

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00639

# 拟南芥在盐胁迫环境下 SOS 转录调控网络的构建及分析

谢崇波, 金谷雷, 徐海明, 朱军

浙江大学农业与生物技术学院, 杭州 310029

**摘要:** 研究拟南芥在高浓度盐处理环境下的基因调控网络, 有助于了解其在盐胁迫环境下保持正常生长的防御机制。针对目前广泛研究的 SOS (Salt Overly Sensitive) 耐盐机制, 文章整合公共数据库中盐胁迫相关的拟南芥基因组表达谱芯片, 通过反向工程方法构建了拟南芥在盐胁迫状态下的 SOS 转录调控网络。所获得的调控网络包含 70 个盐胁迫相关且高度互作的互作基因, 其中 27 个转录因子为主要调控节点。进而根据 SOS 核心基因的表达特性, 所得调控网络内的不同表达模式得到了鉴别。

**关键词:** 拟南芥; 盐胁迫; 转录调控网络; 转录因子; 基因表达

## Construction and analysis of SOS pathway-related transcriptional regulatory network underlying salt stress response in *Arabidopsis*

XIE Chong-Bo, JIN Gu-Lei, XU Hai-Ming, ZHU Jun

College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

**Abstract:** Elucidating gene regulatory network of *Arabidopsis thaliana* under high salt treatment is crucial to understand the defense mechanism of maintaining normal growth rate. Here, an *Arabidopsis* Salt Overly Sensitive (SOS) transcriptional regulatory network under salinity stress was constructed using a reverse engineering method on published genome-wide expression profiles. In this study, the SOS regulatory network constructed contains 70 genes, of which 27 are highly interconnected transcription factors. According to the expression feature of key genes in SOS signaling pathway, distinct expression patterns of the regulatory network were identified.

**Keywords:** *Arabidopsis thaliana*; salt stress; transcriptional regulatory network; transcription factors; gene expression

目前, 土壤盐渍化问题日趋严重, 并不断影响农业生产和农业生态环境。其对植物的胁迫主要有两方面: 一是土壤的盐分浓度偏高会影响植物根部对水分的吸收; 另一方面是植物内部过高的盐分浓度导致植物细胞离子中毒<sup>[1]</sup>。为此, 国内外学者对植物耐盐性机理陆续开展了广泛的研究, 包括 SOS (Salt Overly Sensitive) 信号途径、Ca<sup>2+</sup> 信号途径、

MAPK 级联反应途径和脱落酸参与的细胞信号途径等。其中, 朱健康等<sup>[2,3]</sup>提出的 SOS 机理, 即拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 高盐环境下离子平衡与信号传导体系, 是目前研究较为深入的耐盐机理。

目前, 已知参与 SOS 信号途径的基因有 *SOS1*、*SOS2*、*SOS3*、*SOS4*、*AKT1*、*NHX1* 和 *HKT1*<sup>[4-8]</sup> 等。在 SOS 途径中, *SOS1* 编码细胞膜上的 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 反转运

收稿日期: 2009-12-24; 修回日期: 2010-02-08

基金项目: 农业部公益性行业科研专项(编号: 200803034)和国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(编号: 2008CB117002)资助

作者简介: 谢崇波(1985-), 男, 硕士研究生, 专业方向: 作物遗传育种。E-mail: xiechongbo@zju.edu.cn

通讯作者: 朱军(1949-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 数量遗传学与生物信息学。E-mail: jzhu@zju.edu.cn

子( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter)<sup>[9]</sup>, 它可以将盐胁迫下细胞质内的额外 $\text{Na}^+$ 排出到体外。SOS2 蛋白激酶含有一个催化结构域的N末端和调控结构域的C末端<sup>[10]</sup>, 它能与SOS3 结合形成复合体。SOS2-SOS3 复合体通过磷酸化作用调控SOS1 的表达<sup>[11]</sup>。SOS3 是最先克隆到的SOS基因, 它编码 $\text{Ca}^{2+}$ 结合蛋白<sup>[12]</sup>, 并能向下游传递盐胁迫信号。一些学者对SOS途径的蛋白质网络已有较多研究, 如SOS1 与RCD1 在盐胁迫下的互作<sup>[13]</sup>, SOS2 与CAM家族、CAX1、CAT2.b、CAT3.b、NDPK2、ABI2 等蛋白质的互作网络<sup>[14-17]</sup>, SOS3 与CIPK家族蛋白的互作关系等<sup>[18, 19]</sup>。Gong等<sup>[20]</sup>还对拟南芥SOS2 和SOS3 基因家族进行了分析。在表达调控方面, Kamei等<sup>[21]</sup>对sos2 和sos3 突变体进行了芯片表达研究, Yang等<sup>[22]</sup>则使用多个过量表达的SOS相关基因进行转基因分析。

近年来, 高通量技术主要是基因芯片技术的大量应用为研究基因调控网络和基因组水平的表达变化提供了可能。目前, 公共数据库中(如NCBI、TAIR、NASC)已有大量的拟南芥表达谱芯片数据, 针对盐胁迫和SOS相关基因的芯片实验也有报道<sup>[21, 23, 24]</sup>, Carrera等<sup>[25]</sup>利用大量的拟南芥转录图谱信息, 构建了不同环境胁迫下的基因组转录调控网络。但是, 目前仍然缺乏对拟南芥盐胁迫下SOS途径相关转录调控网络的研究。通过对盐胁迫下SOS途径响应基因表达和蛋白质互作信息的整合, 构建和分析SOS途径特异表达调控网络, 将有利于揭示植物耐盐性机理。

本文使用AtGenExpress计划<sup>[23]</sup>和Dinnyen等<sup>[24]</sup>的拟南芥盐胁迫基因组表达谱数据, 利用基于互信息熵的ARACNe方法, 通过反向工程构建了拟南芥在盐胁迫环境下的SOS转录调控网络。在转录调控网络中, 转录因子(Transcription factor)作为表达网络的关键元件调控着大量基因的表达。通过分析, 我们发现了 27 个可能的主要调控节点转录因子。此外, 根据网络的时间序列变化, 我们研究了SOS信号途径的动态表达模式。

## 1 材料和方法

### 1.1 Affymetrix 芯片数据

本研究中所使用的基因芯片数据均来自 NCBI(the National Center for Biotechnology Informa-

tion)GEO 芯片公共数据库, 实验序列编号分别是 GSE5620、GSE5623、GSE7641、GSE7642 和 GSE7639。总共包含 124 张 Affymetrix ATH1 芯片, 实验 RNA 样本分别取自 140 mmol/L 和 150 mmol/L NaCl 溶液处理的拟南芥根或茎(附表 1)。

### 1.2 基因注释

研究采用的基因和Gene Ontology(GO)注释均取自TAIR7 拟南芥基因注释表。转录因子列表来自 AtTFDB和PlantTFBS (Version 2)数据库。蛋白质互作信息采用Geisler-Lee等<sup>[26]</sup>的研究结果。

### 1.3 网络构建

首先, 我们采用Dchip软件的PM/MM算法<sup>[27]</sup>对基因组芯片数据进行标准化(Normalization)。然后, 通过文本挖掘方法, 收集以往报道的 1 896 个拟南芥盐胁迫相关基因, 并根据标准化后的芯片数据, 构建这批盐胁迫相关基因的表达谱信息。对SOS调控网络的构建采用ARACNe方法, 该方法是近年来Margolin等<sup>[28]</sup>提出的一种构建转录调控网络的反向工程方法, 它通过计算不同基因之间表达数据的共有信息熵, 从而预测基因与基因在表达上的调控关系。本研究使用ARACNe方法, 对 1 896 个基因基于  $P_0=1e-7$  作为显著标准, DPI (Data processing inequality)参数选为 0.15。

为进一步完善 SOS 转录调控网络, 我们对 150 mmol/L 盐处理的时间序列表达芯片进行差异表达分析(芯片实验序列号为 GSE5620 和 GSE5623)和 GO 功能归类。采用 Dchip 对芯片表达基因进行遴选, 芯片数据的标准化以 GSE5623 中的 GSM131318 芯片为基准。基因选择标准如下: (i)处理和对照的表达量均值差异在 3 倍以上, 且差值的绝对值要大于 100; (ii) 当转录因子的表达量大于 200 时, 默认为显著表达; (iii) 已报道为耐盐相关的基因, 或 GO 功能归类为对环境刺激响应(Response to stimulus) 的基因。我们选取了满足上述 3 个条件且在表达调控或蛋白质水平上与 SOS 基因存在互作关系的基因, 用于构建 SOS 转录调控网络。SOS 基因是参与 SOS 信号传导途径的主要基因, 包括 SOS1、SOS2、SOS3、SOS4、AKT1、NHX1 和 HKT1 等。

## 2 结果与分析

### 2.1 SOS 转录调控网络

SOS基因在植物受到盐胁迫条件下, 为维持体内离子平衡起到关键作用<sup>[29]</sup>。我们构建的SOS转录调控网络包含70个基因, 3对蛋白质互作和282对表达调控(附表2)。在这些基因中包括27个转录因子, 其中有13个受到脱落酸(Absciscic acid, ABA)的上调表达(附表3)。有9个转录因子调控2个以上的SOS基因(图1), 这些基因我们认为是关键转录调控子(Major regulator)。

不同DPI值的设置会过滤不同尺度的间接互作基因, 通过对不同DPI值所得结果的比较, 我们选择了0.15为DPI参数值, 在这一参数下获得的调控网络从准确度和网络覆盖度上都得到较好的平衡, 以往报道也显示约15%的调控网络存在回路调控<sup>[30]</sup>。为了检验网络的准确性, 我们采用似然值(Log likelihood scores, LLS)来衡量调控网络的可信度。首先计算网络中互作为同一GO类型的比率, 然后除以随机网络的对应比率后取log得到该似然值, 并以此来判断网

络中互作基因的功能相似性<sup>[31]</sup>。随机网络的LLS值为0, LLS值越大表明网络中基因的互作更符合基因的功能分类, 表明网络更具生物学意义。我们构建的调控网络LLS值为1.35, 经分析Carrera等<sup>[25]</sup>构建的拟南芥环境胁迫调控网络LLS值为1.20, 表明我们的网络较好地反应了基因的功能。为进一步了解我们网络的可靠性, 我们比较了以往报道的拟南芥 *RHL41*(*ZAT12*)基因过量表达网络, 在与盐胁迫较为相近的 $H_2O_2$ 处理条件下鉴别出76个差异表达基因<sup>[32]</sup>, 其中35个基因包含在我们的基因列表内, 且8个为预测的*RHL41*直接调控基因, 18个是第一间接调控基因(*RHL41*经由一个转录因子间接调控), 74%的基因在网络中都与*RHL41*存在直接或间接互作。这些结果表明本研究构建的调控网络能较好地解释基因的功能和相互间的调控关系。

在SOS转录调控网络中, 转录因子*At3g29035*不仅参与*SOS3*、*SOS1*和*AKT1*的调控, 而且与转录因子*WRKY75*和*At3g04070*共同抑制*HKT1*的表达, 阻止 $Na^+$ 被过多地运载至细胞质中。编码锌指蛋白的*RHL41*转录因子, 既调控*SOS1*、*SOS4*和*AKT1*的

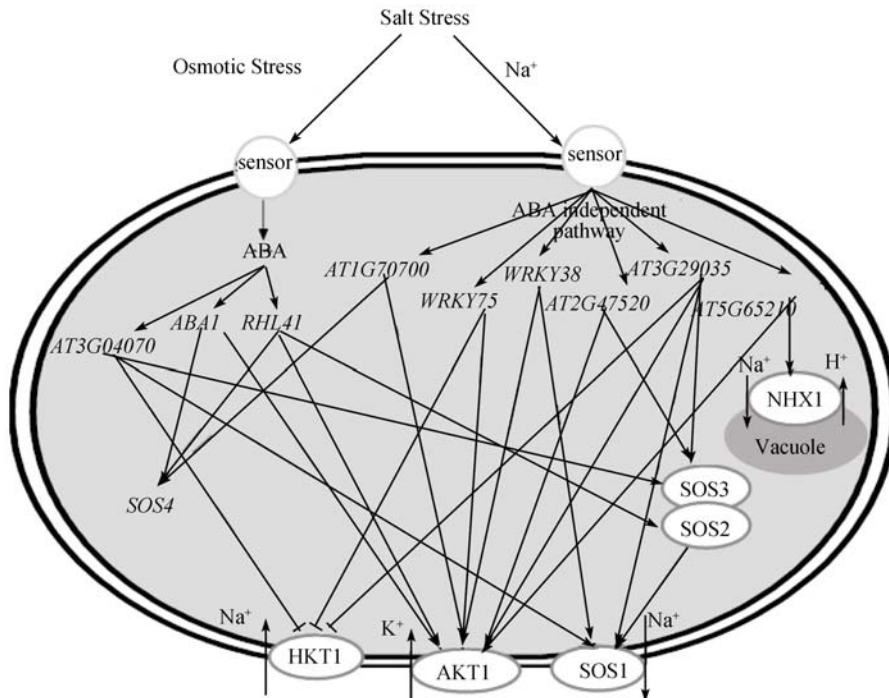


图1 拟南芥盐胁迫环境下的 SOS 转录调控网络

箭头代表转录因子对下游基因上调表达的调控; T型箭头代表转录因子对下游基因的抑制作用; 盐胁迫过程中的渗透压会诱导拟南芥的ABA合成, 并诱导*ABA1*、*RHL41*、*At3g04070*等基因的上调表达; 渗透压和 $Na^+$ 胁迫的感受体, 目前仍未明确。



表达, 也同时参与大多数 *SOS1*、*SOS4* 和 *AKT1* 互作基因的调控。*RHL41* 基因含有一个 EAR 类似基序 (EAR-motif-like), 最初由 Iida 等 [33] 在光胁迫突变体中发现, 随后又在超氧、渗透压、热激和冷害等胁迫中证实其重要性 [32]。根据这些研究, *RHL41* 在非生物胁迫表达网络中应该作为关键转录调控子参与多个胁迫响应途径。*At5g65210* 属于 bZIP 转录因子家族, 调控对细胞质中  $\text{Na}^+$  起隔离作用的 *NHX1*, 它也同时参与了 *AKT1* 的表达调控。

## 2.2 *SOS1* 子调控网络

在拟南芥中, *SOS1* 编码的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  反转运子 ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter), N 末端含有 12 个跨膜结构域, C 末端含有一个特定结构域 [9]。在拟南芥盐胁迫环境中, *SOS1* 被 *SOS2*-*SOS3* 复合体激活后, 可将  $\text{Na}^+$  排至细胞体外。

*SOS* 调控网络显示, 10 个基因与 *SOS1* 存在互作关系, 其中 7 个是转录因子 (图 2a)。转录因子 *At5g66700*、*ATHB\_7*、*At3g29035*、*WRKY38* 和 *At1g25560*, 在调控 *SOS1* 的同时, 也调控网络中的另外 3 个重要基因

*RCD1*、*A.P.R.1* 和 *At3g45650*。在与 *SOS1* 互作的基因中, 有实验证明 *RCD1* 的编码蛋白与 *SOS1* 的 C 末端存在互作 [13]。同时, 拟南芥 *rcd1* 突变体的耐盐性显著降低。在没有环境胁迫时, *RCD1* 存在于细胞核中, 但当高盐或超氧化胁迫时, 在细胞核和细胞质周边都有存在, 这表明它在盐胁迫环境下被激活表达, 并与 *SOS1* 发生互作。*A.P.R.1* 编码硫酸盐 (Sulfate assimilation) 同化作用的关键酶, 它的编码基因在网络中受到 *ATHB\_7*、*WRKY38* 与 *At1g25560* 的调控作用。*A.P.R.1* 也曾被报道, 在 ABA 独立的信号传导途径中, 受到盐胁迫的诱导表达 [34]。

## 2.3 *SOS2* 子调控网络

*SOS2* 基因编码一个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 它含有一个催化结构域的 N 末端和调控结构域的 C 末端 [10], 主要功能是维持  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  的浓度平衡, 并通过  $\text{Ca}^{2+}$  信号被 *SOS3* 所激活。*SOS2* 作为 *SOS* 信号途径中的关键蛋白, 往往与 *SOS3* 等其他信号蛋白结合 [11,14] 参与盐胁迫的信号调控。

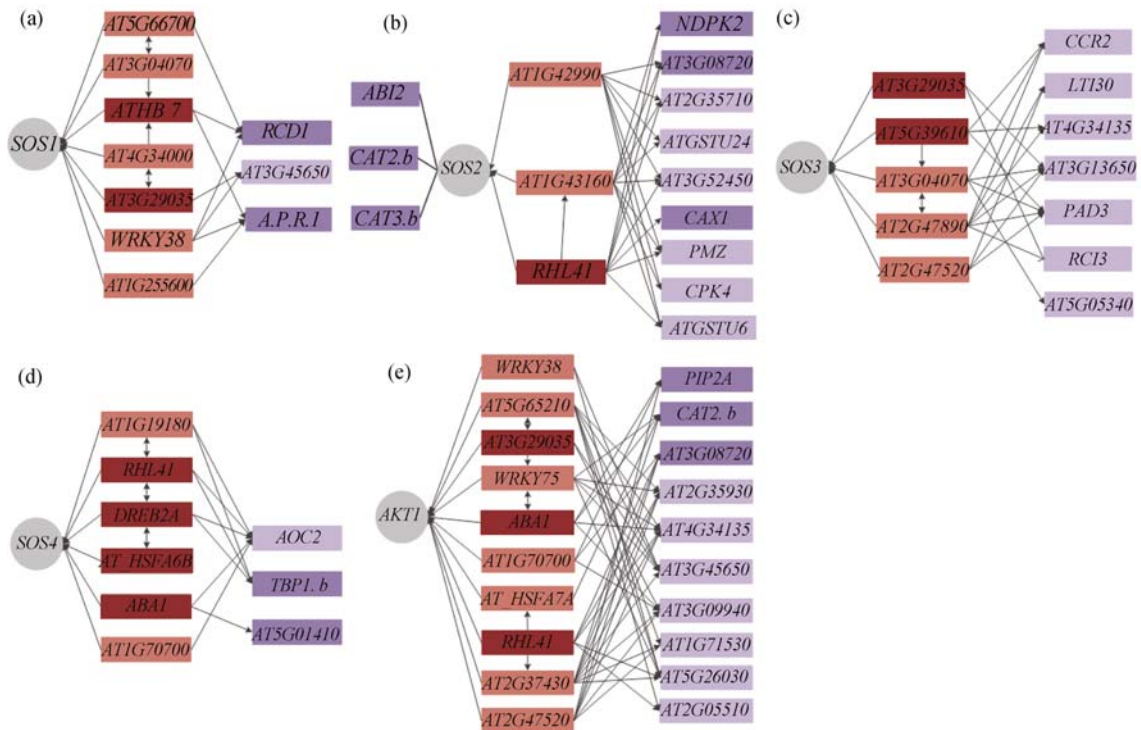


图 2 拟南芥盐胁迫环境下 *SOS* 核心基因的调控模式

(a)~(e) 分别代表 *SOS1*、*SOS2*、*SOS3*、*SOS4* 和 *AKT1* 子调控网络。圆代表 *SOS* 核心基因；红色和浅红色矩形代表转录因子；紫色和浅紫色矩形代表转录因子的下游目标基因；红色和紫色代表在过去研究中已有报道的耐盐相关基因；箭头和 T 型箭头分别代表基因的上调和抑制；双向箭头代表转录因子间方向性尚不明确的调控；黑色粗线条代表蛋白质互作。

在SOS2子调控网络中, 15个基因与SOS2存在互作关系(图2b)。其中, 转录因子*At1g42990*、*At1g43160*和*RHL41*, 对除*CAT2.b*、*CAT3.b*和*ABI2*外的其余9个基因均有上调表达作用(图2b)。在这9个基因中, 编码超氧信号蛋白的*NDPK2*和编码 $H^+/Ca^{2+}$ 反转运子的*CAX1*已被证实会与SOS2发生蛋白质互作<sup>[15,16]</sup>, 这些互作都增强了拟南芥的耐盐性。在SOS2调控网络中, *NDPK2*、*CAX1*的表达还受到*RHL41*的调控。此外网络中与ABA途径有关的*ABI2*基因的编码蛋白可通过C末端磷酸酶基序与SOS2产生互作<sup>[14]</sup>。调控*ABI2*的转录因子并没有落在SOS2子网络中, 但*ABI2*的编码蛋白可调控大范围的ABA响应基因<sup>[35]</sup>。编码假定糖原蛋白(Putative glycogenin)的基因*At2g35710*, 受到此处3个转录因子的同时调控, 它的表达也受到渗透压和冷害胁迫的诱导<sup>[36]</sup>。

## 2.4 SOS3子调控网络

在我们构建的SOS网络中, 有5个转录因子调控SOS3的表达(图2c)。被其中两个转录因子*At2g47890*和*At3g29035*调控的*RCI3*, 不同于SOS3网络中的其他基因, 它是唯一被抑制表达的基因。*RCI3*编码活性阳离子过氧化物酶(Active cationic peroxidase), 它在拟南芥幼苗中受盐胁迫的激活表达<sup>[37]</sup>。结合本文的研究, 说明*RCI3*在拟南芥不同发育阶段对盐胁迫有不同的响应。在我们的网络中, 转录因子*At5g39610*的表达早于转录因子*At3g04070*, 两者间又存在互作关系。因此, 我们认为*At5g39610*对*At3g04070*的表达起到上调作用。

## 2.5 SOS4子调控网络

*SOS4*是拟南芥根毛发育过程中的重要基因<sup>[8]</sup>。有趣的是, 此处与*SOS4*互作的9个基因中, 有6个为转录因子(图2d)。除*AT\_HSFA6B*外, 其余转录因子都对*AOC2*有上调表达作用。网络中与拟南芥耐盐性相关的基因*At5g01410*, 仅受到转录因子*ABA1*的调控, 表明*At5g01410*参与了盐胁迫中ABA信号途径。有研究报道, *At5g01410*编码的蛋白与自身间还存在互作关系<sup>[38]</sup>。SOS4网络中AP2-EREBP家族的转录因子*DREB2A*, 在高盐和干旱胁迫中都是非常重要的转录因子<sup>[39]</sup>。很多含有DRE启动子基序的胁迫诱导基因, 都是*DREB2A*的下游调控基因。网络中

的另一重要基因是*TBPL1.b*, 受到*At1g19180*、*RHL41*和*DREB2A*的同时调控, 它含有一段Myc结合基序, 也被认为是拟南芥的耐盐基因<sup>[40]</sup>。

## 2.6 AKT1子调控网络

在盐胁迫环境下, 维持细胞内的 $K^+/Na^+$ 平衡对拟南芥的正常代谢至关重要。*AKT1*可编码阻止 $Na^+$ 与 $K^+$ 在根部竞争的蛋白质<sup>[29]</sup>。*AKT1*的表达受到了10个转录因子的调控, 且与另外10个基因存在互作(图2d)。有趣的是, 由*PIP2A*、*CAT2.b*、*AT5G26030*和*AT1G71530*编码的蛋白都与自身存在互作。上调表达的WRKY基因(*WRKY38*、*WRKY75*)、*At3g09940*和*At1g71530*在AKT1子表达网络中起到保卫基因的作用<sup>[41,42]</sup>。转录因子*AT\_HSFA7A*除了在SOS网络中起到重要调控作用外, 也是热激胁迫中非常重要的转录因子<sup>[43]</sup>。

## 2.7 SOS3子网络的动态表达模式

SOS调控网络中的基因在盐处理后不同时间段呈现出不同的表达, 因此, SOS调控网络也随着时间的变化呈现出不同的表达模式。我们根据盐处理时间序列的变化, 构建了SOS基因的动态表达网络。以*SOS3*为例(图3), *SOS3*表达网络中的所有基因, 根据差异化表达时期的不同, 展现出规律的动态变化。在盐胁迫早期, 只有转录因子*At3g29035*和*At5g39610*响应表达。随后, 转录因子*At2g47890*和*At3g04070*在1h后呈现差异表达, 并与上一时期表达的*At5g39610*共同调控木质素合成相关基因*CCR2*。大部分基因都在盐处理后的6h呈现差异化表达, 12h之后呈现差异表达的基因有所回落, 表明拟南芥对盐胁迫的响应, 随着时间的变化逐步调整到适应盐环境刺激的状态。

## 3 讨论

SOS信号传导途径是目前研究最为深入的拟南芥耐盐机制, 它是调节盐胁迫下离子平衡的关键, 同时也是较为保守的耐盐机制, 在其他植物的盐胁迫环境下也起到离子调节作用, 如水稻<sup>[44]</sup>、油菜<sup>[45]</sup>等。目前对SOS途径的研究主要集中在SOS信号传递基因鉴定和蛋白质互作网络的分析, 如*RCD1*、*CAX1*、*CAT2.b*、*CAT3.b*、*NDPK2*和*ABI2*等与SOS编码蛋白间的互作关系<sup>[13~16]</sup>。在表达调控方面目前已

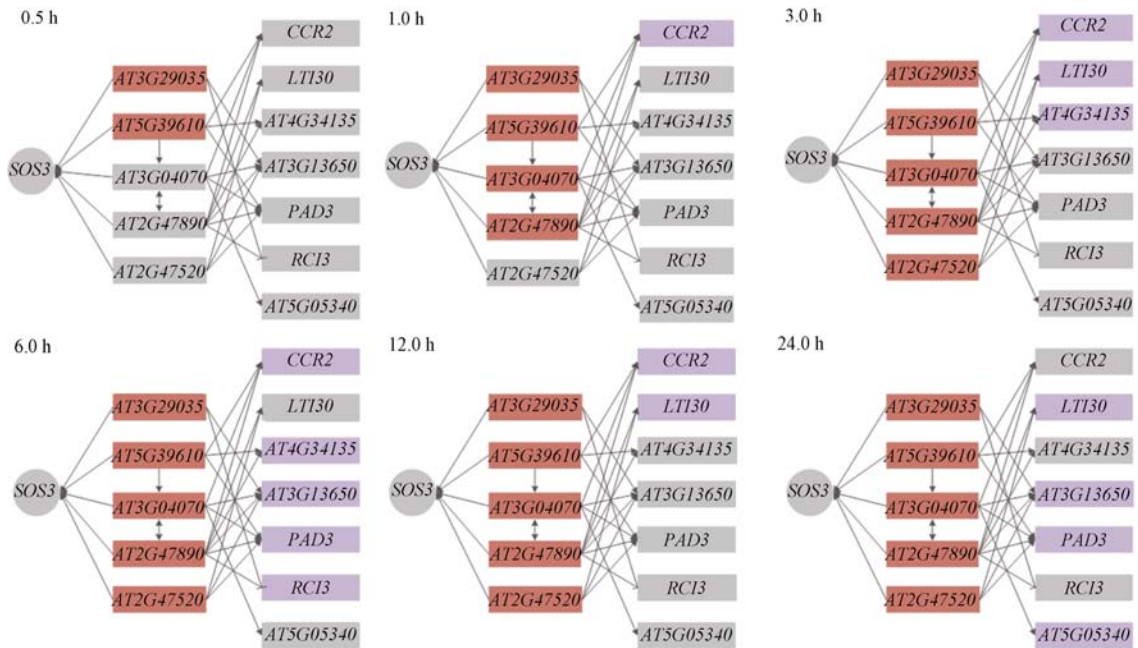


图 3 拟南芥盐胁迫环境下 SOS3 子网络的动态表达模式

红色矩形代表该时刻呈差异化表达的转录因子；紫色矩形代表该时刻被诱导表达的下游基因；灰色代表该时刻未呈差异表达的基因。在蛋白质水平，SOS3 对盐胁迫的离子平衡起主要调控作用，而在转录水平下，差异表达不显著。

有大量针对拟南芥盐胁迫的芯片分析研究<sup>[23, 24, 36, 46]</sup>，对于 SOS 信号传导途径的核心基因 *SOS2* 和 *SOS3* 也有突变体和过量表达的分析<sup>[21, 22]</sup>。在此基础上，本研究利用 NCBI 公共平台的拟南芥芯片数据，采用生物信息学方法对芯片数据进行归一化、差异化表达、GO 分类和互信息熵分析，预测了拟南芥盐胁迫环境下 SOS 途径相关的转录调控网络。相较于以往的表达调控研究，我们提出了 SOS 网络中的核心调控基因，以及表达调控过程中的相互关系，发现 27 个转录因子是 SOS 网络的调控节点，包括 *RHL41*、*WRKYs* 等起重要作用的转录因子，以及多个首次报道参与 SOS 信号途径的转录因子。此外，我们进一步分析了 SOS 表达调控网络的动态变化，发现了盐胁迫响应早期到后期过程中的基因动态表达模式。这些结果对揭示拟南芥根在适应盐环境过程中的基因表达调控机制具有重要意义。

在拟南芥环境胁迫中，植物激素对基因表达有一定的调节作用。ABA 是目前已知拟南芥盐胁迫中的重要调节激素<sup>[47]</sup>。我们构建的 SOS 调控网络中有 25 个基因属于 ABA 信号途径，贯穿其合成和信号传导，如，*SOS4* 和 *AKT1* 的调控子 *ABA1*，在盐处理后 1 小时激活表达，参与了 ABA 的合成。

由于互信息熵方法无法确定互作基因之间的上下游关系，在本研究中利用转录因子的注释信息构建转录因子与其他基因之间的调控关系。但是，转录因子间调控的方向性仍然无法确定。为此我们结合了时间序列的表达信息。当两个转录因子间存在互作关系时，我们认为盐处理前期表达的转录因子调控后表达的转录因子。但当两者同时表达时，是否互相调控或同时被第三者调控，则难以确定，需要分子生物学实验鉴定。

虽然植物耐盐性机理非常复杂，我们希望本研究提出的潜在耐盐性相关基因及其相互间关系，能有助于揭示植物盐胁迫信号传导途径的内在机理，并为今后提高植物耐盐性提供可能的选择。

## 附录:

附表 1~3 见文章电子版([www.Chinagene.cn](http://www.Chinagene.cn))。

## 参考文献(References):

- [1] Bartels D, Snkar R. Drought and salt tolerance in plants. *Crit Rev Plant Sci*, 2005, 24(1): 23–58.
- [2] Zhu JK. Cell signaling under salt, water and cold stresses. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4(5): 401–406. [DOI](https://doi.org/10.1016/S1462-0066(01)00040-1)



- [3] Zhu JK. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53: 247–273. [\[DOI\]](#)
- [4] Mahajan S, Pandey GK, Tuteja N. Calcium- and salt-stress signaling in plants: shedding light on SOS pathway. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 471(2): 146–158. [\[DOI\]](#)
- [5] Apse MP, Aharon GS, Snedden WA, Blumwald E. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter in *Arabidopsis*. *Science*, 1999, 285(5431): 1256–1258. [\[DOI\]](#)
- [6] Qi Z, Spalding EP. Protection of plasma membrane  $\text{K}^+$  transport by the salt overly sensitive1  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter during salinity stress. *Plant Physiol*, 2004, 136(1): 2548–2555. [\[DOI\]](#)
- [7] Rus A, Yokoi S, Sharkhuu A, Reddy M, Lee BH, Matsumoto TK, Koiwa H, Zhu JK, Bressan RA, Hasegawa PM. AtHKT1 is a salt tolerance determinant that controls  $\text{Na}^+$  entry into plant roots. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24): 14150–14155. [\[DOI\]](#)
- [8] Shi H, Zhu JK. SOS4, a pyridoxal kinase gene, is required for root hair development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2002, 129(2): 585–593. [\[DOI\]](#)
- [9] Shi H, Ishitani M, Kim C, Zhu JK. The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(12): 6896–6901. [\[DOI\]](#)
- [10] Liu J, Ishitani M, Halfter U, Kim CS, Zhu JK. The *Arabidopsis thaliana* *SOS2* gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(7): 3730–3734. [\[DOI\]](#)
- [11] Qiu QS, Guo Y, Dietrich MA, Schumaker KS, Zhu JK. Regulation of *SOS1*, a plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by *SOS2* and *SOS3*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(12): 8436–8441. [\[DOI\]](#)
- [12] Liu J, Zhu JK. A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. *Science*, 1998, 280(5371): 1943–1945. [\[DOI\]](#)
- [13] Katiyar-Agarwal S, Zhu J, Kim K, Agarwal M, Fu X, Huang A, Zhu JK. The plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter *SOS1* interacts with *RCD1* and functions in oxidative stress tolerance in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(49): 18816–18821. [\[DOI\]](#)
- [14] Ohta M, Guo Y, Halfter U, Zhu JK. A novel domain in the protein kinase *SOS2* mediates interaction with the protein phosphatase 2C *ABI2*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(20): 11771–11776. [\[DOI\]](#)
- [15] Cheng NH, Pittman JK, Zhu JK, Hirschi KD. The protein kinase *SOS2* activates the *Arabidopsis*  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  antiporter *CAX1* to integrate calcium transport and salt tolerance. *J Biol Chem*, 2004, 279(4): 2922–2926. [\[DOI\]](#)
- [16] Verslues PE, Batelli G, Grillo S, Agius F, Kim YS, Zhu J, Agarwal M, Katiyar-Agarwal S, Zhu JK. Interaction of *SOS2* with nucleoside diphosphate kinase 2 and catalases reveals a point of connection between salt stress and  $\text{H}_2\text{O}_2$  signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(22): 7771–7780. [\[DOI\]](#)
- [17] Popescu SC, Popescu GV, Bachan S, Zhang Z, Seay M, Gerstein M, Snyder M, Dinesh-Kumar SP. Differential binding of calmodulin-related proteins to their targets revealed through high-density *Arabidopsis* protein microarrays. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(11): 4730–4735. [\[DOI\]](#)
- [18] Shi J, Kim KN, Ritz O, Albrecht V, Gupta R, Harter K, Luan S, Kudla J. Novel protein kinases associated with calcineurin B-like calcium sensors in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1999, 11(12): 2393–2405. [\[DOI\]](#)
- [19] Albrecht V, Ritz O, Linder S, Harter K, Kudla J. The NAF domain defines a novel protein-protein interaction module conserved in  $\text{Ca}^{2+}$ -regulated kinases. *EMBO J*, 2001, 20(5): 1051–1063. [\[DOI\]](#)
- [20] Gong D, Guo Y, Schumaker KS, Zhu JK. The *SOS3* family of calcium sensors and *SOS2* family of protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2004, 134(3): 919–926. [\[DOI\]](#)
- [21] Kamei A, Seki M, Umezawa T, Ishida J, Satou M, Akiyama K, Zhu JK, Shinozaki K. Analysis of gene expression profiles in *Arabidopsis* salt overly sensitive mutants *sos2-1* and *sos3-1*. *Plant Cell Environ*, 2005, 28(10): 1267–1275. [\[DOI\]](#)
- [22] Yang Q, Chen ZZ, Zhou XF, Yin HB, Li X, Xin XF, Hong XH, Zhu JK, Gong Z. Overexpression of *SOS* (*Salt Overly Sensitive*) genes increases salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2009, 2(1): 22–31. [\[DOI\]](#)
- [23] Kilian J, Whitehead D, Horak J, Wanke D, Weinl S, Batistic O, D'Angelo C, Bornberg-Bauer E, Kudla J, Harter K. The AtGenExpress global stress expression data set: protocols, evaluation and model data analysis of UV-B light, drought and cold stress responses. *Plant J*, 2007, 50(2): 347–363. [\[DOI\]](#)
- [24] Dinneny JR, Long TA, Wang JY, Jung JW, Mace D, Pointer S, Barron C, Brady SM, Schiefelbein J, Benfey PN. Cell identity mediates the response of *Arabidopsis* roots to abiotic stress. *Science*, 2008, 320(5878): 942–945. [\[DOI\]](#)
- [25] Carrera J, Rodrigo G, Jaramillo A, Elena SF. Reverse-engineering the *Arabidopsis thaliana* transcriptional network under changing environmental conditions. *Genome Biol*, 2009, 10(9): R96. [\[DOI\]](#)

- [26] Geisler-Lee J, O'Toole N, Ammar R, Provart NJ, Millar AH, Geisler M. A predicted interactome for *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 145(2): 317–329. [\[DOI\]](#)
- [27] Li C, Wong WH. Model-based analysis of oligonucleotide arrays: expression index computation and outlier detection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(1): 31–36. [\[DOI\]](#)
- [28] Margolin AA, Wang K, Lim WK, Kustagi M, Nemenman I, Califano A. Reverse engineering cellular networks. *Nat Protoc*, 2006, 1(2): 662–671. [\[DOI\]](#)
- [29] Zhu JK. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 6(5): 441–445. [\[DOI\]](#)
- [30] Margolin AA, Nemenman I, Basso K, Wiggins C, Stolovitzky G, Dalla Favera R, Califano A. ARACNE: an algorithm for the reconstruction of gene regulatory networks in a mammalian cellular context. *BMC Bioinformatics*, 2006, 7(Suppl. 1): S7. [\[DOI\]](#)
- [31] Lee I, Lehner B, Crombie C, Wong W, Fraser A, Marcotte E. A single gene network accurately predicts phenotypic effects of gene perturbation in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Genet*, 2008, 40(2): 181. [\[DOI\]](#)
- [32] Davletova S, Schlauch K, Coutu J, Mittler R. The zinc-finger protein Zat12 plays a central role in reactive oxygen and abiotic stress signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2005, 139(2): 847–856. [\[DOI\]](#)
- [33] Iida A, Kazuoka T, Torikai S, Kikuchi H, Oeda K. A zinc finger protein RHL41 mediates the light acclimatization response in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2000, 24(2): 191–203. [\[DOI\]](#)
- [34] Koprivova A, North KA, Kopriva S. Complex signaling network in regulation of adenosine 5'-phosphosulfate reductase by salt stress in *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol*, 2008, 146(3): 1408–1420. [\[DOI\]](#)
- [35] Finkelstein RR, Gampala SS, Rock CD. Absciscic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell*, 2002, 14(Suppl. 1): S15–45.
- [36] Kreps JA, Wu Y, Chang HS, Zhu T, Wang X, Harper JF. Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiol*, 2002, 130(4): 2129–2141. [\[DOI\]](#)
- [37] Llorente F, Lopez-Cobollo RM, Catala R, Martinez- Zapater JM, Salinas J. A novel cold-inducible gene from *Arabidopsis*, RCI3, encodes a peroxidase that constitutes a component for stress tolerance. *Plant J*, 2002, 32(1): 13–24. [\[DOI\]](#)
- [38] Wagner S, Bernhardt A, Leuendorf JE, Drewke C, Lytovchenko A, Mujahed N, Gurgui C, Frommer WB, Leistner E, Fernie AR, Hellmann H. Analysis of the *Arabidopsis* *rsr4-1/pdx1-3* mutant reveals the critical function of the PDX1 protein family in metabolism, development, and vitamin B6 biosynthesis. *Plant Cell*, 2006, 18(7): 1722–1735. [\[DOI\]](#)
- [39] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, Abe H, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1998, 10(8): 1391–1406. [\[DOI\]](#)
- [40] Nagaoka S, Takano T. Salt tolerance-related protein STO binds to a Myb transcription factor homologue and confers salt tolerance in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 2003, 54(391): 2231–2237. [\[DOI\]](#)
- [41] Boisson B, Giglione C, Meinel T. Unexpected protein families including cell defense components feature in the *N-myristoylome* of a higher eukaryote. *J Biol Chem*, 2003, 278(44): 43418–43429. [\[DOI\]](#)
- [42] Kim KC, Lai Z, Fan B, Chen Z. *Arabidopsis* WRKY38 and WRKY62 transcription factors interact with histone deacetylase 19 in basal defense. *Plant Cell*, 2008, 20(9): 2357–2371. [\[DOI\]](#)
- [43] Larkindale J, Vierling E. Core genome responses involved in acclimation to high temperature. *Plant Physiol*, 2008, 146(2): 748–761. [\[DOI\]](#)
- [44] Martinez-Atienza J, Jiang X, Garcíadeblas B, Mendoza I, Zhu JK, Pardo JM, Quintero FJ. Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice. *Plant Physiol*, 2007, 143(2): 1001–1012. [\[DOI\]](#)
- [45] Wang J, Wu W, Zuo K, Fei J, Sun X, Lin J, Li X, Tang K. Isolation and characterization of a serine/threonine protein kinase *SOS2* gene from *Brassica napus*. *Cell Mol Biol Lett*, 2004, 9(3): 465–473.
- [46] Ma S, Gong Q, Bohnert HJ. Dissecting salt stress pathways. *J Exp Bot*, 2006, 57(5): 1097–1107. [\[DOI\]](#)
- [47] Gazzarrini S, McCourt P. Genetic interactions between ABA, ethylene and sugar signaling pathways. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4(5): 387–391. [\[DOI\]](#)