

E3泛素连接酶调控种子休眠与萌发

毛凯涛¹, 赵晓亭¹, 郑钊^{1,2}, 王启超¹, 徐佳慧^{1,3}, 舒凯^{1,*}

¹西北工业大学生态环境学院, 西安710012

²四川农业大学生态农业研究所, 成都611130

³中国农业大学农学院, 北京100193

*通信作者(kshu@nwpu.edu.cn)

摘要: 蛋白泛素化是一个依次由泛素激活酶(E1)、泛素结合酶(E2)和泛素连接酶(E3)共同介导的多级酶联反应, 是一种在所有真核生物中普遍存在的翻译后修饰方式。大量研究表明, 蛋白泛素化主要通过调节靶标蛋白的稳定性、亚细胞定位等方式, 在植物多个发育阶段(例如种子发育、种子休眠和萌发、根系生长等)以及诸多非生物胁迫响应中起调控作用。种子是种子植物的重要繁殖体, 也是重要的农业产品和生产资料, 精确调控种子的休眠水平和萌发过程, 对于植物物种繁衍、地理分布、农作物产量质量等至关重要。文章在简要介绍蛋白泛素化修饰过程的基础之上, 系统总结了泛素化过程相关基因参与调控种子休眠与萌发过程中的分子功能及其互作网络, 并就该领域未来的研究热点和方向进行了讨论。

关键词: 泛素连接酶; 种子休眠; 种子萌发; 植物激素; 分子功能

E3 ubiquitin ligase involved in the regulation of seed dormancy and germination

MAO Kaitao¹, ZHAO Xiaoting¹, ZHENG Chuan^{1,2}, WANG Qichao¹, XU Jiahui^{1,3}, SHU Kai^{1,*}

¹School of Ecology and Environment, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710012, China

²Institute of Ecological Agriculture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

³College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

*Corresponding author (kshu@nwpu.edu.cn)

Abstract: Protein ubiquitination is a multistage enzyme-linked reaction mediated by ubiquitin-activating enzyme (E1), ubiquitin-conjugating enzyme (E2) and ubiquitin ligase enzyme (E3), and is also a common protein post-translational modification in all eukaryotes. A large number of studies have shown that protein ubiquitination plays a regulatory role in multiple developmental stages of plants (such as seed development, seed dormancy and germination, root growth) and in many abiotic stress responses, mainly by regulating the stability and subcellular localization of target proteins. Seeds are important propagators of seed plants and important agricultural products and means of production. Accurate regulation of dormancy level and germination process of seeds is of great importance to plant species reproduction, geographical distribution, crop yield and quality. Based on the brief introduction of protein ubiquitination modification processes, the molecular functions and interaction networks of ubiquitination related genes involving in regulation of seed dormancy and germination are systematically summarized, and the future research hotspots and directions in this field are discussed and presented.

Key words: protein ubiquitination; seed germination; seed dormancy; phytohormones; molecular function

收稿 2021-01-21 修定 2021-05-27

资助 国家自然科学基金(31872804和31701064)。

种子休眠和萌发是高等植物发育过程中的重要调控阶段,它直接关系到植物种群的生存和发展、繁衍和分布。萌发是指种子吸胀后,代谢作用增强,与萌发相关的关键基因开始表达,胚根逐渐伸长最终突破胚乳和种皮的过程(Woolhouse等1980);休眠是指具有活力的种子即使处于适宜萌发的条件下而依然不能正常萌发的生理现象。依据休眠发生时间的不同,种子休眠又可分为初级休眠和次级休眠。种子在成熟过程中,由于脱落酸(abscisic acid, ABA)含量增加而诱发的休眠称为初级休眠;而次级休眠则是指种子在萌发期间,因外界环境条件突然变化(如温度、氧浓度突然降低等),萌发程序暂时中止而进入休眠状态(Baskin和Baskin 2004)。种子休眠与萌发是植物为适应外界环境而形成的一种生物特性,具有重要的生态学意义。种子休眠为其传播与扩散争取了时间,使种子在最理想的条件下萌发成苗。在农业生产上,种子的正常萌发与出苗直接影响作物产量(El-Maarouf-Bouteau等2015),种子萌发率或者出苗率下降都会导致作物有效株数下降,从而导致产量降低(Shuai等2016)。因此,深入研究植物种子的休眠与萌发的调控机制,不仅是重要的植物学基础理论发展需要,而且还将对农业可持续发展具有推动作用。

种子休眠与萌发受到植物体内多种信号物质和外界环境因子的精细调控。植物种子只有在适宜的环境条件下萌发,才有可能发育成正常的植株。模式植物拟南芥的种子在低温下休眠水平提高,萌发水平降低(Nee等2017);而当大豆种子在适当的荫蔽状态下完成发育时,其种子休眠能力降低,萌发能力提高(Chen等2020)。当种子萌发时遭遇高温、干旱、低氧等非生物胁迫时,萌发过程均受到抑制。除了这些外部环境因素影响种子的休眠与萌发外,植物体内的信号物质如赤霉素(gibberellin, GA)和ABA也起到重要的作用。研究表明,ABA和GA是种子休眠获得和解除过程中起关键作用的内源信号分子,ABA促进种子休眠,抑制种子萌发(Ali-Rachedi等2004);GA促进种子萌发,抑制种子休眠(Karssen等1983),两者在调节种子休眠与萌发过程中存在相互拮抗的关系。除ABA与GA外,细胞分裂素(cytokinin, CTK)也会促进种子

萌发,与脱落酸存在相互拮抗的关系(Guan等2014);而生长素(auxin)则是通过与ABA的协同作用促进种子休眠(Shuai等2016)。

蛋白质泛素化是指泛素(一类低分子量的蛋白质)分子在一系列酶的作用下,对靶标蛋白进行特异性修饰,并改变其稳定性或亚细胞定位的过程。与泛素化相对的是去泛素化,去泛素化酶具有去除底物蛋白上的泛素来拮抗泛素化修饰的功能;这种酶属于半胱氨酸蛋白酶家族,可以切开异肽键或肽键,具有较高的特异性。在动物及医学领域,泛素化修饰在调控细胞免疫与应答、细胞凋亡等方面发挥重要作用;在植物学领域,蛋白泛素化修饰在种子发育、种子休眠与萌发、植物根系发育(Koiwai等2007)、开花时间调控(Chen等2015)等阶段起调控作用,对植物的生长发育具有重要意义。本文在简要介绍蛋白泛素化与去泛素化修饰过程的基础之上,系统综述了蛋白泛素化相关基因参与调控种子休眠与萌发过程的分子机制与互作网络,并就未来的研究进行了讨论。

1 蛋白泛素化修饰机制及其功能简介

泛素(ubiquitin, Ub)是一类在进化上保守、具有蛋白质翻译后修饰功能的小分子,由76个氨基酸组成,分子质量约为8.5 kDa,存在于所有真核生物细胞中(Goldstein等1975)。蛋白质泛素化是泛素与底物蛋白之间的共价连接。有三类酶介导这个多级酶联反应,分别是泛素激活酶(ubiquitin-activating enzyme, E1)、泛素耦合酶(ubiquitin-conjugating enzyme, E2)和泛素连接酶(ubiquitin ligase enzyme, E3),这三类酶的作用分别是激活、结合和连接泛素。该反应首先由E1酶催化泛素激活,由ATP提供能量;之后泛素羧基端和E1中半胱氨酸的巯基端形成硫酯键,然后E1将活化后的泛素转移到E2的半胱氨酸的巯基上;最后E3将结合到E2上的泛素转移到目标蛋白上,使目标蛋白上的一个赖氨酸与泛素的羧基端的一个甘氨酸通过异肽键连接(Morreale和Walden 2016)。

泛素激活酶是一种ATP依赖的酶。在小麦中发现3种E1酶(Kampen等2010),而在拟南芥中,编码泛素激活酶的基因只有2个,即UBA1和UBA2

(Hatfield等1997)。泛素耦合酶包含一个高度保守的UBC结构域,由140~150个氨基酸组成的催化核心;并含有一个保守的半胱氨酸残基,能够与泛素分子羧基端的甘氨酸残基形成共价结合的硫酯键。植物中有多种E2酶(Genschik等1994; Girod和Vierstra 1993),其中拟南芥中有48个基因编码含有UBC结构域的蛋白质(Kraft等2005);其中有3个蛋白质通过巯基结合UBL,包括RUB的耦合酶RCE1和RCE2、SUMO耦合酶SCE1;另有8个类泛素耦合酶(E2-like) (Callis和Book 2014)。

泛素连接酶含有一些保守的、与泛素耦合酶相互作用的结构域,根据这些结构域的不同,泛素连接酶可被分为RING、U-Box、HECT和RBR类以及多亚基类(Berndsen和Wolberger 2014)。RING泛素连接酶包含一个富含半胱氨酸的环结构域,协调两个锌原子。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,而只是将E2上共价连接的泛素分子连接到底物蛋白上。U-box泛素连接酶与RING泛素连接酶不同,它除了可以催化K48位泛素链的连接外,还可以催化其他Lys残基的泛素化连接,这样使得被U-box作用后的蛋白质形成与蛋白酶体所识别的泛素链不相同的其他分支结构形式的泛素链,因此,泛素化底物也被赋予不同的生物学功能(Hatakeyama等2001)。HECT类泛素连接酶在催化底物泛素连接时,先通过HECT结合泛素化的泛素耦合酶,再通过硫酯键在HECT与泛素间形成共价连接,然后催化底物的泛素化(Bernassola等2008),即泛素分子需要先从泛素耦合酶转移给HECT类泛素连接酶,之后才能最终转移给底物。第四类是RBR类泛素连接酶,它含有一个RBR结构域,该结构域包含两个RING形结构域。其中,RING1可以与泛素耦合酶结合,具有RING类泛素连接酶的特性;RING2可以与泛素形成硫酯键中间体,具有HECT类泛素连接酶的活性。最后是多亚基类泛素连接酶,这一类酶分为四个亚类,分别是SCF (skp1-kinase-associated protein 1-cullin 1-F-box)、BTB (bric-a-brac-tramtrack-broad complex)、DDB (DNA Damage-Binding domain-containing)和APC (anaphase-promoting complex) (Callis和Book 2014)等。其中,SCF亚型

E3连接酶由SKP1 (S期激酶相关蛋白1)、CUL1 (cullin 1)、RBX1 (ring-box 1)和FBX (F-box)蛋白组成,FBX蛋白决定底物特异性(Vierstra 2009)。DDB亚型E3连接酶由CUL4 (cullin 4)、RBX1、DDB1 (DNA损伤结合1)和DWD (含WD40结构域的蛋白质)组成,其中DWD蛋白负责底物的特异性识别(Vierstra 2009)。

2 E3参与种子休眠与萌发

2.1 RING类型的E3对种子休眠与萌发的调控

2.1.1 RING类型的E3正调控种子休眠或萌发

SDIR1 (salt-and drought-induced ring finger 1)是一个位于内质网内膜上的RING泛素连接酶(Zhang等2015)。研究表明,SDIR1的底物SDIR1P1通过促进ABI5的表达来增强ABA信号,进而抑制种子萌发(Zhang等2015)。与野生型相比,*sdir1-1*在萌发期间对ABA不敏感;而*SDIR1*过表达种子对ABA高度敏感。这表明SDIR1是ABA转导信号途径中的一个正调控因子(Zhang等2007)。RHA2a是一个功能性的E3酶。与野生型比,*rha2a*突变体种子在萌发过程中对ABA不敏感;而*RHA2a*过表达种子则对ABA高度敏感,说明RHA2a是ABA信号转导途径中的一个正调控因子(Bu等2009)。但是,目前关于RHA2a调控种子休眠与萌发的分子机制有待于进一步研究。RHA2b是一种RING-H2泛素连接酶,MYB30是ABA信号的负调节因子,RHA2b通过26S蛋白酶体介导MYB30降解从而在ABA信号转导中起积极作用(Zheng等2018)。*rha2b-1*突变体种子在萌发期间对ABA不敏感;而*RHA2b*过表达种子对ABA高度敏感(Li等2011)。说明RHA2b是ABA信号转导途径中的一个正调控因子。综上所述,SDIR1、RHA2a和RHA2b通过正调控ABA信号,抑制种子萌发。

AtAIRP1 (*Arabidopsis thaliana* ABA-insensitive RING protein 1)是一个C3H2C3型RING泛素连接酶。与野生型相比,*atairp1*突变体种子在萌发期间对ABA不敏感,而*AtAIRP1*过表达种子在种子萌发、子叶变绿等方面对ABA高度敏感。这表明AtAIRP1是ABA信号途径中的一个正调节因子(Ryu等2010)。但是关于AtAIRP1调控种子休眠与萌发的分子机

制值得深入研究。AtAIRP2 (*Arabidopsis thaliana* ABA-insensitive RING protein 2)是一个C3HC4型RING泛素连接酶。研究表明, ATP1是AtAIRP2的底物蛋白, 因ATP1被发现与SDIRIP1相同, 故ATP1也被称为ATP1/SDIRIP1。遗传分析表明, AtAIRP2对ATP1/SDIRIP1是上位性的。在拟南芥种子萌发阶段, AtAIRP2通过下调ATP1/SDIRIP1, 从而在ABA信号中发挥积极作用(Oh等2017)。与野生型相比, *atairp2*突变体种子对ABA敏感性低, 而*AtAIRP2*过表达种子对ABA高度敏感。结果表明, AtAIRP2是ABA信号转导途径中的一个正调节因子(Cho等2011)。

此外, AtAIRP3 (*Arabidopsis thaliana* ABA-insensitive RING protein 3)是一种RING泛素连接酶。与野生型比, *atairp3*突变体种子在萌发阶段对ABA不敏感; 由于AtAIRP3被鉴定为GDU2 (LOG2)的缺失, 因此, AtAIRP3被称为AtAIRP3/LOG2, *atairp3/log2-2*突变体种子对ABA不敏感, 以上表明AtAIRP3/LOG2是ABA信号转导途径中的一个正调节因子(Kim和Kim 2013)。但是, 目前关于AtAIRP3调控种子休眠与萌发的分子机制有待进一步研究。综上所述, AtAIRP1、AtAIRP2以及AtAIRP3均是通过正调控ABA信号, 进而抑制种子萌发。

种子的休眠和萌发受到光照的影响(Zhao等2010)。光信号中抑制因子COP1 (constitutive photomorphogenesis1)是一种单亚基RING泛素连接酶(Jang等2010; Osterlund等2000)。在拟南芥中, COP1与其下游调控因子HY5组成COP1-HY5复合物参与乙烯(ethylene, ET)在盐胁迫下调控种子萌发。COP1主要位于细胞核中, 在盐胁迫下, COP1进入细胞质中, 导致HY5积累和*ABI5*表达, 从而抑制种子萌发; 但当ET在种子吸水压力和胚根突出的作用下, 促使COP1进入细胞核, 随后降解HY5, 降低*ABI5*的表达, 从而促进种子萌发(Yu等2016)。

除了光照, 温度也是一个影响种子休眠和萌发的重要环境因素。当种子长时间暴露在高温下时, 其萌发会受到抑制。COP1-HY5复合物在高温下会增强种子萌发时的耐热性。硫化氢(H_2S)是一种小型的水溶性气体, 可以提高拟南芥种子萌发耐热性。在正常情况下, 位于细胞核中的COP1会

诱导HY5降解, 降低*ABI5*的表达进而诱导种子萌发。但是在长时间的高温胁迫下, H_2S 的生物合成被抑制, 加速了COP1从细胞核向细胞质的运输, 导致HY5积累和*ABI5*表达, 从而抑制种子萌发; 通过添加外源 H_2S 或转基因*DES1-ox*种子来提高 H_2S 水平, 促使COP1进入细胞核, 随后降解HY5, 降低*ABI5*的表达, 最终促进种子萌发。综上所述, H_2S 信号通过重新分配COP1的分布来拮抗高温对种子萌发的抑制作用(Chen等2019)。

OsHIRP1 (*Oryza sativa* heat-induced RING finger protein 1)是一种RING泛素连接酶, 在水稻应对热胁迫的反应中发挥重要作用。研究表明, 过表达*OsHIRP1*的种子萌发率高于野生型, 且在过表达*OsHIRP1*植株中, 一些热胁迫诱导基因(*HsfA3*、*HSP17.3*、*HSP18.2*和*HSP20*)表达上调。表明E3连接酶OsHIRP1正向调控水稻对热胁迫的反应(Kim等2019)。但是关于OsHIRP1在热胁迫下调控种子萌发的确切机制要进一步研究。

AtAIRP4 (*Arabidopsis thaliana* ABA-insensitive RING protein 4)是一个C3HC4型RING泛素连接酶。研究表明, *AtAIRP4*过表达种子在萌发过程中对盐胁迫高度敏感, 并且比野生型和*atairp4*突变体更具有抗旱能力; 此外, 在*AtAIRP4*过表达种子中ABA和干旱诱导基因的表达量显著高于野生型和*atairp4*突变体。因此, AtAIRP4是ABA介导抗旱性的正向调节因子。但是, 目前关于AtAIRP3在干旱胁迫下调控种子休眠与萌发的分子机制有待进一步研究(Yang等2016)。

SpRing是位于内质网上的RING泛素连接酶, 在野生番茄应对盐胁迫反应中发挥重要作用。研究表明, *SpRing*过表达种子的萌发率高于野生型, *SpRing*过表达种子中*NCED3*、*RD29A*以及*RAB18*的表达量高于野生型(Qi等2016)。表明SpRing是耐盐野生番茄中盐胁迫信号的正向调节因子。但是关于SpRing在盐胁迫下调控种子萌发的确切机制目前尚不清楚。

2.1.2 RING类型的E3负调控种子休眠或萌发

RSL1 (RING finger of seed longevity 1)是一种针对ABA信号的正调控因子进行泛素化的泛素连接酶, 它通过26S蛋白酶体途径介导质膜中ABA受

体PYR1和PYL4降解,从而减弱ABA信号,促进种子萌发。与野生型比,*rs11 RNAi*系种子对ABA高度敏感;而*OE-RSL1*对ABA不敏感,这表明RSL1是ABA信号途径中的一个负调节因子(Bueso等2014)。

AtARRE (*Arabidopsis thaliana* ABA-related RING-type E3 ligase)是一种负调控拟南芥ABA信号的RING泛素连接酶。与野生型比,*atarre-1*和*atarre-2*突变体种子在萌发期间对ABA高度敏感,种子萌发延迟;而*ATARRE*过表达种子在萌发时对ABA不敏感,这表明ATARRE是ABA信号转导途径中的一个负调节因子(Wang等2018)。但是关于AtAIRP1调控种子休眠与萌发的分子机制目前尚不清楚。

CER9 (ECERIFERUM9)是一种RING泛素连接酶。与野生型比,*cer9-1*和*cer9-2*突变体种子在萌发期间对ABA高度敏感,种子萌发延迟;在*cer9*突变体中,检测到ABA生物合成基因*NCED6*的表达上调,ABA信号转导途径中的*ABI3*、*ABI4*以及*ABI5*的表达量增加,这些结果表明CER9是ABA生物合成和ABA信号通路中的一个新型负调控因子(Zhao等2014)。但是目前关于CER9如何调控种子萌发期间ABA生物合成和信号转导的分子机制要进一步探索。

AIP2 (ABI3-interacting protein 2)是一种RING泛素连接酶,能在体外聚泛素化ABI3,从而减弱ABA信号促进种子萌发。与野生型比,*aip2-1*突变体种子在萌发期间对ABA高度敏感,种子萌发延迟;*AIP2*过表达的种子生活力降低(Zhang等2005)。这表明AIP2是ABA信号转导途径中的一个负调节因子。OsDSG1 (*Oryza sativa* delayed seed germination 1)是AIP2的水稻直系同源物,也是水稻中的一种RING finger泛素连接酶,它能促进OsABI3降解,从而减弱ABA信号,促进种子萌发。*OsDSG1*过表达种子在萌发时对ABA不敏感;ABA会影响盐对种子萌发的抑制作用(Zhu 2002),在高盐胁迫下,*osdsg1*突变体的萌发率高于野生型(Park等2010)。这表明OsDSG1是ABA信号转导途径中的一个负调节因子。

KEG (keep on going)是一种调节*ABI5*表达水

平的RING泛素连接酶。在ABA信号、KEG和ABI5之间存在反馈回路——KEG促进ABI5的降解来减弱ABA信号,而ABA可以诱导KEG的泛素化和降解,从而促进ABI5的积累(Shu和Yang 2017)。与野生型比,*keg*突变体种子在萌发期间对ABA高度敏感(Stone等2006);而*KEG*过表达种子在萌发时对ABA不敏感(Liu和Stone 2010),表明KEG是ABA信号转导途径中的一个负调节因子。除此之外,在拟南芥中还有一种RING泛素连接酶MIEL1 (MYB30-interacting E3 ligase 1)可以与ABA信号调节因子MYB96相互作用促进其泛素化来减弱ABA信号。在萌发阶段,*miel1*突变体种子对ABA高度敏感;而*MIEL1*过表达种子对ABA不敏感(Lee和Seo 2016)。这表明MIEL1是ABA信号途径中的一个负调节因子。综上所述,RSL1、AtARRE、CER9、AIP2、OsDSG1、KEG以及MIEL1均是通过负调控ABA信号,进而促进种子萌发。

2.2 U-Box类型的E3对种子休眠与萌发的调控

U-Box泛素连接酶是由大约70个氨基酸组成的保守U-Box基序。在拟南芥中,预测的*PUB* (*Plant U-Box protein*)基因大约有64个(Vierstra 2009)。研究表明,U-Box泛素连接酶在植物的发育过程中具有许多功能,包括调节种子萌发、开花时间(Vega-Sánchez等2008)以及许多非生物胁迫反应(Wei等2015)等。

AtPUB9是一种U-Box泛素连接酶,它通过促进ABI3的降解进而负调控ABA信号,促进种子萌发。*pub9*突变体种子在萌发期间对ABA高度敏感;而*abi3 pub9*双突变体种子对ABA不敏感,这表明AtPUB9是ABA信号转导途径中的一个负调节因子(Samuel等2008)。PUB43和PUB44也是U-Box泛素连接酶。与野生型比,*pub43/pub43*突变体种子以及*PUB44/pub44*突变体种子在萌发期间对ABA不敏感(Salt等2011)。这表明PUB43和PUB44是ABA信号转导途径中的正调节因子。但是,目前关于PUB43和PUB44调控种子休眠与萌发的分子机制有待于进一步研究。

此外,还有U-Box泛素连接酶PUB30,它通过泛素化降解油菜素内酯(brassinosteroids, BR)信号转导的调节因子BKI1 (BRI1激酶抑制剂1)在种子

萌发阶段负调控盐胁迫。与野生型比, *pub30-1* 突变体中BKI1降解速度慢, *bki1* 突变体对盐胁迫敏感, 而*BKI1*过表达植株表现出耐盐表型, 这些结果表明BKI1是一个响应盐胁迫反应的正向调节因子(Zhang等2017)。

GmPUB8是一种U-Box泛素连接酶, 在大豆种子应对盐胁迫和干旱胁迫反应中发挥重要作用。与野生型比, *GmPUB8*过表达种子对氯化钠敏感, 萌发率低; 且在*GmPUB8*过表达种子中, 8个干旱胁迫基因(*AOX1a*、*COR15A*、*ERD1*、*ERD15*、*P5CR*、*PCSI*、*RD29A*以及*RD29B*)的表达量低, 证明GmPUB8负调控植物对干旱胁迫的响应(Wang等2016)。但是GmPUB8在盐胁迫和干旱胁迫下调控种子萌发的确切机制目前尚不清楚。

2.3 Cullin-RING box1-ligases类型的E3对种子休眠与萌发的调控

2.3.1 SCF亚型E3连接酶对种子休眠与萌发的调控

RIFP1 (RCAR3 INTERACTING F-BOX PROTEIN 1)是一个F-Box泛素连接酶, 它通过促进ABA受体RCAR3的降解, 负调控ABA应答。与野生型比, *rifp1*突变体种子在萌发期间对ABA敏感; 而*RIFP1*过表达种子则对ABA不敏感(Li等2016)。这表明RIFP1是ABA信号途径中的一个负调节因子。EDL3 (EID1-like protein 3)也是一种F-Box蛋白, 该蛋白被认为是SCF泛素连接酶复合物的一个组成部分, SCF^{EDL3}降解ABA信号转导途径中的负调节因子来调控ABA信号。在种子萌发过程中, 与野生型比, *edl3-1*突变体种子对ABA不敏感; 而*EDL3*过表达种子则对ABA敏感, 种子萌发受到抑制(Koops等2011)。这表明EDL3是ABA信号转导途径中的一个正调节因子。综上所述, RIFP1通过负调控ABA信号来促进种子萌发; 而EDL3通过正调控ABA信号来抑制种子萌发。

赤霉素信号基因SLEEPY1 (SLY1)是GA信号的正调节因子, 在种子萌发中发挥重要作用, 决定了SCF-E3泛素连接酶复合物的底物特异性(Dill等2004; Fu等2004; McGinnis等2003)。RGL2是GA信号的负调节因子, 即它是种子萌发的抑制剂(Lee等2002)。研究表明, SCF^{SLY1}介导RGL2的降解来正向调节GA信号, 促使种子萌发(Ariizumi和Steber 2007)。

COP9信号体(CSN)是Cullin-RING泛素连接酶(CRLs)的调节因子(Wei和Deng 2003)。CSN通过促进RGL2和ABI5的降解促进种子萌发(Jin等2018)。研究表明, *csn1-10*具有更强的种子休眠性, 而*csn5a-1*突变体除了表现出超休眠性外, 还表现出萌发延迟。遗传学证据证明*csn1-10*的休眠表型是由RGL2的过度积累引起的; 而*csn5a-1*表型是由RGL2和ABI5的过度积累引起的。与野生型比, *csn1-10*、*csn5a-1*以及*csn5a-1 rgl2-13*对ABA高度敏感; 而*csn5a-1 abi5-4*对ABA不敏感。这表明CSN是ABA信号转导途径中的负调节因子。但是, 目前关于CSN5A调控ABI5的确切机制是未来研究的一个挑战。

TIR1/AFB既是生长素的受体也是SKP1-CUL1-F-box (SCF)型E3连接酶(Kepinski和Leyser 2005; Wang和Estelle 2014)。生长素与ABA协同调控种子的休眠与萌发。研究表明, 当生长素信号被激活后, 生长素与其受体TIR1/AFB结合, 促使AXR2和AXR3的降解, 释放ARF10和ARF16的活性, 维持*ABI3*的表达, 从而促进种子休眠(Liu等2013)。

MAX2 (More AXillary growth 2)是一种F-box蛋白, 在光信号通路中发挥积极作用。与野生型比, 在光照下*max2*突变体种子萌发受到抑制。在*max2*突变体种子检测到, ABA生物合成基因*ABA1*、*NCED6*和*NCED9*以及分解基因*CYP707A2*的表达均高于野生型; 而GA生物合成基因*GA3ox1*表达下调, GA分解基因*GA2ox2*表达上调。但是目前关于MAX2是如何参与光和激素协同调控种子萌发的分子机制仍不清楚(Shen等2012)。

F-box蛋白COI1促进了茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号的产生, 并且在JA与ABA协同抑制种子萌发方面发挥重要作用(Ellis和Turner 2002; Song等2014)。与野生型比, *coil-16*突变体种子在萌发时对ABA高度敏感, 表明COI1是ABA信号转导途径中的负调节因子(Ellis和Turner 2002)。但是关于COI1如何参与JA与ABA协同抑制种子萌发的分子机制尚不清楚。

2.3.2 DDB亚型E3连接酶对种子休眠与萌发的调控

DWA1/2 (DWD hypersensitive to ABA 1/2)是基于CUL4的E3连接酶的底物受体, 也是作为CUL4

复合物的成分参与ABA信号转导的负调节因子(Lee等2010)。由于DWA1和DWA2具有CUL4底物受体的特征,因此它们通过26S蛋白酶体途径靶向降解ABI5来负调控ABA信号促进种子萌发。*dwa1 dwa2*双突变体种子在萌发时对ABA敏感(Lee等2010)。这表明,DWA1/2是ABA信号转导途径中的负调节因子。

ABD1 (ABA- hypersensitive DCAF1)是基于CUL4-DDB1的E3连接酶的底物受体。研究表明,DDB^{ABD1} E3连接酶复合物通过介导ABI5降解从而对ABA信号进行负调控。与野生型比,*abd1*突变体种子对ABA高度敏感,种子萌发显著延迟(Seo等2014)。表明ABD1是ABA信号转导途径中的一个负调节因子。

ASG2 (AL TERED SEED GERMINATION 2)是一种DWD蛋白。*asg2*突变体种子在萌发时对ABA敏感(Bassel等2011),这表明ASG2是ABA信号转导途径中的一个负调节因子(Dutilleul等2016)。研究表明,*asg2*突变体种子在萌发时对ABA敏感性的增加与ABI5蛋白稳定性有关,但是ASG2是否可以通过介导ABI5降解从而调控种子休眠与萌发,以及具体的分子机制有待于进一步研究。综上所

述,DWA1/2、ABD1和ASG2均是通过负调控ABA信号,促进种子萌发。

3 总结与展望

泛素化修饰是一种非常重要的翻译后修饰方式,在植物多个发育阶段以及诸多非生物胁迫响应中起关键调控作用。种子的休眠与萌发是高等植物发育过程中的重要调控阶段,在这两个重要阶段中,泛素化-蛋白酶体系统通过与植物激素的相互作用参与其中。本文主要总结了蛋白泛素化E3连接酶修饰调节种子休眠与萌发的分子功能(表1),但仍有几个问题值得进一步研究并有望取得突破。

首先,拟南芥中的37个E2酶被分为14个亚家族。其中,XI家族中的UBC26和RBR型E3酶RAF4与脱落酸受体PYR1和PYL4形成复合物,负调节ABA信号,但是关于两种酶是否会通过负调节ABA信号进而参与调控种子萌发尚未可知。

其次,尽管有很多的E3连接酶调控种子休眠与萌发的分子机制已经清楚,但仍然有一些E3连接酶如COI1、MAX2以及AtAIRP4等,关于它们如何调控种子休眠与萌发的精确分子机制是下一步的研究方向。

表1 参与调控种子休眠与萌发的E3酶
Table1 E3 enzyme involved in regulating seed dormancy and germination

类型	E3酶	底物蛋白	分子功能	参考文献
RING	SDIR1	SDIR1P1	SDIR1/SDIRIP1复合体通过促进 <i>ABI5</i> 表达,正调控ABA信号,抑制种子萌发。	Zhang等2007
	RHA2a	未知	<i>rha2a</i> 突变体种子对ABA不敏感,而 <i>RHA2a</i> 过表达种子对ABA高度敏感,表明RHA2a正调控ABA信号,抑制种子萌发。	Bu等2009
	RHA2b	未知	RHA2b通过26S蛋白酶体介导ABA信号的负调节因子MYB30降解,正调控ABA信号,抑制种子萌发。	Li等2011
	AtAIRP1	未知	<i>atairp1</i> 突变体种子对ABA不敏感,而 <i>AtAIRP1</i> 过表达种子对ABA高度敏感,表明AtAIRP1正调控ABA信号,抑制种子萌发。	Ryu等2010
	AtAIRP2	未知	在拟南芥种子萌发阶段,AtAIRP2通过下调ATP1/SDIRIP1,从而在ABA信号中发挥积极作用。	Oh等2017
	AtAIRP3	未知	<i>atairp3</i> 突变体种子在萌发阶段对ABA不敏感,表明AtAIRP3正调控ABA信号,抑制种子萌发。	Kim和Kim 2013
	COP1	HY5	乙烯和盐胁迫拮抗调节COP1的核质分配,介导HY5降解和降低 <i>ABI5</i> 的表达,从而调控种子萌发。	Yu等2016
	COP1	HY5	H ₂ S和高温胁迫拮抗调节COP1的核质分配,介导HY5降解和降低 <i>ABI5</i> 的表达,从而调控种子萌发。	Chen等2019

表1 (续)

类型	E3酶	底物蛋白	分子功能	参考文献
	OsHIRP1	未知	热胁迫下, 过表达 <i>OsHIRP1</i> 植株中的热胁迫诱导基因表达上调, 促进种子萌发。	Kim等2019
	AtAIRP4	未知	盐胁迫下, <i>AtAIRP4</i> 过表达种子在萌发过程中ABA和干旱诱导基因的表达量高, <i>AtAIRP4</i> 是ABA介导抗旱性的正向调节因子。	Yang等2016
	SpRing	未知	盐胁迫下, <i>SpRing</i> 过表达种子在萌发过程中 <i>NCED3</i> 、 <i>RD29A</i> 以及 <i>RAB18</i> 表达量高, <i>SpRing</i> 是盐胁迫信号的正向调节因子。	Qi等2016
	RSL1	PYL4/PYR1	RSL1促进ABA受体PYL4和PYR1的降解, 负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Bueso等2014
	AtARRE	未知	ATARRE负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Wang等2018
	CER9	未知	<i>cer9</i> 突变体种子中, ABA生物合成基因表达上调, <i>ABI3</i> 、 <i>ABI4</i> 以及 <i>ABI5</i> 表达量增加。表明CER9负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Zhao等2014
	AIP2	ABI3	AIP2通过泛素化降解ABI3, 负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Zhang等2005
	OsDSG1	OsABI3	OsDSG1通过降解OsABI3, 负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Park等2010
	KEG	ABI5	KEG 通过促进ABI5降解, 负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Stone等2006
	MIEL1	MYB96	MIEL1通过促进MYB96降解, 负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Lee和Seo 2016
U-Box	AtPUB9	未知	<i>AtPUB9</i> 作用于ABI3的上游, 负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Samuel等2008
U-Box	PUB43	未知	<i>pub43/pub43</i> 突变体种子在萌发期间对ABA不敏感, 表明PUB43正调控ABA信号, 抑制种子萌发。	Salt等2011
	AtPUB30	BKI1	盐胁迫下, PUB30通过泛素化降解BKI1, 促进种子萌发。	Zhang等2017
	GmPUB8	未知	<i>GmPUB8</i> 过表达种子对氯化钠敏感, 种子萌发受到抑制。	Wang等2016
	PUB44	未知	<i>PUB44/pub44</i> 突变体种子在萌发期间对ABA不敏感, 表明PUB44正调控ABA信号, 抑制种子萌发。	Salt等2011
SCF	RIFP1 (F-box蛋白)	RCAR3	RIFP1通过促进ABA受体RCAR3的降解, 负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Li等2016
SCF	EDL3 (F-box蛋白)	未知	EDL3通过蛋白酶体特异性地降解ABA信号中的负作用因子来调控ABA信号, 抑制种子萌发。	Koops等2011
	SLY1	DELLAs	SLY1通过降解DELLA蛋白RGL2来正向调节GA信号, 促进种子萌发。	Ariizumi和Steber 2007
	CSN	RGL2	CSN通过促进RGL2和ABI5的降解促进种子萌发。	Jin等2018
	TIR1/AFB (F-box蛋白)	AXR2、 AXR3	生长素信号被激活与其受体TIR1/AFB结合, 促使AXR2和AXR3的降解, 释放ARF10和ARF16的活性, 维持 <i>ABI3</i> 的表达, 促进种子休眠。	Liu等2013
	MAX2 (F-box蛋白)	未知	光照下, <i>max2</i> 突变体中ABA生物合成基因表达上调; 而GA生物合成基因表达下调, GA分解基因表达上调, 种子萌发受到抑制。	Shen等2012
	COI1 (F-box蛋白)	未知	COI1在JA与ABA协同抑制种子萌发方面发挥重要作用。	Ellis和Turner 2002
DDB	DWA1/2 (DWD蛋白)	ABI5	DWA1/2通过26S蛋白酶体途径靶向降解ABI5, 负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Lee等2010
DDB	ABD1	ABI5	ABD1通过促进ABI5降解, 负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Seo等2014
	ASG2 (DWD蛋白)	未知	<i>asg2</i> 突变体种子对ABA高度敏感, 表明ASG2负调控ABA信号, 促进种子萌发。	Dutilleul等2016

最后, 种子休眠与萌发也受到空气、水、温度和光照的调控, 虽然有关于MAX2、HIRP1等泛素连接酶参与种子萌发的研究, 但是它们如何与激素以及其他环境因子协同作用调控种子萌发的研究比较少, 因此这也是将来值得关注的研究方向。

参考文献(References)

- Ali-Rachedi S, Bouinot D, Wagner MH, et al (2004). Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Islands ecotype, the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 219 (3): 479–488
- Ariizumi T, Steber CM (2007). Seed germination of GA-insensitive *sleepy1* mutants does not require RGL2 protein disappearance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19 (3): 791–804
- Baskin JM, Baskin CC (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Sci Res*, 14 (1): 1–16
- Bassel GW, Lan H, Glaab E, et al (2011). Genome-wide network model capturing seed germination reveals coordinated regulation of plant cellular phase transitions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 (23): 9709–9714
- Bernassola F, Karin M, Ciechanover A, et al (2008). The HECT family of E3 ubiquitin ligases: multiple players in cancer development. *Cancer Cell*, 14 (1): 10–21
- Berndsen CE, Wolberger C (2014). New insights into ubiquitin E3 ligase mechanism. *Nat Struct Mol Biol*, 21 (4): 301–307
- Bu Q, Li H, Zhao Q, et al (2009). The *Arabidopsis* RING finger E3 ligase RHA2a is a novel positive regulator of abscisic acid signaling during seed germination and early seedling development. *Plant Physiol*, 150 (1): 463–481
- Bueso E, Rodriguez L, Lorenzo-Orts L, et al (2014). 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*, 80 (6): 1057–1071
- Callis J (2014). The ubiquitination machinery of the ubiquitin system. *Arabidopsis Book*, 12: e0174
- Chen F, Zhou WG, Yin H, et al (2020). Shading of the mother plant during seed development promotes subsequent seed germination in soybean. *J Exp Bot*, 71 (6): 2072–2084
- Chen LY, Bernhardt A, Lee J, et al (2015). Identification of *Arabidopsis* MYB56 as a novel substrate for CRL3 (BPM) E3 ligases. *Mol Plant*, 8 (2): 242–250
- Chen Z, Huang YW, Yang WJ, et al (2019). The hydrogen sulfide signal enhances seed germination tolerance to high temperatures by retaining nuclear COP1 for HY5 degradation. *Plant Sci*, 285: 34–43
- Cho SK, Ryu MY, Seo DH, et al (2011). The *Arabidopsis* RING E3 ubiquitin ligase AtAIRP2 plays combinatory roles with AtAIRP1 in abscisic acid-mediated drought stress responses. *Plant Physiol*, 157 (4): 2240–2257
- Dill A, Thomas SG, Hu J, et al (2004). The *Arabidopsis* F-box protein SLEEPY1 targets gibberellin signaling repressors for gibberellin-induced degradation. *Plant Cell*, 16 (6): 1392–1405
- Dutilleul C, Ribeiro I, Blanc N, et al (2016). ASG2 is a farnesylated DWD protein that acts as ABA negative regulator in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 39 (1): 185–198
- El-Maarouf-Bouteau H, Sajjad Y, Bazin J, et al (2015). Reactive oxygen species, abscisic acid and ethylene interact to regulate sunflower seed germination. *Plant Cell Environ*, 38 (2): 364–374
- Ellis C, Turner JG (2002). A conditionally fertile *coil* allele indicates cross-talk between plant hormone signalling pathways in *Arabidopsis thaliana* seeds and young seedlings. *Planta*, 215 (4): 549–556
- Fu XD, Richards DE, Fleck B, et al (2004). The *Arabidopsis* mutant *sleepy1^{gar2-1}* protein promotes plant growth by increasing the affinity of the SCF^{SLY1} E3 ubiquitin ligase for DELLA protein substrates. *Plant Cell*, 16 (6): 1406–1418
- Genschik P, Durr A, Fleck J (1994). Differential expression of several E2-type ubiquitin carrier protein genes at different developmental stages in *Arabidopsis thaliana* and *Nicotiana sylvestris*. *Mol Gen Genet*, 244 (5): 548–556
- Girod PA, Vierstra RD (1993). A major ubiquitin conjugation system in wheat germ extracts involves a 15-kDa ubiquitin-conjugating enzyme (E2) homologous to the yeast UBC4/UBC5 gene products. *J Biol Chem*, 268 (2): 955–960
- Goldstein G, Scheid M, Hammerling U, et al (1975). Isolation of a polypeptide that has lymphocyte-differentiating properties and is probably represented universally in living cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 72 (1): 11–15
- Guan CM, Wang XC, Feng J, et al (2014). Cytokinin antagonizes abscisic acid-mediated inhibition of cotyledon greening by promoting the degradation of abscisic acid insensitive5 protein in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 164 (3): 1515–1526
- Hatakeyama S, Yada M, Matsumoto M, et al (2001). U-box proteins as a new family of ubiquitin-protein ligases. *J Biol Chem*, 276 (35): 33111–33120
- Hatfield PM, Gosink MM, Carpenter TB, et al (1997). The ubiquitin-activating enzyme (E1) gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 11 (2): 213–226
- Jang IC, Henriques R, Seo HS, et al (2010). *Arabidopsis* PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR proteins promote phytochrome B polyubiquitination by COP1 E3 ligase in the nucleus. *Plant Cell*, 22 (7): 2370–2383

- Jin D, Wu M, Li BS, et al (2018). The COP9 signalosome regulates seed germination by facilitating protein degradation of RGL2 and ABI5. *PLOS Genet*, 14: e1007237
- Kampen JV, Wettren M, Schulz M (2010). The ubiquitin system in plants. *Physiol Plantarum*, 97 (3): 618–624
- Karssen CM, Brinkhorst-vandervan DLC, Breekland AE, et al (1983). Induction of dormancy during seed development by endogenous abscisic acid: studies on abscisic acid deficient genotypes of *Arabidopsis thaliana* (L) Heynh. *Planta*, 157 (2): 158–165
- Kepinski S, Leyser O (2005). The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435: 441–445
- Kim JH, Kim WT (2013). The *Arabidopsis* RING E3 ubiquitin ligase AtAIRP3/LOG2 participates in positive regulation of high-salt and drought stress responses. *Plant Physiol*, 162 (3): 1733–1749
- Kim JH, Lim SD, Jang CS (2019). *Oryza sativa* heat-induced RING finger protein 1 (OsHIRP1) positively regulates plant response to heat stress. *Plant Mol Biol*, 99 (6): 545–559
- Koiwai H, Tagiri A, Katoh S, et al (2007). RING-H2 type ubiquitin ligase EL5 is involved in root development through the maintenance of cell viability in rice. *Plant J*, 51 (1): 92–104
- Koops P, Pels S, Ignatz M, et al (2011). EDL3 is an F-box protein involved in the regulation of abscisic acid signaling in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 62 (15): 5547–5560
- Kraft E, Stone SL, Ma LG, et al (2005). Genome analysis and functional characterization of the E2 and RING-type E3 ligase ubiquitination enzymes of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 139 (4): 1597–1611
- Lee HG, Seo PJ (2016). The *Arabidopsis* MIEL1 E3 ligase negatively regulates ABA signalling by promoting protein turnover of MYB96. *Nat Commun*, 7: 12525
- Lee JH, Yoon HJ, Terzaghi W, et al (2010). DWA1 and DWA2, two *Arabidopsis* DWD protein components of CUL4-based E3 ligases, act together as negative regulators in ABA signal transduction. *Plant Cell*, 22 (6): 1716–1732
- Lee S, Cheng H, King KE, et al (2002). Gibberellin regulates *Arabidopsis* seed germination via *RGL2*, a *GAI/RGA-like* gene whose expression is up-regulated following imbibition. *Genes Dev*, 16 (5): 646–658
- Li HM, Jiang HL, Bu QY, et al (2011). The *Arabidopsis* RING finger E3 ligase RHA2b acts additively with RHA2a in regulating abscisic acid signaling and drought response. *Plant Physiol*, 156 (2): 550–563
- Li Y, Zhang L, Li DK, et al (2016). The *Arabidopsis* F-box E3 ligase RIFP1 plays a negative role in abscisic acid signaling by facilitating ABA receptor RCAR3 degradation. *Plant Cell Environ*, 39 (3): 571–582
- Liu HX, Stone SL (2010). Abscisic acid increases *Arabidopsis* ABI5 transcription factor levels by promoting KEG E3 ligase self-ubiquitination and proteasomal degradation. *Plant Cell*, 22 (8): 2630–2641
- Liu XD, Zhang H, Zhao Y, et al (2013). Auxin controls seed dormancy through stimulation of abscisic acid signaling by inducing ARF-mediated ABI3 activation in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110 (38): 15485–15490
- McGinnis KM, Thomas SG, Soule JD, et al (2003). The *Arabidopsis* *SLEEPY1* gene encodes a putative F-box subunit of an SCF E3 ubiquitin ligase. *Plant Cell*, 15 (5): 1120–1130
- Morreale FE, Walden H (2016). SnapShot: types of ubiquitin ligases. *Cell*, 165: 248–248.e1
- Nee G, Xiang Y, Soppe WJ (2017). The release of dormancy, a wake-up call for seeds to germinate. *Curr Opin Plant Biol*, 35: 8–14
- Oh TR, Kim JH, Cho SK, et al (2017). AtAIRP2 E3 ligase affects ABA and high-salinity responses by stimulating its ATP1/SDIRIP1 substrate turnover. *Plant Physiol*, 174 (4): 2515–2531
- Osterlund MT, Hardtke CS, Wei N, et al (2000). Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of *Arabidopsis*. *Nature*, 405 (6785): 462–466
- Park GG, Park JJ, Yoon J, et al (2010). 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
- Qi SL, Lin QF, Zhu HS, et al (2016). The RING finger E3 ligase SpRing is a positive regulator of salt stress signaling in salt-tolerant wild tomato species. *Plant Cell Physiol*, 57 (3): 528–539
- 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 (4): 1983–1997
- Salt JN, Yoshioka K, Moeder W, et al (2011). Altered germination and subcellular localization patterns for PUB44/SAUL1 in response to stress and phytohormone treatments. *PLOS One*, 6 (6): e21321
- Samuel MA, Mudgil Y, Salt JN, et al (2008). Interactions between the S-domain receptor kinases and AtPUB-ARM E3 ubiquitin ligases suggest a conserved signaling pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 147 (4): 2084–2095
- Seo KI, Lee JH, Nezames CD, et al (2014). 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*, 26 (2): 695–711
- Shen H, Zhu L, Bu QY, et al (2012). MAX2 affects multiple

- hormones to promote photomorphogenesis. *Mol Plant*, 5 (3): 750–762
- Shu K, Yang WY (2017). E3 ubiquitin ligases: ubiquitous actors in plant development and abiotic stress responses. *Plant Cell Physiol*, 58 (9): 1461–1476
- Shuai HW, Meng YJ, Luo XF, et al (2016). The roles of auxin in seed dormancy and germination. *Hereditas*, 38 (4): 314–322
- Song S, Qi T, Wasternack C, et al (2014). Jasmonate signaling and crosstalk with gibberellin and ethylene. *Curr Opin Plant Biol*, 21: 112–119
- Stone SL, Williams LA, Farmer LM, et al (2006). KEEP ON GOING, a RING E3 ligase essential for *Arabidopsis* growth and development, is involved in abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 18 (12): 3415–3428
- Vega-Sánchez ME, Zeng L, Chen S, et al (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 (6): 1456–1469
- Vierstra RD (2009). The ubiquitin-26S proteasome system at the nexus of plant biology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10 (6): 385–397
- Wang BY, Li CZ, Kong XG, et al (2018). AtARRE, an E3 ubiquitin ligase, negatively regulates ABA signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep*, 37 (9): 1269–1278
- Wang N, Liu Y, Cong Y, et al (2016). Genome-Wide identification of soybean U-Box E3 ubiquitin ligases and roles of *GmPUB8* in negative regulation of drought stress response in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 57 (6): 1189–1209
- Wang R, Estelle M (2014). Diversity and specificity: auxin perception and signaling through the TIR1/AFB pathway. *Curr Opin Plant Biol*, 21: 51–58
- Wei J, Qiu XY, Chen L, et al (2015). The E3 ligase AtCHIP positively regulates Clp proteolytic subunit homeostasis. *J Exp Bot*, 66 (19): 5809–5820
- Wei N, Deng XW (2003). The cop9 signalosome. *Annu Rev Cell Dev Bio*, 19: 261–286
- Woolhouse HW, Bewley JD, Black M (1980). Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. 1: Development, Germination and Growth. *J Ecol*, 68 : 315
- Yang L, Liu QH, Liu ZB, et al (2016). *Arabidopsis* C3HC4-RING finger E3 ubiquitin ligase At AIRP4 positively regulates stress-responsive abscisic acid signaling. *J Integr Plant Biol*, 58 (1): 67–80
- Yu YW, Wang J, Shi H, et al (2016). Salt stress and ethylene antagonistically regulate nucleocytoplasmic partitioning of COP1 to control seed germination. *Plant Physiol*, 170 (4): 2340–2350
- Zhang HW, Cui F, Wu YR, et al (2015). 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*, 27 (1): 214–227
- Zhang M, Zhao JF, Li L, et al (2017). The *Arabidopsis* U-box E3 ubiquitin ligase PUB30 negatively regulates salt tolerance by facilitating BRI1 kinase inhibitor 1 (BK1) degradation. *Plant Cell Environ*, 40 (11): 2831–2843
- Zhang X, Garreton V, Chua NH (2005). The AIP2 E3 ligase acts as a novel negative regulator of ABA signaling by promoting ABI3 degradation. *Genes Dev*, 19 (13): 1532–1543
- Zhang Y, Yang C, Li Y, et al (2007). SDIR1 is a RING finger E3 ligase that positively regulates stress-responsive abscisic acid signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19 (6): 1912–1929
- Zhao H, Zhang H, Cui P, et al (2014). The putative E3 ubiquitin ligase ECERIFERUM9 regulates abscisic acid biosynthesis and response during seed germination and postgermination growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 165 (3): 1255–1268
- Zhao XY, Yu XH, Liu XM, et al (2010). Light regulation of gibberellins metabolism in seedling development. *J Integr Plant Biol*, 49: 21–27
- Zheng Y, Chen ZJ, Ma L, et al (2018). The ubiquitin E3 ligase RHA2b promotes degradation of MYB30 in abscisic acid signaling. *Plant Physiol*, 178 (1): 428–440
- Zhu JK (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 53: 247–273