

植物去泛素化酶研究进展

刘石娟^{**}, 秦宗燕^{*}, 王雪, 颜梅, 张静, 梁超超

曲阜师范大学生命科学学院, 曲阜273165

摘要: 去泛素化酶作为泛素系统中一类重要的蛋白质水解酶, 具有逆转泛素化的作用。目前研究发现去泛素化酶具有复杂的生物学调控功能, 能调节细胞内众多蛋白底物的稳定性和功能, 参与了生物体内细胞周期调控、细胞分裂与分化、DNA损伤修复、生长发育和逆境胁迫响应等多方面的生理活动。本文主要综述了去泛素化酶在植物中的调控作用, 包括调控植物生长和发育、植物对环境的免疫应激反应和介导多种信号转导途径等三个方面。

关键词: 去泛素化酶; 生长发育; 免疫反应; 信号转导

泛素是真核生物中由76个氨基酸组成的高度保守的多肽。由泛素介导的蛋白质翻译后修饰是非常重要的基因表达调控手段。泛素化降解与去泛素化修饰的动态平衡在蛋白质水平的精细调节中具有重要意义。泛素以单体或多聚体链的形式与底物蛋白结合, 这一过程称之为泛素化(ubiquitination)。介导这一过程的主要有三种酶类: 泛素激活酶(ubiquitin-activating enzyme, E1)、泛素结合酶(ubiquitin-conjugating enzyme, E2)和泛素连接酶(ubiquitin-ligase, E3) (Kerscher等2006; Pickart 2001)。E1、E2和E3依次催化完成底物蛋白的泛素化过程, 最终将泛素转移到底物蛋白的赖氨酸残基上, 被泛素标记的底物蛋白进入蛋白酶体从而完成降解(Neutzner和Neutzner 2012; Ye和Rape 2009)。

去泛素化是指将泛素从泛素化的底物蛋白质中移除, 而这一过程需要去泛素化酶(deubiquitylating enzymes, DUB)介导。去泛素化酶能够特异性地去除底物蛋白所携带的泛素链, 从而阻断蛋白酶体对蛋白的识别和水解, 保护底物蛋白, 同时使泛素分子脱离出来, 重新进入泛素化循环(Komander等2009)。因此去泛素化酶对泛素化过程不仅有抑制作用, 而且可以通过再循环泛素分子和分解泛素化抑制因子等方式促进泛素化过程(Sowa等2009)。去泛素化酶种类繁多, 功能多样, 涉及细胞的各种生命活动。本文主要对去泛素化酶在植物生长发育、免疫应激反应和信号传导途径中的作用进行系统地阐述。

1 植物去泛素化酶种类

与其他真核生物类似, 植物去泛素化酶根据催化结构域的不同分为5个亚家族(Komander等2009)。其中4个亚家族属于半胱氨酸蛋白酶, 它们分别是

UBP/USP家族(the ubiquitin-specific proteases)、UCH家族(the ubiquitin C-terminal hydrolases)、OTU家族(the ovarian tumor proteases)和MJD家族(the Machado-Joseph domain)。另外一个亚家族JAMM (the JAB1/MPN/MOV34 proteases)属于金属蛋白酶, 该类去泛素化酶的活性依赖于金属离子锌。

在动物中去泛素化酶种类繁多, 但是植物中的去泛素化酶数量相对较少(Nishi等2014)。研究人员利用统一标准在人类、拟南芥、水稻、小立碗藓和衣藻等动植物基因组数据库中进行搜索, 分别确定了392、53、95、65和44个去泛素化酶(Sharma 2015)。这些去泛素化酶分别属于不同的亚家族, 其中UBP/USP家族是目前已知的成员最多的去泛素化酶亚家族。在水稻95个去泛素化酶中, 大约有46个USP/UBP酶、5个UCH酶、23个OTU酶、2个MJD酶和19个JAMM酶。小立碗藓和衣藻中的USP/UBP、UCH、OTU、MJD和JAMM酶分别为27和18、2和2、16和12、2和2以及18和10个(Sharma 2015)。在拟南芥53个去泛素化酶中, 有27个UBP酶UBP1~UBP27 (Liu等2008); 3个UCH酶UCH1~UCH3 (Yang等2007), 12个OTU酶OTU1~OTU5、OTLD1 (otubain-like deubiquitinase 1)、OTU7~OTU12 (Radjaccommare等2014), 8个JAMM酶AMSH1 (associated molecule with the SH3 domain of STAM 1)、AMSH2、AMSH3、RPN11 (regulatory particle non-ATPase 11)、CSN5A (COP9 signalosome 5A)、CSN5B、BRCC36A (BRCA1/BRCA2-con-

收稿 2016-05-26 修定 2016-07-11

资助 国家自然科学基金(31200196)和山东省自然科学基金(ZR2011CQ016)。

* 共同第一作者。

** 通讯作者(E-mail: sjliu@mail.qfnu.edu.cn)。

taining complex 36 homolog A)和BRCC36B (Isono和Nagel 2014), 3个MJD酶JOSL (JOSEPHIN-like protein)、At1g07300和At3g54130 (Isono和Nagel 2014)。

2 去泛素化酶在植物中的作用

在酵母和动物中, 去泛素化酶在调控细胞周期、代谢与应激、介导信号通路、DNA损伤修复和肿瘤发生等多个方面具有重要作用(Citterio 2015; Clague等2013)。在植物中, 去泛素化酶同样扮演着重要的角色, 主要表现在调控植物生长和发育、植物对环境的免疫应激反应和介导多种信号转导途径等(Dielen等2010; Isono和Nagel 2014; Vierstra 2009)。

2.1 去泛素化酶在植物生长发育中的作用

去泛素化酶参与了植物生长发育的多个过程, 在植物生长发育的许多方面都起着非常重要的调节作用。例如, UBP3与UBP4是拟南芥UBP亚家族成员, 两者均定位于细胞核中并且序列高度同源, 氨基酸序列一致性达到93% (Chandler等1997)。UBP3或UBP4单个基因突变后, 突变体与野生型相比无明显表型差异。但是*ubp3/ubp4*双突变体出现致死表型, 雄配子体和花粉发育出现异常, 表明UBP3和UBP4功能冗余, 在植物配子形成和花粉萌发中起重要作用(Doelling等2007)。在水稻中, OsUBP6功能缺失后, 影响水稻的生长发育。与野生型水稻相比, OsUBP6的T-DNA插入突变体幼嫩植株生长迟缓, 但是成苗后生长发育恢复正常(Moon等2009)。UBP12与UBP13的氨基酸序列一致性达到91%, 并且UBP12与UBP13基因组织特异性表达模式存在高度重叠(Cui等2013), 预示着两者在调控植物生长发育上可能存在功能冗余。与野生型相比, *ubp12*单突变体表现为多种异常表型, 如植株矮小、叶片变圆、叶柄短和分枝多等(Cui等2013)。*ubp12/ubp13*双突变体与*ubp12*单突变体表型类似, 但表型异常现象更甚, 导致幼苗致死(Cui等2013)。与野生型相比, *ubp12/ubp13*双突变体中*TOC1* (timing of *Cab* expression 1)表达水平升高, *TOC1*和*LHY* (late elongated hypocotyl)转录的振荡节律缩短, 突变体表现出早花和昼夜节律周期短等异常表型, 表明UBP12和UBP13基因也在生物钟和光周期调控开花途径中起作用(Cui等2013)。UBP14和UBP19

调控胚胎发育, *ubp14*突变体在球形胚期表现为胚胎致死性异常(Doelling等2001; Liu等2008)。在正常供磷培养基上, *ubp14*突变体根毛正常生长; 但是磷缺乏时, 突变体根毛不能正常伸长, 表明UBP14在植物根毛的形成过程中也发挥着重要作用(Li等2010)。UBP15影响植物育性、细胞分化和开花时间(Doelling等2001)。UBP15主要在叶中表达, 与野生型相比, *ubp15*突变体的叶片、花和种子都比较小; 莲座叶比较窄, 呈锯齿和扁平状; 另外还表现为早花和育性下降等表型(Du等2014; Liu等2008)。UBP15是DA1的抑制子, DA1影响其底物UBP15蛋白的稳定性, 进而调控植物细胞分裂、种子和器官的大小(Du等2014)。UBP16与UBP15存在功能冗余现象(Liu等2008)。UBP26蛋白能够抑制*PHERES1*基因转录, 在UBP26功能缺失突变体中*PHERES1*基因上调表达, UBP26通过修饰*PHERES1*蛋白在种子发育过程中起作用(Luo等2008)。另外, UBP26蛋白也可以激活基因转录。UBP26基因突变引起多聚泛素化H2B积累, FLC (flowering locus C)位点的H3K27三甲基化水平升高, 而H3K36三甲基化水平降低, 从而抑制FLC转录(Schmitz等2009)。因此UBP26通过H2B去泛素化激活FLC转录进而抑制拟南芥春化途径介导的成花转变。在*ubp26*突变体中, 除了FLC外, *MAF2* (MADS affecting flowering 2)和*MAF3*等FLC同源基因的转录水平也下降, 而*MAF5*的mRNA水平却有所提高(Schmitz等2009), 表明UBP26调控*MAF5*转录水平的方式可能不同于FLC及其他同源基因。总之, UBP26能够调控若干不同基因的表达水平, 从多个方面影响植物的生长发育。*ubp26*突变体除了表现为早花外, 还有其他异常表型, 如莲座叶变小、顶端优势减弱(Schmitz等2009)。UBP27定位于线粒体, 虽然*ubp27*功能缺失突变体的生长和线粒体形态没有发生明显的改变, 但是UBP27过表达体的线粒体形态从棒状变成了球形(Pan等2014)。

除UBP外, 去泛素化酶其他亚家族成员也参与调控植物的生长发育。亚细胞定位分析结果表明拟南芥UCH亚家族成员UCH1和UCH2蛋白定位在细胞核和细胞质中(Yang等2007)。与野生型相比, *uch1*和*uch2*单突变体没有明显表型差异, 但是*uch1/uch2*双突变体具有显著性状, 如分枝少、叶

片小、开花晚和花器官发育异常等(Yang等2007)。JAMM酶CSN5A和CSN5B组成COP9 (constitutive photomorphogenic 9)信号复合体的催化亚基CSN5, 而COP9复合体与光形态建成有着密切的关系(Cope等2002)。与野生型相比, 营养生长期的*csn5a*点突变体莲座叶小而卷曲、叶柄变短, 生殖生长期的*csn5a*点突变体植株严重矮化, 次级花序数目增多(Gusmaroli等2004; Jia等2015)。*csn5a* T-DNA插入突变体在幼苗和成苗生长期的长势明显减弱, 侧根及根毛减少, 花也变小(Dohmann等2005)。*CSN5B*缺失后表型没有发生明显变化, 但是*csn5a/csn5b*双突变体表现为典型的*cop/det/fus*突变体表型且幼苗致死(Dohmann等2005)。进一步研究发现, *csn5*突变体与体内缺失CSN复合体的其他CSN亚基突变体不一样, 在*csn5*突变体中仍然能够形成CSN复合体, 尽管该复合体不含CSN5亚基(Dohmann等2005)。通过前人的以上研究, 推测在植物体内不需要CSN复合体完全解聚只单纯的CSN5功能缺失就足以引起多重*cop/det/fus*突变体表型。*AMSH3*突变导致幼苗致死, 引起广泛的胞内运输缺陷(Isono等2010)。*AMSH1*突变虽然没有产生明显的生长发育缺陷表型, 但是当转移到黑暗环境时突变体产生黄化现象, 出现自噬突变体表型(Katsiarimpa等2013)。在百脉根中, *LjAMSH3*基因突变后, 纯合突变体表现为种子不育, 杂合突变体植株发育迟缓, 结瘤表型异常(Malolepszy等2015)。拟南芥OTU亚家族成员OTLD1定位于细胞核和细胞质, 与组蛋白赖氨酸去甲基化酶SWP1/KDM1C (SWIRM domain PAO protein 1)形成复合体作用于泛素化的H2B, 使其去泛素化并甲基化H3K4从而抑制基因表达(Krichevsky等2011)。

2.2 去泛素化酶在植物免疫应激反应中的作用

已有研究表明, 植株感染病原菌后依赖于SA的基础免疫被激活。病原能够诱导植物合成抗毒素物质, 并积累水杨酸, SA信号通路中的*PR1* (pathogenesis-related gene 1)、*PR5*、*SAG12* (senescence-associated gene 12)和*SAG13*等关键Marker基因上调表达, 使植物获得系统性抗性(Grant和Lamb 2006; Morris等2000; Ward等1991; Wiermer等2005)。研究者发现在UBP12/UBP13拟南芥干扰突变体中, SA信号通路Marker基因*PR*基因表达水平上调,

*UBP12*和*UBP13*基因存在功能冗余现象, *UBP12/UBP13*拟南芥干扰突变体对丁香假单胞菌的抵抗防御能力增强(Ewan等2011)。在烟草中, *UBP12*的同源蛋白NtUBP12表达沉默能够增强Cf-9介导的超敏反应, 而过表达*UBP12*或NtUBP12会抑制超敏反应(Ewan等2011)。以上结果表明*UBP12*和*UBP13*蛋白在植物的免疫防御反应中也是必需的, 起负调控作用。

与野生型相比, *amsh1*突变体虽然没有明显的生长发育异常表型, 但是对白粉病病原菌*Erysiphe cruciferarum*的抵御能力增强, 对黑斑病病原菌*Alternaria brassicicola*侵染的敏感性增强(Katsiarimpa等2013)。*Erysiphe cruciferarum*病原菌感染*amsh1*突变体和野生型拟南芥后, *PR1*、*PR5*和*SAG13*基因均被诱导表达, 但是在突变体中的诱导表达程度远高于野生型, 表明去泛素化酶AMSH1也在SA信号通路介导的植物免疫中起作用(Katsiarimpa等2013)。

Schwechheimer等(2002)发现JA处理后, *CSN5*反义植株根的生长抑制及伤诱导基因*VSP* (vegetative storage protein)的诱导表达都明显减弱, 表明*CSN5*参与JA信号途径。Lozano-Duran等(2011)研究表明*CSN5A*、*CSN5B*及其番茄同源蛋白*CSN5*蛋白均能与撒丁岛番茄黄化曲叶病毒TYLCSV C2蛋白相互作用, 进一步研究发现这三类*CSN5*蛋白也能与番茄黄化曲叶病毒TYLCV和甜菜曲顶病毒BCTV来源的L2蛋白(C2的同源蛋白)相互作用, 表明C2/L2-*CSN5*之间的相互作用在其他植物中也是保守的。双生病毒通过C2蛋白与*CSN5*相互作用, 并影响*CSN5*调控SCF (Skp1-Cul1-F-box)蛋白家族的E3泛素连接酶复合体的能力, 进而抑制JA介导的免疫防御反应(Lozano-Duran和Bejarano 2011; Lozano-Duran等2011; Rosas-Diaz等2016)。因为SCF复合体及其组分是细胞内许多生理过程的关键调控因子(许媛等2015), 双生病毒通过C2蛋白与*CSN5*相互作用干扰SCF复合体的活性可能是病毒在感染宿主细胞时采取的重要策略。

2.3 去泛素化酶在植物信号传导途径中的作用

研究表明, 拟南芥*ubp1*、*ubp2*单突变体和*ubp1/ubp2*双突变体在正常的培养环境中生长无异常, 但是当在含精氨酸类似物刀豆氨酸的培养基

上生长时, *ubp1*和*ubp2*单突变体或双突变体严重发育不良, 根变短, 叶片褪绿, 幼苗鲜重仅为野生型植株的20%左右。以上结果说明UBP1和UBP2在植物抵御刀豆氨酸胁迫中发挥重要作用(Yan等2000)。UBP6是钙调蛋白结合型去泛素化酶, 能够以依赖于Ca²⁺的方式结合钙调蛋白(Moon等2005), 推测UBP6参与Ca²⁺信号通路。*ubp16*突变体叶片组织中积累的Na⁺含量比野生型高, 在幼苗期和成苗期对盐胁迫超敏感(Zhou等2012)。UBP16蛋白受盐诱导表达, 并且通过正调控质膜的Na⁺/H⁺逆向转运活性参与拟南芥盐胁迫信号转导途径(Zhou等2012)。另外, *ubp16*突变体对镉也较野生型敏感。在镉存在时, *ubp16*突变体的生长受到严重抑制, 表明UBP16蛋白参与拟南芥金属镉胁迫响应(Zhao等2013)。实验表明UBP24基因位于*ABI2* (ABA-insensitive 2)基因的遗传上位, 可能参与调控*ABI2*的磷酸酶活性(Zhao等2016)。*ubp24*突变体在种子萌发后期生长阶段和幼苗生长阶段对ABA和盐胁迫超敏感, 表明UBP24基因在植物响应ABA和盐胁迫中具有重要的调控作用, 进一步研究表明UBP24调控作用依赖于其去泛素化酶活性(Zhao等2016)。然而研究同时表明, 与野生型相比, *ubp24*突变体的保卫细胞气孔关闭对ABA的敏感性降低, 失水速率变快, 对干旱胁迫的敏感性增加(Zhao等2016)。

拟南芥*UCH1*基因过表达能够恢复生长素不敏感型突变体*axr1-3*和*axr2-1*的表型, 表明*UCH1*基因参与了生长素信号通路(Yang等2007)。研究表明CSN5在多个信号转导过程中起着重要的作用。

例如, 在不同光照条件下*csn5a/csn5b*双突变体均表现为*cop/det/fus*突变体组成性光形态建成表型。与野生型拟南芥比较, 不同光照条件下的*csn5a*或*csn5b*单突变体的光形态建成反应增强, 表明CSN5A和CSN5B在抑制光形态建成反应方面均起作用, 功能冗余(Dohmann等2005)。当施加外源生长激素2,4-D后, *csn5a*或*csn5b*单突变体的根生长抑制反应的敏感性较野生型减弱。结合*csn5*单突变体和*csn5*双突变体根的生长缺陷表型, 以上结果表明CSN5在生长激素信号通路中起作用(Dohmann等2005)。CSN5B与抗坏血酸合成酶VTC1 (vitamin C-defective 1)相互作用并促进其在暗环境中泛素化, 以依赖于光的方式调控抗坏血酸的合成, 并且*csn5b*突变体对盐胁迫有较高的耐受性(Wang等2013)。另有研究表明低温处理后, CSN5反义植株根中的低温响应基因*COR* (cold-regulated gene)的诱导表达时间与野生型相比明显延迟, 表明CSN5参与调控*COR*基因在低温胁迫下的适时表达(Schwechheimer等2002)。

综上所述, 通过对去泛素化酶基因的功能和作用机制等进行系列研究, 发现去泛素化酶显著影响植物的生长发育, 对植物的生物钟节律、光形态建成、开花时间、衰老、激素信号传递、免疫应激反应和非生物胁迫响应等具有重要的调控作用(图1)。值得注意的是, 目前研究发现某些去泛素化酶并不只在一个生理过程中起作用, 它们可以在不同的生命活动中发挥重要作用, 例如UBP12、UBP16和AMSH1等(图1)。

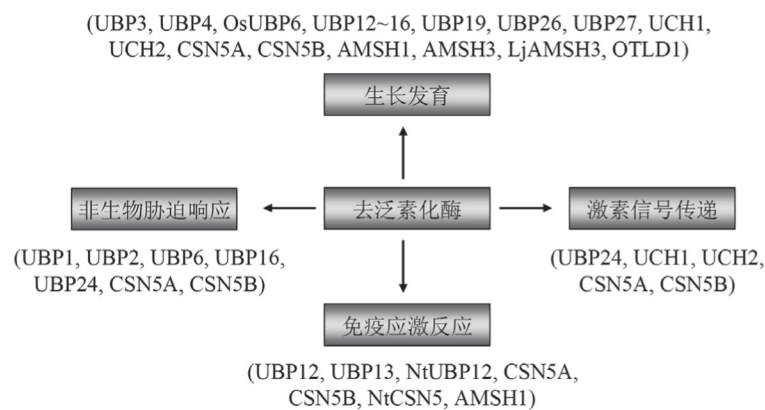


图1 植物去泛素化酶的生理功能

Fig.1 Physiological function of plant deubiquitylating enzymes

3 问题与展望

作为泛素系统中一类重要的蛋白质水解酶类,去泛素化酶在泛素活化、泛素的再循环利用、调节众多蛋白底物的稳定性等方面发挥着重要的作用。但是目前发现和鉴定的去泛素化酶的数量远远少于泛素连接酶(Vierstra 2012),新的去泛素化酶还有待于鉴定。除了利用生物信息学的手段外,还需要发展新的实验方法和技术在基因组或转录组水平上进一步筛查去泛素化酶并进行合理的GO分类。另外,去泛素化酶的生理底物繁多,已有文献报道了动物去泛素化酶的相互作用网络图谱(Sowa等2009),但是目前发现与植物去泛素化酶能够直接相互作用的蛋白数量还很少,与植物去泛素化酶相关的相互作用网络值得进一步深入和系统的研究。随着去泛素化酶作用机制研究的进一步深入,发现去泛素化酶不仅调控底物蛋白的活性,其自身也会发生磷酸化、类泛素化和泛素化反应导致活性改变(Huang和Cochran 2013)。由此可见,去泛素化酶具有复杂调控的生物学功能,因此很难将某个去泛素化酶亚家族的作用限定于某一特定的生理生化过程。在今后的研究中除了鉴定新的去泛素化酶外,对于已鉴定的去泛素化酶应选择合适的突变体进行深入研究,挖掘其潜在的生物学和生理学功能。相信随着定量蛋白质组学和生物信息学等新实验技术的发展,我们对植物去泛素化酶的复杂调控功能会有更深刻的认识。

参考文献

- Chandler JS, McArdle B, Callis J (1997). AtUBP3 and AtUBP4 are two closely related *Arabidopsis thaliana* ubiquitin-specific proteases present in the nucleus. *Mol Gen Genet*, 255: 302–310
- Citterio E (2015). Fine-tuning the ubiquitin code at DNA double-strand breaks: deubiquitinating enzymes at work. *Front Genet*, 6: 282
- Clague MJ, Barsukov I, Coulson JM, Liu H, Rigden DJ, Urbe S (2013). Deubiquitylases from genes to organism. *Physiol Rev*, 93: 1289–1315
- Cope GA, Suh GS, Aravind L, Schwarz SE, Zipursky SL, Koonin EV, Deshaies RJ (2002). Role of predicted metalloprotease motif of Jab1/Csn5 in cleavage of Nedd8 from Cul1. *Science*, 298: 608–611
- Cui X, Lu F, Li Y, Xue Y, Kang Y, Zhang S, Qiu Q, Zheng S, Liu B, Xu X, et al (2013). Ubiquitin-specific proteases UB12 and UB13 act in circadian clock and photoperiodic flowering regulation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 162: 897–906
- Dielen AS, Badaoui S, Candresse T, German-Retana S (2010). The ubiquitin/26S proteasome system in plant-pathogen interactions: a never-ending hide-and-seek game. *Mol Plant Pathol*, 11: 293–308
- Doelling JH, Phillips AR, Soyler-Ogretim G, Wise J, Chandler J, Callis J, Otegui MS, Vierstra RD (2007). The ubiquitin-specific protease subfamily UB3/UB4 is essential for pollen development and transmission in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 145: 801–813
- Doelling JH, Yan N, Kurepa J, Walker J, Vierstra RD (2001). The ubiquitin-specific protease UB14 is essential for early embryo development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 27: 393–405
- Dohmann EM, Kuhnle C, Schwechheimer C (2005). Loss of the CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC9 signalosome subunit 5 is sufficient to cause the *cop/det/fus* mutant phenotype in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17: 1967–1978
- Du L, Li N, Chen L, Xu Y, Li Y, Zhang Y, Li C, Li Y (2014). The ubiquitin receptor DA1 regulates seed and organ size by modulating the stability of the ubiquitin-specific protease UB15/SOD2 in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26: 665–677
- Ewan R, Pangestuti R, Thornber S, Craig A, Carr C, O'Donnell L, Zhang C, Sadanandom A (2011). Deubiquitinating enzymes AtUBP12 and AtUBP13 and their tobacco homologue NtUBP12 are negative regulators of plant immunity. *New Phytol*, 191: 92–106
- Grant M, Lamb C (2006). Systemic immunity. *Curr Opin Plant Biol*, 9: 414–420
- Gusmaroli G, Feng S, Deng XW (2004). The Arabidopsis CSN5A and CSN5B subunits are present in distinct COP9 signalosome complexes, and mutations in their JAMM domains exhibit differential dominant negative effects on development. *Plant Cell*, 16: 2984–3001
- Huang OW, Cochran AG (2013). Regulation of deubiquitinase proteolytic activity. *Curr Opin Struct Biol*, 23: 806–811
- Isono E, Katsiarimpa A, Muller IK, Anzenberger F, Stierhof YD, Geldner N, Chory J, Schwechheimer C (2010). The deubiquitinating enzyme AMSH3 is required for intracellular trafficking and vacuole biogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 22: 1826–1837
- Isono E, Nagel MK (2014). Deubiquitylating enzymes and their emerging role in plant biology. *Front Plant Sci*, 5: 56
- Jia X, Chanda B, Zhao M, Brunner AM, Beers EP (2015). Instability of the Arabidopsis mutant *csn5a-2* caused by epigenetic modification of intronic T-DNA. *Plant Sci*, 238: 53–63
- Katsiarimpa A, Kalinowska K, Anzenberger F, Weis C, Ostertag M, Tsutsumi C, Schwechheimer C, Brunner F, Huckelhoven R, Isono E (2013). The deubiquitinating enzyme AMSH1 and the ESCRT-III subunit VPS2.1 are required for autophagic degradation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25: 2236–2252
- Kerscher O, Felberbaum R, Hochstrasser M (2006). Modification of proteins by ubiquitin and ubiquitin-like proteins. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 22: 159–180
- Komander D, Clague MJ, Urbe S (2009). Breaking the chains: structure and function of the deubiquitinases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10: 550–563
- Krichevsky A, Zaltsman A, Lacroix B, Citovsky V (2011). Involvement

- ment of KDM1C histone demethylase-OTLD1 otubain-like histone deubiquitinase complexes in plant gene repression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 11157–11162
- Li WF, Perry PJ, Prafulla NN, Schmidt W (2010). Ubiquitin-specific protease 14 (UBP14) is involved in root responses to phosphate deficiency in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 3: 212–223
- Liu Y, Wang F, Zhang H, He H, Ma L, Deng XW (2008). Functional characterization of the *Arabidopsis* ubiquitin-specific protease gene family reveals specific role and redundancy of individual members in development. *Plant J*, 55: 844–856
- Lozano-Duran R, Bejarano ER (2011). Geminivirus C2 protein might be the key player for geminiviral co-option of SCF-mediated ubiquitination. *Plant Signal Behav*, 6: 999–1001
- Lozano-Duran R, Rosas-Díaz T, Gusmaroli G, Luna AP, Taconnat L, Deng XW, Bejarano ER (2011). Geminiviruses subvert ubiquitination by altering CSN-mediated derubylation of SCF E3 ligase complexes and inhibit jasmonate signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 23: 1014–1032
- Luo M, Luo MZ, Buzas D, Finnegan J, Helliwell C, Dennis ES, Peacock WJ, Chaudhury A (2008). UBIQUITIN-SPECIFIC PROTEASE 26 is required for seed development and the repression of *PHERES1* in *Arabidopsis*. *Genetics*, 180: 229–236
- Malolepszy A, Urbanski DF, James EK, Sandal N, Isono E, Stougaard J, Andersen SU (2015). The deubiquitinating enzyme AMSH1 is required for rhizobial infection and nodule organogenesis in *Lotus japonicus*. *Plant J*, 83: 719–731
- Moon BC, Choi MS, Kang YH, Kim MC, Cheong MS, Park CY, Yoo JH, Koo SC, Lee SM, Lim CO, et al (2005). *Arabidopsis* ubiquitin-specific protease 6 (AtUBP6) interacts with calmodulin. *FEBS Lett*, 579: 3885–3890
- Moon YK, Hong JP, Cho YC, Yang SJ, An G, Kim WT (2009). Structure and expression of OsUBP6, an ubiquitin-specific protease 6 homolog in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Cells*, 28: 463–472
- Morris K, MacKerness SA, Page T, John CF, Murphy AM, Carr JP, Buchanan-Wollaston V (2000). Salicylic acid has a role in regulating gene expression during leaf senescence. *Plant J*, 23: 677–685
- Neutzner M, Neutzner A (2012). Enzymes of ubiquitination and deubiquitination. *Essays Biochem*, 52: 37–50
- Nishi R, Wijnhoven P, le Sage C, Tjeertes J, Galanty Y, Forment JV, Clague MJ, Urbe S, Jackson SP (2014). Systematic characterization of deubiquitylating enzymes for roles in maintaining genome integrity. *Nat Cell Biol*, 16: 1016–1026
- Pan R, Kaur N, Hu J (2014). The *Arabidopsis* mitochondrial membrane-bound ubiquitin protease UBP27 contributes to mitochondrial morphogenesis. *Plant J*, 78: 1047–1059
- Pickart CM (2001). Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem*, 70: 503–533
- Radjacommaro R, Usharani R, Kuo CH, Fu H (2014). Distinct phylogenetic relationships and biochemical properties of *Arabidopsis* ovarian tumor-related deubiquitinases support their functional differentiation. *Front Plant Sci*, 5: 84
- Rosas-Díaz T, Macho AP, Beuzón CR, Lozano-Durán R, Bejarano ER (2016). The C2 protein from the geminivirus *Tomato Yellow Leaf Curl Sardinia Virus* decreases sensitivity to jasmonates and suppresses jasmonate-mediated defences. *Plants*, 5: 8
- Schmitz RJ, Tamada Y, Doyle MR, Zhang X, Amasino RM (2009). Histone H2B deubiquitination is required for transcriptional activation of FLOWERING LOCUS C and for proper control of flowering in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 149: 1196–1204
- Schwechheimer C, Serino G, Deng XW (2002). Multiple ubiquitin ligase-mediated processes require COP9 signalosome and AXR1 function. *Plant Cell*, 14: 2553–2563
- Sharma M (2015). DUBs: regulation by reversible ubiquitination. *J Mol Biol Mol Imaging*, 2: 1014
- Sowa ME, Bennett EJ, Gygi SP, Harper JW (2009). Defining the human deubiquitinating enzyme interaction landscape. *Cell*, 138: 389–403
- Vierstra RD (2009). The ubiquitin-26S proteasome system at the nexus of plant biology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10: 385–397
- Vierstra RD (2012). The expanding universe of ubiquitin and ubiquitin-like modifiers. *Plant Physiol*, 160: 2–14
- Wang J, Yu Y, Zhang Z, Quan R, Zhang H, Ma L, Deng XW, Huang R (2013). *Arabidopsis* CSN5B interacts with VTC1 and modulates ascorbic acid synthesis. *Plant Cell*, 25: 625–636
- Ward ER, Uknes SJ, Williams SC, Dincher SS, Wiederhold DL, Alexander DC, Ahl-Goy P, Metraux JP, Ryals JA (1991). Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell*, 3: 1085–1094
- Wiermer M, Feys BJ, Parker JE (2005). Plant immunity: the EDS1 regulatory node. *Curr Opin Plant Biol*, 8: 383–389
- Xu Y, Li L, Yu X, Liu D (2015). The functions of F-box protein in plant resistance to stress. *Plant Physiol J*, 51 (7): 1003–1008 (in Chinese with English abstract) [许媛, 李铃仙, 于秀梅, 刘大群 (2015). F-box蛋白在植物抗逆境胁迫中的功能. *植物生理学报*, 51 (7): 1003–1008]
- Yan N, Doelling JH, Falbel TG, Durski AM, Vierstra RD (2000). The ubiquitin-specific protease family from *Arabidopsis*. AtUBP1 and 2 are required for the resistance to the amino acid analog canavanine. *Plant Physiol*, 124: 1828–1843
- Yang P, Smalle J, Lee S, Yan N, Emborg TJ, Vierstra RD (2007). Ubiquitin C-terminal hydrolases 1 and 2 affect shoot architecture in *Arabidopsis*. *Plant J*, 51: 441–457
- Ye Y, Rape M (2009). Building ubiquitin chains: E2 enzymes at work. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10: 755–764
- Zhao J, Zhou H, Li Y (2013). UBIQUITIN-SPECIFIC PROTEASE16 interacts with a HEAVY METAL ASSOCIATED ISOPRENYLATED PLANT PROTEIN27 and modulates cadmium tolerance. *Plant Signal Behav*, 8: e25680
- Zhao J, Zhou H, Zhang M, Gao Y, Li L, Li M, Yang Y, Guo Y, Li X (2016). Ubiquitin-specific protease 24 negatively regulates abscisic acid signalling in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*, 39: 427–440
- Zhou H, Zhao J, Yang Y, Chen C, Liu Y, Jin X, Chen L, Li X, Deng XW, Schumaker KS, et al (2012). Ubiquitin-specific protease16 modulates salt tolerance in *Arabidopsis* by regulating Na⁺/H⁺ antiport activity and serine hydroxymethyltransferase stability. *Plant Cell*, 24: 5106–5122

Research progress of plant deubiquitylating enzyme

LIU Shi-Juan^{**}, QIN Zong-Yan^{*}, WANG Xue, YAN Mei, ZHANG Jing, LIANG Chao-Chao

College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu, Shandong 273165, China

Abstract: Deubiquitinating enzymes (DUBs) are the class of proteases that serve to reverse the modification of proteins by ubiquitin. By modulating the stabilities and activities of cellular proteins, DUBs play multiple key roles in the regulation of various cellular processes, including cell cycle control, cell mitosis, cell differentiation, DNA damage repair, growth and development and stress response. In this review, we summarized the roles that plant DUBs play in three fields: plant growth and development, immune response and signal transduction. This will provide some reference for further study of plant DUBs.

Key words: deubiquitinating enzyme; growth and development; immune response; signal transduction

Received 2016-05-26 Accepted 2016-07-11

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31200196) and the Shandong Provincial Natural Science Foundation (Grant No. ZR2011CQ016).

^{*}Co-first authors.

^{**}Corresponding author (E-mail: sjliu@mail.qfnu.edu.cn).