

· 专题论坛 ·

U-box泛素连接酶调控植物抗逆和生长发育

缴莉, 付淑芳, 张雅丽, 卢江*

中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083

摘要 泛素化是真核生物蛋白质转录后修饰的重要方式之一。泛素连接酶决定了泛素化过程底物的特异性, 在植物抗病、抗旱、耐盐、抗寒和生长发育各个阶段都发挥重要作用。泛素连接酶包括RING、U-box、HECT和F-box四大类。该文对U-box泛素连接酶在植物抗逆和生长发育过程中的作用进行了总结, 并对今后的研究提出了建议, 以期为进一步了解植物泛素化调控通路提供依据。

关键词 U-box泛素连接酶, 生物胁迫, 非生物胁迫, 生长发育

缴莉, 付淑芳, 张雅丽, 卢江 (2016). U-box泛素连接酶调控植物抗逆和生长发育. 植物学报 51, 724–735.

泛素蛋白酶体途径(ubiquitin/26S proteasome pathway)是已知真核生物体内最重要的且有高度选择性的蛋白质降解途径之一(Vierstra, 2009)。在该途径中, 蛋白质在泛素活化酶(ubiquitin-activating enzyme, E1)、泛素结合酶(ubiquitin-conjugating enzymes, E2s)和泛素连接酶(ubiquitin-protein ligases, E3s)的催化下被泛素分子标记, 即泛素化。具有多聚泛素化标记的蛋白质可以被蛋白酶体识别并降解。其中, 泛素连接酶E3的种类和数量最多, 包括RING、U-box、HECT和F-box四大类。由于泛素连接酶携带了底物特异性的信息, 决定了靶蛋白的特异性识别, 因此在调节泛素化系统的活性及特异性中发挥着重要作用(Mazzucotelli et al., 2006)。泛素连接酶可以分为单亚基和多亚基2类, HECT、RING和U-box均属于单亚基类, F-box则属于多亚基类(Azevedo et al., 2001; McGinnis et al., 2003; Wiborg et al., 2008)。根据结构域的不同, 植物U-box泛素连接酶可以分为3类(Azevedo et al., 2001; Yee and Goring, 2009)。数量最多的1类具有ARM (armadillo repeat)结构域, 在U-box泛素连接酶的C末端, 负责蛋白-蛋白相互作用, 其数量在不同蛋白中存在一定差异; 第2类具有激酶结构域(如Ser/Thr kinase); 第3类是具有WD40以及MIF4G等其它结构域的U-box泛素连接酶。U-box泛素连接酶在生物/非生物胁迫以及植物生长

发育等过程中都发挥重要作用。目前, 虽然对U-box类型泛素连接酶的分离、鉴定及功能研究取得了较大进展, 但对其生物功能及潜在调控通路仍知之甚少。本文对植物U-box泛素连接酶的研究现状进行了归类总结(表1), 并对未来的研究方向提出了建议, 以期为进一步了解植物泛素化调控通路提供依据。

1 U-box泛素连接酶的发现

U-box功能域最初是在酵母UFD2蛋白中发现的, 约由70个氨基酸残基组成。其结构与RING-finger结构域相似, 即两者具有相似的氨基酸排列顺序和 $\beta\beta\alpha\beta$ 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 et al., 2004)。两者的区别是: U-box功能域利用盐键和氢键稳定结构, 而典型的RING-finger功能域则通过半胱氨酸、组氨酸和螯合 Zn^{2+} 来稳定结构(Aravind and Koonin, 2000)。最初发现的U-box蛋白UFD2、CHIP和NOSA都具有泛素连接酶活性, 而且U-box结构域对于酶活是必需的。去除蛋白中的U-box结构域或使结构域中的保守氨基酸突变, 都将会导致体外泛素化实验失败(Pukatzi et al., 1998; Ballinger et al., 1999; Koegl et al., 1999)。

U-box功能域在植物、酵母和动物等真核生物中

收稿日期: 2015-07-13; 接受日期: 2016-03-28

基金项目: 现代农业产业技术体系专项(No.CARS-30-yz-2)和国家自然科学基金(No.31471754)

* 通讯作者。E-mail: jiangluyitis@cau.edu.cn

表1 植物U-box泛素连接酶参与生物/非生物胁迫和生长发育

Table 1 List of U-box E3 ubiquitin ligases that have been shown to play roles in plant biotic/abiotic stress resistance and development

名称	来源	功能	正调控+/ 负调控-	调控蛋白	参考文献
生物胁迫					
<i>AtPUB12</i> , <i>AtPUB13</i>	拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	参与PTI途径	-	FLS2	Lu et al., 2011
<i>AtPUB17</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	参与ETI途径, HR反应	+	未知	Yang et al., 2006
<i>AtPUB20</i> (<i>AtCMPG1</i>)	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	参与PTI途径, 定位于细胞核和细胞质	+	AGB1	Heise et al., 2002; Kobayashi et al., 2012
<i>AtPUB21</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	参与PTI途径	-	未知	Gawehns et al., 2013
<i>AtPUB22</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	参与PTI途径, 定位于细胞质	-	Exo70B2	Trujillo et al., 2008; Stegmann et al., 2012
<i>AtPUB23</i> , <i>AtPUB24</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	参与PTI途径, 定位于细胞质	-	未知	Trujillo et al., 2008
<i>MAC3A</i> , <i>MAC3B</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	参与ETI途径, 定位于细胞核	+	AtCDC5	Monaghan et al., 2009
<i>CMPG1-V</i>	簇毛麦(<i>Haynaldia villosa</i>)	与白粉病抗性有关	+	未知	Zhu et al., 2015
<i>CERBERUS</i>	百脉根(<i>Lotus japonicus</i>)	与根瘤形成有关	-	未知	Yano et al., 2009
<i>LIN</i>	百脉根(<i>L. japonicus</i>), 蒺藜 苜蓿(<i>Medicago truncatula</i>)	与根瘤形成有关	未知	未知	Kiss et al., 2009
<i>MtPUB1</i>	蒺藜苜蓿(<i>M. truncatula</i>)	与根瘤形成有关, 定位于细胞膜	-	LYK3	Mbengue et al., 2010; Hervé et al., 2011
<i>NtCMPG1</i> , <i>SlCMPG1</i> (<i>ACRE74</i>)	烟草(<i>Nicotiana tabacum</i>), 番茄(<i>Solanum lycopersicum</i>)	参与ETI途径, HR反应	+	未知	González-Lamothe et al., 2006
<i>NbPUB17</i> , <i>StPUB17</i> (<i>ACRE276</i>)	本氏烟草(<i>N. benthamiana</i>), 马铃薯(<i>Solanum tuberosum</i>)	参与PTI途径, PCD反应; 定位于细胞核	+	未知	He et al., 2015
<i>OsPUB15</i>	水稻(<i>Oryza sativa</i>)	参与PCD, 固有免疫反应	+	PID2	Wang et al., 2015b
<i>OsSPL11</i>	水稻(<i>O. sativa</i>)	参与PCD, HR反应	-	未知	Bae and Kim, 2013
<i>AvrPtoB</i>	丁香假单胞菌 (<i>Pseudomonas syringae</i>) pv. <i>tomato</i>	效应蛋白	未知	未知	Spallek et al., 2009
<i>Avr3a</i>	致病疫霉(<i>Phytophthora infestans</i>)	RxLR类效应蛋白	未知	CMPG1	Bos et al., 2010
非生物胁迫					
<i>AtCHIP</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	低温/高温/干旱	未知	PP2A	Yan et al., 2003; Luo et al., 2006
<i>AtPUB18</i> , <i>AtPUB19</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	盐胁迫/干旱	未知	未知	Bergler and Hoth, 2011; Liu et al., 2011; Seo et al., 2012
<i>AtPUB22</i> , <i>AtPUB23</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	干旱	-	RPN6	Cho et al., 2008; Kurepa et al., 2009; Cho et al., 2015
<i>AtPUB30</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	盐胁迫	-	未知	Hwang et al., 2015
<i>BrPUBs</i>	油菜(<i>Brassica rapa</i>)	低温/高温	未知	未知	Wang et al., 2015a
<i>BgBG55</i>	木榄(<i>Bruguiera gymnorhiza</i>)	盐胁迫	未知	未知	Samuel et al., 2006
<i>CaPUB1</i>	甜椒(<i>Capsicum annuum</i>)	盐胁迫/干旱/损伤	未知	RPN6	Cho et al., 2006
<i>OsPUB15</i>	水稻(<i>O. sativa</i>)	H ₂ O ₂ /盐胁迫/干旱	+	未知	Park et al., 2011
<i>StPUB17</i>	马铃薯(<i>S. tuberosum</i>)	盐胁迫/损伤	+	未知	Ni et al., 2010

表1 (续) Table 1 (continued)

名称	来源	功能	正调控+/ 负调控-	调控蛋白	参考文献
<i>VaPUB</i> 生长发育	山葡萄(<i>Vitis amurensis</i>)	低温/盐胁迫	未知	未知	Jiao et al., 2015
<i>AtPUB4</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	雄性不育, 根部细胞增殖和分裂	未知	未知	Wang et al., 2013; Kinoshita et al., 2015
<i>AtPUB8</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	自交不亲和	未知	SRK	Liu et al., 2007
<i>AtPUB9</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	侧根生长发育	未知	ARK1/ ARK2	Deb et al., 2014
<i>AtPUB13</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	影响开花时间	未知	未知	Li et al., 2012
<i>AtPUB20</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	在花粉、花药、未成熟种子和花托中表达	未知	AGB1	Kobayashi et al., 2012
<i>AtPUB21</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	在花药中表达	未知	未知	Kobayashi et al., 2012
<i>AtPUB43</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	种子萌发和早期生长	未知	未知	Salt et al., 2011
<i>AtPUB44</i> (SAUL1)	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	抑制植株早衰, 与种子萌发和生长发育有关	未知	未知	Drechsel et al., 2011 Salt et al., 2011
<i>BnARC1</i>	油菜(<i>B. napus</i>)	自交不亲和, 花粉管生长, 在柱头表达	+	未知	Newbiggin and Vierstra, 2003; Stone et al., 2003; Zhang et al., 2014
<i>CrPUB</i>	衣藻(<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>)	脂类代谢	未知	未知	Luo et al., 2015
<i>NtPUB4</i>	烟草(<i>N. tabacum</i>)	调控绒毡层细胞生长和降解	未知	CHRK1	Kim et al., 2003
<i>OsPUB15</i>	水稻(<i>O. sativa</i>)	调节活性氧的产生和细胞死亡, 定位于细胞质	+	未知	Park et al., 2011
<i>OsSPL11</i>	水稻(<i>O. sativa</i>)	调节开花时间, 在细胞核发挥作用	未知	SPIN1	Vega-Sánchez et al., 2008
<i>OsTUD1</i>	水稻(<i>O. sativa</i>)	与细胞增殖有关	未知	G protein α subunit D1/RGA	Hu et al., 2013
植物激素、茉莉酸、水杨酸					
<i>AtCHIP</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	脱落酸	未知	未知	Luo et al., 2006
<i>AtPUB9</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	脱落酸	未知	ARK1/ ARK2	Samuel et al., 2008
<i>AtPUB10</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	茉莉酸, 定位于细胞核	未知	MYC2	Jung et al., 2015
<i>AtPUB18</i> , <i>AtPUB19</i>	拟南芥(<i>A. thaliana</i>)	脱落酸	-	未知	Liu et al., 2011; Seo et al., 2012
<i>StPHOR1</i>	马铃薯(<i>S. tuberosum</i>)	赤霉素, 定位于细胞质	+	未知	Amador et al., 2001
<i>StPUB17</i>	马铃薯(<i>S. tuberosum</i>)	茉莉酸、水杨酸、脱落酸、乙烯	未知	未知	Ni et al., 2010

高度保守。通过NCBI检索(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ge1e>)和文献总结, 在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组中发现了64个U-box泛素连接酶(Azevedo et al., 2001; Wiborg et al., 2008); 在本氏烟草(*Nicotiana benthamiana*)中发现了38个; 在水稻(*Oryza sativa*)中发现了77个; 大豆

(*Glycine max*)中发现了43个; 玉米(*Zea mays*)中发现31个; 葡萄(*Vitis vinifera*)中发现31个。除此之外, 在番茄(*Solanum lycopersicum*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)、甜椒(*Capsicum annuum*)和油菜(*Brassica napus*)等植物中也发现了具有功能的U-box泛素连接酶(Mudgil et al., 2004; Samuel et al.,

2006) (表1)。

2 U-box泛素连接酶参与植物多种抗病反应

为了抵御病原物的入侵,植物进化出2套防御屏障(Duplan and Rivas, 2014)。一种是病原物模式分子(pathogen-/microbe-associated molecular patterns, PAMPs/MAMPs)引发的免疫反应PTI (PAMP-triggered immunity)。另一种是效应因子引发的免疫反应ETI (effector-triggered immunity)。在ETI阶段,抗性基因编码的R蛋白可以识别和监控病原物释放的effectors,从而引起细胞过敏性坏死和超敏反应(hypersensitive response, HR)等(Jones and Dangl, 2006)。在PTI和ETI过程中都有相应的泛素连接酶E3发挥作用(表1)。一方面,泛素连接酶可以参与病原物识别过程。例如,拟南芥U-box泛素连接酶AtPUB12和AtPUB13通过多聚泛素化FLS2 (PRRs Flagellin Sensing 2)削弱了宿主对鞭毛蛋白的防御作用(Lu et al., 2011)。另一方面,泛素连接酶参与调节抗性相关信号通路。例如调节膜运输组分或转录因子等。此外,还有研究发现病原物释放的效应因子中,有的本身就是泛素连接酶或泛素连接酶类似物,这类效应因子通过干扰宿主体内的蛋白酶体达到致病目的。

2.1 泛素连接酶参与病原物识别过程

拟南芥U-box泛素连接酶AtPUB12和AtPUB13是PTI免疫过程中的负调控因子,这2个泛素连接酶通过多聚泛素化FLS2削弱了宿主对鞭毛蛋白或flg22的防御作用。AtPUB12、AtPUB13和FLS2形成复合物的过程依赖BAK1。BAK1使AtPUB12和AtPUB13磷酸化,这个磷酸化过程可以被flg22和FLS2/BAK1-associated蛋白激酶BIK1加强(Lu et al., 2011)。在拟南芥中抑制AtPUB13的表达提高了植株对活体营养菌的抗性,但降低了植株对腐殖营养菌的抗性。atpub13突变体表现出自发的细胞死亡和过氧化氢积累的现象(Li et al., 2012)。对拟南芥atpub12/atpub13双突变体进行的研究显示,双突变体中FLS2可以稳定存在,并且突变体对病原物侵染的抗性增强。此外,有研究表明,FLS2的降解受flg22侵染时间和剂量的影响,但是AtPUB12和AtPUB13在这个过程中作用还不

清楚。

2.2 泛素连接酶参与调节抗性相关信号通路

与AtPUB12和AtPUB13相似,AtPUB21、AtPUB22、AtPUB23和AtPUB24也是拟南芥PTI过程中的负调控泛素连接酶。AtPUB22的作用底物是Exo70B2。用flg22处理后,AtPUB22通过介导Exo70B2的降解影响PTI过程。Exo70B2是植株早期抗性反应(如ROS产生和MAPK激活等)过程中的重要调控因子(Stegmann et al., 2012)。此外,有研究表明,atpub22/atpub23/atpub24三突变体的早期抗病信号得到增强(Trujillo et al., 2008)。与以上U-box泛素连接酶的作用相反,AtPUB17、AtPUB20 (AtCMPG1)和MAC是植物抗病过程中的正调控因子。AtPUB17参与调节细胞死亡过程,在沉默了NtPUB17 (ACRE276)基因的Cf-9转基因烟草(Nicotiana tabacum)中瞬时转化AtPUB17,可以恢复植株的HR反应(Yang et al., 2006)。AtPUB20的表达受到PAMP诱导,在体外有自泛素化活性。AtPUB20的作用底物是G-protein β subunit AGB1 (Kobayashi et al., 2012; Gawehns et al., 2013)。而U-box泛素连接酶MAC3A (MOS4-associated complex 3A)和MAC3B在拟南芥R蛋白介导的抗性反应中发挥重要作用,并且可能与RNA加工过程有关(Monaghan et al., 2009)。MAC3A和MAC3B定位于细胞核,与转录因子AtCDC5相互作用。在R基因的拟南芥突变体snc1中进一步突变mac3a/mac3b会抑制snc1植株自发免疫反应的产生。

除了模式植物拟南芥,在烟草、马铃薯、番茄、簇毛麦(Haynaldia villosa)和水稻等植物中也发现了与抗病相关的U-box泛素连接酶(表1)。烟草中的U-box泛素连接酶NtPUB17 (NtACRE276)和AtPUB17序列相似性很高。在Avr9 elicitor处理的Cf-9转基因烟草中NtPUB17被快速诱导,直到植株产生细胞死亡。本氏烟草NbPUB17和马铃薯StPUB17 (又称为ACRE276)是Phytophthora infestans侵染过程中的2个正调控因子。这2个蛋白定位于细胞核,参与PTI和PCD过程。在本氏烟草/马铃薯中沉默基因PUB17,降低了植株对P. infestans的抗性(He et al., 2015)。烟草/番茄中的CMPG1 (ACRE74)也是发挥正调控作用的U-box泛素连接酶,其序列与拟南芥AtPUB20和

AtPUB21相似性很高。在烟草中沉默*NtACRE74*会抑制HR反应,相应地过表达*NtCMPG1*则增强HR反应。番茄中的U-box泛素连接酶SICMPG1受到Avr9诱导,*cmpg1*转基因番茄对*Cladosporium fulvum*的抗性降低(Gonzalez-Lamothe et al., 2006)。在簇毛麦中,U-box泛素连接酶基因*CMPG-V*的表达受到*Blumeria graminis* sp. *tritici* (Bgt)、SA、ABA和过氧化氢的诱导。*CMPG-V*的过表达植株表现出对白粉菌的抗性,这个抗病过程伴随着SA响应基因表达的增强和过氧化氢的积累(Zhu et al., 2015)。

除此之外,U-box泛素连接酶在水稻防御反应中也发挥着重要作用。水稻OsPUB15定位于胞质,与PID2 (PID2K)相互作用。PID2具有激酶活性,可使OsPUB15磷酸化。过表达*OsPUB15*转基因植株在早期有坏死斑出现,并伴随基础防御反应的发生,包括积累过氧化氢和抗性基因表达水平上升等(Wang et al., 2015b)。而水稻OsSPL11是细胞程序化死亡(PCD)过程中的负调节因子。研究显示,除了U-box结构域,OsSPL11 N末端tetra-peptide (IPDE)对于E3与E2的相互作用也是必需的(Zeng et al., 2004; Bae and Kim, 2013)。

2.3 泛素连接酶与效应因子相互作用

病原体释放的效应因子中,有的可以与宿主泛素连接酶直接作用,还有一些本身就具有泛素连接酶的功能。比如,致病疫霉*Phytophthora infestans*释放的RXLR-effector AVR3a以宿主U-box泛素连接酶CMPG1为底物。AVR3a通过阻止宿主马铃薯U-box泛素连接酶StCMPG1的自泛素化反应,以抑制PAMP-like elicitor INF1诱发的细胞死亡(ICD),但这个过程对R3a介导的HR反应没有影响(Bos et al., 2010)。丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*) AvrPtoB效应因子可以抑制宿主体内的PCD过程,AvrPtoB的C末端具有U-box结构域,且该结构域是抑制PCD过程所必需的(Janjusevic et al., 2006; Spallek et al., 2009; Hicks and Galán, 2010)(表1)。

2.4 泛素连接酶参与调节根瘤菌侵染过程

除了PTI/ETI免疫过程,U-box泛素连接酶在根瘤菌侵染和根瘤形成的过程中也发挥着重要作用(表1)。百脉

根(*Lotus japonicus*) U-box蛋白CERBERUS负调控结瘤的形成和免疫反应。CERBERUS在infection threads (ITs)形成的早期阶段和结节生长发育及分化过程中发挥作用。CERBERUS在根和结节处表达,根瘤菌*Mesorhizobium loti*侵染后其表达量增加。在*cerberus*突变体中,根瘤菌可以侵染根尖,但很难渗入到细胞内(Yano et al., 2009)。Kiss等(2009)发现百脉根和蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*) U-box泛素连接酶LIN (lumpy infections)作用于早期根瘤菌共生过程,LIN是钙/钙调蛋白激酶激活的自发节瘤形成过程的关键因素,该蛋白可能参与调节结瘤因子信号转导过程中的组分。此外,蒺藜苜蓿中U-box泛素连接酶MtPUB1可以被LYK3激酶磷酸化,是LYK3信号通路的负调控因子。LYK3在固氮作用和根瘤共生过程中发挥作用。MtPUB1定位于细胞膜,被结瘤因子nod factors诱导。过表达MtPUB1会导致根瘤菌侵染后根瘤形成的延迟(Mbengue et al., 2010; Hervé et al., 2011)。

3 U-box泛素连接酶参与植物非生物胁迫过程

在拟南芥中,U-box泛素连接酶AtPUB18、19、22、23、30和AtCHIP分别与盐胁迫、干旱和高/低温胁迫有关(表1)。在盐胁迫方面,AtPUB18和AtPUB19的表达受NaCl诱导。与野生型拟南芥相比,*atpub18-1/atpub19-1*双突变体表现出盐敏感性。但是在*atpub18-1*或*atpub19-1*单突变体中并没有与盐胁迫相关的表型出现(Bergler and Hoth, 2011)。拟南芥AtPUB30也受到盐胁迫诱导,研究发现该基因的突变体在种子萌发阶段对盐胁迫的耐受性增强(Hwang et al., 2015)。在干旱方面,AtPUB19是ABA介导的抗旱调控通路的负调控因子。不过与*atpub18-2*或*atpub19-3*单突变体相比,拟南芥*atpub18-2/atpub19-3*双突变体却表现出对干旱的耐受性(Liu et al., 2011; Seo et al., 2012)。AtPUB22和AtPUB23也是抗旱调控通路中的负调控因子,它们通过调节RPN12a的表达来发挥作用(Cho et al., 2008)。研究表明,*atpub22*和*atpub23*单突变体植株均表现出抗旱性,而过表达AtPUB22或AtPUB23则降低了植株对干旱的耐受性(Kurepa et al., 2009)。此外,与*atpub18-2/atpub19-3*和*atpub22/*

*atpub23*双突变体相比, *atpub18-2/atpub19-3/atpub-22/atpub23*四突变体的抗旱性增强(Seo et al., 2012)。

在高/低温胁迫方面, 拟南芥 *AtCHIP* 的表达受到低温和高温的调节, 在细胞代谢中发挥着重要作用(表1)。CHIP (C-terminal of Hsp70 interacting protein) 是二聚的U-box泛素连接酶, 通过TPR结构域与Hsp90/Hsp70 (heat-shock protein) 末端肽结合。CHIP二聚物的TPR结构域是不对称的, 这挡住了与泛素结合的1个活性位点。因此, CHIP操纵半个活性位点, 伴侣蛋白操纵另一半(Cyr et al., 2002; Murata et al., 2003; Zhang et al., 2005)。AtCHIP具有3个肽重复序列和1个U-box结构域, 这一点与动物CHIP相似。但是有研究表明, 单独提高*AtCHIP*的表达并不能提高植株对低温或高温的耐受性。过表达*AtCHIP*的拟南芥植株反而对低温和干旱敏感(Yan et al., 2003)。AtCHIP与PP2A (A subunit of protein phosphatase 2A) 相互作用。在低温和黑暗处理下, 转基因植株中PP2A表达量增加(Luo et al., 2006)。

除了模式植物拟南芥, 在甜椒、马铃薯、山葡萄 (*V. amurensis*) 和水稻等植物中也发现了与非生物胁迫相关的U-box泛素连接酶(表1)。甜椒U-box泛素连接酶CaPUB1的泛素化底物是RPN6, CaPUB1参与非生物胁迫的早期抗性反应。该基因的表达会快速地被非生物胁迫(如干旱、低温和机械损伤)诱导。与野生型拟南芥相比, 过表达CaPUB1的拟南芥具有更长的下胚轴和根长, 生长速度更快, 抽薹更早(Cho et al., 2006)。在马铃薯中, U-box泛素连接酶基因*StPUB17*的表达受到机械损伤的诱导。马铃薯突变体*stpub17*对盐胁迫敏感(Ni et al., 2010)。Jiao等(2015)在山葡萄品种左山一中发现了1个定位于细胞核的U-box蛋白VaPUB。VaPUB受到低温调控, 在拟南芥中过表达VaPUB可以增强植株的抗寒性和耐盐性。在H₂O₂、盐或干旱胁迫下, 水稻*OsPUB15*转录水平显著增加, 过表达*OsPUB15*可以增强植株的耐盐性(Park et al., 2011)。此外, 还有研究表明, 白菜型油菜 (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) *BrPUBs*受低温和高温诱导; 木榄(*Bruguiera gymnorrhiza*) *BgBG55*的表达受盐胁迫诱导(Samuel et al., 2006; Wang et al., 2015a)。

4 U-box泛素连接酶参与调节植物生长发育

泛素连接酶在植物生长发育的各个阶段, 包括种子萌发、营养生长和叶片衰老等过程中都发挥着重要作用(表1)。AtPUB4参与拟南芥雄性不育的调控通路。*atpub4*突变体表现出绒毡层不完全退化和花粉壁外膜显著不正常的表型。虽然突变体的花粉有活力, 但是花粉粒彼此黏附。进一步研究发现, *atpub4*突变体雄性不育的现象与温度有关, 在22°C花粉不育, 但是在16°C有一部分可以恢复育性(Wang et al., 2013)。此外, AtPUB4在根部细胞增殖和分裂过程中发挥重要作用, 该蛋白可能参与调控根部分生组织中CLV3 (CLAVATA3)肽段信号通路(Kinoshita et al., 2015)。AtPUB8与植物自交不亲和现象有关。AtPUB8可以调控SRK (S-locus receptor kinase)的转录水平(Liu et al., 2007)。AtPUB9调控侧根生长发育, 该蛋白可以在自噬体中与AtARK2相互作用。ARK2激酶作用于AtPUB9上游, 拟南芥双突变体*ark2-1/pub9-1*在磷酸盐缺乏的环境下表现出严重的侧根缺少和生长素积累的表型, 外施生长素可以修复双突变体侧根生长的缺陷(Deb et al., 2014)。AtPUB13参与调节拟南芥花期, *atpub13*突变体在中/长日照条件下出现早开花的现象(Li et al., 2012)。AtPUB20 (AtCMPG1)和AtPUB21序列相似性很高。AtPUB20的作用底物是G蛋白AGB1, 并且具有自泛素化活性。进一步研究表明, *AtPUB20*启动子在花药、花粉、不成熟的种子和花托中被激活, *AtPUB21*启动子在花药中被激活(Kobayashi et al., 2012)。AtPUB43和AtPUB44在种子萌发与早期的发育过程中发挥作用。*atpub44*纯合突变体的子叶和根部都出现细胞坏死的现象, 植株的抗病性也没有得到增强。与*atpub44*相反, *atpub43*纯和突变体并没有细胞坏死的现象。此外, AtPUB44 (SAUL1)还是植株早衰和细胞死亡的抑制因子, 该蛋白可以在细胞质、细胞膜和细胞核中表达, 并且可以根据不同的功能改变作用的位置, 比如可以从细胞核转移到细胞膜(Drechsel et al., 2011; Salt et al., 2011)。

与在拟南芥中的作用相似, U-box泛素连接酶在油菜、衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)、烟草和水稻的生长发育过程中也扮演着重要角色。在油菜中,

U-box泛素连接酶ARC1是孢子体型自交不亲和和信号转导途径下游非常重要的作用因子。ARC的C端臂重复结构域与SRK的激酶域结合,被磷酸化的ARC1可通过其N末端的亮氨酸拉链和卷曲螺旋结构域与细胞核、细胞质基质中的信号转导元件或从内质网(ER)中输出的信号转导元件结合(Stone et al., 2003)。信号转导元件的降解导致自交不亲和的发生。因此,抑制ARC1的表达可以减少自交不亲和现象的发生(Newbiggin and Vierstra, 2003)。由于具有核定位信号和核输出信号,ARC1能够在细胞核和细胞质基质中穿梭,不过ARC1主要在细胞质基质中发挥作用(Yu et al., 2006)。

在烟草中,NtPUB4调控绒毯层细胞生长和降解。该蛋白通过调节几丁质酶相关激酶CHRK1来调节植株生长和内生细胞分裂素信号通路。NtPUB4与AtPUB4序列相似性很高,定位于细胞膜(Kim et al., 2003)。水稻OsPUB15是生长发育过程中的正调控因子,ospub15突变体植株生长明显迟缓,芽的发育也显著推迟,这种迟缓现象可以被2种抗氧化剂儿茶酸和抗坏血酸恢复。与野生型相比,突变体中H₂O₂和氧化蛋白的含量显著增加(Park et al., 2011)。与OsPUB15的正调控作用相反,水稻SPL11在细胞核中与水稻开花的负调控因子SPIN1 (SPL11-interacting protein1)相互作用,从而影响植株的开花时间(Vega-Sánchez et al., 2008)。水稻U-box泛素连接酶TUD1 (Taihu dwarf 1)通过和D1 (heterotrimeric G protein α subunit)协同调节油菜素内酯BR的信号通路,进而影响水稻的生长发育。tud1突变体对BR处理不敏感,而tud1植株的矮化现象主要是由地上部分器官细胞数目减少和细胞层排列紊乱造成的(Hu et al., 2013)。除此之外,Luo等(2015)发现,衣藻U-box泛素连接酶CrPUBs与脂代谢有关。将基因CrPUB5沉默后,可以诱导9.8%–46.0%的脂类积累;将基因CrPUB14沉默后,可以诱导14.4%–61.8%的脂类积累。

5 U-box泛素连接酶参与植物激素、茉莉酸及水杨酸调控通路

植物在应对外界环境变化时会对自身代谢途径进行严格的调控。植物细胞接收到特定环境信号后,会诱

导激素的产生。植物激素包括生长素、赤霉素、细胞分裂素、脱落酸、乙烯和油菜素内酯。泛素化作为蛋白质转录后调节的重要方式在激素信号通路中发挥重要作用(表1)。

拟南芥U-box泛素连接酶AtPUB9、18、19和AtCHIP与脱落酸(ABA)信号通路有关。在ABA处理下,AtPUB9在细胞膜重新分配。与野生型相比,ark1和atpub9突变体种子在萌发时对ABA耐受性增强(Samuel et al., 2008)。AtPUB18负调控ABA介导的气孔关闭过程,AtPUB19负调控ABA介导的干旱反应。atpub18-2/atpub19-3双突变体对ABA和H₂O₂敏感,但对钙信号不敏感,因此推测AtPUB18和AtPUB19作用于H₂O₂调控通路下游,钙信号上游。由于atpub18-2/atpub19-3/atpub22/atpub23四突变体气孔开闭的观察结果与atpub18-2/atpub19-3双突变体相似,推测AtPUB18介导的气孔关闭过程与AtPUB22和AtPUB23无关(Liu et al., 2011; Seo et al., 2012)。此外,过表达AtCHIP的转基因拟南芥对ABA敏感(Luo et al., 2006)。除了脱落酸通路,Jung等(2015)发现AtPUB10定位于细胞核,与茉莉酸(JA)信号通路中重要调节因子MYC2相互作用,MYC2的表达在atpub10突变体中更稳定。

除了拟南芥U-box泛素连接酶,马铃薯StPUB17的表达也受到茉莉酸、水杨酸、ABA和乙烯的调控(Ni et al., 2010)。马铃薯StPHOR1则与赤霉素通路有关,StPHOR1定位于细胞质(Amador et al., 2001)。此外,有研究表明在水稻中突变U-box泛素连接酶基因可能造成植株对油菜素内酯不敏感(Ren et al., 2014)。

6 总结与展望

为了应对外界环境的变化,植物进化出一套精密且严格的调控机制。泛素化通过介导蛋白质转录后修饰过程,在植物体内发挥着极为重要的作用。在拟南芥中,1300多个基因编码与泛素蛋白酶体途径相关的蛋白,其中200多个基因都编码泛素连接酶,这些泛素连接酶分别参与生物/非生物胁迫反应和生长发育过程(Yee and Goring, 2009)。虽然越来越多的泛素连接酶被鉴定出来,但它们的作用机制尚不清楚。挖掘和鉴定更多泛素连接酶的上游调控因子和下游作用底物,对于深入了解其功能具有重要意义。此外,同一

个U-box泛素连接酶可能受到多种因素的调控,参与多种反应。例如,拟南芥中U-box泛素连接酶AtPUB13、AtPUB20和AtPUB21既参与植物抗病反应,又与生长发育过程相关。AtPUB18和AtPUB19既参与植物干旱调控通路,又参与盐胁迫调控通路。AtPUB22和AtPUB23在抗旱、抗病和植物生长发育过程中都发挥重要作用。泛素连接酶的这种作用模式也为一些交叉信号通路的研究提供了新的依据。

启动子决定了转录起始位点和转录启动活性,其包含的顺式作用元件能够与反式作用因子相结合,调控基因的转录水平。研究泛素连接酶的启动子序列和启动子活性以及分析序列中存在的顺式作用元件等,对于进一步认识泛素连接酶的调控机制具有一定的帮助。泛素连接酶决定了泛素化过程底物的特异性,因此挖掘泛素连接酶的作用底物对于揭示泛素化的作用机制具有重要意义。目前,挖掘互作底物的常用方法有酵母双杂交和免疫共沉淀等。酵母双杂交具有操作简单和直观的优点,但是不适用于膜蛋白和互作前需要被修饰的蛋白等。例如,AtPUB12、AtPUB13和FLS2形成复合物前需要被BAK1磷酸化,因此对于该蛋白底物的筛选并不能采用酵母双杂交技术。免疫共沉淀技术能够弥补酵母双杂交技术的不足,但是操作较繁琐。因此,针对不同泛素连接酶选择合适的底物挖掘方法至关重要。此外,新技术的不断发展与应用也为揭示泛素连接酶的功能提供了新思路和新证据。例如,利用转录组和蛋白质组等方法对实验材料进行研究,就可以比较全面地从转录、翻译和代谢3个方面对基因功能和基因参与的调控网络进行分析。相信随着人们对泛素连接酶功能认识的加深,对植物体内抗性调节机制的理解也将有新的进展与突破。

参考文献

- 于晓敏, 蓝兴国, 李玉花 (2006). 泛素/26S蛋白酶体途径与显花植物自交不亲和反应. *植物学报* **23**, 197–206.
- Amador V, Monte E, Garcia-Martinez 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.
- Bae H, Kim WT (2013). The N-terminal tetra-peptide (IPDE) short extension of the U-box motif in rice SPL11 E3 is essential for the interaction with E2 and ubiquitin-ligase activity. *Biochem Biophys Res Commun* **433**, 266–271.
- Ballinger CA, Connell P, Wu Y, Hu Z, Thompson LJ, Yin LY, Patterson C (1999). Identification of CHIP, a novel tetratricopeptide repeat-containing protein that interacts with heat shock proteins and negatively regulates chaperone functions. *Mol Cell Biol* **19**, 4535–4545.
- Bergler J, Hoth S (2011). Plant U-box armadillo repeat proteins AtPUB18 and AtPUB19 are involved in salt inhibition of germination in Arabidopsis. *Plant Biol* **13**, 725–730.
- Bos JI, Armstrong MR, Gilroy EM, Boevink PC, Hein I, Taylor RM, Zhendong T, Engelhardt S, Vetukuri RR, Harrower B, Dixelius C, Bryan G, Sadanandom A, Whisson SC, Kamoun S, Birch PR (2010). *Phytophthora infestans* effector AVR3a is essential for virulence and manipulates plant immunity by stabilizing host E3 ligase CMPG1. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**, 9909–9914.
- Cho SK, Bae H, Ryu MY, Yang SW, Kim WT (2015). PUB22 and PUB23 U-BOX E3 ligases directly ubiquitinate RPN6, a 26S proteasome lid subunit, for subsequent degradation in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem Biophys Res Commun* **464**, 994–999.
- Cho SK, Chung HS, Ryu MY, Park MJ, Lee MM, Bahk YY, Kim J, Pai HS, Kim WT (2006). Heterologous expression and molecular and cellular characterization of *CaPUB1* encoding a hot pepper U-Box E3 ubiquitin ligase homolog. *Plant Physiol* **142**, 1664–1682.
- Cho SK, Ryu MY, Song C, Kwak JM, Kim WT (2008). Arabidopsis PUB22 and PUB23 are homologous U-box E3 ubiquitin ligases that play combinatory roles in response to drought stress. *Plant Cell* **20**, 1899–1914.
- Cyr DM, Höhfeld J, Patterson C (2002). Protein quality control, U-box-containing E3 ubiquitin ligases join the fold. *Trends Biochem Sci* **27**, 368–375.
- Deb S, Sankaranarayanan S, Wewala G, Widdup E, Samuel MA (2014). The S-domain receptor kinase At-ARK2 and the U-box/ARM-repeat-containing E3 ubiquitin

- ligase AtPUB9 module mediates lateral root development under phosphate starvation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **165**, 1647–1656.
- Drechsel G, Bergler J, Wippel K, Sauer N, Vogelmann K, Hoth S** (2011). C-terminal armadillo repeats are essential and sufficient for association of the plant U-box armadillo E3 ubiquitin ligase SAUL1 with the plasma membrane. *J Exp Bot* **62**, 775–785.
- Duplan V, Rivas S** (2014). E3 ubiquitin-ligases and their target proteins during the regulation of plant innate immunity. *Front Plant Sci* **5**, 42.
- Gawehns F, Cornelissen BJC, Takken FLW** (2013). The potential of effector-target genes in breeding for plant innate immunity. *Microb Biotechnol* **6**, 223–229.
- 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.
- He Q, McLellan H, Boevink PC, Sadanandom A, Xie C, Birch PR, Tian Z** (2015). U-box E3 ubiquitin ligase PUB17 acts in the nucleus to promote specific immune pathways triggered by *Phytophthora infestans*. *J Exp Bot* **66**, 3189–3199.
- Heise A, Lippok B, Kirsch C, Hahlbrock K** (2002). Two immediate-early pathogen-responsive members of the *AtCMPG* gene family in *Arabidopsis thaliana* and the W-box-containing elicitor-response element of *AtCMPG1*. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 9049–9054.
- Hervé C, Lefebvre B, Cullimore J** (2011). How many E3 ubiquitin ligases are involved in the regulation of nodulation? *Plant Signal Behav* **6**, 660–664.
- Hicks SW, Galán JE** (2010). Hijacking the host ubiquitin pathway, structural strategies of bacterial E3 ubiquitin ligases. *Curr Opin Microbiol* **13**, 41–46.
- Hu X, Qian Q, Xu T, Zhang Y, Dong G, Gao T, Xie Q, Xue Y** (2013). The U-Box E3 ubiquitin ligase TUD1 functions with a heterotrimeric G α subunit to regulate brassinosteroid-mediated growth in rice. *PLoS Genet* **9**, e1003391.
- Hwang JH, Seo DH, Kang BG, Kwak JM, Kim WT** (2015). Suppression of *Arabidopsis AtPUB30* resulted in increased tolerance to salt stress during germination. *Plant Cell Rep* **34**, 277–289.
- Janjusevic R, Abramovitch RB, Martin GB, Stebbins CE** (2006). A bacterial inhibitor of host programmed cell death defenses is an E3 ubiquitin ligase. *Science* **311**, 222–226.
- Jiao L, Zhang Y, Wu J, Zhang HQ, Lu J** (2015). A novel U-box protein gene from “Zuoshanyi” grapevine (*Vitis amurensis* Rupr. cv.) involved in cold responsive gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol Rep* **33**, 557–568.
- Jones JD, Dangl JL** (2006). The plant immune system. *Nature* **444**, 323–329.
- Jung C, Zhao P, Seo JS, Mitsuda N, Deng S, Chua NH** (2015). Plant U-box protein10 regulates MYC2 stability in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **27**, 2016–2031.
- Kim M, Cho HS, Kim D, Lee JH, Pai HS** (2003). CHRK1, a chitinase-related receptor-like kinase, interacts with NtPUB4, an armadillo repeat protein, in tobacco. *BBA-Proteins Proteom* **1651**, 50–59.
- Kinoshita A, Colette A, Tabata R, Yamada M, Shimizu N, Ishida T, Yamaguchi K, Shigenobu S, Takebayashi Y, Iuchi S, Kobayashi M, Kurata T, Wada T, Seo M, Hasebe M, Blilou I, Fukuda H, Scheres B, Heidstra R, Kamiya Y, Sawa S** (2015). A plant U-box protein, PUB4, regulates asymmetric cell division and cell proliferation in the root meristem. *Development* **142**, 444–453.
- Kiss E, Oláh B, Kaló P, Morales M, Heckmann AB, Borbola A, Lózsa A, Kontár K, Middleton P, Downie JA, Oldroyd GE, Endre G** (2009). LIN, a novel type of U-box/WD40 protein, controls early infection by rhizobia in legumes. *Plant Physiol* **151**, 1239–1249.
- Kobayashi S, Tsugama D, Liu S, Takano T** (2012). A U-Box E3 ubiquitin ligase, PUB20, interacts with the *Arabidopsis* G-protein β subunit, AGB1. *PLoS One* **7**, e49207.
- 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.
- Kurepa J, Wang S, Li Y, Smalle J** (2009). Proteasome regulation, plant growth and stress tolerance. *Plant Signal Behav* **4**, 924–927.
- Li W, Ahn IP, Ning Y, Park CH, Zeng L, Whitehill JG, Lu H, Zhao Q, Ding B, Xie Q, Zhou JM, Dai L, Wang GL** (2012). The U-Box/ARM E3 ligase PUB13 regulates cell death, defense, and flowering time in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **159**, 239–250.
- 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.
- Liu YC, Wu YR, Huang XH, Sun J, Xie Q** (2011). AtPUB19, a U-box E3 ubiquitin ligase, negatively regulates abscisic acid and drought responses in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant* **4**, 938–946.

- Lu D, Lin W, Gao X, Wu S, Cheng C, Avila J, Heese A, Devarenne TP, He P, Shan L (2011). Direct ubiquitination of pattern recognition receptor FLS2 attenuates plant innate immunity. *Science* **332**, 1439–1442.
- Luo J, Shen G, Yan J, He C, Zhang H (2006). AtCHIP functions as an E3 ubiquitin ligase of protein phosphatase 2A subunits and alters plant response to abscisic acid treatment. *Plant J* **46**, 649–657.
- Luo Q, Li Y, Wang W, Fei X, Deng X (2015). Genome-wide survey and expression analysis of *Chlamydomonas reinhardtii* U-box E3 ubiquitin ligases (CrPUBs) reveal a functional lipid metabolism module. *PLoS One* **10**, e0122600.
- Mazzucotelli E, Belloni S, Marone D, De Leonardis A, Guerra D, DiFonzo N, Cattivelli L, Mastrangelo A (2006). The E3 ubiquitin ligase gene family in plants, regulation by degradation. *Curr Genomics* **7**, 509–522.
- Mbengue M, Camut S, de Carvalho-Niebel F, Deslandes L, Froidure S, Klaus-Heisen D, Moreau S, Rivas S, Timmers T, Hervé C, Cullimore J, Lefebvre B (2010). The *Medicago truncatula* E3 ubiquitin ligase PUB1 interacts with the LYK3 symbiotic receptor and negatively regulates infection and nodulation. *Plant Cell* **22**, 3474–3488.
- McGinnis KM, Thomas SG, Soule JD, Strader LC, Zale JM, Sun TP, Steber CM (2003). The Arabidopsis *SLEEPY1* gene encodes a putative F-box subunit of an SCF E3 ubiquitin ligase. *Plant Cell* **15**, 1120–1130.
- Monaghan J, Xu F, Gao M, Zhao Q, Palma K, Long C, Chen S, Zhang Y, Li X (2009). Two Prp19-like U-box proteins in the MOS4-associated complex play redundant roles in plant innate immunity. *PLoS Pathog* **5**, e1000526.
- 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.
- Murata S, Chiba T, Tanaka K (2003). CHIP, a quality-control E3 ligase collaborating with molecular chaperones. *Int J Biochem Cell Biol* **35**, 572–578.
- Newbiggin E, Vierstra RD (2003). Plant reproduction, sex and self-denial. *Nature* **423**, 229–230.
- Ni X, Tian Z, Liu J, Song B, Li J, Shi XL, Xie CH (2010). *StPUB17*, a novel potato UND/PUB/ARM repeat type gene, is associated with late blight resistance and NaCl stress. *Plant Sci* **178**, 158–169.
- Park J, Yi J, Yoon J, Cho LH, Ping J, Jeong HJ, Cho SK, Kim WT, An G (2011). OsPUB15, an E3 ubiquitin ligase, functions to reduce cellular oxidative stress during seedling establishment. *Plant J* **65**, 194–205.
- Pukatzki S, Tordilla N, Franke J, Kessin RH (1998). A novel component involved in ubiquitination is required for development of *Dictyostelium discoideum*. *J Biol Chem* **273**, 24131–24138.
- Ren Y, Tang Y, Xie K, Li WB, Ye SM, Gao FY, Zou T, Li XM, Deng QM (2014). Mutation of a U-box E3 ubiquitin ligase results in brassinosteroid insensitivity in rice. *Mol Breed* **34**, 115–125.
- Salt JN, Yoshioka K, Wolfgang M, Goring DR (2011). Altered germination and subcellular localization patterns for PUB44/SAUL1 in response to stress and phytohormone treatments. *PLoS One* **6**, e21321.
- Samuel MA, Mudgil Y, Salt JN, Delmas F, Ramachandran S, Chilelli 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.
- Samuel MA, Salt JN, Shiu SH, Goring DR (2006). Multifunctional arm repeat domains in plants. *Int Rev Cytol* **253**, 1–26.
- Seo DH, Ryu MY, Jammes F, Hwang JH, Turek M, Kang BG, Kwak JM, Kim WT (2012). Roles of four Arabidopsis U-box E3 ubiquitin ligases in negative regulation of abscisic acid-mediated drought stress responses. *Plant Physiol* **160**, 556–568.
- Spallek T, Robatzek S, Göhre V (2009). How microbes utilize host ubiquitination. *Cell Microbiol* **11**, 1425–1434.
- Stegmann M, Anderson RG, Ichimura K, Pecenkova T, Reuter P, Žárský V, McDowell JM, Shirasu K, Trujillo M (2012). The ubiquitin ligase PUB22 targets a subunit of the exocyst complex required for PAMP-triggered responses in Arabidopsis. *Plant Cell* **24**, 4703–4716.
- 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.
- Trujillo M, Ichimura K, Casais C, Shirasu K (2008). Negative regulation of PAMP-Triggered Immunity by an E3 ubiquitin ligase triplet in Arabidopsis. *Curr Biol* **18**, 1396–1401.
- Vega-Sánchez ME, Zeng L, Chen S, Leung H, Wang GL (2008). SPIN1, a K homology domain protein negatively regulated and ubiquitinated by the E3 ubiquitin ligase SPL11, is involved in flowering time control in rice. *Plant Cell* **20**, 1456–1469.
- Vierstra RD (2009). The ubiquitin-26S proteasome system

- at the nexus of plant biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* **10**, 385–397.
- Wang C, Duan W, Riquicho AR, Jing Z, Liu T, Hou X, Li Y** (2015a). Genome-wide survey and expression analysis of the PUB family in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *Mol Genet Genomics* **290**, 2241–2260.
- Wang H, Lu Y, Jiang T, Berg H, Li C, Xia Y** (2013). The Arabidopsis U-box/ARM repeat E3 ligase AtPUB4 influences growth and degeneration of tapetal cells, and its mutation leads to conditional male sterility. *Plant J* **74**, 511–523.
- Wang J, Qu B, Dou S, Li L, Yin D, Pang Z, Zhou Z, Tian M, Liu G, Xie Q, Tang D, Chen X, Zhu L** (2015b). The E3 ligase OsPUB15 interacts with the receptor-like kinase PID2 and regulates plant cell death and innate immunity. *BMC Plant Biol* **15**, 49.
- 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.
- Yan J, Wang J, Li Q, Hwang JR, Patterson C, Zhang H** (2003). AtCHIP, a U-box-containing E3 ubiquitin ligase, plays a critical role in temperature stress tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiol* **132**, 861–869.
- 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.
- Yano K, Shibata S, Chen WL, Sato S, Kaneko T, Jurkiewicz A, Sandal N, Banba M, Imaizumi-Anraku H, Kojima T, Ohtomo R, Szczyglowski K, Stougaard J, Tabata S, Hayashi M, Kouchi H, Umehara Y** (2009). CERBERUS, a novel U-box protein containing WD-40 repeats, is required for formation of the infection thread and nodule development in the legume-Rhizobium symbiosis. *Plant J* **60**, 168–180.
- Yee D, Goring DR** (2009). The diversity of plant U-box E3 ubiquitin ligases: from upstream activators to downstream target substrates. *J Exp Bot* **60**, 1109–1121.
- 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.
- Zhang J, Rea AC, Fu T, Ma C, Nasrallah JB** (2014). Exploring the role of a stigma-expressed plant U-box gene in the pollination responses of transgenic self-incompatible *Arabidopsis thaliana*. *Plant Reprod* **27**, 59–68.
- Zhang M, Windheim M, Roe SM, Peggie M, Cohen P, Prodromou C, Pearl LH** (2005). Chaperoned ubiquitylation-crystal structures of the CHIP U box E3 ubiquitin ligase and a CHIP-Ubc13-Uev1a complex. *Mol Cell* **20**, 525–538.
- Zhu Y, Li Y, Fei F, Wang Z, Wang W, Cao A, Liu Y, Han S, Xing L, Wang H, Chen W, Tang S, Huang X, Shen Q, Xie Q, Wang X** (2015). An E3 ubiquitin ligase gene *CMPG1-V* from *Haynaldia villosa* L. contributes to the powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant J* **84**, 154–168.

U-box E3 Ubiquitin Ligases Regulate Stress Tolerance and Growth of Plants

Li Jiao, Shufang Fu, Yali Zhang, Jiang Lu*

College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

Abstract Ubiquitin-mediated proteolysis is an integral part of diverse cellular functions. As a component of the ubiquitin conjugation system, E3 ubiquitin ligase is the key element determining the substrate specificity of ubiquitination. E3 ligase plays an important role against various environmental stresses such as drought, salinity, chilling, and pathogen attack and has a function in plant growth and development. There are 4 different types of E3 ubiquitin ligases: RING, U-box, HECT, and F-box. We summarize the recent progress in the function of U-box E3 ubiquitin ligases in plant biotic/abiotic stress resistance and development. We also discuss possible directions that might provide valuable information for further research of the regulation of ubiquitin-mediated plant proteolysis.

Key words U-box ubiquitin ligases, biotic stress, abiotic stress, growth and development

Jiao L, Fu SF, Zhang YL, Lu J (2016). U-box E3 ubiquitin ligases regulate stress tolerance and growth of plants. *Chin Bull Bot* 51, 724–735.

* Author for correspondence. E-mail: jianglue@cau.edu.cn