

· 特邀综述 ·

# 泛素连接酶E3介导的植物干旱胁迫反应

宁约瑟<sup>1,2</sup>, 王国梁<sup>1</sup>, 谢旗<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>湖南农业大学湖南省作物种质创新与资源利用重点实验室, 长沙 410128

<sup>2</sup>中国科学院遗传与发育生物学研究所, 国家植物基因研究中心, 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101

**摘要** 干旱胁迫严重影响农作物的产量和质量, 制约全球的农业生产。泛素连接酶E3是一个种类繁多的大家族, 涉及对植物生长发育和逆境胁迫响应等过程中关键步骤的控制。该文概述了植物干旱胁迫的调控机制和植物的泛素连接酶E3, 并着重阐述了泛素连接酶E3介导的植物干旱胁迫反应及其作用机制。

**关键词** 干旱胁迫, 翻译后修饰, 泛素, 泛素连接酶E3

宁约瑟, 王国梁, 谢旗 (2011). 泛素连接酶E3介导的植物干旱胁迫反应. 植物学报 46, 606–616.

干旱胁迫是影响农业生产最重要的非生物胁迫之一, 也是当前植物科学研究中最重要和最活跃的研究领域之一。泛素介导的蛋白酶体途径是植物体内蛋白质翻译后修饰水平最重要的调控机制之一, 其中泛素连接酶E3决定底物蛋白的特异性选择。最近的研究表明, 泛素连接酶E3在植物干旱胁迫中发挥着重要作用。本文综述了目前泛素连接酶E3参与的植物干旱胁迫调控研究进展, 并展望了未来的研究方向, 以期为进一步解析植物的干旱胁迫调控机制提供新线索。

## 1 植物的干旱胁迫及其调控机制

植物固着生长的特性使其在生长发育过程中不可避免地与环境有着密切的关联。当面临逆境胁迫时, 植物必须能够应对这些逆境才能存活(Ahuja et al., 2010; Hirayama and Shinozaki, 2010; Peleg and Blumwald, 2011)。干旱胁迫可发生在植物的不同发育阶段, 并影响植物形态建成的每一个方面, 是导致作物减产的最主要原因(Boyer, 1982; Luo, 2010; Yang et al., 2010), 成为目前人口日益增长情况下实现农业可持续发展的重大挑战(Takeda and Matsuoka, 2008; Ahuja et al., 2010; Yang et al., 2010)。例如, 2003年欧洲热浪引起的干旱和高温胁迫造成全欧洲范围内粮食减产大约30%(Ciais et al., 2005)。目前, 干旱胁迫已经普遍发生于大多数农作物种植区,

而且根据联合国政府间气候变化专门委员会的报道(www.ipcc.ch), 随着全球气候的变化, 干旱胁迫在未来出现的频率会越来越高。因此, 有关植物应对干旱胁迫反应的研究显得极为迫切和重要。

研究表明, 干旱可导致植物一系列的生理和生化反应, 包括气孔关闭、抑制细胞的分裂和延伸、改变细胞壁的弹性、抑制光合作用和激活呼吸作用等, 从而影响植物的生长和发育(Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2007; Ahuja et al., 2010)。在分子和细胞水平上, 植物也做出相应调节来应对干旱胁迫, 如干旱胁迫时, 植物能够快速积累渗透调节剂等特异参与胁迫抗性的蛋白(Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2007)。一系列具有不同功能的基因在干旱处理后表达受到诱导或抑制, 根据这些干旱相关基因的功能, 主要可分为2类: 第1类作为功能蛋白参与干旱胁迫的直接调控, 包括分子伴侣、LEA蛋白、抗冻蛋白、mRNA结合蛋白、水通道蛋白、转运蛋白、蔗糖、脯氨酸以及各种蛋白酶等; 第2类是调节蛋白, 主要参与调控干旱胁迫的信号转导和胁迫相关基因的表达, 包括不同家族的转录因子(DREB2、AREB、MYC、MYB、bZIP和NAC等)、蛋白激酶、磷酸酶、磷脂代谢酶以及钙调素结合蛋白等信号分子(Shinozaki et al., 2003; Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2007)。

干旱胁迫可引起内源植物激素脱落酸(abscisic

收稿日期: 2011-05-16; 接受日期: 2011-06-24

基金项目: 国家自然科学基金(No.31030047)和国家重点基础研究发展规划(No.2011CB915402)

\* 通讯作者。E-mail: qxie@genetics.ac.cn

acid, ABA)含量的增加, 进而激活一系列依赖于ABA的信号转导通路; 对ABA不敏感或合成缺失拟南芥突变体的研究表明, 存在一类不依赖于ABA信号转导通路参与对植物干旱胁迫响应过程的调控通路(Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006; Nakashima et al., 2009; Hirayama and Shinozaki, 2010)。Shinozaki和Yamaguchi-Shinozaki(2007)将干旱胁迫引起的信号转导途径总结为5条: 其中, 3条通路(MYB2、MYC2; RD26; AREB/ABF)依赖于ABA信号途径, 2条通路(HD-ZIP和DREB2)不依赖于ABA信号途径。但根据其调控模式, 干旱胁迫调控主要可分为4个层面: 转录水平调控、转录后水平调控、表观遗传学水平调控以及翻译后修饰水平调控(Hirayama and Shinozaki, 2010)。其中, 以转录水平调控的研究报道最多, 是研究得最清楚的一个层次, 已有很多评述文章对此进行了综合概括(Xiong et al., 2002; Zhu, 2002; Yamaguchi-Shinozaki and Shi-

nozaki, 2006; Nakashima et al., 2009; Hirayama and Shinozaki, 2010)。翻译后修饰水平调控主要包括泛素化修饰、SUMO化修饰和磷酸化修饰等, 是目前植物对于干旱胁迫调控机制研究的一个热点。

## 2 植物泛素连接酶E3

### 2.1 泛素化过程及泛素化酶

泛素化过程主要需要3种泛素化酶的协同参与, 即泛素激活酶(ubiquitin-activating enzyme, 简称E1)、泛素结合酶(ubiquitin-conjugating enzyme, 简称E2)和泛素连接酶(ubiquitin-ligating enzyme, 简称E3), 其基本过程如图1所示。3种酶在泛素化过程中的分工不同: E1位于传递链的起点, 负责激活泛素(ubiquitin, 简称Ub)分子并将激活的Ub分子传递到E2上(Schulman and Harper, 2009); E2负责将Ub分子通过E3转移到靶蛋白上(Ye and Rape, 2009); E3负责

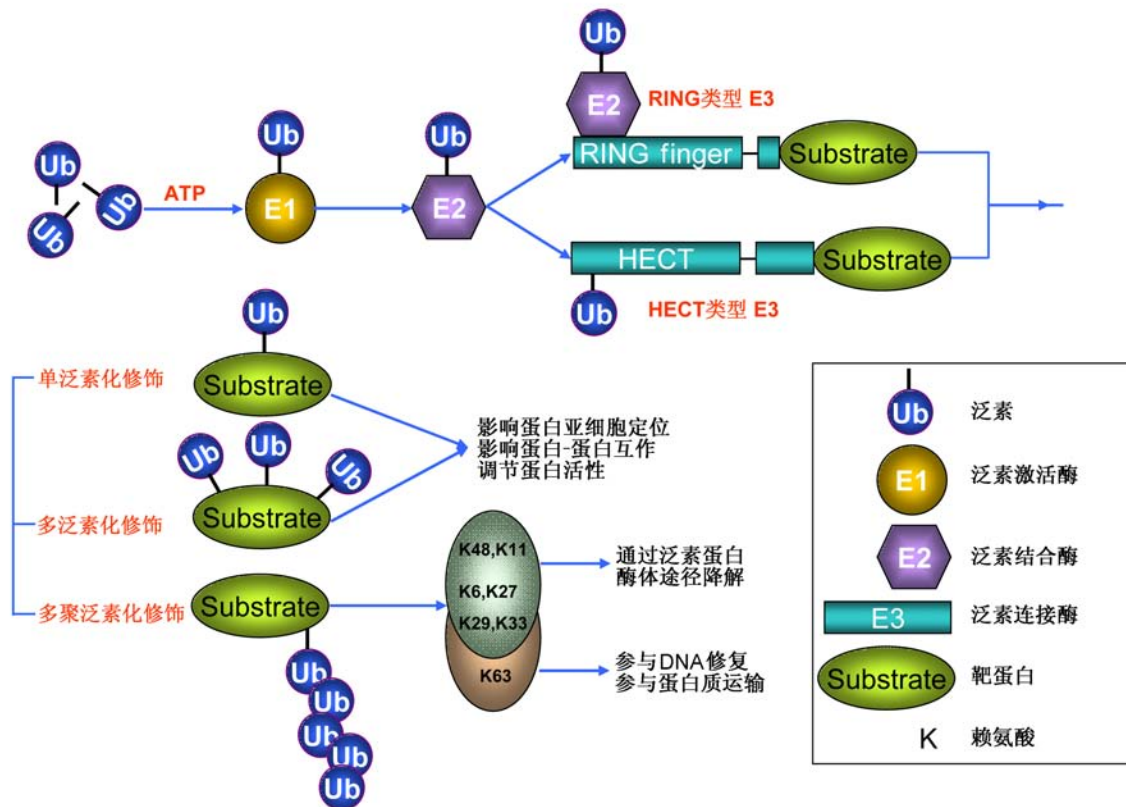


图1 泛素化的基本过程

Figure 1 The basic process of ubiquitination

对靶蛋白的特异识别。根据其亚基成分和作用机制,泛素连接酶E3可分为单亚基类型(如HECT、RING/U-box)和多亚基类型(如SCF复合物、后期促进复合物(APC)、CUL3-BTB、CUL4-DDB等)(Vierstra, 2009)(图2)。

泛素化过程的一个重要特点是E1s、E2s、E3s的数量在同一基因组中存在较大差异。如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,编码E1的基因有2个,编码E2及E2-like的基因有45个,而编码E3的基因数量则超过1 300个(Smale and Vierstra, 2004)。类似的,在水稻(*Oryza sativa*)中,编码E1的基因有6个,编码E2及E2-like的基因有49个,而编码E3的基因数量超过1 300个(Du et al., 2009)。因此,泛素化酶存在一个层级结构:单个的E1可激活Ub分子并将其传递到一系列E2(E2a、E2b、E2c……)上;一般认为,1个E2可以和多种E3协同作用将Ub传递到靶蛋白上,但也

有特异性的E2-E3互作;E3可特异地识别靶蛋白,1个E3也可识别一系列靶蛋白,同一靶蛋白也可被不同E3识别(Ciechanover, 1998)。

### 2.2 泛素化修饰

根据结合到靶蛋白上的Ub分子的数量、结合方式以及对赖氨酸残基的选择,泛素连接酶E3对靶蛋白的泛素化修饰呈现多元化。只转移1个Ub分子到靶蛋白的单个赖氨酸残基上时称为单泛素化(monoubiquitylation);对靶蛋白的多个赖氨酸残基进行单泛素化修饰时称为多泛素化(multiubiquitylation);靶蛋白的单个赖氨酸残基被一连串相互连接的Ub分子修饰时称为多聚泛素化(polyubiquitylation)(Hochstrasser, 2006; Mukhopadhyay and Riezman, 2007; Vierstra, 2009; Ye and Rape, 2009)。研究表明,单泛素化和多泛素化修饰可改变靶蛋白的亚细胞定位、

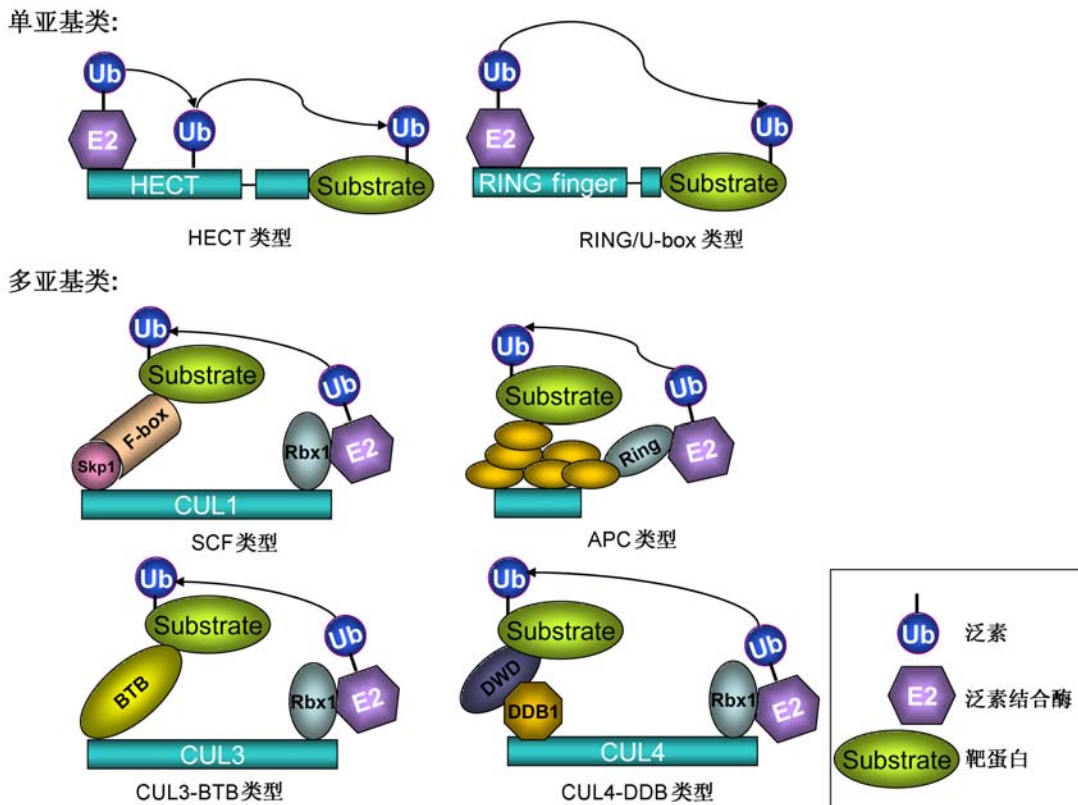


图2 不同类型的泛素连接酶E3

Figure 2 Different types of E3 ubiquitin ligase

蛋白-蛋白相互作用以及调节蛋白的活性等(Mukhopadhyay and Riezman, 2007; Ye and Rape, 2009)。Ub分子自身包含7个赖氨酸,因此Ub分子C末端的甘氨酸同样可以和其它Ub分子的赖氨酸残基共价结合形成多聚Ub链。根据相结合Ub分子赖氨酸残基位点的不同,多聚泛素化分为K6、K11、K27、K29、K33、K48和K63七种形式(图1)。其中,K11和K48两种多聚泛素化修饰主要参与泛素/26S蛋白酶体对靶蛋白的降解过程(Vierstra, 2009; Xu et al., 2009; Ye and Rape, 2009); K63多聚泛素化修饰在动物和酵母中主要参与蛋白质运输、DNA修复以及激活NF- $\kappa$ B等(Jin et al., 2010; Li et al., 2010)。Xu等(2009)对这7类多聚泛素化修饰的作用机制进行了深入研究,结果表明这7种多聚泛素化形式在体内、体外都可以被检测到,而且除了K63多聚泛素化修饰,其它6类多聚泛素化修饰的蛋白都受蛋白酶抑制剂MG132的调控,说明这6类多聚泛素化修饰的蛋白都可通过泛素/26S蛋白酶体途径降解。但是除了K11和K48,尚未分离到其它4种多聚泛素化修饰的靶蛋白,它们究竟参与对蛋白质的泛素化降解还是参与对DNA修复的调控或者其它调控过程,还需要进一步的研究(Xu et al., 2009; Ye and Rape, 2009)。

### 2.3 植物泛素连接酶E3参与的生物学过程

泛素化酶的层级结构分布以及泛素化修饰的多样性决定了泛素连接酶E3生物学调控功能的多样性。已有研究表明,在植物中,泛素连接酶E3涉及对植物生长发育和逆境胁迫响应等过程中关键步骤的控制,如激素信号转导(宋素胜和谢道昕, 2006; Dreher and Callis, 2007; Santner and Estelle, 2010)、开花(Vega-Sánchez et al., 2008; Park et al., 2010a)、胚胎发生(Zhang et al., 2008a; Book et al., 2009)、光信号调节(Hoecker, 2005; Henriques et al., 2009)、细胞周期调节(Liu et al., 2008b; Ren et al., 2008; Lai et al., 2009)、植物细胞程序化死亡(Zeng et al., 2004; Lin et al., 2008)、植物与病原菌相互作用(Zeng et al., 2006; Craig et al., 2009; Trujillo and Shirasu, 2010)、冷胁迫(Dong et al., 2006)以及自交不亲和(Qiao et al., 2004; 于晓敏等, 2006; Zhang et al., 2009)等过程。

## 3 植物泛素连接酶E3介导的植物干旱胁迫反应

植物泛素连接酶E3在植物干旱胁迫调控过程中同样发挥着重要作用,目前已鉴定出SCF复合体、U-box及RING-finger等类型泛素连接酶E3参与植物的干旱胁迫调控过程(表1)。下文将分述不同类型泛素连接酶E3参与的植物干旱胁迫调控过程。

### 3.1 SCF复合体类型泛素连接酶参与的植物干旱胁迫调控过程

F-box是SCF复合体中负责底物识别的组分,拟南芥基因组中编码F-box的基因至少有700个(Risseeuw et al., 2003)。Zhang等(2008b)在拟南芥中鉴定到一个ABA信号通路上的负调节子DOR。DOR编码F-box蛋白,属于AhSFL家族成员,与ASK14和CUL1存在特异性的相互作用。dor突变体相比野生型对ABA更敏感。DOR突变促进气孔关闭,进而增强植物对干旱的耐受性;DOR过表达植物则对干旱胁迫更敏感,说明DOR负调控植物的干旱胁迫响应过程。进一步的研究表明,DOR作用于ABI1的上游但并不依赖于PLDa1信号通路;基因芯片分析结果显示,DOR在干旱情况下可能参与了对ABA合成的调控;说明DOR通过独立于PLDa1通路的ABA信号通路抑制气孔关闭,从而负调控植物的干旱胁迫响应过程(Zhang et al., 2008b)。

### 3.2 U-box类型泛素连接酶参与的植物干旱胁迫调控过程

CaPUB1是Cho等(2006)从干旱处理的辣椒(*Capsicum annuum*)中分离出来的一个U-box E3蛋白,在拟南芥中异源过表达CaPUB1削弱了植物对干旱胁迫的耐受性,说明CaPUB1负调控植物的干旱胁迫响应过程。酵母双杂交和pull-down分析表明,CaPUB1与RPN6存在相互作用,且CaPUB1可在体外泛素化RPN6,结合RPN6在CaPUB1过表达株系中表达量下降的证据,推测CaPUB1可能通过泛素化修饰RPN6调控植物的干旱胁迫响应过程(Cho et al., 2006)。类似的,Cho等(2008)报道,CaPUB1在拟南芥中的2个同源蛋白PUB22和PUB23也参与植物的干旱胁迫响应过程,pub22 pub23双突变体比pub22和

表1 参与植物干旱胁迫反应的泛素连接酶E3

Table 1 The ubiquitin ligase E3 involved in drought response in plant

基因	E3类型	物种	干旱反应	互作蛋白	与ABA信号的关系	作用机制	参考文献
<i>DOR</i>	SCF	拟南芥	负调控	ASK14和CUL1	依赖	ABA不敏感, 抑制气孔关闭	Zhang et al., 2008b
<i>CaPUB1</i>	U-box	拟南芥	负调控	RPN6	不依赖	泛素化修饰RPN6	Cho et al., 2006
<i>PUB22/PUB23</i>	U-box	拟南芥	负调控	RPN12a	不依赖	泛素化修饰RPN12a	Cho et al., 2008
<i>AtPUB19</i>	U-box	拟南芥	负调控	—	依赖	ABA不敏感, 抑制气孔关闭	Liu et al., 2011
<i>OsPUB15</i>	U-box	水稻	正调控	—	—	减弱细胞内氧化胁迫	Park et al., 2011
<i>XERICO</i>	RING finger	拟南芥	正调控	AtUBC8和AtTLP9	依赖	促进ABA合成	Ko et al., 2006
<i>SDIR1</i>	RING finger	拟南芥	正调控	—	依赖	ABA敏感, 促进气孔关闭	Zhang et al., 2007
<i>SDIR1</i>	RING finger	水稻、烟草	正调控	—	—	减小气孔开度	Zhang et al., 2008c
<i>OsSDIR1</i>	RING finger	水稻、拟南芥	正调控	—	—	ABA敏感, 促进气孔关闭	Gao et al., 2011
<i>DRIP1/DRIP2</i>	RING finger	拟南芥	负调控	DREB2A	依赖	泛素化修饰DREB2A	Qin et al., 2008
<i>Rma1H1</i>	RING finger	拟南芥	正调控	PIP2;1	—	泛素化修饰PIP2;1	Lee et al., 2009
<i>OsRDCP1</i>	RING finger	水稻	正调控	—	—	—	Bae et al., 2011
<i>AtAIRP1</i>	RING finger	拟南芥	正调控	—	依赖	ABA敏感, 促进气孔关闭	Ryu et al., 2010
<i>RHA2b</i>	RING finger	拟南芥	正调控	—	依赖	ABA敏感, 促进气孔关闭	Li et al., 2011
<i>OsDSG1</i>	RING finger	水稻	负调控	OsABI3	依赖	抑制ABA信号	Park et al., 2010b
<i>OsBIRF1</i>	RING finger	水稻	正调控	—	—	—	Liu et al., 2008a
<i>CaRFP1</i>	RING finger	拟南芥	正调控	CABPR1	依赖	ABA敏感	Hong et al., 2007
<i>AtSAP5</i>	RING finger	拟南芥	正调控	—	依赖或不依赖	减小气孔开度	Kang et al., 2011

*pub23*单突变体具有更强的耐旱性, 说明PUB22和PUB23可协同负调控植物的干旱胁迫响应过程。PUB22和PUB23都可以与RPN12a相互作用, 且PUB22和PUB23都可在体内、体外泛素化修饰RPN12a, 说明PUB22和PUB23可能通过协同泛素化修饰RPN12a负调控植物的干旱胁迫响应过程(Cho et al., 2008)。

Liu等(2011)鉴定出一个受干旱、高盐、冷以及ABA诱导的U-box E3蛋白AtPUB19。*atpub19*突变体与野生型相比, 对ABA更敏感。*AtPUB19*突变体促进气孔关闭, 进而增强植物对干旱的耐受性; *AtPUB19*过表达植物对ABA不敏感, 对干旱更敏感。一系列ABA和胁迫相关基因在*atpub19*突变体和*AtPUB19*过表达植物中表达量明显变化, 说明*AtPUB19*可能通过负调节ABA信号调控植物的干旱胁迫响应过程(Liu et al., 2011)。

近年来在水稻中也鉴定出参与干旱胁迫响应过程调控的U-box类型泛素连接酶E3。*ospub15*突变体中由于积累了较高浓度的过氧化氢和氧化蛋白, 导致植株生长缓慢, 幼苗致死; 而*OsPUB15*过表达植物则增强了对干旱的耐受性, *OsPUB15*的表达受过氧

化氢、干旱和高盐的诱导, 说明*OsPUB15*可能通过减弱细胞内氧化胁迫, 正调控植物的干旱胁迫响应过程(Park et al., 2011)。

### 3.3 RING-finger类型泛素连接酶参与的植物干旱胁迫调控过程

最早鉴定的参与干旱胁迫响应过程调控的RING-finger类型泛素连接酶是拟南芥的*XERICO*基因, 其编码RING-H2锌指类型E3泛素连接酶, 与AtUBC8和AtTLP9存在特异性相互作用。在拟南芥中过表达*XERICO*时植物对干旱的耐受性显著增强, 说明*XERICO*正调控植物的干旱胁迫响应过程。在干旱处理情况下, *XERICO*过表达株系中ABA合成关键基因*AtNCED3*的表达相比对照更加快速而强烈, 而且*XERICO*过表达株系中ABA含量升高, 说明*XERICO*可能通过增强ABA生物合成, 正调控植物的干旱胁迫响应过程(Ko et al., 2006)。

*SDIR1*是从干旱处理的拟南芥的芯片数据中分离出来的RING-finger类型E3。相比对照, *SDIR1*过表达植物对ABA更加敏感。*SDIR1*的过表达促进气孔关闭, 使叶片气孔开度减小, 水分蒸发减少, 从而使植

物耐旱能力提高。进一步的研究表明, *SDIR1*是ABA信号转导的正调控因子, *SDIR1*的过表达改变了一系列ABA和干旱胁迫相关基因的表达, 提高了植物体内ABA诱导叶片气孔关闭的敏感性, 说明*SDIR1*通过介导ABA信号转导正调控植物的干旱胁迫响应过程(Zhang et al., 2007)。*SDIR1*在烟草(*Nicotiana tabacum*)和水稻中的异源表达显示, 过表达植物与对照相比耐旱性明显增强, 主要原因是*SDIR1*过表达减少了转基因植物的叶片水分蒸发, 与*SDIR1*在拟南芥中的作用机制类似(Zhang et al., 2008c)。Gao等(2011)通过同源克隆的方法分离了*SDIR1*在水稻中的同源蛋白Os*SDIR1*。Os*SDIR1*可以互补拟南芥*sdir1*突变体的表型, 说明Os*SDIR1*是拟南芥*SDIR1*蛋白在水稻中的同源蛋白。Os*SDIR1*过表达也可以明显增强植物对干旱的耐受性, 其主要原因是在干旱条件下转基因水稻中关闭气孔的比例增加, 叶片失水减慢, 从而使植物耐旱能力提高(Gao et al., 2011)。

转录因子DREB2A是干旱胁迫响应途径中重要的正调控因子。Qin等(2008)利用酵母双杂交技术筛选到DREB2A的2个相互作用蛋白DRIP1和DRIP2, 体外泛素化实验表明, DRIP1和DRIP2均可介导对DREB2A的泛素化修饰。在拟南芥中过表达*DRIP1*时明显延迟了DREB2A调控的干旱响应基因的表达, 而*drip1drip2*双突变则显著增强了DREB2A调控的干旱响应基因的表达, 提高了植物对干旱的耐受性, 说明DRIP1和DRIP2通过降解干旱响应正调节因子DREB2A而负调控植物的干旱胁迫响应过程(Qin et al., 2008)。

辣椒E3蛋白Rma1H1编码RING-finger类型泛素连接酶, 在拟南芥中异源过表达*Rma1H1*明显增强了植物对干旱的耐受性, 说明*Rma1H1*正调控植物的干旱胁迫响应过程; 另一方面, 过表达*Rma1H1*抑制了水通道蛋白PIP2;1从内质网到细胞膜的运输, 从而导致原生质体和转基因植物中PIP2;1的积累水平下降(Lee et al., 2009)。酵母双杂交分析表明*Rma1H1*可以和PIP2;1相互作用, 且*Rma1H1*可以介导PIP2;1的体外泛素化修饰, 说明*Rma1H1*通过降解水通道蛋白PIP2;1正调控植物的干旱胁迫响应过程(Lee et al., 2009)。Bae等(2011)报道, 辣椒*Rma1H1*在水稻中的同源蛋白OsRDPC1参与对水稻干旱胁迫响应过程的正调控, 但是其具体作用机制仍不清楚。

*AtAIRP1*是在筛选ABA不敏感突变体过程中鉴定出来的。与野生型相比, *atairp1*突变体对ABA不敏感, 对干旱更敏感; 相反, *AtAIRP1*过表达植物表现出对ABA更敏感和对干旱的明显耐受性; ABA处理后, 一系列干旱胁迫相关基因和ABA相关的bZIP转录因子的表达在*AtAIRP1*过表达植物中明显被诱导, 说明*AtAIRP1*是依赖于ABA信号通路的干旱响应正调节因子(Ryu et al., 2010)。

*rha2b-1*突变体与*sdir1*和*atairp1*突变体对ABA和干旱有着类似的响应模式, 即对ABA不敏感, 对干旱更敏感, 说明RHA2b正调控植物的干旱胁迫响应过程。对*rha2a rha2b-1*双突变体的研究表明, RHA2b和RHA2a可以协同参与对ABA和干旱的响应调控。遗传学分析显示, 与RHA2a类似, RHA2b在ABA信号途径中位于ABI2的下游, 与ABI转录因子ABI3/4/5平行, 说明RHA2b和RHA2a协同调控ABA信号转导, 进而正调控植物的干旱胁迫响应过程(Li et al., 2011)。

OsDSG1是从种子延迟萌发的水稻T-DNA突变体中鉴定出来的。除了延迟种子萌发, *osdsG1*突变体与野生型相比, 对干旱和高盐的耐受性增强。一系列ABA信号通路基因和ABA响应基因在突变体中被诱导表达。酵母双杂交实验显示OsDSG1与OsABI3存在相互作用, 但二者之间的调节机制仍不清楚, 说明OsDSG1是依赖于ABA信号转导的干旱胁迫响应负调节子(Park et al., 2010b)。

此外, 在烟草中异源过表达Os*BIRF1*时, 植物对干旱的耐受性明显增强, 但是其作用机制仍不清楚(Liu et al., 2008a)。辣椒CaRFP1也可能通过ABA信号途径正调控植物的干旱胁迫响应过程(Hong et al., 2007)。而AtSAP5则可能通过一种ABA依赖性和ABA不依赖性交叉的作用机制正调控植物的干旱胁迫响应过程(Kang et al., 2011)。

#### 4 植物泛素连接酶E3调控干旱胁迫响应过程的可能机制

泛素连接酶E3蛋白的生化功能是特异性地给靶蛋白加上Ub标签, 从而形成Ub-靶蛋白复合体。因此, 对E3靶蛋白的筛选和研究对于揭示E3的作用机制显得至关重要。表1中列出了18组参与植物干旱胁迫响应过程的泛素连接酶, 其中有4组的靶蛋白目前已得到

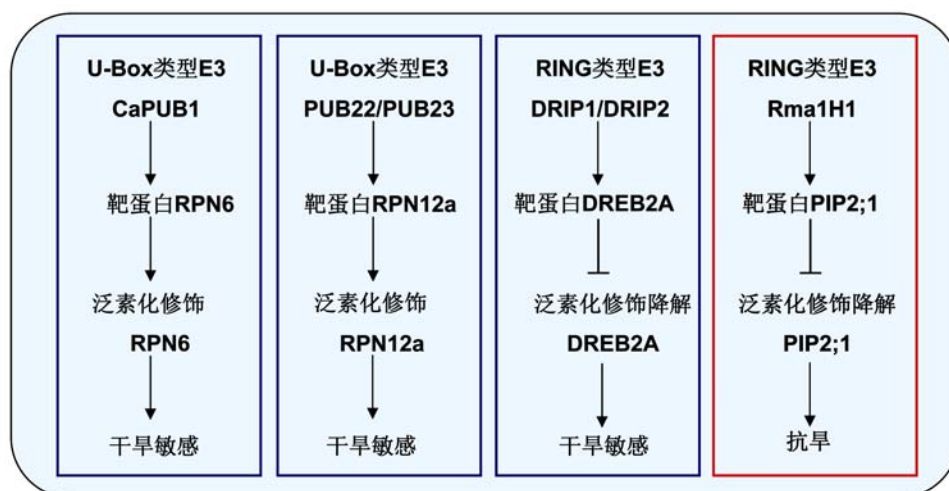


图3 E3通过泛素化修饰靶蛋白调控干旱胁迫响应过程

Figure 3 The E3s regulate drought response by ubiquitination-target proteins

验证, 所以我们按是否通过泛素化修饰靶蛋白对其作用机制进行分类概述。

#### 4.1 通过泛素化修饰已知靶蛋白

对U-box蛋白CaPUB1、PUB22/23以及RING-finger蛋白DRIP1/DRIP2、Rma1H1的研究均表明, 泛素连接酶E3可以通过泛素化修饰靶蛋白调控植物的干旱胁迫响应过程(图3)(Cho et al., 2006, 2008; Qin et al., 2008; Lee et al., 2009)。除了Rma1H1, 其余3组蛋白都是植物干旱响应的负调节子。根据泛素蛋白酶体途径的生化功能推测, 作为正调节子的泛素连接酶可能通过泛素化修饰降解干旱响应的负调控因子, 而作为负调节子的泛素连接酶可能通过泛素化修饰降解干旱响应的正调控因子。

#### 4.2 不通过泛素化修饰已知靶蛋白

对尚未验证靶蛋白的其它14组泛素连接酶E3来说, 应该也存在其相应的靶蛋白, 但目前研究大多集中在与ABA信号途径的相互作用方面, 目前尚未对此予以确认。

*DOR*和*AtPUB19*突变促进气孔关闭, *dor*和*atpub19*突变体对ABA敏感, 因此DOR和AtPUB19通过ABA依赖的信号途径负调控植物的干旱胁迫响应

过程(Zhang et al., 2008b; Liu et al., 2011); 而*SDIR1*、*AtAIRP1*和*RHA2b*在植物中过表达促进气孔关闭, 其过表达转基因植物对ABA敏感, 所以*SDIR1*、*AtAIRP1*和*RHA2b*等ABA信号正调节子正调控植物的干旱胁迫响应过程(Zhang et al., 2007; Ryu et al., 2010; Li et al., 2011)。即参与ABA信号途径的泛素连接酶E3都因其正或负向调控ABA信号而影响气孔开闭, 进而调节植物的干旱胁迫响应过程。

此外, 对*XERICICO*的研究表明, 增强ABA的生物合成可提高植物对干旱的耐受性(Ko et al., 2006)。而对*OsPUB15*的研究则表明, 减弱细胞内氧化胁迫也可增强植物对干旱的耐受性(Park et al., 2011)。

## 5 问题和展望

泛素连接酶E3在植物干旱胁迫响应过程中起着重要的作用, 但是对其研究还远远不够, 其作用机制仍不清楚。拟南芥和水稻中泛素连接酶E3的数目都超过1300个, 但目前拟南芥和水稻中鉴定出的参与植物干旱胁迫调控的泛素连接酶E3分别只有11个和5个, 不到其家族总数的1%。干旱胁迫可以影响植物细胞生化过程的多个方面, 因此, 还有更多的参与植物干旱胁迫调控的泛素连接酶E3有待鉴定和研究。

在已发现的18组参与植物干旱胁迫响应过程的泛素连接酶E3中, 通过不同分析方法已找到了其中8组E3的相互作用蛋白, 但只有4个靶蛋白受其相应E3的泛素化修饰调控, 说明泛素连接酶E3相互作用蛋白的鉴定及其对互作蛋白翻译后修饰水平的调控研究更显不足, 建立一种高效可行的泛素连接酶E3互作蛋白的鉴定方法显得尤为迫切。

另一方面, 目前只鉴定到SCF复合体、U-box及RING-finger等类型的泛素连接酶E3参与对植物的干旱胁迫调控, 其它类型的泛素连接酶E3是否也参与了对植物干旱胁迫的调控还不得而知。对更多参与干旱胁迫调控的泛素连接酶的分析及其相互作用蛋白的鉴定将为植物干旱胁迫在翻译后修饰水平上的调控研究提供新线索, 并最终为构建植物干旱胁迫的调控网络和培育抗旱农作物新品种提供理论依据。

## 参考文献

- 宋素胜, 谢道昕 (2006). 泛素蛋白酶体途径及其对植物生长发育的调控. *植物学通报* **23**, 564–577.
- 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. *植物学通报* **23**, 197–206.
- Ahuja I, de Vos RCH, Bones AM, Hall RD (2010). Plant molecular stress responses face climate change. *Trends Plant Sci* **15**, 664–674.
- Bae H, Kim SK, Cho SK, Kang BG, Kim WT (2011). Overexpression of OsRDCP1, a rice RING domain-containing E3 ubiquitin ligase, increased tolerance to drought stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci* **180**, 775–782.
- Book AJ, Smalle J, Lee KH, Yang PZ, Walker JM, Casper S, Holmes JH, Russo LA, Buzzinotti ZW, Jenik PD, Vierstra RD (2009). The RPN5 subunit of the 26S proteasome is essential for gametogenesis, sporophyte development, and complex assembly in Arabidopsis. *Plant Cell* **21**, 460–478.
- Boyer JS (1982). Plant productivity and environment. *Science* **218**, 443–448.
- 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 combinatorial roles in response to drought stress. *Plant Cell* **20**, 1899–1914.
- Ciais P, Reichstein M, Viovy N, Granier A, Ogee J, Allard V, Aubinet M, Buchmann N, Bernhofer C, Carrara A, Chevallier F, De Noblet N, Friend AD, Friedlingstein P, Grünwald T, Heinesch B, Keronen P, Knohl A, Krinner G, Loustau D, Manca G, Matteucci G, Miglietta F, Ourcival JM, Papale D, Pilegaard K, Rambal S, Seufert G, Soussana JF, Sanz MJ, Schulze ED, Vesala T, Valentini R (2005). Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature* **437**, 529–533.
- Ciechanover A (1998). The ubiquitin-proteasome pathway: on protein death and cell life. *EMBO J* **17**, 7151–7160.
- Craig A, Ewan R, Mesmar J, Gudipati V, Sadanandom A (2009). E3 ubiquitin ligases and plant innate immunity. *J Exp Bot* **60**, 1123–1132.
- Dong CH, Agarwal M, Zhang YY, Xie Q, Zhu JK (2006). The negative regulator of plant cold responses, HOS1, is a RING E3 ligase that mediates the ubiquitination and degradation of ICE1. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 8281–8286.
- Dreher K, Callis J (2007). Ubiquitin, hormones and biotic stress in plants. *Ann Bot* **99**, 787–822.
- Du Z, Zhou X, Li L, Su Z (2009). plantsUPS: a database of plants' Ubiquitin Proteasome System. *BMC Genomics* **10**, 227.
- Gao T, Wu YR, Zhang YY, Liu LJ, Ning YS, Wang DJ, Tong HN, Chen SY, Chu CC, Xie Q (2011). *OsSDIR1* overexpression greatly improves drought tolerance in transgenic rice. *Plant Mol Biol* **76**, 145–156.
- Henriques R, Jang IC, Chua NH (2009). Regulated proteolysis in light-related signaling pathways. *Curr Opin Plant Biol* **12**, 49–56.
- Hirayama T, Shinozaki K (2010). Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *Plant J* **61**, 1041–1052.
- Hochstrasser M (2006). Lingering mysteries of ubiquitin-chain assembly. *Cell* **124**, 27–34.
- Hoecker U (2005). Regulated proteolysis in light signaling. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 469–476.
- Hong JK, Choi HW, Hwang IS, Hwang BK (2007). Role of a novel pathogen-induced pepper C3-H-C4 type RING-finger protein gene, *CaRFPI*, in disease susceptibility and osmotic stress tolerance. *Plant Mol Biol* **63**, 571–588.
- Jin XJ, Jin HR, Jung HS, Lee SJ, Lee JH, Lee JJ (2010). An atypical E3 ligase zinc finger protein 91 stabilizes and activates NF- $\kappa$ B-inducing kinase via Lys<sup>63</sup>-linked ubiquit-



- ination. *J Biol Chem* **285**, 30539–30547.
- Kang MY, Fokar M, Abdelmageed H, Allen RD** (2011). Arabidopsis SAP5 functions as a positive regulator of stress responses and exhibits E3 ubiquitin ligase activity. *Plant Mol Biol* **75**, 451–466.
- Ko JH, Yang SH, Han KH** (2006). Upregulation of an Arabidopsis RING-H2 gene, *XERICO*, confers drought tolerance through increased abscisic acid biosynthesis. *Plant J* **47**, 343–355.
- Lai JB, Chen H, Teng KL, Zhao QZ, Zhang ZH, Li Y, Liang LM, Xia R, Wu YR, Guo HS, Xie Q** (2009). RKP, a RING finger E3 ligase induced by BSCTV C4 protein, affects geminivirus infection by regulation of the plant cell cycle. *Plant J* **57**, 905–917.
- Lee HK, Cho SK, Son O, Xu ZY, Hwang I, Kim WT** (2009). Drought stress-induced Rma1H1, a RING membrane-anchor E3 ubiquitin ligase homolog, regulates aquaporin levels via ubiquitination in transgenic Arabidopsis plants. *Plant Cell* **21**, 622–641.
- Li HM, Jiang HL, Bu QY, Zhao QZ, Sun JQ, Xie Q, Li CY** (2011). The Arabidopsis RING finger E3 ligase RHA2b acts additively with RHA2a in regulating abscisic acid signaling and drought response. *Plant Physiol* **156**, 550–563.
- Li J, Wen R, Andersen P, Liang YP, Li Q, Xiao W, Cui ZB** (2010). Zebrafish Ubc13 is required for Lys63-linked polyubiquitination and DNA damage tolerance. *Mol Cell Biochem* **343**, 173–182.
- Lin SS, Martin R, Mongrand S, Vandenameele S, Chen KC, Jang IC, Chua NH** (2008). RING1 E3 ligase localizes to plasma membrane lipid rafts to trigger FB1-induced programmed cell death in Arabidopsis. *Plant J* **56**, 550–561.
- Liu HZ, Zhang HJ, Yang YY, Li GJ, Yang YX, Wang XE, Basnayake BM, Li DY, Song FM** (2008a). Functional analysis reveals pleiotropic effects of rice RING-H2 finger protein gene *OsBIRF1* on regulation of growth and defense responses against abiotic and biotic stresses. *Plant Mol Biol* **68**, 17–30.
- Liu JJ, Zhang YY, Qin GJ, Tsuge T, Sakaguchi N, Luo G, Sun KT, Shi DQ, Aki S, Zheng NY, Aoyama T, Oka A, Yang WC, Umeda M, Xie Q, Gu HY, Qu LJ** (2008b). Targeted degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor ICK4/KRP6 by RING-type E3 ligases is essential for mitotic cell cycle progression during Arabidopsis gametogenesis. *Plant Cell* **20**, 1538–1554.
- 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*, doi:10.1093/mp/ssr030.
- Luo LJ** (2010). Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China. *J Exp Bot* **61**, 3509–3517.
- Mukhopadhyay D, Riezman H** (2007). Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science* **315**, 201–205.
- Nakashima K, Ito Y, Yamaguchi-Shinozaki K** (2009). Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. *Plant Physiol* **149**, 88–95.
- Park BS, Eo HJ, Jang IC, Kang HG, Song JT, Seo HS** (2010a). Ubiquitination of LHY by SINAT5 regulates flowering time and is inhibited by DET1. *Biochem Biophys Res Commun* **398**, 242–246.
- Park GG, Park JJ, Yoon J, Yu SN, An G** (2010b). A RING finger E3 ligase gene, *Oryza sativa Delayed Seed Germination 1 (OsDSG1)*, controls seed germination and stress responses in rice. *Plant Mol Biol* **74**, 467–478.
- Park JJ, 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.
- Peleg Z, Blumwald E** (2011). Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Curr Opin Plant Biol* **14**, 290–295.
- Qiao H, Wang HY, Zhao L, Zhou JL, Huang J, Zhang YS, Xue YB** (2004). The F-box protein AhSLF-S<sub>2</sub> physically interacts with S-RNases that may be inhibited by the ubiquitin/26S proteasome pathway of protein degradation during compatible pollination in *Antirrhinum*. *Plant Cell* **16**, 582–595.
- Qin F, Sakuma Y, Tran LSP, Maruyama K, Kidokoro S, Fujita Y, Fujita M, Umezawa T, Sawano Y, Miyazono K, Tanokura M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2008). Arabidopsis DREB2A-interacting proteins function as RING E3 ligases and negatively regulate plant drought stress-responsive gene expression. *Plant Cell* **20**, 1693–1707.
- Ren H, Santner A, del Pozo JC, Murray JAH, Estelle M** (2008). Degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor KRP1 is regulated by two different ubiquitin E3 ligases. *Plant J* **53**, 705–716.
- Risseeuw EP, Daskalchuk TE, Banks TW, Liu EW, Cotelesage J, Hellmann H, Estelle M, Somers DE, Crosby WL** (2003). Protein interaction analysis of SCF ubiquitin

- E3 ligase subunits from Arabidopsis. *Plant J* **34**, 753–767.
- Ryu MY, Cho SK, Kim WT** (2010). The Arabidopsis C3H2C3-type RING E3 ubiquitin ligase AtAIRP1 is a positive regulator of an abscisic acid-dependent response to drought stress. *Plant Physiol* **154**, 1983–1997.
- Santner A, Estelle M** (2010). The ubiquitin-proteasome system regulates plant hormone signaling. *Plant J* **61**, 1029–1040.
- Schulman BA, Harper JW** (2009). Ubiquitin-like protein activation by E1 enzymes: the apex for downstream signalling pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol* **10**, 319–331.
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2007). Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J Exp Bot* **58**, 221–227.
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki M** (2003). Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Curr Opin Plant Biol* **6**, 410–417.
- Smalle J, Vierstra RD** (2004). The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway. *Annu Rev Plant Biol* **55**, 555–590.
- Takeda S, Matsuoka M** (2008). Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population changes. *Nat Rev Genet* **9**, 444–457.
- Trujillo M, Shirasu K** (2010). Ubiquitination in plant immunity. *Curr Opin Plant Biol* **13**, 402–408.
- Vega-Sánchez ME, Zeng LR, Chen SB, 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.
- Xiong LM, Schumaker KS, Zhu JK** (2002). Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell* **14**(Suppl), S165–S183.
- Xu P, Duong DM, Seyfried NT, Cheng DM, Xie Y, Robert J, Rush J, Hochstrasser M, Finley D, Peng JM** (2009). Quantitative proteomics reveals the function of unconventional ubiquitin chains in proteasomal degradation. *Cell* **137**, 133–145.
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K** (2006). Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu Rev Plant Biol* **57**, 781–803.
- Yang SJ, Vanderbeld B, Wan JX, Huang YF** (2010). Narrowing down the targets: towards successful genetic engineering of drought-tolerant crops. *Mol Plant* **3**, 469–490.
- Ye YH, Rape M** (2009). Building ubiquitin chains: E2 enzymes at work. *Nat Rev Mol Cell Biol* **10**, 755–764.
- Zeng LR, Qu SH, Bordeos A, Yang CW, Baraoidan M, Yan HY, 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.
- Zeng LR, Vega-Sánchez ME, Zhu T, Wang GL** (2006). Ubiquitination-mediated protein degradation and modification: an emerging theme in plant-microbe interactions. *Cell Res* **16**, 413–426.
- Zhang Y, Feng S, Chen F, Chen H, Wang J, McCall C, Xiong Y, Deng XW** (2008a). Arabidopsis DDB1-CUL4 ASSOCIATED FACTOR1 forms a nuclear E3 ubiquitin ligase with DDB1 and CUL4 that is involved in multiple plant developmental processes. *Plant Cell* **20**, 1437–1455.
- Zhang Y, Xu WY, Li ZH, Deng XW, Wu WH, Xue YB** (2008b). F-box protein DOR functions as a novel inhibitory factor for abscisic acid-induced stomatal closure under drought stress in Arabidopsis. *Plant Physiol* **148**, 2121–2133.
- Zhang YJ, Zhao ZH, Xue YB** (2009). Roles of proteolysis in plant self-incompatibility. *Annu Rev Plant Biol* **60**, 21–42.
- Zhang YY, Li Y, Gao T, Zhu H, Wang DJ, Zhang HW, Ning YS, Liu LJ, Wu YR, Chu CC, Guo HS, Xie Q** (2008c). Arabidopsis SDIR1 enhances drought tolerance in crop plants. *Biosci Biotechnol Biochem* **72**, 2251–2254.
- Zhang YY, Yang CW, Li Y, Zheng NY, Chen H, Zhao QZ, Gao T, Guo HS, Xie Q** (2007). SDIR1 is a RING finger E3 ligase that positively regulates stress-responsive abscisic acid signaling in Arabidopsis. *Plant Cell* **19**, 1912–1929.
- Zhu JK** (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol* **53**, 247–273.

## E3 Ubiquitin Ligase-mediated Drought Responses in Plants

Yuese Ning<sup>1,2</sup>, Guoliang Wang<sup>1</sup>, Qi Xie<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Hunan Provincial Key Laboratory of Crop Germplasm Innovation and Utilization, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; <sup>2</sup>State Key Laboratory of Plant Genomics, National Center for Plant Gene Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract** Drought stress seriously affects crop yield and quality and constrains global agricultural production. E3 ubiquitin ligases are a large family with wide variety and are involved in many important biological processes in plants. In this paper, we summarize the drought stress regulation mechanism, plant ubiquitin ligase E3, and describe the ubiquitin ligase E3 response to plant drought stress and its mechanisms.

**Key words** drought, post-translational modification, ubiquitin, ubiquitin ligase E3

**Ning YS, Wang GL, Xie Q** (2011). E3 ubiquitin ligase-mediated drought responses in plants. *Chin Bull Bot* **46**, 606–616.

---

\* Author for correspondence. E-mail: qxie@genetics.ac.cn