



拟南芥 F-box 蛋白家族的功能研究进展

魏春茹^{1,2}, 李虎滢^{1,2}, 田苗苗¹, 于秀梅^{1,2,3*}, 刘大群³

(1 河北农业大学 生命科学院, 河北保定 071001; 2 河北省植物生理与分子病理学重点实验室 河北保定 071001; 3 河北省农作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 河北保定 071001)

摘 要: F-box 蛋白是一类含有 F-box 基序、在泛素介导的蛋白质水解过程中具有底物识别特性的蛋白质。该文对国内外近年来有关 F-box 家族在拟南芥中的数量、种类以及在生长发育、细胞信号转导、生物及非生物逆境胁迫等多种生理过程中的作用等方面的研究进展进行综述, 以期促进该家族基因在拟南芥和其他重要农作物中的功能研究, 尽快描绘出该家族在植物中的代谢网络图谱。

关键词: 拟南芥; F-box 蛋白; 结构; 功能

中图分类号: Q753; Q789 **文献标志码:** A

Research Progress for F-box Protein Family Function in *Arabidopsis thaliana*

WEI Chunru^{1,2}, LI Huying^{1,2}, TIAN Miaomiao¹, YU Xiumei^{1,2,3*}, LIU Daqun³

(1 College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071001, China; 2 Key Laboratory of Hebei Province for Plant Physiology and Molecular Pathology, Baoding, Hebei 071001, China; 3 Biological Control Centre of Plant Diseases and Plant Pests of Hebei Province, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: F-box proteins are a protein family containing F-box motif and in charge of recognizing the substrate to be degraded during ubiquitin-proteasome pathway. In order to promote the functional study of F-box family in *Arabidopsis thaliana* and other important crops, and draw a complete metabolic network of the family in plants as soon as possible, the present paper focuses on the research progress of F-box family in *A. thaliana* reported in recent years, including the amount, type of member of F-box family and their roles during growth and development, cell signal transduction, biotic and abiotic stress resistance and other physiological processes.

Key words: *Arabidopsis thaliana*; F-box proteins; structure; function

在真核生物中, 泛素(ubiquitin, ub)介导的蛋白降解途径是许多生理过程调控的关键环节, 这一降解途径称为蛋白的泛素化。研究表明, 拟南芥中有 1 400 多个基因编码泛素化过程中的各种元件,

包含 16 个 ub 基因、2 个泛素活化酶(E1)基因、45 个泛素结合酶(E2)基因、23 个 20 S 和 31 个 19 S 蛋白酶基因, 1 200 多个泛素连接酶(E3)基因^[1]。拟南芥中存在如此多的 E3 基因, 表明其在泛素降解

收稿日期: 2017-07-12; 修改稿收到日期: 2017-11-01

基金项目: 国家自然科学基金(31301649)

作者简介: 魏春茹(1992—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物抗病机理研究。E-mail: 992669202@qq.com

* 通信作者: 于秀梅, 副教授, 博士生导师, 主要从事植物抗病机理研究。E-mail: yuxiumeizy@126.com

途径中具有十分重要的作用。研究表明,E3 在泛素介导的蛋白降解过程中起到关键的底物识别功能。SCF 复合体是组成 E3 酶的一大类,Skp1、Cullin (Cdc53)、Rbx1/Roc1/Hrt1 和 F-box 蛋白共同组成 SCF 复合体的基本骨架,通过更换结合底物的 F-box 蛋白,实现对不同底物的特异性降解^[2]。

F-box 蛋白家族的一个共同特点是含有约 50 个氨基酸组成的 F-box 基序(motif),由于该基序首先在 Cyclin F 中发现,故将其命名为 F-box^[3]。F-box 蛋白在真核生物中广泛存在。迄今为止,已从果蝇、线虫、酵母以及哺乳动物中发现了大量的 F-box 蛋白。在已完成测序的果蝇基因组中鉴定了 F-box 蛋白 33 个^[4],秀丽隐杆线虫中 520 个^[5],裂殖酵母中 18 个^[6],人中 38 个^[7],水稻中 687 个^[8],谷子中 525 个^[9],鹰嘴豆中 285 个^[10],拟南芥中发现 1 400 多个^[11]。由这些数据可知,植物中 F-box 蛋白的数量较多,而作为模式植物的拟南芥中存在的数量最多,因此也使其成为拟南芥中最大的一个蛋白质家族。

F-box 结构域一般位于蛋白的 N 端,大约由 40~50 个氨基酸组成,是与 SCF 复合体中 Skp1 或 Skp1 类似蛋白的结合区域^[7]。除了 N 端的 F-box 区外,F-box 蛋白的 C 端往往还存在一些与蛋白相互作用密切相关的二级结构,它们可能介导了特异性底物的识别。目前,根据其 C 端二级结构的不同,可将 F-box 蛋白进行分类,如亮氨酸拉链(LRR)、Kelch 结构域、WD40 (Trp-Asp)、Arm、锌指结构、FBD 结构域或 CRFA 结构域、CRFB 结构域、CRFC 结构域等。这些结构域有些只在拟南芥中表达,如新鉴定的 CRFA、CRFB、CRFC 等结构域^[12]。这种表达的特异性也反映了 F-box 蛋白在拟南芥进化过程中的重要作用。F-box 蛋白作为 SCF 复合体中泛素连接酶 E3 的关键组份,在植物生长发育、激素信号转导、应对逆境胁迫中均发挥重要的调节作用^[13]。作为重要的模式植物,拟南芥中该家族的功能研究进展最快。为促进其他植物中 F-box 家族基因的功能研究,并进一步深化其在拟南芥中的功能认识,现对拟南芥中该家族基因参与的功能研究总结如下。

1 F-box 蛋白与生长发育

1.1 F-box 蛋白与花及根器官发育

拟南芥中的 UFO (unusual floral organs)是植物中鉴定出的第一个 F-box 基因^[14-15],是 B 类基因

的正调控因子^[16],其突变可导致一系列的花发育异常。遗传学研究表明,SCF^{UFO}参与了植物对花器官发育的调控^[17-18]。研究表明,F-box 基因 FOA1 和 At5g22700 在拟南芥各个组织中均有表达,在花和根中表达量尤其高,说明这 2 个基因可能主要在花和根的发育过程中起作用^[19-20]。Zhao 等^[21]通过分析双突变植株 *ufo-2/ask1-1* 的表型,研究了 ASK1 和 UFO 之间的相互作用关系。在营养生长期,双突变体的表型与单突变体相似,但花器官缺陷比单突变体更为严重,双突变体花的萼片比单突变体 *ufo-2* 多,但花瓣比单突变体 *ufo-2* 少。作者认为 ASK1 与 UFO 相互作用来控制花器官发育。拟南芥中 ZIX 蛋白(编码 Armadillo 蛋白)与 F-box 蛋白 SAP 相互作用参与了花器官发育过程^[22]。由此可见,F-box 蛋白确实参与了拟南芥器官发育过程,但是具体通过何种途径参与,尚不明确。

1.2 F-box 蛋白与种子休眠和萌发

Peng 等^[23]研究了拟南芥中 F-box 家族的 FOA1(F-box overexpressed/oppressed ABA signaling)基因,证明其通过 ABA 信号途径对种子萌发过程起负调控作用。研究显示,拟南芥 F-box 基因 At3g16740 在 mRNA 水平上的表达受蓝光、红光和远红光诱导。远红光照射下,在 CaMV 35S 启动子上过表达 At3g16740,拟南芥种子发芽率降低。当用不同浓度的脱落酸(ABA)处理时,转基因株系对 ABA 的敏感性增加,发芽率低于野生型。转基因株系的发芽率也被赤霉素(GA)生物合成抑制剂多效唑强烈抑制。因此,At3g16740 可能通过控制 GA 和 ABA 生物合成的关键基因来影响种子萌发^[24]。段桂芳等^[25-26]对与 FOA1 同源的 F-box 基因 FOA2 进行了研究,GA 和 ABA 合成及信号途径关键基因在 FOA2 过量表达株系中,促进萌发的 GA3ox2 基因的表达量降低,抑制萌发的 GA2ox2、ATNCD9 和 RGL2 基因的表达量均升高,FOA2 缺失突变体株系中,上述基因的表达情况恰好相反,说明 FOA2 通过 GA 和 ABA 激素途径来正向调控种子休眠、负向调控种子萌发。酵母双杂交结果显示,FOA2 与 ASK 家族中的 ASK1、ASK2 和 ASK11 相互作用。因此,推测 FOA2 可能通过形成 SCF 复合体调节种子的休眠和萌发。就目前的研究结果来看,F-box 参与了种子休眠和萌发的调控,但需特定激素途径参与。

1.3 F-box 蛋白与叶片衰老

衰老是由一系列的生理生化事件组成的植物最

后一个发育过程。早在 1997 年,Oh 等^[27]就筛选出 3 个与拟南芥叶片衰老相关的突变体 *ore1*、*ore3* 和 *ore9*。这些突变体在黑暗及叶龄相关的衰老条件下,均表现为不同程度的叶片衰老延缓症状。此后,对 *ORE9* 的深入研究表明,*ORE9* 编码的 F-box 蛋白含有一个 F-box 基序和一个亮氨酸重复区。其 F-box 基序可与 *ASK1* 相互作用。拟南芥 *ore9* 在自然衰老过程中,可延迟多种衰老症状,从而使叶片寿命大大延长,说明 *ORE9* 通过泛素化途径,降解延迟叶片衰老的蛋白,以控制叶片的寿命^[28]。从目前报道看,F-box 蛋白能够影响拟南芥叶片衰老进程,但相关研究报道不多,具体影响叶片寿命的途径尚不明确。

1.4 F-box 蛋白与光形态建成

拟南芥中 F-box 基因家族成员 *At3g16740* 受蓝光、红光和远红光诱导,其中远红光的诱导作用最明显。蓝光受体 *cry1* 和 *cry2*,红光受体 *phyB* 或远红光受体 *phyA* 发生突变,均可导致 *At3g16740* 基因表达的光诱导作用减弱或者消失,说明该基因为光信号通路相关基因^[29]。*EID1* (*Empfindlicher Im Dunkelroten Licht*) 和 *AFR* (*Attenuated Far-Red Response*) 是 2 个 F-box 蛋白,研究表明它们均参与了 *phyA* 介导的光信号转导^[30-32]。在拟南芥中,*ZTL* (*ZEITLUPE*) 编码的 F-box 蛋白^[33] 包含一个 Kelch 结构域,该结构域具有光受体的特征。因此,*ZTL* 可能是光的感应器,参与了光信号转导过程。目前,关于 F-box 蛋白参与光形态建成的报道主要来自对基因文库或表达谱的研究,具体的参与途径及作用机制尚不明确,有待深入研究。

1.5 F-box 蛋白与拟南芥生物钟节律

拟南芥中,*TOC1* (*Timing of CAB Expression1*) 是生物钟节律调节因子 *SCF^{ZTL}* 的靶蛋白^[34]。*ZTL* 为 F-box 蛋白,*TOC1* 不足以解释 *ZTL* 的全部表型,说明 *SCF^{ZTL}* 还有其他的作用底物。深入研究发现,*LKP2* 和 *FKF* 是与 *ZTL* 亲源关系最近的 2 个蛋白^[35]。过量表达 *LKP2* (*LOV Kelch protein 2*) 导致生物钟节律紊乱,说明该蛋白可能参与生物钟调节^[34]。*ZEITLUP* 为拟南芥中鉴定出的 F-box 蛋白,C 末端含有 6 个 Kelch 结构域,研究表明其在拟南芥开花期,可能参与生物钟节律调节^[36]。由此可见,改变某些 F-box 蛋白或其亲缘关系较近蛋白的表达量会影响拟南芥的生物钟,所以 F-box 蛋白可能与生物钟节律有关,但目前并没有明确报道其是否参与生物钟调节过程。

2 F-box 蛋白在拟南芥细胞信号转导中的作用

2.1 F-box 蛋白与生长素(IAA)的信号转导

TIR1 (*Transport Inhibitor Response Protein 1*) 是一个含有 F-box 结构域的蛋白质,是 IAA 的受体^[37]。在拟南芥中,除了 *TIR1* 外,还发现另外 3 个与 *TIR1* 高度同源的 F-box 蛋白 *AFB1*、*AFB2* 和 *AFB3*,均为生长素受体,Michael 等^[38-39] 进一步鉴定出 *AFB4* 和 *AFB5* 均为生长素毒莠定的作用受体,这 5 个蛋白共同作用,调控生长素反应。研究表明,F-box 蛋白 *TIR1* 和 *AFB2* 均通过降解 *Aux/IAA* 转录产物而在生长素信号途径中起正调控作用。王利群等^[20] 研究了 FBD 结构域类 F-box 蛋白 *At5g22700* 在 IAA 信号通路中的功能。随 IAA 浓度的升高,主根的生长受抑制,与野生型相比,过表达植株对 IAA 更敏感,且光强越弱,抑制作用越明显。用人工合成的 IAA 抑制物 *NPA* 处理后,过表达植株比野生型表现更加敏感,受抑制程度明显大于野生型。检测植株内生长素输出载体蛋白 *PIN1* 和 *PIN2* 的表达,过表达植株体内的表达量明显降低,缺失突变体则比野生型的表达量高。同时分析生长素合成相关的 *YUC* 家族基因,发现 *YUC* 家族基因表达量在过表达植株中降低,在缺失突变体中没有明显变化,表明 *At5g22700* 可能是生长素信号途径中的正调控因子,增强了生长素信号反应,负反馈抑制生长素的极性运输和合成^[20]。2017 年,Wright 等^[40] 通过合成测定法鉴定了拟南芥中生长素的天然受体 F-box 家族,并分析了与生长素表达的相关性,进一步完善了拟南芥中与生长素有关的 F-box 家族结构/功能图,该方法为研究 F-box 家族的功能提供了新的思路。

2.2 F-box 蛋白与脱落酸(ABA)的信号转导

拟南芥中的 *MAX2* (*More Axillary Growth 2*) 蛋白是一个 F-box 蛋白,在种子萌发和幼苗发育早期对 ABA 以及渗透胁迫起负调控作用^[41]。拟南芥 *DOR* 蛋白是保卫细胞中专化性表达的 F-box 蛋白,该蛋白通过负反馈作用调节干旱条件下 ABA 诱导的气孔关闭^[42]。彭娟等分析了拟南芥 F-box 基因 *FOA1* 受 ABA 和 *NaCl* 的调节,发现外源 ABA 和 *NaCl* 处理能够迅速诱导 *FOA1* 基因的表达。ABA 处理条件下,突变体 *foa1* 的种子萌发率下降、根较短、气孔开度较大、脯氨酸积累增加,且对外源 ABA 敏感;过表达株系的表型则相反,对 ABA 的敏感性

降低。ABA 处理条件下,一系列 ABA 信号转录因子在 *foa1* 突变体中的转录水平比野生型高,而 ABA 及胁迫应答基因在 *foa1* 突变体中的转录水平则比野生型低。这些研究结果表明,FOA1 是 ABA 信号通路相关基因,并可能起负调控作用^[25]。拟南芥中的一个新基因 *AtARKP1* 编码一个 SCF 复合体中的 F-box 亚基,位于核内且被 ABA 诱导,与野生型和 T-DNA 插入突变体相比,超表达植株对 ABA 表现更加敏感,说明其在 ABA 信号途径中起正调控作用^[43]。拟南芥中的 F-box 基因 *AtPP2-B11* 受 ABA 诱导,低表达 *AtPP2-B11* 显著提高了植株在种子萌发及后期发育过程中对 ABA 的敏感性,而过表达 *AtPP2-B11* 则不影响植株对 ABA 的敏感性,但可抑制 SnRK2.3 (SnRK2 激酶是 ABA 信号传导的调节因子)过表达株系对 ABA 的过敏表型,研究结果表明 *AtPP2-B11* 可能通过特异性降解 SnRK2.3 以降低拟南芥对 ABA 信号和非生物胁迫的反应^[44]。以上研究结果表明,F-box 蛋白确实参与了 ABA 信号转导,只是不同的基因对该途径的影响不同,对 ABA 的敏感性也存在差异,可能与其在该途径发挥的作用有关。

2.3 F-box 蛋白与赤霉素(GA)的信号转导

赤霉素(GA)作为双萜类植物激素,在种子的萌发、营养生长、开花以及各种生物和非生物胁迫响应中具有重要调控作用。目前就 GAs 合成途径的研究比较详细,它需要一系列酶的参与,其中关键酶 GA20-氧化酶(GA20ox)和 GA3-氧化酶(GA3ox)的丰度在很大程度上决定着活性 GAs 的水平,然而另一种关键酶 GA2-氧化酶(GA2ox)能使活性 GAs 失活。在 GA 信号转导途径中,DELLA 核蛋白转录因子是负调控因子^[45-46]。在拟南芥中,*gai* (gibberellic acid-insensitive) 是 GA 不敏感显性突变体,GA 可以促进 DELLA 组份中 RGA 和 GAI 的降解,从而出现一系列 GA 反应^[47-48]。SLEEPY1 (SLY1)是拟南芥 GA 信号转导途径中的正调节因子。*SLY1* 编码的 F-box 蛋白在 GA 信号转导途径中起正调控作用^[49]。*SLY1* 与 RGA 和 GAI 都有直接相互作用。近期研究表明,SCF^{SLY1} 介导了 RGA 和 GAI 这些负调控因子的降解,从而解除了 DELLA 对 GA 信号转导途径的抑制^[50-51]。李丽等^[52]采用生物信息学方法,通过分析拟南芥基因芯片数据库提供的数据库筛选到 38 个受 GA 调节的候选 F-box 基因,通过分析 BioGrid 数据库提供的相互作用对象,发现其中 18 个候选 F-box 蛋白与

GA2ox1、GA3ox1 和 GA3ox3 具有相互作用关系。

2.4 F-box 蛋白与茉莉酸(JA)的信号转导

在拟南芥中,COI1(Coronatine insensitive 1)是植物响应 JA 信号所必须的,而 JA 信号能够调节植物根系生长、花粉育性、伤害和防御反应。COI1 与 ASK1/ASK2 以及 AtCUL1、AtRbx1 形成 SCF 复合体^[53],说明 COI1 介导的 JA 反应依赖于 SCF (Co11)复合体。有研究显示,JA 信号的响应取决于 COI1 的丰度。此外,COI1 还与组蛋白去乙酰化酶相互作用,在离体实验中,COI1 形成 SCF^{COI1} 复合体。因此,组蛋白乙酰化酶可能是 SCF^{COI1} 复合体的作用底物,COI1 通过形成 SCF^{COI1} 复合体对组蛋白去乙酰化酶进行泛素化降解,最终调节 JA 应答基因的表达^[54]。可见,F-box 蛋白调节 JA 信号途径时需形成 SCF^{COI1} 复合体,但是 JA 是如何促进 SCF^{COI1} 与底物结合,目前尚未可知,需深入探讨。

2.5 F-box 蛋白与乙烯的信号转导

乙烯的信号转导途径在拟南芥中已研究得比较清楚。Potuschak 等^[55]从拟南芥中克隆到 2 个 F-box 基因 *EBF1* 和 *EBF2*,它们为 EIN3/EIL 结合蛋白,*EBF1* 过量表达引起植物对乙烯不敏感,*ebf1* 和 *ebf2* 突变株则表现出组成型乙烯反应,并且积累较多的 EIN3 蛋白。没有乙烯存在时,EIN3 被泛素降解途径迅速降解。*EBF1/EBF2* 两者之一发生突变均导致植株对乙烯反应增强,而双突变体则表现出组成型乙烯反应。这些结果表明,泛素降解途径通过降解 EIN3 来调节对乙烯的反应,是乙烯途径的负调控因子^[56]。

3 F-box 蛋白在拟南芥响应逆境胁迫中的作用

3.1 F-box 蛋白与干旱胁迫

DOR(drought resistance)是拟南芥 *SLF* 超家族的成员,编码 F-box 蛋白,该基因的 T-DNA 插入突变可以导致拟南芥耐旱性增强。功能互补实验进一步验证了该突变体表型是由于 *DOR* 基因的 T-DNA 插入造成的,表明该基因编码一个耐旱的负调控因子^[57]。随后,Zhang 等^[58]证实,在拟南芥中,*DOR* 与 ASK14 和 CUL1 存在特异性的相互作用,*DOR* 突变促进气孔关闭,进而增强植物对干旱的耐受性,*DOR* 过表达植物对干旱胁迫更敏感,进一步证实 *DOR* 负向调节植物的耐旱性。李彦泽^[11]利用生物信息学的方法,在拟南芥 1 488 个泛素连接酶 E3 中分离到了 31 个含有 DRE 元件的 E3,通过

RT-PCR 的方法确定了它们在干旱处理下的表达量变化情况,并从中挑出了一个受干旱诱导较明显的 F-box 基因 *AtPP2-B11*,深入研究发现,*AtPP2-B11* 蛋白可以与下游干旱响应因子 *LEA14* 蛋白发生相互作用,暗示了 *AtPP2-B11* 很可能作为一个负调因子,通过调节 *LEA14* 基因的活性来影响植株的抗旱性。综合以上结果,这些 F-box 蛋白均负向调节拟南芥对干旱的响应,但是具体通过何种途径调控拟南芥对干旱的反应尚无定论。

3.2 F-box 蛋白与盐胁迫

拟南芥中包含 F-box 结构域的 *AtPP2-B11* 基因在盐胁迫中起到重要作用。qRT-PCR 和 Western blot 的实验均证明 *At PP2-B11* 的表达量受盐胁迫诱导。酵母双杂交和双分子荧光互补的实验表明,*At PP2-B11* 能够与 *At LEA14* 发生直接的蛋白互作。盐胁迫下 *At PP2-B11* 对 *At LEA14* 没有降解作用,即 *At LEA14* 并不是 *At PP2-B11* 在盐胁迫下的底物。然而,*At LEA14* 能够提高盐胁迫下 *At PP2-B11* 蛋白的稳定性,使 *At PP2-B11* 在盐胁迫下的功能得以更好发挥。*At LEA14* 在转录和翻译水平均受盐胁迫诱导,在拟南芥和酵母中超表达 *At LEA14*,能够明显提高转基因拟南芥和酵母的盐胁迫抗性^[59]。拟南芥 *AtTR1* (*At3g47550*)与油菜中 E3 泛素连接酶 *BnTR1* 为同源基因,通过体外泛素化实验,证明 *AtTR1* 具有 E3 连接酶活性,基因表达分析显示,该基因受 200 mmol/L NaCl 显著诱导,说明该基因可能在响应盐胁迫中发挥一定的功能^[60]。

3.3 F-box 蛋白与温度逆境和重金属胁迫

据报道,F-box 蛋白参与了拟南芥温度逆境及重金属胁迫。在幼苗生长过程中,随温度升高,生长素受体 TIR1 迅速积累,此过程需依赖分子伴侣 HSP90 的参与,如果 HSP90 被抑制,可导致 TIR1 降解^[61]。*AtFBP7* 为拟南芥中鉴定出来的 F-box 蛋白,由 *At1g21760* 基因编码,寒冷及高温胁迫下,该蛋白的表达量变化明显,由此推断 *AtFBP7* 可能参与对温度逆境的调节^[62]。Remans 等^[63]研究表明,拟南芥中 F-box 蛋白 *AT5G15710* 受重金属 Cd^{2+} 或 Cu^{2+} 处理后,根和幼苗中的表达量明显增高,表明该基因参与了拟南芥对重金属的胁迫反应。

3.4 F-box 蛋白与抗病性

拟南芥中的 F-box 蛋白 *MAX2* 参与了病原细菌的防御过程,如 *MAX2* 突变体对胡萝卜软腐果胶

杆菌 (*Pectobacterium carotovorum*) 和丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*) 等细菌的感病性增强,而对真菌—灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*) 的感病性不受影响。深入研究发现,*MAX2* 突变体中气孔导度呈现组成型增加,有利于病原菌的侵染,并且随着病原菌的侵染,突变体的非原生质体对活性氧耐受力降低,还伴随激素平衡的改变^[64]。拟南芥 *F-box-Nictaba* 的表达受水杨酸、*P. syringa* 和热胁迫的诱导,参与了水杨酸途径介导的植物抗病反应^[65]。F-box 蛋白 *CPR30* 作为负调控因子参与了拟南芥对 *P. syringae* 的防御反应,进一步研究发现,该基因广泛参与依赖及不依赖于水杨酸的抗性途径^[66-67]。可见,有些 F-box 蛋白能提高拟南芥的抗病性,如 *MAX2*;而有些则负向调节拟南芥的抗病性,如 *CPR30*。抗病性的改变经常伴随激素平衡的改变,故推测 F-box 蛋白通过调节拟南芥的某些激素水平参与其对病原菌的防御过程。

4 展 望

近年来,泛素介导的蛋白质降解途径备受研究者的关注。F-box 蛋白作为泛素降解途径的关键组分在其中发挥着重要的底物识别功能^[68]。在模式植物拟南芥中,F-box 蛋白家族成员众多,功能多样,广泛参与了生长发育、激素信号转导、生物及非生物逆境胁迫等生理过程。目前报道的 F-box 蛋白数目虽然多,但与其互作的下游靶蛋白鉴定较少,具体代谢网络也不明确,仍需深入研究。目前报道的拟南芥 F-box 蛋白大多作为 SCF 复合体中的重要成分参与泛素介导的蛋白降解途径,另有报道表明该家族蛋白可通过非 SCF 复合体的方式行使不同的生理功能^[69]。人们对非 SCF 复合体方式的 F-box 蛋白在植物中行使的功能及参与的代谢网络认识还远远不够,有待深入研究。为更全面地揭示该家族蛋白的生物学功能,美国专门启动了拟南芥全基因组 F-box 蛋白研究计划^[70],相信在不久的将来,我们会对该家族有一个更加全面和深入的认识。

该文对拟南芥中 F-box 家族的研究状况进行了综述,并将相关蛋白名称及功能进行了总结(表 1),期望为其他重要农作物中该家族的功能研究提供思路,加速其在该作物上的研究步伐,与拟南芥上的研究互相促进,相辅相成,早日绘制出 F-box 在植物中的代谢网络图谱。

表 1 拟南芥中 F-box 蛋白及其相关功能

Table 1 F-box proteins and their related function in *A. thaliana*

F-box 蛋白 F-box protein	C 端结构域 C-terminal domain	功能 Function	文献 Reference
UFO(unusual floral organs)	未知 unknown	调节花器官发育 Regulation of flower organ development	[17-18]
FOA1 (F-box overexpressed/ op-pressed ABA signaling)	未知 unknown	控制花和根的发展、种子萌发、负调控 ABA 信号通路 Control the development of flowers and roots, seed germination, negative regulation of ABA signaling pathway	[19,25]
At5g22700	FBD	调节花和根的正常生长、负反馈抑制生长素的极性运输和合成 Adjust the normal growth of flowers and roots, and negative feedback to inhibit the polar transport and synthesis of auxins	[20]
SAP(Steile Apetala)	未知 unknown	参与花器官发育 Participate in floral organ development	[22]
At3g16740	未知 unknown	影响种子萌发过程、与光信号通路相关 Affect the seed germination, and Associated with optical signal pathways	[24,29]
FOA2 (F-box overexpressed/ op-pressed ABA signaling 2)	FBD	正向调控种子休眠、负向调控种子萌发 Positive regulation of seed dormancy, negative regulation of seed germination	[25-26]
ORE9	LRR	延迟叶片衰老 Delayed leaf senescence	[28]
EID1 (Empfindlicher Im Dunkelroten Licht)	LZ	参与了 phyA 介导的光信号转导 Participated in phyA-mediated optical signal transduction	[30-31]
AFR (Attenuated Far-Red Response)	LZ	参与了 phyA 介导的光信号转导 Participated in phyA-mediated optical signal transduction	[31]
ZTL(ZEITLUPE)	Kelch	参与光信号转导过程 Participated in optical signal transduction	[33]
TOC1 (Timing of CAB Expression1)	未知 unknown	参与生物钟调节 Participate in biological clock regulation	[33]
ZEITLUP	Kelch	在开花期参与生物钟调节过程 Participate in biological clock regulation during the flowering period	[36]
TIR1 (Transport inhibitor response protein 1)	LRR	调节 IAA 反应信号通路 Regulate the IAA reaction signal pathway	[37]
AFB1、AFB2、AFB3、AFB4、AFB5	未知 unknown	5 个蛋白共同作用,调控生长素反应 5 proteins act together to regulate auxin response	[39]
MAX2(More Axillary Growth 2)	LRR	对 ABA 以及渗透胁迫起负调控作用,提高拟南芥的抗病性 Negative regulation of ABA and osmotic stress response, thereby enhancing the resistance of Arabidopsis	[41,64]
AtARKP1 (ABA-RESPONSE KELCH PROTEIN 1)	未知 unknown	正调控 ABA 信号通路 Positive regulation of ABA signal pathway	[43]
SLY1(SLEEPY1)	未知 unknown	在 GA 信号转导途径中起正调控作用 Positive regulation of GA signal pathway	[49-51]
COI1(Coronatine insensitive 1)	LRR	调节 JA 应答基因的表达 Regulate the expression of the JA response genes	[53-54]
EBF1、EBF2	LRR	乙烯途径的负调控因子 Negative control factor of ethylene pathway	[56]
DOR(drought resistance)	未知 unknown	负调节拟南芥的耐旱性 Negative regulation of drought tolerance in Arabidopsis	[57-58]
AtPP2-B11	未知 unknown	对耐旱性起负调控作用、提高盐胁迫抗性、参与 ABA 信号转导过程 Negative control drought tolerance, improve salt stress resistance, participate in ABA signal pathway	[11,44,59]
AtTR1(At3g47550)	锌指拉链 Zinc finger zipper	响应盐胁迫反应 Responses to salt stress	[60]
AtFBP7(At1g21760)	未知 unknown	参与调节温度过程 Participate in regulating the temperature process	[62]
AT5G15710	未知 unknown	参与了拟南芥对重金属的胁迫反应 Involved in stress response to heavy metals of Arabidopsis	[63]
At2g02360	Nictaba-like	参与水杨酸途径介导的植物抗病反应 Participate in plant disease resistance mediated by salicylic acid pathway	[65]
CPR30	未知 unknown	负向调节拟南芥的抗病性 Negative regulation of Arabidopsis resistance	[66]

注:LRR 示亮氨酸重复结构;Kelch 示 Kelch 重复结构域;LZ 示亮氨酸拉链结构域;FBD 示 FBD 结构域

Note: LRR represents leucine repeat domain; Kelch represents Kelch repeat domain; LZ represents Leucine zipper domain; FBD represents FBD domain.

参考文献:

- [1] VIERSTRA R D. The ubiquitin/26S proteasome pathway, the complex last chapter in the life of many plant proteins[J]. *Trends Plant Sci.*, 2003, **8**(3):135-142.
- [2] 刘相元, 胡弘历, 欧阳华芳, 等. CRL E3 泛素连接酶复合体研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2014, **36**(2):157-168.
LIU X Y, HU H L, OUYANG H F, *et al.* CRL E3 complexes: assembled for destruction[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2014, **36**(2):157-168.
- [3] ISSEEUWEP R, DASKALCHUK T E, BANKS T W. Protein interaction analysis of SCF ubiquitin E3 ligase subunits from Arabidopsis[J]. *Plant Journal*, 2003, 34:753-767.
- [4] OU CY, PI H, CHIEN C T. Control of protein degradation by E3 ubiquitin ligase in Drosophila eye development [J]. *Trends Genet.*, 2003, **19**(7):382-389.
- [5] THOMAS J H. Adaptive evolution in two large families of ubiquitin-ligase adapters in nematodes and plants[J]. *Genome Res.*, 2006, 16:1 017-1 030.
- [6] HERMAND D. F-box proteins: more than baits for the SCF [J]. *Cell Div.*, 2006, 1:30-35.
- [7] KIPREOS E T, PAGANO M. The F-box protein family[J]. *Genome Biol.*, 2000, **1**(5):3002. 1.
- [8] MUKESH J, AASHIMA N, RITA A, *et al.* F-box proteins in rice. genome-wide analysis, classification, temporal and spatial gene expression during panicle and seed development, and regulation by light and abiotic stress[J]. *Plant Physiol.*, 2007, 143:1 467-1 483.
- [9] 霍冬英, 郑炜君, 李盼松, 等. 谷子 F-box 家族基因的鉴定、分类及干旱响应[J]. 作物学报, 2014, **40**(9):1 585-1 594.
HUO D Y, ZHENG W J, LI P S, *et al.* Identification, classification, and drought response of F-box gene family in foxtail Millet[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2014, **40**(9):1 585-1 594.
- [10] SHEFALI G, VANIKA G, CHANDRA K, *et al.* Genome-wide survey and expression analysis of F-box genes in chickpea[J]. *BMC Genomics*, 2015, **16**(1):67-81.
- [11] 李彦泽. 拟南芥 F-box 基因 *AtPP2-B11* 的功能分析及苹果 RING 指型泛素连接酶 E3 的家族分析[D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2011.
- [12] KURODA H, TAKAHASHI N, SHIMADA H, *et al.* Classification and expression analysis of Arabidopsis F-box-containing protein genes[J]. *Plant Cell Physiol.*, 2002, **43**(10):1 073-1 085.
- [13] 秘彩莉, 刘旭, 张学勇. F-box 蛋白在植物生长发育中的功能[J]. 遗传, 2006, **28**(10):1 337-1 342.
MI C L, LIU X, ZHANG X Y. The function of F-box protein in plant growth and development[J]. *Hereditas.* 2006, **28**(10):1 337-1 342.
- [14] LEVIN J Z, MEYEROWITZ E M. UFO: An Arabidopsis gene involved in both floral meristem and floral organ development[J]. *Plant Cell*, 1995, **7**(5):529-548.
- [15] INGRAM G C, DOYLE S, CARPENTER R, *et al.* Dual role for fimbriata in regulating floral homeotic genes and cell division in Antirrhinum[J]. *EMBO J*, 1997, **16**(21):6 521-6 534.
- [16] LEE I, WOLFE D S, NILSSON O, *et al.* A LEAFY co-regulator encoded by UNUSUAL FLORAL ORGANS[J]. *Curr Biol*, 1997, **7**(2): 95-104.
- [17] WEIMIN N, DAOXIN X, LAWRENCE H, *et al.* Regulation of flower development in Arabidopsis by SCF complexes [J]. *Plant Physiol.*, 2004, **134**(4):1 574-1 585.
- [18] HEPWORTH S R, KLENZ JE, HAUGHN G W. UFO in the Arabidopsis in florescence apex is required for floral-meristem identity and bract suppression[J]. *Planta*, 2006, 223: 769-778.
- [19] PENG J, YU D S, WANG L Q, *et al.* Arabidopsis F-box gene *FOA1* involved in ABA signaling[J]. *Sci China Life Sci*, 2012, 55:497-506.
- [20] 王利群, 唐冬英, 李新梅, 等. 拟南芥 F-box 基因 *At5g22700* 功能的初步研究[J]. 激光生物学报, 2014, 23:140-146.
WANG L Q, TANG D Y, LI X M, *et al.* A functional analysis of F-box gene *At5g22700* in Arabidopsis[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2014, 23:140-146.
- [21] ZHAO D Z, YANG M, JAMES S, *et al.* The ASK1 gene regulates development and interacts with the *UFO* gene to control floral organ identity in Arabidopsis[J]. *Developmental Genetics*, 1999, 25:209-223.
- [22] 刘杨杨. 拟南芥 Armadillo 蛋白 ZAK IXIK 与 F-box 蛋白 SAP 相互作用参与花器官发育[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [23] PENG J, YU D, WANG L, *et al.* Arabidopsis F-box gene *FOA1* involved in ABA signaling[J]. *Sci China Life Sci*, 2012, 55:497-506.
- [24] DUAN G F, HE R Q, WANG L Q, *et al.* Arabidopsis F-box gene *At3g16740* involving in light-, GA-and ABA-mediated seed germination[C]. 2013 Epigenetic silencing and anti-silencing mechanisms in plants, 2013:1.
- [25] HE R Q, YU D S, LI X M, *et al.* F-box gene *FOA2* regulates GA- and ABA-mediated seed germination in Arabidopsis [J]. *Sci China Life Sci*, 2016, 11:1 192-1 194.
- [26] 段桂芳. 拟南芥 F-box 家族基因 *FOA2* 的功能初步研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2014.
- [27] OH S A, PARK J H, LEE G I, *et al.* Identification of three genetic loci controlling leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*

- ana[J]. *Plant J.*, 1997, 12:527-535.
- [28] WOO H R, CHUNG K M, PARK J H, *et al.* ORE9, an F-box protein that regulates leaf senescence in Arabidopsis[J]. *Plant Cell*, 2001, **13**(8): 1 779-1 790.
- [29] 段桂芳, 王利群, 李新梅, 等. 拟南芥 F-box 基因 *At3g16740* 的表达分析[J]. 生命科学研究, 2013, 6:486-492.
- DUAN G F, WANG L Q, LI X M, *et al.* Expression Analysis of F-box Gene *At3g16740* in Arabidopsis[J]. *Life Science Research*, 2013, 6:486-492.
- [30] BUCHE C, POPPE C, SCHAFFER E, *et al.* EID1: A new Arabidopsis mutant hypersensitive in phytochrome A-dependent high-irradiance responses[J]. *Plant Cell*, 2000, **12**(4): 547-558.
- [31] DIETERLE M, ZHOU Y C, SCHAFFER E, *et al.* EID1, an F-box protein involved in phytochrome A-specific light signaling[J]. *Genes Dev*, 2001, **15**(8):939-944.
- [32] 尹 恒, 余琴鸯, 安利佳, 等. 一个快速响应干旱的 F-box 基因的克隆和表达分析[J]. 作物学报, 2014, 6:3 496-3 490.
- YIN H, YU Q Y, AN L J, *et al.* Cloning and expression analysis of an F-box gene rapidly responsive to drought stress [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2014, 6:3 496-3 490.
- [33] MAS P, KIM W Y, SOMERS D E, *et al.* Targeted degradation of TOC1 by ZTL modulates circadian function in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nature*, 2003, **426**(4):567-570.
- [34] SCHULTZ T F, KIYOSUE T, YANOVSKY M, *et al.* A role for LKP2 in the circadian clock of Arabidopsis[J]. *Plant Cell*, 2001, **13**(12):2 659-2 670.
- [35] SOMERS D E, KIM W Y, GENG R. The F-box protein ZEITLUPE confers dosage-dependent control on the circadian clock, photomorphogenesis, and flowering time[J]. *Plant Cell*, 2004, **16**(3):769-782.
- [36] SOMMERS D E, SCHULTZ T F, MILNAMOW M, *et al.* ZEITLUP encodes a novel clock associated PAS protein from Arabidopsis[J]. *Cell*, 2000, 101:319-329.
- [37] NIHAL D, SUNETHRA D, MARK E. The F-box protein TIR1 is an auxin Receptor[J]. *Nature*, 2005, 435:441-445.
- [38] MICHAEL J P, KATHLEEN G, ZHANG Y, *et al.* The Arabidopsis auxin receptor F-box proteins AFB4 and AFB5 are required for response to the synthetic auxin picloram[J]. *G3. Genes|Genomes|Genetics*, 2016, **6**(5):1 383-1 390.
- [39] DHARMASIRI N, DHARMASIRI S, WEIJERS D, *et al.* Plant development is regulated by a family of auxin receptor F-box proteins [J]. *Development Cell*, 2005, **9**(1):109-119.
- [40] WRIGHT R C, ZAHLE M L, GERBEN S R, *et al.* Insights into the evolution and function of auxin signaling F-Box proteins in *Arabidopsis thaliana* through synthetic analysis of natural variants[J]. *Genetics*, 2017, 10: 1 534.
- [41] BU Q, LV T, SHEN H. Regulation of drought tolerance by the F-box protein MAX2 in Arabidopsis[J]. *Plant Physiology*, 2014, 164:424-439.
- [42] ZHANG Y, XUE Y. A link between an F-box protein and guard cell ABA signaling [J]. *Plant Signaling Behavior*, 2009, 4:5 470-5 471.
- [43] LI Y, LIU Z B, WANG J M, *et al.* The Arabidopsis Kelch Repeat F-box E3 Ligase ARKP1 plays a positive role for the regulation of Absciscic Acid Signaling [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2016, 34:582-591.
- [44] CHENG C, WANG Z, REN Z, *et al.* SCF^{AtPP2-B11} modulates ABA signaling by facilitating SnRK2.3 degradation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plos Genetics*, 2017, **13**(8):e1006947.
- [45] SILVERSTONE A L, CIAMPAGLIO C N, SUN T. The Arabidopsis RGA gene encodes a transcriptional regulator repressing the gibberellin signal transduction pathway [J]. *Plant Cell*, 1998, **10**(2):155-169.
- [46] DILL A, JUNG H S, SUN T P. The DELLA motif is essential for gibberellin-induced degradation of RGA[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(24):14 162-14 167.
- [47] TYLER L, THOMAS S G, HU J, *et al.* DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in Arabidopsis [J]. *Plant Physiol*, 2004, **135**(2): 1 008-1 019.
- [48] YU H, ITO T, ZHAO Y, *et al.* Floral homeotic genes are targets of gibberellin signaling in flower development [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(20):7 827-7 832.
- [49] STRADER L C, RITCHIE S, SOULE J D, *et al.* Recessive-interfering mutations in the gibberellin signaling gene *SLEEPY1* are rescued by overexpression of its homologue, *SNEEZY*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(34): 12 771-12 776.
- [50] MCGINNIS K M, THOMAS S G, SOULE J D, *et al.* The Arabidopsis *SLEEPY1* gene encodes a putative F-box subunit of an SCF E3 ubiquitin ligase[J]. *Plant Cell*, 2003, **15**(5): 1 120-1 130.
- [51] DILL A, THOMAS S G, HU J, *et al.* The Arabidopsis F-box protein SLEEPY1 targets gibberellin signaling repressors for gibberellin-induced degradation[J]. *Plant Cell*, 2004, **16**(6):1 392-1 405.
- [52] 李 丽, 刘德荣, 李新梅, 等. 受赤霉素调节的拟南芥 F-box 基因筛选分析[J]. 生物信息学, 2015, **13**(3):150 -157.
- LI L, LIU D R, LI X M, *et al.* Screening and studying of gibberellin-regulated F-box genes in Arabidopsis[J]. *Chinese Journal of Bioinformatics*, 2015, **13**(3):150-157.
- [53] XU L, LIU F, LECHNER E, *et al.* The SCF(COI1) ubiquitin-ligase complexes are required for jasmonate response in

Arabidopsis[J]. *Plant Cell*, 2002, **14**(8):1 919-1 935.

[54] DEVOTO A, NIETO-ROSTRO M, XIE D, *et al.* Turner JGCOI1 links jasmonate signalling and fertility to the SCF ubiquitin-ligase complex in Arabidopsis[J]. *Plant J.*, 2002, **32**(4):457-466.

[55] POTUSCHAK T, LECHNER E, PARMENTIER Y, *et al.* EIN3-dependent regulation of plant ethylene hormone signaling by two Arabidopsis F-box proteins;EBF1 and EBF2[J]. *Cell*, 2003, **115**(6):679-689.

[56] GUO H, ECKER J R. Plant responses to ethylene gas are mediated by SCF (EBF1/EBF2)-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor[J]. *Cell*, 2003, **115**(6):667-677.

[57] 张玉娥. 拟南芥保卫细胞特异表达的 F-box 蛋白 DOR 负向调节耐旱性[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.

[58] ZHANG Y, XU W, LI Z, *et al.* F-box protein DOR function as a novel inhibitory factor for Absciscic Acid-induced stomatal closure under drought stress in Arabidopsis[J]. *Plant Physiology*, 2008, **148**(4):2 121-2 133.

[59] 贾凤娟. 拟南芥 F-box 基因 *AtPP2-B11* 调节盐胁迫抗性的分子机理[D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2015.

[60] 刘巧红, 杨 亮, 刘志斌,等. 拟南芥 *AtTR1* 在盐胁迫应答中的功能初探[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2016, **53**(4): 895-901.

LIU Q H, YANG L, LIU Z B, *et al.* First exploration on protein function of Arabidopsis *AtTR1* in response to salt stress[J]. *Journal of Sichuan University*(Natural Science Edition). 2016, **53**(4):895-901.

[61] WANG R H, ZHANG Y, MARTIN K, *et al.* HSP90 regulates temperature-dependent seeding growth in Arabidopsis by stabilizing the auxin co-receptor F-box protein TIR1[J]. *Nature Communications*, 2016, 10:1 026-1 038.

[62] CALDERN-VILLALOBOS L I, NILL C, MARROCCO K, *et al.* The evolutionarily conserved *Arabidopsis thaliana* F-box protein AtFBP7 is required for efficient translation during temperature stress[J]. *Gene*, 2007, 392:106-116.

[63] TONY R, KAREN S, KELLY O, *et al.* Normalisation of real-time RT-PCR gene expression measurements in *Arabidopsis thaliana* exposed to increased metal concentrations [J]. *Planta*, 2008, **227**(6):1 343-1 349.

[64] PIISILA M, KECALI M A, BRADER G, *et al.* The F-box protein MAX2 contributes to resistance to bacterial phytopathogens in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMC Plant Biol*, 2015, **15**(1):53-69.

[65] KAROLINA S, NAUSICAÄ L, YAFEI Z, *et al.* Glycan-binding F-box protein from *Arabidopsis thaliana* protects plants from *Pseudomonas syringae* infection[J]. *BMC Plant Biol.*, 2016, 16: 213.

[66] GUO M Y, SU N, ZHENG J, *et al.* An F-box gene, *CPR30*, function as a negative regulator of the defense response in Arabidopsis[J]. *Plant J.*, 2009, 60:757-770.

[67] KIM H S, DELANEY T P. Arabidopsis SON1 is an F-box protein that regulates a novel induced defense response independent of both salicylic acid and systemic acquired resistance [J]. *Plant Cell*, 2002, 14:1 469-1 482.

[68] LIU T B, XUE C Y. The ubiquitin-proteasome system and F-box proteins in pathogenic fungi[J]. *Mycobiology*. 2011, **39**(4): 243-248.

[69] 王秀燕, 孙莉萍, 张建锋,等. F-box 蛋白家族及其功能[J]. 生命科学, 2008, **20**(5):807-811.

WANG X Y, SUN L P, ZHANG J F, *et al.* F-box proteins and their functions[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*. 2008, **20**(5):807-811.

[70] 王洪云, 黄 剑, 赖 钊,等. 植物 F-box 蛋白质及其研究进展[J]. 科学通报, 2002, 47:891-895.

WANG H Y, HUANG J, LAI Z, *et al.* F-box protein of plant and its research progress[J]. *Chinese Science Bulletin*. 2002, 47:891-895.

(编辑:宋亚珍)