片中大量积累,实现对逆境快速响应。

启动子预测发现*SiUPF3*上游存在ABRE顺式作用元件,这意味着ABA浓度升高可能导致*SiUPF3*表达量上调。从目前PEG和ABA两种不同处理的结果来看,干旱胁迫和ABA诱导均能促进叶中*SiUPF3*的表达,而根部*SiUPF3*的表达量变化趋势目前还无法给出合理解释。ABA处理组中,由于ABA导致叶片气孔迅速关闭降低了蒸腾作用,故抑制了ABA由根部向叶片运输这一过程。随着时间的推移,叶片上喷施的ABA逐渐降解失效,气孔开启,根部向叶片运输ABA恢复(Tanaka等2013),这有可能是导致叶片中*SiUPF3*表达显著上调的主要原因。PEG和ABA处理后,茎的*SiUPF3*上调表达不显著可能与该基因组织特异性相关,但总体上其波动特征与根和叶受ABA诱导情况大体相符。

ABA在植物应对逆境时发挥主要作用。有研究显示耐旱相关基因*SiABF3*作为调控基因参与谷子中相关功能基因对ABA的响应过程。由于*SiUPF3*启动子分析显示该基因受ABRE元件调控,因此*SiUPF3*可能通过ABA诱导下ABF/ABRE转录因子增加进而实现对其表达的调控(张雁明等2013)。除此之外,*SiUPF3*启动子区域还存在另一重要的植物抗非生物胁迫元件即DRE/CRT元件,其DREB/CBF转录因子所介导的不依赖于ABA的抗逆信号通路很有可能在干旱或PEG处理下调控*SiUPF3*的表达(杨希文和胡银岗2011)。*SiUPF3*作为功能基因,在PEG模拟的干旱胁迫和ABA诱导下,分别通过ABRE和DREB所介导的信号通路实现对逆境的快速响应,使植株的*SiUPF3*表达骤增以应对恶劣条件。

当然,植物对干旱的响应是一个复杂的过程,涉及多个信号通路及其构成的网络,因此,仅从ABA途径和DRE/CRT元件这两个方面并不能系统地解释*SiUPF3*在转录水平的表达量变化。由于*SiUPF3*的启动子区域包含了光照、干旱、激素、细胞周期以及组织特异性响应等相关顺式作用元件,因此*SiUPF3*很有可能通过这些元件对各类非生物

胁迫尤其是干旱导致的相关胁迫进行应答。已有研究发现参与拟南芥根部生长发育调控的转录因子AtMYB77能够响应脱落酸、生长素和水杨酸等植物激素以及干旱、高盐和低温等逆境胁迫(Shin等2007;樊锦涛等2014)。AtMYB77出现在*SiUPF3*启动子区域表明*SiUPF3*的表达可能与AtMYB77表达以及诱导其表达的其他相关因素有关,推测*SiUPF3*有可能响应更多激素和胁迫诱导,而这一推论有赖于对AtMYB77调控*SiUPF3*表达分子机制的进一步研究。综上所述,我们预测*SiUPF3*启动子区域中存在ABRE、DRE/CRT和AtMYB77等响应非生物胁迫的相关顺式作用元件,它们参与了*SiUPF3*基因对干旱胁迫的响应。推测其生理行为可能是*SiUPF3*表达产物SiUPF3蛋白通过ABA途径和不依赖于ABA的DREB/CBF信号通路以及其他相关顺式作用元件所介导的信号途径获得表达,表达的SiUPF3蛋白进一步参与植物中的NMD途径,降解不成熟的mRNA,防止异常的有害蛋白产生,以降低其对植物的毒害作用。

我们从谷子中克隆获得*SiUPF3*基因,它所编码的蛋白主要通过DRE/CRT、ABRE和AtMYB77等相关顺式作用元件调控其转录表达水平,从而实现对于干旱的响应和调节。由于本文对*SiUPF3*表达的分析仅限于转录水平而没有对其表达的SiUPF3蛋白进行检测,因此*SiUPF3*的耐旱功能还需要通过把该基因转入拟南芥或烟草等模式作物进行异源表达,再结合Western blot和生理检测的方法进行验证。

参考文献

- 崔润丽,王永芳,智慧,李伟,李海权,黄占景,刁现民(2009). 谷子3-磷酸甘油醛脱氢酶基因的克隆与结构分析. 华北农学报, 24(3): 10~14
- 崔国新,侯杰,佟玲,许志茹(2010). 植物基因光反应元件及其结合蛋白. 植物生理学通讯, 46(10): 991~999
- 樊锦涛,蒋琛茜,邢继红,董金皋(2014). 拟南芥R2R3-MYB家族第22亚族的结构与功能. 遗传, 36(10): 95~994
- 关秋玲,陈焕新,张毅,李秋莉(2009). 植物GT元件和GT因子的研究进展. 遗传, 31(2): 123~130
- 郭晓芳,严海燕(2005). 植物中的Dof蛋白和Dof转录因子家族. 植物生理学通讯, 41(4): 416~423
- 胡帅,王芳展,刘振宁,刘亚培,余小林(2012). PYR/PYL/RCAR蛋白介导植物ABA的信号转导. 遗传, 34(5): 560~572
- 胡一兵,刘炜,徐国华(2011). 生长素与乙烯信号途径及其相互关系研究进展. 植物学报, 46(3): 338~349

- 梁建生, 张建华(1998). 根系逆境信号ABA的产生和运输及其生理作用. 植物生理学通讯, 34 (5): 329~338
- 梁文星(2012). mRNA降解在植物发育以及抗性反应中的作用. 生物技术通报, (4): 1~6
- 李国营, 朱志华, 李为喜(2008). 谷子(*Setaria italica*)分子遗传研究进展. 植物遗传资源学报, 9 (4): 556~560
- 王立磊, 倪燕婕(2013). 植物激素脱落酸信号转导研究进展. 广东农业科学, (10): 228~233
- 尹恒, 余琴鸯, 安利佳, 李文利(2014). 一个快速响应干旱的F-box基因的克隆和表达分析. 作物学报, 40 (6): 1027~1034
- 吴耀荣, 谢旗(2006). ABA与植物胁迫抗性. 植物学通报, 23 (5): 511~518
- 杨希文, 胡银岗(2011). 谷子DREB转录因子基因的克隆及其在干旱胁迫下的表达模式分析. 干旱地区农业研究, 29 (5): 69~73
- 郑晓瑜, 郭晋艳, 张毅, 李秋莉(2011). 植物非生物胁迫诱导启动子顺式作用元件的研究方法. 植物生理学报, 47 (2): 129~135
- 张雁明, 王莉, 张彬, 彭锁堂, 李萍, 韩渊怀(2013). 谷子ABF3基因对PEG胁迫的响应. 山西农业大学学报(自然科学版), 33 (3): 191~196
- 赵晋锋, 余爱丽, 刁现民(2013). 谷子CBL基因鉴定及其在干旱、高盐胁迫下的表达分析. 作物学报, 39 (2): 360~367
- Garre E, Romero-Santacreu L, Miguel A, Perez-Ortin JE, Alepez P (2013). Nonsense-mediated mRNA decay controls the changes in yeast ribosomal protein pre-mRNAs levels upon osmotic stress. PLoS ONE, 8 (4): e61240
- Hori K, Watanabe Y (2005). UPF3 suppresses aberrant spliced mRNA in *Arabidopsis*. Plant J, 43: 530~540
- Hu FY, Di W, Zhao XQ, Zhang T, Sun HX, Zhu LH, Zhang F, Li LJ, Li Q, Tao DY et al (2011). Identification of rhizome-specific genes by genome-wide differential expression analysis in *Oryza longistaminata*. BMC Plant Biol, 11: 18
- Hu YX, Wang YH, Liu XF, Li JY (2004). *Aarbidopsis* RAV11 down regulated by barssinostorid and may act as a negative regulator during plant development. Cell Res, 14 (1): 8~15
- Jeong HJ, Kim YJ, Kim SH, Kim YH, Lee IJ, Kim YK, Shin JS (2011). Nonsense-mediated mRNA decay factors, UPF1 and UPF3, contribute to plant defense. Plant Cell Physiol, 52 (12): 2147~2156
- Kim VN, Kataoka N, Dreyfuss G (2001). Role of the nonsense-mediated decay factor hUpf3 in the splicing-dependent exon-exon junction complex. Science, 293: 1832~1836
- Maquat LE, Serin G (2001). Nonsense-mediated mRNA decay: Insights into mechanism from the cellular abundance of human Upf1, Upf2, Upf3, and Upf3X proteins. CSHSQ Biol, 66: 313~320
- Reidt W, Wohlfarth T, Ellerström M, Czihal A, Tewes A, Ezcurra I, Rask L, Bäumllein H (2000). Gene regulation during late embryogenesis: the RY motif of maturation-specific gene promoters is a direct target of the FUS3 gene product. Plant J, 21 (5): 401~408
- Shi C, Baldwin IT, Wu JQ (2012). *Arabidopsis* plants having defects in nonsense-mediated mRNA decay factors UPF1, UPF2 and UPF3 show photoperiod-dependent phenotypes in development and stress responses. J Integr Plant Biol, 54 (2): 99~114
- Shin R, Burch AY, Huppert KA, Tiwari SB, Murphy AS, Guilfoyle TJ, Schachtman DP (2007). The *Arabidopsis* transcription factor MYB77 modulates auxin signal transduction. Plant Cell, 19 (8): 2440~2453
- Tanaka Y, Nose T, Jikumaru Y, Kamiya Y (2013). ABA inhibits entry into stomatal-lineage development in *Arabidopsis* leaves. Plant J, 74: 448~457