



谢旗课题组主要研究方向是植物激素信号调控和泛素蛋白调控的分子机制的研究。在建立植物蛋白泛素化研究系列方法学的基础上,以拟南芥、水稻和小盐芥为研究材料,系统鉴定分析了高等植物蛋白泛素化调控的关键因子。重点解析泛素蛋白介导的植物生长素和脱落酸及植物 ERAD 复合物在逆境信号转导中的重要调控机制。揭示了耐盐植物小盐芥的耐盐机制和蛋白泛素化介导的植物病毒与寄主互作的重要调控作用。相关研究成果发表在 *Nature*、*Trends in Plant Science*、*Cell Research*、*PNAS*、*Plant Cell*、*Molecular Plant* 等期刊上。相关研究论文多次被 *Nature Review of Microbiology* 和 *Faculty of 1000* 等专文评述,在相关领域产生了重要的国际影响。发表的文章被他引超过 6750 次,2016 年被国际知名汤姆逊-路透社(Thomson Reuters)评为全球引文桂冠奖科学家。

泛素化修饰调控脱落酸介导的信号途径

于菲菲¹, 谢旗^{1,2}

1. 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;
2. 中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049

摘要: 泛素化修饰是一种重要的蛋白质翻译后修饰,通过调节蛋白的活性和稳定性等影响其功能的发挥,在真核生物的生命过程中具有非常重要的作用。泛素化修饰通过精细地调控植物激素脱落酸(abscisic acid, ABA)的合成和信号转导过程的关键因子,影响植物对 ABA 的响应,参与植物生长发育过程及对干旱、盐和冷胁迫等不良环境的应答。本文概述了植物中泛素化修饰的相关组分(包括泛素连接酶 E3、泛素结合酶 E2、26S 蛋白酶体)和内膜运输相关蛋白,以及这些蛋白调控 ABA 合成和信号转导过程的最新研究进展,提出该研究领域需要解决的新问题,以期对相关领域的科研人员进一步了解翻译后修饰如何调控激素信号的转导途径提供参考。

关键词: 脱落酸; 泛素连接酶 E3s; 内膜运输; 泛素

Ubiquitination modification precisely modulates the ABA signaling pathway in plants

Feifei Yu¹, Qi Xie^{1,2}

1. 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;
2. College of Life Science, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Protein post-translational modification by ubiquitination is essential for the activity and stability of pro-

收稿日期: 2017-02-13; 修回日期: 2017-03-24

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(编号: 2011CB915402)资助[Supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2011CB915402)]

通讯作者: 谢旗, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 泛素介导的蛋白修饰及植物逆境胁迫信号传导的分子机制。E-mail: qxie@genetics.ac.cn

于菲菲, 博士, 工程师, 研究方向: 泛素介导的蛋白修饰及植物逆境胁迫信号传导的分子机制。E-mail: ffyu@genetics.ac.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.17-043

网络出版时间: 2017/7/18 11:16:43

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20170718.1116.002.html>

teins in the eukaryotic life cycle. In the past few years, it has been found that ubiquitination subtly modulates the abscisic acid (ABA) signaling pathway to regulate plant growth, development and stress responses, such as drought, salinity and cold stress responses. In this review, how the ubiquitin-proteasome system and ubiquitination-related membrane trafficking pathway affect ABA synthesis and signal transduction will be addressed and analysed. Also, the challenging questions in this field will be raised. These comprehensive views on the regulatory role of ubiquitination modification in the ABA pathway will shed light on future researches on how the ubiquitination-related process affects other hormone signaling pathways.

Keywords: abscisic acid (ABA); E3 ubiquitin ligase; membrane trafficking; ubiquitin

泛素化修饰是一种重要的蛋白质翻译后修饰,在真核生物的生长发育和应对不良环境等方面起着非常重要的作用。蛋白质泛素化修饰能够调节短寿命蛋白或非正常折叠蛋白的稳定性,改变蛋白的亚细胞定位、蛋白的组装和蛋白活性等^[1]。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,涉及该途径的蛋白约占总蛋白的 5%,可见泛素化修饰在植物生长过程中发挥着非常广泛而重要的作用^[2,3]。脱落酸(abscisic acid, ABA)作为主要的植物激素之一,参与植物的生长发育和各种生物、非生物胁迫应对过程。在不良环境胁迫下,植物细胞中的 ABA 含量增多,成为植物感受和应对外界环境信号的关键因子^[4]。近年来研究发现,蛋白质翻译后的泛素化修饰严格调控 ABA 信号的接收和转导。随着对 ABA 受体泛素连接酶(ubiquitin ligases, E3)的分离和鉴定,科研人员深入认识到泛素化修饰不仅通过泛素 26S 蛋白酶体系统调节 ABA 途径的关键作用因子,影响其蛋白活性和稳定性,而且可以通过泛素化修饰所参与的内膜运输途径对 ABA 信号进行精细的调控。因此通过对泛素化修饰调控 ABA 信号通路的分子机理的深入探索和研究,有望进一步发掘相关功能基因,培育出抗旱耐盐等优良性状的作物,从而增加土地贫瘠地区的粮食产量和提高粮食质量。

1 泛素 26S 蛋白酶体系统

蛋白质的泛素化过程一般由泛素激活酶(ubiquitin-activating enzymes, E1)、泛素结合酶(ubiquitin-conjugating enzymes, E2)和 E3 催化的级联反应完成。在 ATP 存在下,泛素(ubiquitin, Ub)被 E1 激活为腺苷酸化的泛素分子,被激活的泛素分子羧基端的甘氨酸残基与 E1 活性中心的半胱氨酸的巯基形

成硫酯键,然后泛素分子被转移到 E2 的半胱氨酸巯基上,最终由 E3 介导将泛素分子转移到靶蛋白的赖氨酸残基上。26S 蛋白酶体识别泛素化的蛋白,由去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUBs)将泛素链从底物蛋白上移除供循环利用,去泛素化的蛋白进一步被 26S 蛋白酶体中的蛋白酶降解^[5]。之前的研究表明,蛋白质的泛素化修饰依赖于 E1、E2 和 E3,而最近有文献报道,细菌 SidE 家族蛋白能够介导 Rab 小 GTPase 的泛素化而不依赖于 E1、E2 和 ATP,并且 SidE 本身含有的 DUB(deubiquitinating enzyme)结构域能够介导传统的泛素化蛋白的去泛素化,但这种去泛素化活性对 Rab 小 GTPase 不起作用^[6]。目前发现在拟南芥中有 2 个 E1、37 个 E2、8 个 E2-like 蛋白和多于 1500 个 E3 及大约 70 种 DUBs^[7-9]。

1.1 泛素分子和泛素链形式

Ub 是广泛存在于真核细胞生物中的一类小分子,因此称为“泛素”。Ub 由 76 个氨基酸组成,植物泛素与动物和酵母的泛素分别只有 2 个和 3 个氨基酸的差别,说明泛素分子在真核生物中是高度保守的。泛素分子内存在很多氢键,因此泛素分子具有非常稳定的结构,从而使其从底物蛋白上移除后能够进入再循环。Ub 折叠柔软的 C 末端有两个甘氨酸,后一个甘氨酸的羧基与 E1、E2 和一些 E3 的半胱氨酸残基形成硫酯键,最终将 Ub 分子转移到目的蛋白上^[10]。拟南芥中编码泛素分子的基因有 12 个(*UBQ1-7*、*UBQ10-11*、*UBQ14-15* 和 *UBQ17*),它们编码的是泛素融合蛋白前体^[11]。这些蛋白前体分为两类:一类是 Ub 分子首尾相接的多聚体,共有 5 个泛素基因编码,包括 *UBQ3-4*、*UBQ10-11* 和 *UBQ-*

14 ;另一类是 Ub 分子与其他蛋白的氨基端相连的融合蛋白,包括 5 个与核糖体亚基和 2 个与 Ub-like 蛋白 RUB(related to Ub)连接的泛素融合蛋白前体,这类基因包括 *UBQ1-2*、*UBQ5-6* 和 *UBQ17* 及 *UBQ7* 和 *UBQ15*。泛素融合蛋白前体均需要去泛素化酶将其在泛素分子 C 末端的甘氨酸处精确剪切,从而将泛素化分子释放出来,形成 C 末端段为 RGG (R: 精氨酸; G: 甘氨酸)的有活性的泛素分子^[3,12]。Ub-RUB 融合蛋白的存在意味着泛素与 Ub-like 蛋白修饰存在相互关系,Ub-like 蛋白也的确能够调节泛素化修饰。

大部分泛素化蛋白的泛素链连接在赖氨酸残基上。泛素化形式大体分为单泛素化(mono-ubiquitination)和多聚泛素化(poly-ubiquitination)。因为泛素分子可以连接在上一个泛素分子的 7 个赖氨酸的任意一个上,所以多聚泛素链能够形成不同的拓扑结构,包括 K6、K11、K27、K29、K33、K48 和 K63 位连接的泛素链形式。除此之外,还有一种是形成线性的首尾相接的泛素链(M1)^[13]。底物蛋白的泛素链形式在一定程度上能够决定被修饰蛋白的命运。例如, K48 和 K11 位连接的泛素链往往导致蛋白降解,而 K63 位连接的泛素链修饰和单泛素化修饰可能参与 DNA 修复和细胞内吞作用^[13]。根据参与的生物学过程,泛素链能够被多种不同的泛素结合结构域识别,包括 UBA (ubiquitin-associated)、UIM (ubiquitin-interacting motif)和 UEV (ubiquitin E2 variant)等^[7]。

1.2 泛素激活酶 E1

拟南芥中编码泛素激活酶 E1 的基因有两个: *UBA1* (ubiquitin-activating enzyme 1, At2g30110)和 *UBA2* (ubiquitin activating 2, At5g06460), 编码的蛋白均含有约 1100 个氨基酸,这两个蛋白的氨基酸序列相似性高达 80%。敲除这两个基因的双突变体致死,说明 E1 具有非常重要的功能^[14]。E1 均含有一个能够结合泛素分子的保守半胱氨酸残基和一个能够与 ATP/AMP-Ub 中间体互作的核苷酸结合基序,因此泛素分子的激活需要 ATP 提供能量^[3,10]。因为 E1 数目少,一般认为 E1 的激活功能没有较强的底物特异性。早期研究认为,动物和酵母中 UBE1/

UBA1 是唯一的 E1,因此其对 E2 没有选择特异性,但后来的研究发现,动物中还存在另外一个 E1 UBA6, UBA1 和 UBA6 能够将活化的 Ub 分子转移到不同的 E2 上,因此其对 E2 具有选择性^[15]。目前认为拟南芥中的 E1 不具有底物特异性。

1.3 泛素结合酶 E2 和 E2-like

泛素结合酶 E2 均含有 UBC (ubiquitin conjugating)结构域,该结构域是由 140~150 个氨基酸组成的催化核心。UBC 结构域的一个保守的半胱氨酸能够与泛素分子羧基端的甘氨酸残基共价结合形成硫酯键^[11]。拟南芥中有 48 个编码含有类似 UBC 结构域的基因^[10,12,16],其中 37 个具有真正的泛素结合酶催化活性。这些 E2 大部分具有体外泛素化活性,但有些需要在特异的 E3、底物蛋白或是相互作用蛋白存在的情况下才具有活性^[16]。如 UBC19 只有在特异的 E3 复合体 APC (anaphase promoting complex)存在时才具有活性^[17]。有意思的是,E1 和 E3 与 E2 结合的区域是相互重叠的,表明 E2 与 E3 结合前需要 E1 从 E2 上先解离下来^[18]。另外,拟南芥中还含有 3 个编码 Ub-like 蛋白修饰的 E2 和 8 个含有 UEV (ubiquitin conjugating enzyme variants)结构域的 E2-like。这 3 个 Ub-like 蛋白修饰的 E2 包括 RUB 结合酶 RCE1 (RUB conjugating enzyme1)/RCE2 和 SUMO 结合酶 SCE1 (SUMO conjugating enzyme 1),它们通过半胱氨酸的巯基结合类泛素蛋白。E2-like 含有的 UEV 结构域不具有泛素结合酶 E2 活性所必需的保守半胱氨酸,不能与泛素分子羧基端的甘氨酸残基形成硫酯键,因此不具有真正的泛素结合酶活性,但仍然能够结合泛素分子^[12]。

1.4 泛素连接酶 E3

泛素化底物的特异性主要是由数目众多的泛素连接酶 E3 决定的,因此对泛素连接酶 E3 及其底物的研究对了解泛素化修饰在植物生长发育和抗逆方面的功能尤为重要。根据 E3 含有的特征性结构域和是否含有巯基连接的泛素分子,将其分为 3 类,分别为 HECT (homologous to the E6-AP carboxyl terminus)、RING (really interesting new gene)及 RBR (RING-betweenRING-RING)类型的 E3 连接酶或 E3 连接酶复合体^[11]。HECT 类型的 E3 含有一个有活性

的半胱氨酸残基, 能够与泛素形成硫酯键连接泛素的中间体, 并将泛素传递给底物蛋白。在 RING 类型的 E3 介导的泛素化过程中, E3 自身不共价连接泛素分子, 而只是介导将 E2 半胱氨酸残基上共价连接的 Ub 加到底物蛋白上。RING 类型 E3 又分为单亚基泛素连接酶和多亚基泛素连接酶复合体, 单亚基类型包括含有 RING 和 U-box 结构域的 E3, 多亚基复合体分为 4 类: SCF (S-phase kinase-associated protein-cullin1-F-Box)、BTB (Bric-a-brac-Tramtrak-Broad)、DDB 和 APC 类 E3 连接酶复合体^[7]。RBR 类型的 E3 包含两个 RING 结构域(RING1 和 RING2), 中间是 IBR (In-between-RING) 结构域, 它介导的泛素化包括两步: 首先 RING1 负责招募泛素分子连接的 E2 中间体, 然后含有活性半胱氨酸的 RING2 结合泛素分子并将其转移给底物。IBR 结构域的折叠构象如同 RING2, 但是缺少有活性的半胱氨酸残基^[11]。

1.5 26S 蛋白酶体

26S 蛋白酶体是依赖于 ATP 的 2.5 MDa 的蛋白酶复合体, 在细胞质与细胞核均有分布, 大多数泛素化的蛋白被 26S 蛋白酶体识别并降解。26S 蛋白酶体由 20S 核心蛋白酶体(core protease, CP)和 19S 调节亚基(regulatory particle, RP)组成。CP 是一个不依赖于 ATP 和泛素行使功能的蛋白水解酶, 负责将底物蛋白降解成小肽或游离的氨基酸。它由 4 个七聚体环状结构堆叠而成, 其环状结构每圈由 7 个 α 或 7 个 β 亚基构成, 从外到内呈现 $\alpha 1-7/\beta 1-7/\beta 1-7/\alpha 1-7$ 的构象。 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 5$ 亚基提供 CP 的蛋白酶活性位点, 分别具有肽酰谷氨酰胺水解活性、胰蛋白酶和糜蛋白酶活性, 并且这些活性位点对 26S 蛋白酶体抑制剂 MG115、MG132、lactacystin 和 epoxomicin 敏感^[19~21]。RP 则依赖于 ATP 水解提供能量, 它负责折叠多泛素化的底物蛋白, 解离多泛素链, 使泛素分子能够被重新循环利用, 并负责打开 CP 的 α 环状结构, 引导被展开的肽段进入 CP 腔中降解^[2,3,7]。

2 泛素化介导的非 26S 蛋白酶体途径影响蛋白的活性和稳定性

蛋白质被泛素化后不仅可以通过 26S 蛋白酶体途径进行降解, 而且可以通过内涵体介导的内膜运

输途径进入液泡或溶酶体中进行储存或降解^[13,22]。

泛素化蛋白的命运与其不同形式的泛素链修饰形式密不可分。例如, 被 K48 位泛素链修饰的蛋白主要被 26S 蛋白酶体识别并降解, 而 K63 位泛素链修饰和单泛素化修饰往往改变蛋白的活性或促进其在细胞中的转运^[23,24]。在酵母和动物中, K63 位泛素链修饰是 MVB (multivesicular body) 货物进入液泡中进行降解前的运输分选信号^[25]。研究发现, 不能产生野生型 K63 位泛素链而只能以突变形式的 K63R 泛素分子作为泛素来源的细胞, 表现出非常严重的 MVB 分选货物蛋白方面的缺陷, 使细胞中的蛋白不能正常进入液泡中进行降解^[26]。

3 ABA 的合成和信号转导

ABA 的合成主要包括两种途径: 从头合成(*de novo* biosynthesis)和选择性合成(alternative biosynthesis)途径。ABA 从头合成途径主要发生在叶绿体中, 只有最后两步反应在细胞质中完成。在叶绿体中, 玉米素(zeaxanthin)由类胡萝卜素产生, 接着由玉米素还氧酶(zeaxanthin epoxidase, ABA1)催化合成花药黄质和紫黄质^[27,28]。ABA4 蛋白将紫黄质催化生成新黄质^[29]。9-顺式-环氧类胡萝卜素双氧合酶 NCEDs (nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenases)催化紫黄质和新黄质裂解为黄氧素。这一步反应是 ABA 从头合成的限速步骤。ABA 合成的最后两步由黄氧素脱氢酶 ABA2 和 ABA 醛氧化酶 AAO3 (abscisic aldehyde oxidase3)催化完成^[30,31]。醛氧化酶 AAO3 行使其催化活性需要钼辅因子(molybdenum cofactor, MoCo), 而 MoCo 硫化酶 ABA3 负责 MoCo 的合成, 因此 ABA3 基因的缺失导致 ABA 含量减少^[32]。NCED3、ABA1、AAO3 和 ABA3 参与 ABA 合成, 这些基因的表达受外源 ABA 的诱导, 起到正反馈的作用^[27,31~33]。选择性 ABA 合成途径是由 ABA-GE (ABA-glucosyl ester)水解为 ABA, ABA-GE 是一种葡萄糖耦连的非活性 ABA 形式。在拟南芥中, 催化这一水解过程的是 β -葡萄糖苷酶的同源基因 *AtBG1* (*A. thaliana* beta-glucosidase1)和 *AtBG2*^[33,34]。

2009 年, PYR/PYLs/RCARs 类型 ABA 受体的分离和功能鉴定极大地提高了人们对 ABA 信号途径的认识^[35,36]。PYR/PYLs/RCARs 家族共包含 14 个

成员(PYR1/PYL1-13 或 RCAR1-14)。以 PYR/PYLs/RCARs 类型 ABA 受体起始的这条信号途径是目前比较公认的 ABA 信号转导通路。蛋白质结构的解析和各种生化及遗传学分析揭示了由 PYR/PYLs/RCARs 类受体起始的信号通路, ABA 促进 PYR/PYLs/RCARs 对磷酸酶 PP2Cs (type 2C protein phosphatases) 的抑制作用, 从而释放 PP2Cs 对蛋白激酶 SnRK2s (sucrose non-fermenting 1 (SNF1)-related protein kinases 2s) 的抑制作用, 促进 SnRK2s 磷酸化底物的磷酸化修饰, 调控 ABA 响应基因的表达^[37-41]。各种生化和组学实验鉴定了 SnRK2s 磷酸化底物, 包括定位于细胞核的转录因子和细胞膜上的离子通道蛋白等, 其中部分离子通道蛋白行使功能依赖于细胞内膜系统参与的内吞和蛋白转运过程^[42]。

4 26S 蛋白酶体降解途径调控 ABA 通路

UPS (ubiquitin-proteasome system) 参与 ABA 的

合成、信号接收、信号传导和 ABA 下游因子响应的各个过程中。PYR/PYLs/RCARs 类 ABA 受体介导的信号传递不仅分布于细胞核内还作用于细胞质中。在细胞核中主要激活下游 bZIP 类转录因子, 这类转录因子结合 ABRE (ABA-responsive element) 类顺式作用元件, 调控下游响应基因的表达, 如 *RD29A*^[43]。在细胞质中主要是由 SnRK2s 激酶磷酸化细胞膜上的一些离子通道蛋白, 调节它们的活性而调控气孔的运动^[44]。鉴于 ABA 受体的时空特异性调节作用, 不同的 E3 在不同的亚细胞结构通过影响各种 ABA 相关因子的稳定性或活性, 精细调控 ABA 信号通路。本文对拟南芥中泛素化修饰调控 ABA 信号通路的研究进行了整理、归纳和分析(图 1)。

4.1 UPS 调节 ABA 的合成

拟南芥 U-box 蛋白 SAUL1/PUB44 (senescence-associated E3 ubiquitin ligase1/plant U-box E3

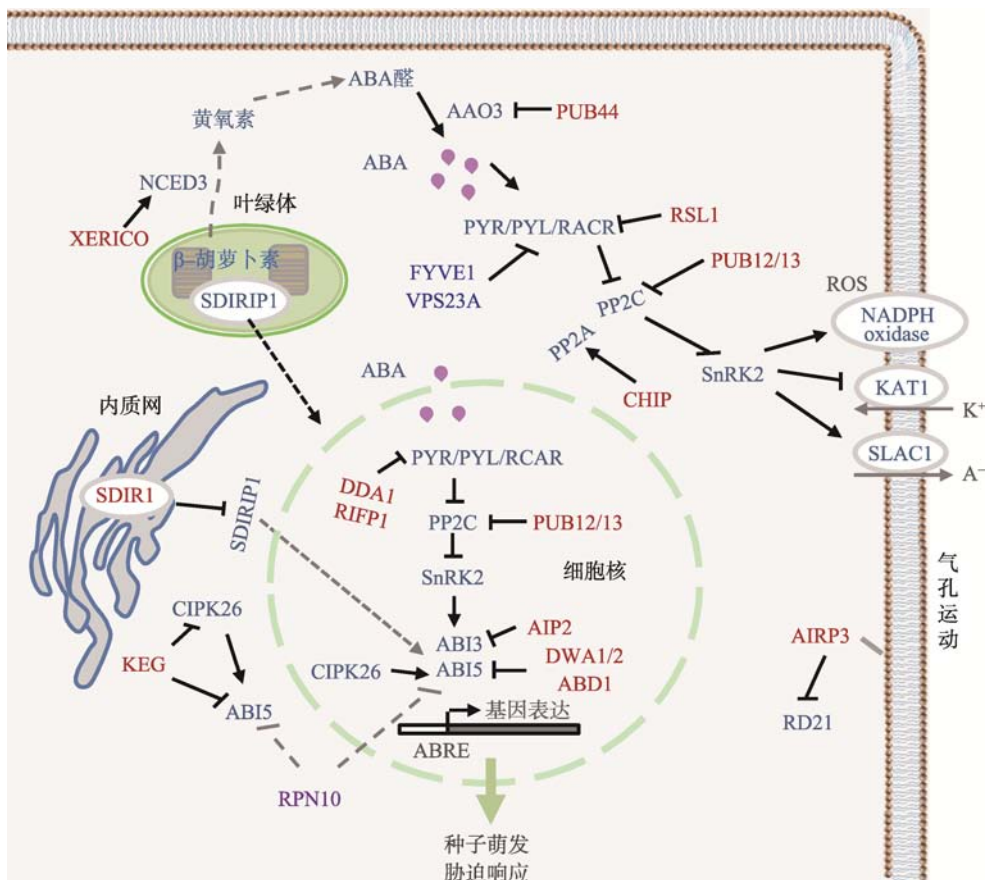


图 1 泛素化修饰调控 ABA 信号通路

Fig. 1 Ubiquitination modification precisely regulates ABA signaling

Ligase 44)与 ABA 合成途径中的 ABA 醛氧化酶 AAO3 相互作用,介导其泛素化和通过 26S 蛋白酶体途径进行降解。在 ABA 从头合成途径中,AAO3 负责将 ABA 醛转化为 ABA,因此 *saul1* 突变体中 AAO3 蛋白增多,ABA 含量增加,并且 *saul1* 突变体在弱光下表现出提前成熟衰老的表型^[45]。XERICO (greek for 'drought tolerant')是一个含有跨膜结构域的 RING-H2 类型的锌指蛋白。在干旱处理下,生长两周的 *XERICO* 过表达幼苗中,ABA 合成基因 *NCED3* 的表达量较其在野生型中的表达量上调,导致 ABA 水平增加^[46]。通过酵母双杂交筛选,发现 XERICO 与泛素结合酶 UBC8 和 F-box 蛋白 TLP9 (tubby-like protein 9)相互作用,但是关于 XERICO 是否具有泛素连接酶活性仍需要实验验证。

4.2 UPS 调节 ABA 信号的接收

ABA 信号的接收对启动 ABA 信号转导途径是非常重要的,因此关于 ABA 受体的调控机制也备受关注。目前研究发现,RING 类型的泛素连接酶 RSL1 (ring finger of seed longevity 1)、底物受体蛋白 DDA1 (DET1-, DDB1-associated 1)和 SCF 泛素连接酶复合体的 F-box 蛋白 RIFP1 (RCAR3 interacting F-box protein 1)均参与调控 PYR/PYLs/RCARs 类 ABA 受体的蛋白稳定性。RSL1 在细胞膜上发挥功能,而 DDA1 和 RIFP1 则在细胞核中发挥作用^[47-49]。RSL1、DDA1 和 RIFP1 均促进 ABA 受体的降解,因此它们是 ABA 信号的负调控因子。另外,对水稻(*Oryza sativa*)的研究发现,APC 复合体的激活因子 TE (tiller enhancer)能够促进 PYL4 (OsRCAR10)通过 26S 蛋白酶体途径进行降解,并且 ABA 能够促进 SnRK2s 磷酸化 TE 蛋白,而抑制 APC 的活性,这种负反馈调节可能是因为磷酸化的 TE 蛋白不能与 PYL4 相互作用,从而稳定 PYL4^[50]。

RSL1 属于 RSL1-like 基因家族,该家族成员具有较高的序列相似性。*RSL1* 的 RNAi (RNA interference)植株在种子萌发和幼苗生长方面表现出对 ABA 超敏感的表型,这与 *PYL8* 过表达植株表型相似^[47]。*RSL1* 与 PYR1 和 PYL4 直接互作,并且 *RSL1* 能够介导 PYR1 和 PYL4 的泛素化降解。*RSL1* 与 PYR1 和 PYL4 共定位于细胞膜,并且 BFA (brefeldin

A,一种干扰高尔基体的蛋白分泌、影响蛋白往细胞膜运输的抑制剂)处理能够增强它们在膜组分中的共定位,所以推断 *RSL1* 很有可能主要负责调控细胞膜上的 PYR/PYLs/RCARs 类 ABA 受体蛋白的稳定性,并影响它们的运输^[47]。

拟南芥与动物中的 DDA1 具有同源性,DDA1 属于 CDD (COP10-DET1-DDB1)底物受体复合体和基于 Cullin4 的 E3 复合体的组分^[48]。利用酵母双杂交的方法筛选 DDA1 的互作蛋白得到 PYL4 和 PYL9,进一步研究发现 DDA1 能够与 PYL8 在细胞核内互作,并且发现 PYL8 在植物体内存在多聚泛素化形式。DDA1 作为 CDD 底物受体复合体组分有可能负责识别 PYL8,从而介导 PYL8 被 Cullin4 类型的 E3 复合体多聚泛素化修饰,并通过 26S 蛋白酶体进行降解^[48]。以 PYL8 (RCAR3)为诱饵蛋白,通过酵母双杂交实验得到与其互作的 F-box 蛋白 RIFP1, BiFC (bimolecular fluorescence complementation)实验发现 RIFP1 能够与 SCF 复合体的亚基 ASKs (*Arabidopsis* SKP1-like proteins)在细胞核中相互作用^[49]。与野生型比较,*rifp1* 突变体在种子萌发和叶片失水方面表现出对 ABA 敏感性增强的表型,而 *RIFP1* 过表达植株的表型则相反。生化实验表明,PYL8 蛋白在 *rifp1* 突变体中比其在野生型中更加稳定,表明 RIFP1 促进 PYL8 通过 26S 蛋白酶体进行降解^[49]。因此,RIFP1 可能在 SCF 复合体中作为底物受体蛋白负调控 PYL8 的稳定性,负调控 ABA 信号转导。

PP2C 类磷酸酶是 ABA 信号接收的共受体 (Co-receptors),与 PYR/PYLs/RCARs 类型的 ABA 受体共同响应 ABA 信号的接收。近来研究发现,PP2C 类磷酸酶 ABI1 (ABA-insensitive 1)蛋白能够被 26S 蛋白酶体降解^[51],说明泛素化修饰在 ABI1 的蛋白稳定性调控方面发挥着重要作用,U-box 家族的两个成员 PUB12 (plant U-box 12)和 PUB13 被证实参与了该过程,它们能够与 ABI1 和 ABI2 直接相互作用。在 *pub12 pub13* 双突变体中,ABI1 蛋白较野生型有所积累,而 ABI2 的蛋白量并无差别,说明 PUB-12/13 特异作用于 ABI1。有意思的是,只有在 ABA 和 PYR1 同时存在的条件下 PUB12 和 PUB13 才能泛素化 ABI1,基于 PYR1 与 ABI1 的互作是依赖于

ABA,说明PYR1与ABI1之间的相互作用促进PUB-12/13泛素化ABI1,从而促进ABI1的降解。在不良环境胁迫或ABA处理下,ABI1蛋白稳定性的这种调控方式能够有效地解除ABI1蛋白的抑制作用^[51]。

因此,PYR/PYLs/RCARs类型的ABA受体不同成员可能在不同的亚细胞区域对ABA信号响应方式不同,如调控转录因子的表达、不同蛋白激酶的活性或是不同离子通道的功能;与此相一致的是,不同E3s或E3复合体也有可能在不同的亚细胞器精细调控ABA受体的不同成员的稳定性和活性。另一方面,泛素蛋白酶体系统通过响应ABA信号,与ABA受体共同调控共受体ABI1蛋白的稳定性,使植物能够有效地响应外界逆境信号,并精细调节下游ABA信号的转导,以应对不同程度和不同类型的环境胁迫因子。

4.3 UPS 调控 ABA 信号在细胞质中的转导

UPS不仅调控ABA信号的接收,还参与了ABA信号的传递。逆向信号(retrograde signaling)在ABA信号途径中发挥着重要的作用^[52]。在拟南芥中,ER(endoplasmic reticulum)定位的ABA正调节因子SDIR1(salt- and drought-induced ring finger 1)与SDIRIP1(SDIR1-interacting protein 1)相互作用^[53,54]。尽管SDIRIP1含有一个植物特有类型的PCD(pterin-4 α -carbinolamine dehydratase)结构域,但并没有PCD活性^[55]。SDIRIP1主要定位于叶绿体,部分定位于细胞核,这表明逆向信号能够调控SDIRIP1^[54]。FPP(fluorescence protease protection)实验表明SDIR1与SDIRIP1在ER上互作,SDIR1的C端位于细胞质一侧,负责与SDIRIP1互作,这就解释了相互作用的SDIRIP1和SDIR1蛋白亚细胞定位不同的矛盾^[54]。SDIR1能够泛素化SDIRIP1,从而促进SDIRIP1通过泛素依赖的蛋白酶体途径降解。在35S-SDIRIP1-RNAi植株中,ABI5基因的转录水平较其在野生型中降低^[52,53]。abi5-1突变体能够回复SDIRIP1-RNAi植株对ABA和盐敏感的表型,证明ABI5位于SDIRIP1下游。因此,SDIRIP1作为SDIR1的底物通过调控ABI5的表达参与ABA信号传递。SDIR1也参与ABA介导的干旱胁迫响应^[53],但是35S-SDIRIP1-RNAi并没有表现出对干旱胁迫的抗

性^[54]。基于ABF3和ABF4主要参与抗旱途径^[56],SDIR1也在ABF3和ABF4上游发挥功能,因此SDIR1可能有其他泛素化底物参与植物抗旱途径调节,而SDIR1的底物SDIRIP1则主要通过调节ABI5基因影响种子萌发和形态建成。另外,AtSDIR1基因在烟草(*Nicotiana tabacum*)和水稻中的异源过表达植物均表现出耐旱的表型;玉米(*Zea mays*)和水稻中SDIR1的同源基因过表达后也能够增强作物抗旱和抗氧化胁迫,这些研究说明SDIR1在生产上具有一定的实用价值^[57-59]。

定位于细胞质和细胞核的蛋白激酶CIPK26(calcineurin B-like interacting protein kinase 26)可能是RING类型的E3KEG(keep on going)的泛素化底物^[60-62]。在植物中,KEG参与调节反式高尔基体(trans-golgi, TGN)的运输过程,包括液泡的形成、膜相关蛋白向液泡的运输以及质体蛋白的分泌等^[63]。keg突变体表现出对ABA超敏感的表型,因此KEG是ABA信号通路的一个负调控因子^[60]。尽管蛋白激酶CIPK26和转录因子ABI5在细胞中的定位不同,但是它们均与KEG共定位于细胞质和高尔基体^[61,62]。有意思的是,CIPK26能够与ABI5相互作用,体外磷酸化实验表明ABI5是CIPK26的磷酸化底物。因此,CIPK26也通过磷酸化ABI5参与ABA信号的调控^[62]。在细胞质和反式高尔基体中,KEG对ABI5蛋白量的调节作用导致了细胞核中ABI5蛋白量的减少^[61]。从这些研究中可以看出,KEG通过对ABI5及ABI5的蛋白激酶CIPK26的稳定性的双重调控,影响植物细胞对外界环境的响应能力,并且KEG作为关键的ABA调节因子能够调节ABA信号从细胞质到细胞核的转导。由于abi5突变体只能部分回复keg突变体对ABA超敏感的表型,因此KEG还可能介导其他转录因子的泛素化。的确,有研究发现KEG能够直接与ABF1和ABF3相互作用,并介导它们的泛素化降解^[64]。但是,同样作为底物蛋白的ABI5和ABF1/3受KEG调控的方式不同,在keg突变体中,26S蛋白酶体抑制剂MG132不能促进ABI5蛋白继续积累,而能进一步促进ABF1/3的蛋白量积累^[64]。

除了上述介绍的已知泛素化底物蛋白的E3或E3复合体组分,还有一些细胞质和内膜系统定位的未知底物蛋白的E2和E3参与ABA信号转导。E2

蛋白 UBC32 是酵母 UBC6p 的同源蛋白, 其在内质网相关的蛋白质降解(ER-associated protein degradation, ERAD)中起着非常重要的作用, ERAD 负责清除非正确折叠的蛋白。*ubc32* 突变体在种子萌发时和萌发后表现出 ABA 不敏感的表型, 因此 UBC32 是 ABA 信号的正调控因子^[65,66]。但是, 另一个 ERAD 的组分 RING 类型的 E3 CER9 (ceriferum9, 酵母和动物 DOA10 的同源蛋白)则是 ABA 信号的负调控因子^[67]。UBC32 和 CER9 在 ABA 信号途径中相反的调节功能与 UBC6 和 DOA10 位于同一个 ERAD 复合体共同发挥功能相矛盾^[68], 说明它们在应对非折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)过程中是相互促进的, 而在 ABA 的响应过程中则是拮抗关系。值得一提的, 通过以上对 SDIR1 和 KEG 作用机理的研究分析, 发现逆向运输和内膜系统运输信号调控可能在 ABA 信号途径中起着非常重要的作用(图 1)。

4.4 UPS 调控 ABA 信号在细胞核中的转导

ABA 信号通过各种磷酸酶和蛋白激酶等的传递逐级扩大, 最终传递到细胞核中, 激活或抑制各种转录因子的活性来启动下游响应基因的表达^[69]。目前关于 bZIP 类转录因子 ABI5 翻译后修饰的调节机制已非常清楚^[70]。定位于细胞质和内膜系统的 KEG 调控 ABI5 等转录因子^[71], 后来人们发现底物受体 DWA1/DWA2 (DWD hypersensitive to ABA1/2)和 ABD1 (ABA-hypersensitive DCAF1)也能够通过泛素蛋白酶体途径调控 ABI5^[72,73]。这些底物受体均属于 Cullin4 的 E3 复合体, 它们定位于或预测定位于细胞核中, 参与 ABA 信号转导。

尽管 KEG、ABD1 和 DWA1/2 均能够调节 ABI5 蛋白的稳定性, 但是它们的调节机制有所不同。除了 ABI5, MYC2 蛋白量在 *dwa1*、*dwa2* 和 *dwa1 dwa2* 突变体中也均有所升高^[72]。在这些突变体中, MYC2 调控 *RD22* 的转录表达水平有所增强, 但是在 *abd1* 突变体中则没有变化^[72,73]。在没有 ABA 存在时, 在 *keg* 突变体中可检测到 ABI5 的蛋白水平较野生型高, 而在 *abd1*、*dwa1*、*dwa2* 和 *dwa1 dwa2* 突变体中则与野生型中没有明显区别^[60,72~74]。

ABD1 作为 Cullin4 E3 复合体的组分能与 ABI5

互作, 但是 ABD1 与其他转录因子如 ABI3 之间不存在相互作用^[73]。因此, Cullin4 E3 复合体不可能直接介导 ABI3 的泛素化降解。但是, Kurup 等^[74]发现 ABI3 能够通过 26S 蛋白酶体降解, 单亚基 RING 类型的 E3 AIP2 (ABI3-Interacting Protein2)与 ABI3 相互作用, 在体内和体外均能介导 ABI3 蛋白的泛素化^[75]。RING 结构域活性位点突变形式的 AIP2(C/S)不具有 E3 泛素化活性, 不能介导 ABI3 蛋白的泛素化和降解。AIP2 基因过表达能够互补 *aip2* 突变体在种子萌发阶段对 ABA 不敏感的表型, 而突变形式的 AIP2(C/S)过表达则不能互补突变体的表型, 并且表现出较 *aip2* 突变体更加敏感的表型。这些研究结果说明 AIP2 通过促进 ABI3 蛋白降解参与 ABA 信号, 并且 AIP2(C/S)发挥显性负调控作用^[74]。AIP2 蛋白的半衰期较 ABI3 短, 而 AIP2 在拟南芥中没有同源基因, 因此可能还有其他类型的 E3 调控 ABI3 蛋白的稳定性^[74]。在 ABA 信号途径中, 蛋白激酶 SnRK2.2、SnRK2.3 和 SnRK2.6 调控 ABI3 和 ABI5 的活性^[43]。在 *abi3-1* 突变体中 ABI5 的转录本减少, 并且 ABI5 调控的 *AtEm1* 和 *AtEm6* 的表达量也减少, 说明 ABI3 对依赖于 ABI5 表达的种子形态建成过程非常重要^[76]。遗传学证据表明, ABI3 位于 ABI5 上游^[76]。尽管如此, AIP2 和 KEG 自身蛋白稳定性对外源 ABA 处理的响应不同。ABA 处理增强了 AIP2 蛋白稳定性, 却促进 KEG 的自身泛素化降解, AIP2 和 KEG 对 ABA 的这种不同的响应造成 ABI3 蛋白水平下降, 而 ABI5 蛋白水平升高^[71,75]。

U-box 类型的 E3 AtPUB9 是位于细胞核的 ABA 负调控因子, 其在 ABI3 上游发挥功能^[77]。将绿豆 (*Vigna radiate*) *VrUBC1* 基因在拟南芥中过表达, 发现该转基因植物在 ABA 介导的种子萌发、气孔关闭、抗旱和盐胁迫响应方面均表现出敏感的表型^[78]。*VrUBC1* 与 E3 VBP1 (*Arabidopsis thaliana* VrUBC1 binding partner 1)在细胞核中相互作用, 并且以 VrUBC1 作为 E2, VBP1 具有泛素连接酶 E3 活性^[78], 但是它们调控 ABA 信号的具体机制并不清楚。

4.5 UPS 调节 ABA 下游响应蛋白

当 ABA 信号传递到细胞核中, 激活或抑制一些下游响应基因的表达。例如转录因子 ABI5 结合 *AtE-*

m6、*RD29A/LTI78* (responsive to desiccation/low temperature induced)、*RD29B/LTI65*、*RAB18* (response to ABA18)和 *ADH* (alcohol dehydrogenase)基因启动子区的反式作用元件 ABRE (ACGTGG/TC),从而促进它们的表达^[79,80]。这些下游基因参与各种生物和非生物胁迫响应。拟南芥 *RD21* (responsive to dehydration 21)是 Papain 家族的一个 Cys 蛋白酶,干旱胁迫诱导其表达^[81]。研究发现,*RD21* 与 RING 类型的 E3 *AtAIRP3/LOG2* (Lonely Guy 2)相互作用^[82]。*atairp3/log2-2* 和 *AtAIRP3-RNAi* 均表现出 ABA 介导的种子萌发和气孔关闭不敏感的表现,表明在植物对 ABA 响应过程中 *AIRP3* 起到正调控作用。在 *atairp3/log2-2* 的细胞提取物中,*RD21* 蛋白的降解有所缓慢。*AIRP3* 能够泛素化 *RD21*。这些结果表明,*AIRP3* 能够作为 *RD21* 的 E3 正向调控 ABA 信号^[82]。

4.6 26S 蛋白酶体调控 ABA 信号

大多数多聚泛素化的蛋白通过 26S 蛋白酶体降解^[83],因此 26S 蛋白酶体参与了各种生物学过程。*RPN10* (regulatory particle non-atpase 10)是 19S 调节亚基的一个组分,该突变体中 *ABI5* 蛋白大量积累,表现出对 ABA 超敏感的表现^[84],而 *PhyA* 和 *HY5* 在突变体中则没有积累,因此 *RPN10* 能够特异识别 *ABI5*^[84]。另外,*ABI5* 不仅被泛素化修饰调控,而且还被磷酸化、去磷酸化和 SUMO 等翻译后修饰协同调控^[70]。

总之,泛素化修饰在 ABA 信号中起着非常重要的作用,并且其精确调控能够响应引起细胞内 ABA 含量变化的各种环境胁迫。在 *PYR/PYLs/RCARs* 受体起始的 ABA 信号通路中,重要的正调控因子 *SnRK2s* 是否被泛素化修饰调控目前还不清楚,关于这方面的探究有助于进一步了解泛素蛋白酶体途径在 ABA 信号中所起的作用。

5 泛素化介导的非 26S 蛋白酶体途径调控 ABA 信号转导

除 *PP2C* 外,*PP2A* 类型的蛋白磷酸酶也参与了 ABA 信号调控。ABA 存在的情况下,*pp2a* 突变体中 *OST1* 的活性较野生型增强,说明 *PP2A* 参与了 *SnRK2s* 调控的 ABA 信号网络^[85]。*PP2A* 包括 3 个

亚基(A、B 和 C),A 亚基由 3 个基因编码,包括 *PP2A-A1 (RCN1)*、*PP2AA2* 和 *PP2AA3*^[86]。*RCN1* 和 *PP2AA3* 与 U-box 类型的 E3 *CHIP* (carboxyl terminus of the Hsc70-interacting protein)相互作用^[87]。*AtCHIP* 过表达植株在 ABA 介导的种子萌发和气孔关闭方面表现出敏感的表现^[87,88],而拟南芥 *rcn1* 突变体对 ABA 不敏感^[88],说明 *CHIP* 和 *RCN1* 均为 ABA 正调控因子,在 ABA 信号转导过程中可能协同发挥功能。进一步生化实验表明,*CHIP* 介导 *PP2AA3* 和 *RCN1* 的单泛素化修饰,从而增强 *PP2AA3* 和 *RCN1* 的活性,但不影响其稳定性^[87]。因此,尽管 *PP2C* 和 *PP2A* 类型的蛋白磷酸酶均由泛素化修饰调控,但是调控模式却不同。泛素化修饰促进 *PP2C* 蛋白 *ABI1* 的降解,而泛素化修饰不影响 *PP2A* 蛋白的稳定性,而增强其蛋白活性^[51,87]。

从前面提到的对 *RSL1* 的研究中发现,同一 E3 有可能促进不同亚细胞定位的 ABA 受体蛋白进入不同的蛋白降解途径进行降解。*PYR1* 和 *PYL4* 的 E3 连接酶 *RSL1* 定位于细胞膜,这表明 ABA 受体也可能通过液泡介导的降解途径进行降解^[89]。*ESCRTs* (endosome sorting complex required for transports)在蛋白分选进入 *MVB* 内部囊泡方面发挥功能。在动物中,内膜系统的蛋白分选在调节受体蛋白的定位和稳定性方面发挥着重要作用。最近有研究报道,*ESCRT-I* 的组分 *FYVE1* (*FYVE* domain protein required for endosomal sorting 1, *FREE1*)参与 ABA 信号调节,*PYL4* 在体内存在单泛素化形式,单泛素化修饰能够起始细胞的内吞过程,*PYL4* 被单泛素化后,可能与 *RSL1* 一同进入内膜运输途径,进入液泡中进行降解^[89]。本研究团队最近发现,*E2-like* 蛋白 *VPS23A* 作为 *ESCRT-I* 的一个关键组分也参与了这一过程;*vps23a* 突变体表现出 ABA 超敏感的表现;*VPS23A* 通过识别 ABA 受体及其 K63 位泛素链促进 ABA 受体进入膜运输途径。另外,*VPS23A* 也可能通过影响液泡的形态,调控 ABA 受体进入液泡降解的细胞生物学过程,影响 ABA 受体的定位和蛋白稳定性^[90]。这些研究揭示了 ABA 受体通过非 26S 蛋白酶体进行降解的新途径(图 1),为研究植物激素的信号途径提供了新的理论指导。

6 结语与展望

植物固着生长的特性使它们在长期进化过程中适应和应对各种环境胁迫, 包括各种生物和非生物胁迫, 如细菌、真菌、干旱、盐和冷胁迫等, 这些环境因素都严重影响了植物的生长和发育。植物激素 ABA 作为一种信号分子, 有助于增强植物的耐逆性, 特别是通过调节气孔的开闭调控植物水分的蒸发、盐离子平衡和对病原微生物的防御等^[4,91]。泛素化修饰是真核生物细胞存在的一种非常重要的翻译后修饰, 泛素化系统通过将 ABA 途径中的关键因子进行泛素化修饰, 调控其活性和定位, 影响植物对 ABA 相关信号的响应。尽管目前研究人员已对泛素化修饰调控 ABA 信号通路的作用机制进行了详尽的研究, 但是随着研究的深入, 发现仍存在许多问题需要探讨和解决。

研究发现, 多个 E3 连接酶能够调控相同的底物蛋白, 不同的底物蛋白分子稳定性可能由同一个 E3 决定^[70]。例如, PYL8 受体蛋白的稳定性既受 SCF 复合体中的 F-box 蛋白 RFP1 的调节, 又受以 Cullin4 为骨架的 E3 连接酶复合体中的底物受体蛋白 DDA1 的影响; 单亚基的 E3 KEG 介导 ABF1、ABF3、ABI5 和 CIPK26 泛素化降解。有意思的是, 最近的研究发现 KEG 能够部分抑制 F-box 蛋白 COI1(coronatine insensitive 1)降解 JA 途径的 JAZ12 (jasmonate zim-domain 12)蛋白, 并且 ABA 能够促进 JAZ12 的降解, 但是 KEG 在这方面的作用机理并不清楚^[92]。

对 ABA 受体稳定性的研究发现, ABA 受体不仅能够被不同的 E3 连接酶泛素化, 并且 ABA 受体被泛素化后, 会根据其所连接的泛素链的形式进入不同的降解途径进行降解。研究发现 PYL4 受体能够被单泛素化和 K63 位多聚泛素化, 这两种泛素化修饰方式均能够介导蛋白进入内涵体介导的内膜系统运输途径, 最终进入液泡中进行储存和降解; 而 Cullin4 复合体将 PYL8 泛素化后则介导其进入 26S 蛋白酶体途径进行降解。关于这方面的研究不仅增强了人们对泛素链修饰形式发挥不同功能的认识, 而且也增强了对内膜运输途径调控 ABA 途径的认识。

检测蛋白质稳定性的方法是影响研究者们得出

正确结论的一个非常重要的方面。以磷酸化修饰是否会影响通过 ABI5 蛋白稳定性这个科学问题为例, 有报道称 ABI5 的磷酸化状态不影响其蛋白稳定性, 而关于 PP6 的研究中发现磷酸化形式影响 ABI5 的总蛋白含量^[93]。仔细分析这方面研究的检测方法, 发现不同研究者得出不同的结论可能是因为融合蛋白的检测标签及标签融合的位置不同。在 ABI5 的蛋白 N 末端融合标签 MYC、HIS 或 HA 时, 只检测到 ABI5 的一条带, 而用 ABI5 自身抗体检测内源或 C 末端标签融合的 ABI5 的表达时, 发现至少能够检测到 ABI5 的两种形式^[71,94-96]。有报道发现在真核生物中, N 端的乙酰化会影响蛋白的磷酸化修饰^[97], 因为在 ABI5 的 N 端有 N-乙酰化修饰, 这使选择 ABI5 融合蛋白标签的位置显得尤为重要。因此, 在研究蛋白稳定性时要注意使用的研究策略。

除了泛素化修饰, 其他蛋白翻译后修饰也会影响底物的活性和定位, 并且磷酸化、泛素化、SUMO 化和法尼基化会直接或间接的调节蛋白稳定性^[43,95,98]。例如, ABI5 不仅能存在 K344 位的泛素化位点, 还存在 K391 位的 SUMO 化位点, 这两种修饰均能影响其蛋白稳定性和/或活性^[61,95]。探究不同翻译后修饰之间的调控关系有助于人们更进一步了解翻译后修饰和植物激素信号途径。

总之, 关于泛素化修饰调控 ABA 的研究工作目前主要集中在泛素化修饰是如何调控 ABA 的信号转导, 而关于泛素化修饰对 ABA 的合成、代谢和运输途径调控的认识还有待深入。目前研究发现大量的 E3 及其底物参与 ABA 信号和 ABA 信号介导的非生物胁迫响应过程, 而对与 E3 共同起作用的 E2 和 E2-like 蛋白及与 E3 起相反作用的去泛素化酶的了解则非常有限, 研究 UPS 组分之间的协同作用机制有助于人们深入了解 ABA 信号的转导途径。

参考文献(References):

- [1] Vierstra RD. The expanding universe of ubiquitin and ubiquitin-like modifiers. *Plant Physiol*, 2012, 160(6): 2-14. [DOI]
- [2] Vierstra RD. The ubiquitin/26S proteasome pathway, the complex last chapter in the life of many plant proteins. *Trends Plant Sci*, 2003, 8(3): 135-142. [DOI]
- [3] Smalle J, Vierstra RD. The ubiquitin 26S proteasome pro-

- teolytic pathway. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 555–590. [DOI]
- [4] Lopez-Molina L, Mongrand S, Chua NH. A postgermination developmental arrest checkpoint is mediated by abscisic acid and requires the ABI5 transcription factor in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(8): 4782–4787. [DOI]
- [5] Isono E, Nagel MK. Deubiquitylating enzymes and their emerging role in plant biology. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 56. [DOI]
- [6] Qiu JZ, Sheedlo MJ, Yu KW, Tan YH, Nakayasu ES, Das C, Liu XY, Luo ZQ. Ubiquitination independent of E1 and E2 enzymes by bacterial effectors. *Nature*, 2016, 533(7601): 120–124. [DOI]
- [7] Vierstra RD. The ubiquitin-26S proteasome system at the nexus of plant biology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(6): 385–397. [DOI]
- [8] Yan N, Doelling JH, Falbel TG, Durski AM, Vierstra RD. The ubiquitin-specific protease family from *Arabidopsis*. AtUBP1 and 2 are required for the resistance to the amino acid analog canavanine. *Plant Physiol*, 2000, 124(4): 1828–1843. [DOI]
- [9] Hua ZH, Vierstra RD. The cullin-RING ubiquitin-protein ligases. *Annu Rev Plant Biol*, 2011, 62: 299–334. [DOI]
- [10] Michelle C, Vourc'h P, Mignon L, Andres CR. What was the set of ubiquitin and ubiquitin-like conjugating enzymes in the eukaryote common ancestor? *J Mol Evol*, 2009, 68(6): 616–628. [DOI]
- [11] Callis J. The ubiquitination machinery of the ubiquitin system. *Arabidopsis Book*, 2014, 12: e0174. [DOI]
- [12] Bachmair A, Novatchkova M, Potuschak T, Eisenhaber F. Ubiquitylation in plants: a post-genomic look at a post-translational modification. *Trends Plant Sci*, 2001, 6(10): 463–470. [DOI]
- [13] Komander D, Rape M. The ubiquitin code. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81(1): 203–229. [DOI]
- [14] Hatfield PM, Gosink MM, Carpenter TB, Vierstra RD. The ubiquitin-activating enzyme (E1) gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 1997, 11(2): 213–226. [DOI]
- [15] Jin JP, Li X, Gyi SP, Harper JW. Dual E1 activation systems for ubiquitin differentially regulate E2 enzyme charging. *Nature*, 2007, 447(7148): 1135–1138. [DOI]
- [16] Kraft E, Stone SL, Ma L, Su N, Gao Y, Lau OS, Deng XW, Callis J. Genome analysis and functional characterization of the E2 and RING-type E3 ligase ubiquitination enzymes of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2005, 139(4): 1597–1611. [DOI]
- [17] Criqui MC, de Almeida Engler J, Camasses A, Capron A, Parmentier Y, Inzé D, Genschik P. Molecular characterization of plant ubiquitin-conjugating enzymes belonging to the UbcP4/E2-C/UBCx/UbcH10 gene family. *Plant Physiol*, 2002, 130(3): 1230–1240. [DOI]
- [18] Eletr ZM, Huang DT, Duda DM, Schulman BA, Kuhlman B. E2 conjugating enzymes must disengage from their E1 enzymes before E3-dependent ubiquitin and ubiquitin-like transfer. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, 12(10): 933–934. [DOI]
- [19] Groll M, Ditzel L, Löwe J, Stock D, Bochtler M, Bartunik HD, Huber R. Structure of 20S proteasome from yeast at 2.4 Å resolution. *Nature*, 1997, 386(6624): 463–471. [DOI]
- [20] Voges D, Zwickl P, Baumeister W. The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annu Rev Biochem*, 1999, 68: 1015–1068. [DOI]
- [21] Yang PZ, Fu HY, Walker J, Papa CM, Smalle J, Ju YM, Vierstra RD. Purification of the *Arabidopsis* 26 S proteasome-Biochemical and molecular analyses revealed the presence of multiple isoforms. *J Biol Chem*, 2004, 279(8): 6401–6413. [DOI]
- [22] Tian MM, Xie Q. Non-26S proteasome proteolytic role of ubiquitin in plant endocytosis and endosomal trafficking. *J Integr Plant Biol*, 2013, 55(1): 54–63. [DOI]
- [23] Mukhopadhyay D, Riezman H. Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science*, 2007, 315(5809): 201–205. [DOI]
- [24] Pickart CM, Eddins MJ. Ubiquitin: structures, functions, mechanisms. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1695(1–3): 55–72. [DOI]
- [25] Lauwers E, Jacob C, André B. K63-linked ubiquitin chains as a specific signal for protein sorting into the multivesicular body pathway. *J Cell Biol*, 2009, 185(3): 493–502. [DOI]
- [26] Schuh AL, Audhya A. The ESCRT machinery: from the plasma membrane to endosomes and back again. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2014, 49(3): 242–261. [DOI]
- [27] Xiong LM, Lee H, Ishitani M, Zhu JK. Regulation of osmotic stress-responsive gene expression by the *LOS6/ABAI* locus in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 2002, 277(10): 8588–8596. [DOI]
- [28] Schwartz SH, Qin XQ, Zeevaart JAD. Elucidation of the indirect pathway of abscisic acid biosynthesis by mutants, genes, and enzymes. *Plant Physiol*, 2003, 131(4): 1591–1601. [DOI]
- [29] North HM, De Almeida A, Boutin JP, Frey A, To A, Botran

- L, Sotta B, Marion-Poll A. The *Arabidopsis* ABA-deficient mutant *aba4* demonstrates that the major route for stress-induced ABA accumulation is via neoxanthin isomers. *Plant J*, 2007, 50(5): 810–824. [DOI]
- [30] Seo M, Peeters AJM, Koiwai H, Oritani T, Marion-Poll A, Zeevaert JAD, Koornneef M, Kamiya Y, Koshiba T. The *Arabidopsis* aldehyde oxidase 3 (*AAO3*) gene product catalyzes the final step in abscisic acid biosynthesis in leaves. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(23): 12908–12913. [DOI]
- [31] Cheng WH, Endo A, Zhou L, Penney J, Chen HC, Arroyo A, Leon P, Nambara E, Asami T, Seo M, Koshiba T, Sheen J. A unique short-chain dehydrogenase/reductase in *Arabidopsis* glucose signaling and abscisic acid biosynthesis and functions. *Plant Cell*, 2002, 14(11): 2723–2743. [DOI]
- [32] Xiong LM, Ishitani M, Lee H, Zhu JK. The *Arabidopsis* *LOS5/ABA3* locus encodes a molybdenum cofactor sulfurylase and modulates cold stress- and osmotic stress-responsive gene expression. *Plant Cell*, 2001, 13(9): 2063–2083. [DOI]
- [33] Barrero JM, Rodríguez PL, Quesada V, Piqueras P, Ponce MR, Micol JL. Both abscisic acid (ABA)-dependent and ABA-independent pathways govern the induction of *NCED3*, *AAO3* and *ABA1* in response to salt stress. *Plant Cell Environ*, 2006, 29(10): 2000–2008. [DOI]
- [34] Xu ZY, Lee KH, Dong T, Jeong JC, Jin JB, Kanno Y, Kim DH, Kim SY, Seo M, Bressan RA, Yun DJ, Hwang I. A vacuolar β -glucosidase homolog that possesses glucose-conjugated abscisic acid hydrolyzing activity plays an important role in osmotic stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24(5): 2184–2199. [DOI]
- [35] Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, Moes D, Yang Y, Christmann A, Grill E. Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. *Science*, 2009, 324(5930): 1064–1068. [DOI]
- [36] Park SY, Fung P, Nishimura N, Jensen DR, Fujii H, Zhao Y, Lumba S, Santiago J, Rodrigues A, Chow TFF, Alfred SE, Bonetta D, Finkelstein R, Provart NJ, Desveaux D, Rodriguez PL, McCourt P, Zhu JK, Schroeder JI, Volkman BF, Cutler SR. Abscisic acid inhibits Type 2C Protein Phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science*, 2009, 324(5930): 1068–1071. [DOI]
- [37] Geiger D, Scherzer S, Mumm P, Stange A, Marten I, Bauer H, Ache P, Matschi S, Liese A, Al-Rasheid KAS, Romeis T, Hedrich R. Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(50): 21425–21430. [DOI]
- [38] Lee SC, Lan WZ, Buchanan BB, Luan S. A protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling in plant guard cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(50): 21419–21424. [DOI]
- [39] Sato A, Sato Y, Fukao Y, Fujiwara M, Umezawa T, Shinozaki K, Hibi T, Taniguchi M, Miyake H, Goto DB, Uozumi N. Threonine at position 306 of the KAT1 potassium channel is essential for channel activity and is a target site for ABA-activated SnRK2/OST1/SnRK2.6 protein kinase. *Biochem J*, 2009, 424(3): 439–448. [DOI]
- [40] Umezawa T, Sugiyama N, Takahashi F, Anderson JC, Ishihama Y, Peck SC, Shinozaki K. Genetics and phosphoproteomics reveal a protein phosphorylation network in the abscisic acid signaling pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Sci Signal*, 2013, 6(270): rs8. [DOI]
- [41] Wang PC, Xue L, Batelli G, Lee S, Hou YJ, Van Oosten MJ, Zhang HM, Tao WA, Zhu JK. Quantitative phosphoproteomics identifies SnRK2 protein kinase substrates and reveals the effectors of abscisic acid action. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(27): 11205–11210. [DOI]
- [42] Sutter JU, Sieben C, Hartel A, Eisenach C, Thiel G, Blatt MR. Abscisic acid triggers the endocytosis of the *Arabidopsis* KAT1 K⁺ channel and its recycling to the plasma membrane. *Curr Biol*, 2007, 17(16): 1396–1402. [DOI]
- [43] Nakashima K, Fujita Y, Kanamori N, Katagiri T, Umezawa T, Kidokoro S, Maruyama K, Yoshida T, Ishiyama K, Kobayashi M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Three *Arabidopsis* SnRK2 protein kinases, SRK2D/SnRK2.2, SRK2E/SnRK2.6/OST1 and SRK2I/SnRK2.3, involved in ABA signaling are essential for the control of seed development and dormancy. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50(7): 1345–1363. [DOI]
- [44] Lee SC, Lim CW, Lan WZ, He K, Luan S. ABA signaling in guard cells entails a dynamic protein-protein interaction relay from the PYL-RCAR family receptors to ion channels. *Mol Plant*, 2013, 6(2): 528–538. [DOI]
- [45] Raab S, Drechsel G, Zarepour M, Hartung W, Koshiba T, Bittner F, Hoth S. Identification of a novel E3 ubiquitin ligase that is required for suppression of premature senescence in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2009, 59(1): 39–51. [DOI]
- [46] Ko JH, Yang SH, Han KH. Upregulation of an *Arabidopsis* RING-H2 gene, *XERICO*, confers drought tolerance through increased abscisic acid biosynthesis. *Plant J*, 2006, 47(3): 343–355. [DOI]
- [47] Bueso E, Rodriguez L, Lorenzo-Orts L, Gonzalez-Guzman

- M, Sayas E, Muñoz-Bertomeu J, Ibañez C, Serrano R, Rodriguez PL. The single-subunit RING-type E3 ubiquitin ligase RSL1 targets PYL4 and PYR1 ABA receptors in plasma membrane to modulate abscisic acid signaling. *Plant J*, 2014, 80(6): 1057–1071. [DOI]
- [48] Irigoyen ML, Iniesto E, Rodriguez L, Puga MI, Yanagawa Y, Pick E, Strickland E, Paz-Ares J, Wei N, De Jaeger G, Rodriguez PL, Deng XW, Rubio V. Targeted degradation of abscisic acid receptors is mediated by the ubiquitin ligase substrate adaptor DDA1 in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2014, 26(2): 712–728. [DOI]
- [49] Li Y, Zhang L, Li DK, Liu ZB, Wang JM, Li XF, Yang Y. The *Arabidopsis* F-box E3 ligase RIFP1 plays a negative role in abscisic acid signalling by facilitating ABA receptor RCAR3 degradation. *Plant Cell Environ*, 2016, 39(3): 571–582. [DOI]
- [50] Lin QB, Wu FQ, Sheng PK, Zhang Z, Zhang X, Guo XP, Wang JL, Cheng ZJ, Wang J, Wang HY, Wan JM. The SnRK2-APC/C^{TE} regulatory module mediates the antagonistic action of gibberellic acid and abscisic acid pathways. *Nat Commun*, 2015, 6: 7981. [DOI]
- [51] Kong LY, Cheng JK, Zhu YJ, Ding YL, Meng JJ, Chen ZZ, Xie Q, Guo Y, Li JG, Yang SH, Gong ZZ. Degradation of the ABA co-receptor ABI1 by PUB12/13 U-box E3 ligases. *Nat Commun*, 2015, 6: 8630. [DOI]
- [52] Sun XW, Feng PQ, Xu XM, Guo HL, Ma JF, Chi W, Lin RC, Lu CM, Zhang LX. A chloroplast envelope-bound PHD transcription factor mediates chloroplast signals to the nucleus. *Nat Commun*, 2011, 2: 477. [DOI]
- [53] Zhang YY, Yang CW, Li Y, Zheng NY, Chen H, Zhao QZ, Gao T, Guo HS, Xie Q. SDIR1 is a RING finger E3 ligase that positively regulates stress-responsive abscisic acid signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(6): 1912–1929. [DOI]
- [54] Zhang HW, Cui F, Wu YR, Lou LJ, Liu LJ, Tian MM, Ning YS, Shu K, Tang SY, Xie Q. The RING finger ubiquitin E3 ligase SDIR1 targets SDIR1-INTERACTING PROTEIN1 for degradation to modulate the salt stress response and ABA signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2015, 27(1): 214–227. [DOI]
- [55] Naponelli V, Noiriel A, Ziemak MJ, Beverley SM, Lye LF, Plume AM, Botella JR, Loizeau K, Ravanel S, Rébeillé F, de Crécy-Lagard V, Hanson AD. Phylogenomic and functional analysis of pterin-4a-carbinolamine dehydratase family (COG2154) proteins in plants and microorganisms. *Plant Physiol*, 2008, 146(4): 1515–1527. [DOI]
- [56] Yoshida T, Fujita Y, Maruyama K, Mogami J, Todaka D, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Four *Arabidopsis* AREB/ABF transcription factors function predominantly in gene expression downstream of SnRK2 kinases in abscisic acid signalling in response to osmotic stress. *Plant Cell Environ*, 2015, 38(1): 35–49. [DOI]
- [57] Zhang YY, Li Y, Gao T, Zhu H, Wang DJ, Zhang HW, Ning YS, Liu LJ, Wu YR, Chu CC, Guo HS, Xie Q. *Arabidopsis* SDIR1 enhances drought tolerance in crop plants. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(8): 2251–2254. [DOI]
- [58] Gao T, Wu YR, Zhang YY, Liu LJ, Ning YS, Wang DJ, Tong HN, Chen SY, Chu CC, Xie Q. *OsSDIR1* overexpression greatly improves drought tolerance in transgenic rice. *Plant Mol Biol*, 2011, 76(1–2): 145–156. [DOI]
- [59] Xia ZL, Liu QJ, Wu JY, Ding JQ. ZmRFP1, the putative ortholog of SDIR1, encodes a RING-H2 E3 ubiquitin ligase and responds to drought stress in an ABA-dependent manner in maize. *Gene*, 2012, 495(2): 146–153. [DOI]
- [60] Stone SL, Williams LA, Farmer LM, Vierstra RD, Callis J. KEEP ON GOING, a RING E3 ligase essential for *Arabidopsis* growth and development, is involved in abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 2006, 18(12): 3415–3428. [DOI]
- [61] Liu HX, Stone SL. Cytoplasmic degradation of the *Arabidopsis* transcription factor ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 is mediated by the RING-type E3 ligase KEEP ON GOING. *J Biol Chem*, 2013, 288(28): 20267–20279. [DOI]
- [62] Lyzenga WJ, Liu HX, Schofield A, Muike-Hennessey A, Stone SL. *Arabidopsis* CIPK26 interacts with KEG, components of the ABA signalling network and is degraded by the ubiquitin-proteasome system. *J Exp Bot*, 2013, 64(10): 2779–2791. [DOI]
- [63] Gu YN, Innes RW. The KEEP ON GOING protein of *Arabidopsis* recruits the ENHANCED DISEASE RESISTANCE1 protein to trans-golgi network/early endosome vesicles. *Plant Physiol*, 2011, 155(4): 1827–1838. [DOI]
- [64] Chen Q, Zhong YW, Wu YR, Liu LJ, Wang PF, Liu RJ, Cui F, Li QL, Yang XY, Fang SY, Xie Q. HRD1-mediated ERAD tuning of ER-bound E2 is conserved between plants and mammals. *Nat Plants*, 2016, 2: 16094. [DOI]
- [65] Cui F, Liu LJ, Zhao QZ, Zhan ZH, Li QL, Lin BY, Wu YR, Tang SY, Xie Q. *Arabidopsis* ubiquitin conjugase UBC32 is an ERAD component that functions in brassinosteroid-mediated salt stress tolerance. *Plant Cell*, 2012, 24(1): 233–244. [DOI]
- [66] Chen YT, Liu HX, Stone S, Callis J. ABA and the

- ubiquitin E3 ligase KEEP ON GOING affect proteolysis of the *Arabidopsis thaliana* transcription factors ABF1 and ABF3. *Plant J*, 2013, 75(6): 965–976. [DOI]
- [67] Zhao HY, Zhang HM, Cui P, Ding F, Wang GC, Li RJ, Jenks MA, Lü SY, Xiong LM. The putative E3 ubiquitin ligase ECERIFERUM9 regulates abscisic acid biosynthesis and response during seed germination and postgermination growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2014, 165(3): 1255–1268. [DOI]
- [68] Swanson R, Locher M, Hochstrasser M. A conserved ubiquitin ligase of the nuclear envelope/endoplasmic reticulum that functions in both ER-associated and Mda2 repressor degradation. *Gene Dev*, 2001, 15(20): 2660–2674. [DOI]
- [69] Raghavendra AS, Gonugunta VK, Christmann A, Grill E. ABA perception and signalling. *Trends Plant Sci*, 2010, 15(7): 395–401. [DOI]
- [70] Yu FF, Wu YR, Xie Q. Precise protein post-translational modifications modulate ABI5 activity. *Trends Plant Sci*, 2015, 20(9): 569–575. [DOI]
- [71] Liu HX, Stone SL. Absciscic acid increases *Arabidopsis* ABI5 transcription factor levels by promoting KEG E3 ligase self-ubiquitination and proteasomal degradation. *Plant Cell*, 2010, 22(8): 2630–2641. [DOI]
- [72] Lee JH, Yoon HJ, Terzaghi W, Martinez C, Dai MQ, Li JG, Byun MO, Deng XW. DWA1 and DWA2, two *Arabidopsis* DWD protein components of CUL4-based E3 ligases, act together as negative regulators in ABA signal transduction. *Plant Cell*, 2010, 22(6): 1716–1732. [DOI]
- [73] Seo KI, Lee JH, Nezames CD, Zhong SW, Song E, Byun MO, Deng XW. ABD1 is an *Arabidopsis* DCAF substrate receptor for CUL4-DDB1-based E3 ligases that acts as a negative regulator of abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 2014, 26(2): 695–711. [DOI]
- [74] Kurup S, Jones HD, Holdsworth MJ. Interactions of the developmental regulator ABI3 with proteins identified from developing *Arabidopsis* seeds. *Plant J*, 2000, 21(2): 143–155. [DOI]
- [75] Zhang XR, Garretton V, Chua NH. The AIP2 E3 ligase acts as a novel negative regulator of ABA signaling by promoting ABI3 degradation. *Gene Dev*, 2005, 19(13): 1532–1543. [DOI]
- [76] Lopez-Molina L, Mongrand B, McLachlin DT, Chait BT, Chua NH. ABI5 acts downstream of ABI3 to execute an ABA-dependent growth arrest during germination. *Plant J*, 2002, 32(3): 317–328. [DOI]
- [77] Samuel MA, Mudgil Y, Salt JN, Delmas F, Ramachandran S, Chilleli A, Goring DR. Interactions between the s-domain receptor kinases and AtPUB-ARM E3 ubiquitin ligases suggest a conserved signaling pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2008, 147(4): 2084–2095. [DOI]
- [78] Chung E, Cho CW, So HA, Kang JS, Chung YS, Lee JH. Overexpression of *VrUBC1*, a Mung Bean E2 Ubiquitin-conjugating enzyme, enhances osmotic stress tolerance in *Arabidopsis*. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66056. [DOI]
- [79] Carles C, Bies-Etheve N, Aspart L, Léon-Kloosterziel KM, Koornneef M, Echeverria M, Delseny M. Regulation of *Arabidopsis thaliana* *Em* genes: role of ABI5. *Plant J*, 2002, 30(3): 373–383. [DOI]
- [80] Hirayama T, Shinozaki K. Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA. *Trends Plant Sci*, 2007, 12(8): 343–351. [DOI]
- [81] Koizumi M, Yamaguchi-Shinozaki K, Tsuji H, Shinozaki K. Structure and expression of two genes that encode distinct drought-inducible cysteine proteinases in *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 1993, 129(2): 175–182. [DOI]
- [82] Kim JH, Kim WT. The *Arabidopsis* RING E3 ubiquitin ligase AtAIRP3/LOG2 participates in positive regulation of high-salt and drought stress responses. *Plant Physiol*, 2013, 162(3): 1733–1749. [DOI]
- [83] Glickman MH. Getting in and out of the proteasome. *Semin Cell Dev Biol*, 2000, 11(3): 149–158. [DOI]
- [84] Smalle J, Kurepa J, Yang PZ, Emborg TJ, Babiychuk E, Kushnir S, Vierstra RD. The pleiotropic role of the 26S proteasome subunit RPN10 in *Arabidopsis* growth and development supports a substrate-specific function in abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 2003, 15(4): 965–980. [DOI]
- [85] Waadt R, Manalansan B, Rauniyar N, Munemasa S, Booker MA, Brandt B, Waadt C, Nusinow DA, Kay SA, Kunz HH, Schumacher K, DeLong A, Yates JR, Schroeder JI. Identification of Open Stomata1-interacting proteins reveals interactions with Sucrose Non-fermenting1-Related protein Kinases2 and with Type 2A Protein Phosphatases that function in abscisic acid responses. *Plant Physiol*, 2015, 169(1): 760–779. [DOI]
- [86] Zhou HW, Nussbaumer C, Chao Y, DeLong A. Disparate roles for the regulatory A subunit isoforms in *Arabidopsis* protein phosphatase 2A. *Plant Cell*, 2004, 16(3): 709–722. [DOI]
- [87] Luo JH, Shen GX, Yan JQ, He CX, Zhang H. AtCHIP functions as an E3 ubiquitin ligase of protein phosphatase 2A subunits and alters plant response to abscisic acid

- treatment. *Plant J*, 2006, 46(4): 649–657. [DOI]
- [88] Kwak JM, Moon JH, Murata Y, Kuchitsu K, Leonhardt N, DeLong A, Schroeder JI. Disruption of a guard cell-expressed protein phosphatase 2A regulatory subunit, *RCN1*, confers abscisic acid insensitivity in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2002, 14(11): 2849–2861. [DOI]
- [89] Belda-Palazon B, Rodriguez L, Fernandez MA, Castillo MC, Anderson EA, Gao CJ, González-Guzmán M, Peirats-Llobet M, Zhao Q, De Winne N, Gevaert K, De Jaeger G, Jiang LW, Leon J, Mullen RT, Rodriguez PL. FYVE1/FREE1 interacts with the PYL4 ABA receptor and mediates its delivery to the vacuolar degradation pathway. *Plant Cell*, 2017, 29(5): 2291, doi: 10.1105/tpc.16.00178. [DOI]
- [90] Yu FF, Lou LJ, Tian MM, Li QL, Ding YL, Cao XQ, Wu YR, Belda-Palazon B, Rodriguez PL, Yang SH, Xie Q. ESCRT-I component *VPS23A* affects ABA signaling by recognizing ABA receptors for endosomal degradation. *Mol Plant*, 2016, 9(12): 1570–1582. [DOI]
- [91] Finkelstein RR, Gampala SSL, Rock CD. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell*, 2002, 14(Suppl 1): S15–S45. [DOI]
- [92] Pauwels L, Ritter A, Goossens J, Durand AN, Liu HX, Gu YN, Geerinck J, Boter M, Vanden Bossche R, De Clercq R, Van Leene J, Gevaert K, De Jaeger G, Solano R, Stone S, Innes R W, Callis J, Goossens A. The RING E3 ligase KEEP ON GOING modulates JASMONATE ZIM-DOM-
AIN12 stability. *Plant Physiol*, 2015, 169(2): 1405–1417. [DOI]
- [93] Dai MQ, Xue Q, Mccray T, Margavage K, Chen F, Lee JH, Nezames CD, Guo LQ, Terzaghi W, Wan JM, Deng XW, Wang HY. The PP6 phosphatase regulates ABI5 phosphorylation and abscisic acid signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2013, 25(2): 517–534. [DOI]
- [94] Lopez-Molina L, Mongrand S, Kinoshita N, Chua NH. AFP is a novel negative regulator of ABA signaling that promotes ABI5 protein degradation. *Genes Dev*, 2003, 17(3): 410–418. [DOI]
- [95] Miura K, Lee J, Jin JB, Yoo CY, Miura T, Hasegawa PM. Sumoylation of ABI5 by the *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 negatively regulates abscisic acid signaling. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2009, 106(13): 5418–5423. [DOI]
- [96] Liu HX, Stone SL. Regulation of ABI5 turnover by reversible post-translational modifications. *Plant Signal Behav*, 2014, 9(1): e27577. [DOI]
- [97] Uhart M, Bustos DM. Human 14-3-3 paralogs differences uncovered by cross-talk of phosphorylation and lysine acetylation. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55703. [DOI]
- [98] Dutilleul C, Ribeiro I, Blanc N, Nezames CD, Deng XW, Zglobicki P, Palacio Barrera AM, Atehortúa L, Courtois M, Labas V, Giglioli-Guivarc'h N, Ducos E. ASG2 is a farnesylated DWD protein that acts as ABA negative regulator in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 2016, 39(1): 185–198. [DOI]

(责任编辑: 李传友)