

研究报告

Research Report

普通油茶泛素结合酶(E2S)的蛋白质结构分析

林萍¹, 姚小华¹, 王开良¹, 曹永庆¹, 滕建华²

1. 中国林科院亚热带林业研究所, 富阳, 311400
2. 浙江省金华市婺城区东方红林场, 金华, 321025

✉ 通讯作者: linping80@126.com ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 51 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0051

收稿日期: 2012 年 09 月 05 日

接受日期: 2012 年 10 月 19 日

发表日期: 2012 年 11 月 17 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

林萍等, 2012, 普通油茶泛素结合酶(E2S)的蛋白质结构分析, 分子植物育种(online) Vol.10 No.51 pp.1376-1382 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0051)

引用格式(英文):

Lin et al., 2012, Characterization of Ubiquitin-Conjugating Enzyme E2S from *Camellia Oleifera*, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.51 pp.1376-1382 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0051)

摘要 泛素结合酶(E2)是泛素/26S 蛋白酶体途径中三个关键酶之一, 在靶蛋白识别、与泛素连接酶(E3)互作等蛋白的泛素依赖性水解和 N-末端规则依赖性水解途径的关键环节中起重要作用。本研究采用 Solexa 测序技术获得了一条油茶 E2 的全长 cDNA 序列, 命名为 UBE2S, 该基因编码 270AA, 与其它物种的 E2 具有较高的一致性和相似性, UBE2S 蛋白具有泛素结合酶催化位点(UBCc), 第 13~145 位氨基酸碱基为其泛素结合酶基因家族的保守区域, 第 79~127 位氨基酸残基区域中有 21 个残基与泛素形成硫酯键中间产物的残基, 其中 94 位的半胱氨酸残基是活性位点, 有 5 个残基是与 E3 酶相互作用的位点。UBE2S 具有 C 端延伸结构, 所以在普通油茶 E2 基因家族中属于 II 类 E2。

关键词 普通油茶; 泛素结合酶; solexa 测序; 生物信息学

Characterization of Ubiquitin-Conjugating Enzyme E2S from *Camellia Oleifera*

Lin Ping¹, Yao Xiaohua¹, Wang Kai-liang¹, Cao Yongqing¹, Teng Jianhua²

1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang, 311400, P.R. China

2. Dongfanghong Forest Farm of Zhejiang Province, Jinhua, 321025, P.R. China

✉ Corresponding author, linping80@126.com; ✉ Authors

Abstract Ubiquitin-conjugating enzyme (E2) is one of three key enzymes in the ubiquitin-proteasome pathway (UPP). It is very important in the protein degradation pathways depend on ubiquitin or N-end rule, including identify the target protein, interaction with ubiquitin-protein ligating enzymes (E3), and so on. A full length cDNA sequence of E2 was cloned by Solexa sequencing technology and named UBE2S. This cDNA codes 270 amino acids, and had significant amino acid sequence identity and similarity with E2S from other organisms. The UBE2S protein had an ubiquitin-conjugating enzyme E2 catalytic (UBCc) domain from 13th to 145th amino acid residue. There are 21 residues to compose Ubiquitin thioester intermediate interaction residues, 5 residues to compose E3 interaction residues and the 94th residue was the active site cysteine on conserved domain UBCc. UBE2S was a class II member of E2 family of *Camellia oleifera* according to bioinformatics analysis.

Keywords *Camellia oleifera*; Ubiquitin-conjugating; enzyme (E2); Solexa sequencing; Bioinformatics

研究背景

泛素/26S 蛋白酶体途径(ubiquitin-proteasome pathway, UPP)是目前已知的有选择性的降解蛋白质的最重要途径之一(郭启芳等, 2004), 该途径通过调节功能蛋白质的周转或降解不正常蛋白质, 实现对多重代谢过程的调节(朱经春等, 1999), 在维持细胞功能以及抵御环境胁迫、细胞周期运转、激素响应、胚胎发育和衰老等方面起重要作用(董发才和宋纯鹏, 1999; 盛仙永等, 2004; Ingvarnsen and Veier-

skov, 2001; Moon et al., 2004; Smalle and Vierstra, 2004; Dreher and Callis, 2007; Zhang et al., 2007; Shi et al., 2009; 王金利等, 2010; 徐晨曦等, 2007)。

泛素化过程是一个受到高度调控的复杂过程, 有 3 种类型的酶参与催化 3 个级联反应, 这 3 类酶是泛素激活酶(ubiquitin activating enzyme, E1)、泛素结合酶, 也称泛素缀合酶(ubiquitin-conjugating enzymes, E2)和泛素-蛋白连接酶(ubiquitin-protein ligating enzymes, E3) (黄海杰和陈雄庭, 2008)。

植物中泛素化研究最为深入透彻的是模式植物拟南芥, 大约有 1 400 个基因(大约占总蛋白质数量的 5%)编码泛素化过程的 3 大类酶。这其中, 编码 E1 的基因有 2 个, 发生突变时拟南芥死亡; E2 基因有 37 个, E2-like 基因有 8 个; E3 基因则有 1 300 个, 泛素化底物的特异性是由 E3 决定的(Smalley and Vierstra, 2004)。

近年来, E3 蛋白的作用研究开展较多并取得了较大进展(许传俊和李玲, 2007; Göhre et al., 2008; Lai et al., 2009; Lee et al., 2009; Pan et al., 2009), 而 E2 蛋白功能研究尽管也取得了一定进展, 但相对缓慢(王金利等, 2010)。

油茶(*Camellia oleifera*)与油橄榄、油棕、椰子并称为世界四大木本油料树种, 是我国的本土树种, 现有面积达 3.3×10^6 hm^2 , 是我国亚热带地区山区林农的重要经济来源之一, 在江西、湖南、浙江、广西、福建等省的经济林产业中占有十分重要的地位(庄瑞林, 2008)。近年来, 在国家政策扶持下, 各省均有相关政策和资金支持, 油茶产业发展迅速, 与之相呼应, 油茶良种选育、丰产栽培技术等研究进展较快, 新品种丰产林面积不断扩大, 经济效益显著提升。但与农作物、杨树、杉木等其它研究开展较早的林木相比, 油茶分子基础研究甚少。郭静怡等已克隆了一个油茶泛素连接酶 E2 基因(编码 152 个氨基酸残基, 本论文中命名为 UBE2A), 并对其进行了 cDNA 序列分析和 RNAi 表达载体构建(郭静怡, 2011), 但对其编码的蛋白质的性质特点等未作研究。

本研究采用 solexa 技术对普通油茶“长林 4 号”无性系发育中的种子转录组测序, 获得了 1 条编码泛素结合酶(E2)的全长 cDNA 序列, 命名为 UBE2S, 通过对该基因的序列分析和编码蛋白质的结构预测分析, 对普通油茶发育中种子的蛋白泛素化过程初探端倪, 以期为进一步的深入研究奠定基础。

1 结果分析

1.1 泛素结合酶(UBE2S)的全长 cDNA 序列分析

通过序列比对和分析, UBE2S 基因 cDNA 全长 1 155 bp, 编码区自 183 位的起始密码子 ATG 起, 终止于 995 位的 TGA, 5' UTR 182 bp, 3' UTR 160 bp, 编码 270 个氨基酸, 推测蛋白质分子量是 29.36 KD。

编码的 270 个氨基酸中有 33 个强碱性 AA (K, R), 30 个强酸性 AA (D, E), 88 个疏水性 AA (A, I, L, F, W, V) 和 72 个极性 AA (N, C, Q, S, T, Y)。其 AA 序列为: MATNENLPPNVIKQLAKELKNLDETPPEGIKVG VNDDDFSIIYADIEGPAGTPYENGVFRMKLILSHD FPHSPPKGYFLT KIFHPNIATNGEICVNTLKKDWN PSLGLRHVLIVVRCLLIEPFPEALNEQAGKMLLE NYEYARHARLYTGIIHALKQKPKFKSGAISESTTA LNVDQSNTSVLNVDEKKASSGAALPLPSPLAST TTFTKGGNGQDQPASALNSTTETGVSSDSVAAPP PVTQKKEVTLAKVQADKKKMDARKKSLKRL

1.2 UBE2S 基因同源性比对分析

通过 Blast 比对, 筛选出序列同源性较高的 2 个物种的 UBE2S 序列, 分别为大豆和葡萄, 油茶 UBE2S 基因的 cDNA 序列与上述 2 个物种的同源性分别为 64.19% 和 68.63%。采用 clustalX 软件对上述 3 个物种 E2 的氨基酸序列进行多序列比对分析显示(图 1), 3 个物种 UBE2S 氨基酸序列同源性达 84.69%, 油茶的 UBE2S 和其余 2 个物种的 UBE2S 的氨基酸序列同源性分别为 78.76% 和 81.47%, 说明 UBE2S 的氨基酸序列在植物中具有较高的保守性。

1.3 编码蛋白的保守区域分析

ScanProsite 和 CDD 对油茶 UBE2S 保守结构域的分析结果显示, UBE2S 第 13~145 位氨基酸碱基为其泛素结合酶基因家族的保守区域, 第 79~127 位氨基酸残基区域中有 21 个残基与泛素形成硫酯键中间产物(图 3C), 其中 94 位的半胱氨酸残基是活性位点(图 2)。该活性位点旁边有如下保守序列 [FYWLSP]-H-[PC]-[NHL]-[LIV]-x(3,4)-G-x-[LIVP]-C-[LIV]-x(1,2)-[LIVR]。第 13 的 K、70 的 P、71 的 H、101 位的 P、102 位的 S 共 5 个残基是与 E3 酶相互作用的位点(图 3D)。

1.4 三维结构分析

UBE2S 三维结构显示, 该基因仅包含一个保守功能结构域, 该结构域由 4 个 α 螺旋和 4 个 β 折叠片构成, $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 和 $\alpha 3$ 分别位于保守结构域的两侧, 位于 $\alpha 4$ 与 β 折叠片之间的长环上的半胱氨酸活性位点, 处于蛋白质表层的浅窝中(图 4 粉色圆球所示位置)。此外, 与泛素通过硫酯键结合的残基位点及与 E3 相互作用的残基位点也位于蛋白质浅表凹陷处周围(图 5 和图 6)

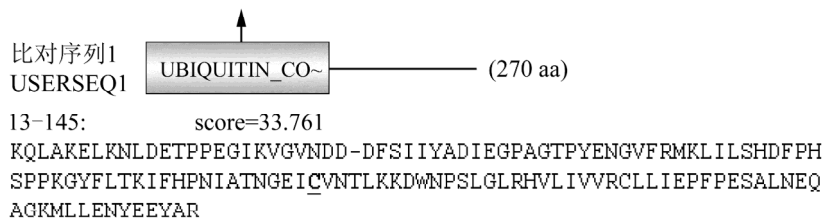


图 1 3 个物种 UBE2S 的氨基酸序列 CLUSTAL 同源性分析

Figure 1 CLUSTAL multiple alignment of UBE2S amino acid sequences in three species

与PS50127号泛素结合酶2 泛素结合酶家族模型匹配

Hits by PS50127 UBIQUITIN_CONJUGAT_2 Ubiquitin-conjugating enzymes family profile



预测的特征

Predicted feature :

活性位点 半胱氨酸硫酯中间体(根据相似性) (condition: C)
ACT_SITE : 94 Glycyl thioester intermediate(By similarity)

图 2 油茶 UBE2S 保守区域比对及半胱氨酸活性位点分析结果

Figure 2 Analysis of conserved domain and active site cysteine in *Camellia oleifera* UBE2S

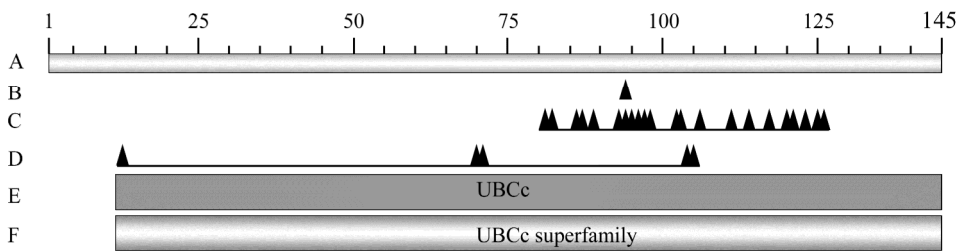


图 3 油茶 UBE2S 泛素结合酶催化位点(UBCc)分析

注: A: 比对的序列; B: 半胱氨酸活性位点; C: 与泛素形成硫酯键中间产物的残基; D: 与 E3 相互作用的残基; E: 特异性注释; F: 超级家族

Figure 3 Analysis of ubiquitin-conjugating enzyme E2, catalytic(UBCc) domain in *Camellia oleifera* UBE2S

Note: A: Query sequence; B: Active site cysteine; C: Ub thioester intermediate interaction residues; D: E3 interaction residues; E: Specific hits; F: Superfamilies

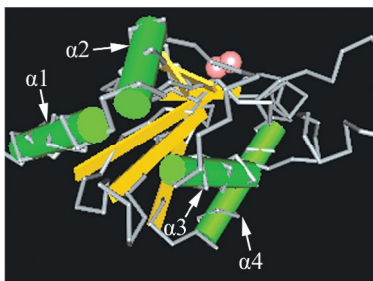


图 4 位于 94 位的半胱氨酸残基在保守区域中的位置
Figure 4 Active site cysteine on conserved domain UBCc

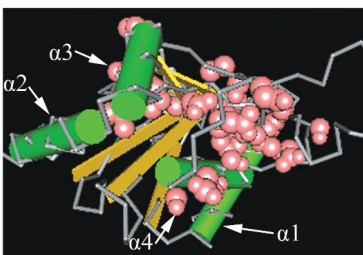


图 5 与泛素通过硫酯键结合的残基在保守区域中的位置
Figure 5 Ub thioester intermediate interaction residues on conserved domain UBCc

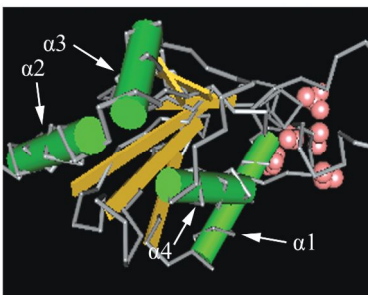


图 6 与 E3 相互作用的残基位点在保守区域的位置
Figure 6 E3 interaction residues on conserved domain UBCc

2 讨论

泛素/26S 蛋白酶体途径能够选择性的降解蛋白质, 这在许多代谢过程中起关键作用, 是真核生物重要的翻译后修饰系统, 如参与调控细胞周期、应急反应、信号传导及 DNA 修复等(陈建明和余应年, 2000)。蛋白质发生单泛素化不会水解, 但可调节其生物学活性, 如调节蛋白质稳定性、蛋白三级结构、改变染色体结构、基因修复、复制及表达调节等。

靶蛋白的多泛素化需要进行多轮单泛素化反应, 每轮单泛素化过程均是一系列的酶促级联反应, E2 在单泛素化过程中催化第二步反应。目前研究表明, 所有真核生物都有多种 E2, 例如, 已发现人类的 E2 至少有 30 种, 拟南芥有 37 种, 不同的 E2 在对靶蛋白的特异性选择上具有重要作用。推测正是由于每个物种中均有一个庞大的 E2 基因家族, 大多数物种中已克隆的 E2 基因数量较少, 因此油茶 UBE2S 基因在 genebank 中只比对到 2 个同源性较高的序列。E2 根据其结构和功能大致可以分为 4 类(陈建明和余应年, 2000; Plafker et al., 2004; Matuschewski et al., 1966; Jentsch, 1992): I 类 E2, 只有一个保守催化结构域(UBC), 长约 150 AA, 其功能主要是参与短周期蛋白和异常蛋白的泛素依赖性降解; II 类 E2, 由 UBC 和一个 C-末端延伸结构组成, 其 C-末端结构可参与识别目标蛋白、与 E3 酶相互作用等; III 类 E2, 由 UBC 和一个 N-末端延伸结构组成, 目前尚不清楚 N-末端结构的功能; IV 类 E2, 同时具备 UBC、C-末端结构和 N-末端结构。油茶 UBE2S 含有 E2 的保守催化结构域、活性位点半胱氨酸残基, 第 146 位~270 位 AA 为 C-末端延

伸结构, 因此油茶 UBE2S 属于油茶 II 类 E2。

植物体内的 E2 种类繁多, 不同种类具有不同的功能, 在受到胁迫时, 不同种类的 E2 通过表达量的变化等表现出不同的表达方式(赖燕等, 2008)。研究表明, 拟南芥的很多 E2 基因有多个拷贝, 产生 E2 蛋白冗余, 推测这可能造成了 E2 基因研究进展相对缓慢的现状。随着 solexa 等高通量测序技术的出现和发展, 大量植物的全基因组或转录组测序完成, 利用不同植物研究 E2 基因的功能, 有希望可大大推动 E2 基因的研究进展。本研究只对油茶 UBE2S 做了简单的序列分析和保守结构域分析, 对油茶其它 E2 成员的克隆、功能鉴定等相关研究有待于进一步开展, 这将为油茶抗逆研究打下良好的基础。

3 材料与amp;方法

3.1 研究材料

分别于油茶种子开始膨大期、营养高速合成期、近成熟期选取 4 个时间点采集“长林 4 号”种子, 剥取种仁, 液氮中保存备用。本研究所用研究材料采自浙江省金华市东方红林场。

3.2 RNA 样品制备

样本 RNA 提取采用 Trizol 法, 提取的 RNA 采用 Nanodrop、Agilent Bioanalyzer 2100 及琼脂糖凝胶电泳检测质量。将符合要求的 RNA 样品进行转录组测序分析。转录组测序及序列组装、拼接由深圳华大基因公司完成。

3.3 生物信息学分析

通过与 Nr 数据库进行 BlastP (Altschul et al., 1997) 比对, 筛选出油茶 UBE2S 基因 cDNA 序列。利用 DNASTAR 软件分析推导 ORF 及编码蛋白(UBE2S)的氨基酸序列, 使用 ClustalX 软件进行多序列比对, 使用 <http://www.us.expasy.org> 网址的 ScanProsite (De et al., 2006)和 CDD (Marchler-bauer et al., 2005; 易乐飞等, 2009)分析保守功能结构域, 使用 Swiss-model (Schwede et al., 2003)预测三维结构。

作者贡献

林萍、曹永庆、滕建华是本研究的实验设计和实验研究的执行人, 并完成数据分析, 论文初稿的写作、实验设计、试验结果分析; 姚小华、王开良是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

基金项目: 本研究由林业公益性行业科研专项(20100-4008)和中国林科院亚林所公益性科研基金专项(RISF6804)共同资助。

参考文献

- Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., and Lipman D.J., 1997, Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs, *Nucleic. Acids. Res.*, 25(17): 3389-3402 <http://dx.doi.org/10.1093/nar/25.17.3389> PMID:9254694 PMCID:146917
- Chen J.M., and Yu Y.N., 2000, Advances of ubiquitin-conjugating pathway in eukaryotes, *Zhongguo Bingli Shengli Zazhi (Chinese Journal of Pathophysiology)*, 16(2):175-178 (陈建明和余应年, 2000, 真核泛素缀合途径研究进展, *中国病理生理杂志*, 16(2): 175-178)
- De Castro E., Sigrist C.J., Gattiker A., Bulliard V., Langendijk-Genevaux P.S., Gasteiger E., Bairoch A., and Hulo N., 2006, Scanprosite: detection of PROSITE signature matches and ProRule-associated functional and structural residues in proteins, *Nucleic. Acids. Res.*, 34(suppl1-2): 362-365
- Dong F.C., and Song C.P., 1999, Physiological function of ubiquitin in plant cell, *Zhiwu Shenglixue Tongxun (Plant Physiology Communications)*, 35(1): 54-59 (董发才, 宋纯鹏, 1999, 植物细胞中的泛素及其生理功能, *植物生理学通讯*, 35(1): 54-59)
- Dreher K., and Callis J., 2007, Ubiquitin, hormones and biotic stress in plants, *Ann. Bot.*, 99(5): 787-822 <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcl255> PMID:17220175 PMCID:2802907
- Göhre V., Spallek T., Häweker H., Mersmann S., Mentzel T., Boller T., De Torres M., Mansfield J.W., and Robatzek S., 2008, Plant pattern-recognition receptor FLS2 is directed for degradation by the bacterial ubiquitin ligase AvrPtoB. *Curr. Biol.*, 18(23): 1824-1832 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2008.10.063> PMID:19062288
- Guo J.Y., 2011, Full-length cDNA cloning of UBC gene from *Camellia oleifera* and construction of its RNAi vector, Thesis for M.S., Central South University of Forestry and Technology, Supervisor: Tan X.F., pp.52-53 (郭静怡, 2011, 油茶泛素结合酶E2基因全长cDNA克隆及其RNAi干扰载体的构建, 硕士学位论文, 中南林业科技大学, 导师: 谭晓风, pp.52-53)
- Guo Q.F., Zou Q., and Wang W., 2004, Physiological function of plant ubiquitin/26S proteasome pathway and its molecular biology, *Zhiwu Shenglixue Tongxun (Plant Physiology Communications)*, 40(5): 533-539 (郭启芳,

- 邹琦, 王玮, 2004, 植物泛素/26S蛋白酶体通路的生理功能和分子生物学, 植物生理学通讯, 40(5): 533-539
- Huang H.J., and Chen X.T., 2008, The progress on the ubiquitin 26S proteasome pathway in plants, *Zhongguo Shengwu Gongcheng Zazhi (China Biotechnology)*, 28(7): 127-132 (黄海杰, 陈雄庭. 植物泛素/26S蛋白酶体途径研究进展, 中国生物工程杂志, 2008, 28(7): 127-132)
- Ingvarsdson C., and Veierskov B., 2001, Ubiquitin- and proteasome-dependent proteolysis in plants. *Physiol. Plant.*, 112(4): 451-459 <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1120401.x> PMID:11473704
- Jentsch S., 1992, The ubiquitin-conjugation system, *Annual Review of Genetics*, 26: 179-207 <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ge.26.120192.001143> PMID:1336336
- Lai J., Chen H., Teng K., Zhao Q., Zhang Z., Li Y., Liang L., Xia R., Wu Y., Guo H., and Xie Q., 2009, RKP, a RING finger E3 ligase induced by BSCTV C4 protein, affects geminivirus in fection by regulation of he plant cell cycle, *Plant. J.*, 57(5): 905-917 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03737.x> PMID:19000158
- Lai Y., Xu B., Lin M., Wang Y.N., Cao L., He L., Liu P., and He S.L., 2008, Isolation of ubiquitin-conjugating enzyme cDNA from *Capsium annuum* and analysis of its expression under UV-B stress, *Fujian Nonglin Daxue Xuebao (Ziran Kexueban) (Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition))*, 37(2):162-165 (赖燕, 徐波, 林明, 王育娜, 曹蕾, 贺俐, 刘萍, 何水林, 2008, 辣椒泛素交联酶cDNA的分离及其在UV-B作用下的表达分析, 福建农林大学学报(自然科学版), 37(2):162-165)
- Lee H.K., Cho S.K., Son O., Xu Z., Hwang I., and Kim W.T., 2009, Drought stress- induced Rma1H1, a RING membrane-anchor E3 ubiquitin ligase homolog, regulates aquaporin levels via ubiquitination in transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Cell*, 21(2): 622-641 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.108.061994> PMID:19234086 PMID:2660634
- Marchler-bauer A., Anderson J.B., Cherukuri P.F., Deweese-Scott C., Geer L.Y., Gwadz M., He S., Hurwitz D.I., Jackson J.D., Ke Z., Lanczycki C.J., Liebert C.A., Liu C., Lu F., Marchler G.H., Mullokanov M., Shoemaker B.A., Simonyan V., Song J.S., Thiessen P.A., Yamashita R.A., Jodie J., Yin J.J., Zhang D., and Bryant S.H., 2005, CDD: a Conserved Domain Database for protein classification. *Nucleic. Acids. Res.*, 33(Database issue): 192-196 <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gki069> PMID:15608175 PMID:540023
- Matuschewski K., Hauser H.P., Treier M., and Jentsch S., 1996, Identification of a novel family of ubiquitin-conjugating enzymes with distinct amino-terminal extensions, *J. Biol. Chem.*, 271(5): 2789-2794 <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.271.5.2789> PMID:8576256
- Moon J., Parry G., and Estelle M., 2004, The ubiquitin- proteasome pathway and plant development. *Plant Cell*, 16(12): 3181-3195 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.104.161220> PMID:15579807 PMID:535867
- Pan J., Fujioka S., Peng J., Chen J., Li G., and Chen R., 2009, The E3 ubiquitin ligase SCFTIR1/AFB and membrane sterols play key roles in auxin regulation of endocytosis, recycling, and plasma membrane accumulation of the auxin efflux transporter PIN2 in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 2009, 21(2): 568-580 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.108.061465> PMID:19218398 PMID:2660622
- Plafker S.M., Plafker K.S., Weissman A.M., and Macara I.G., 2004, Ubiquitin charging of human class III ubiquitin-conjugating enzymes triggers their nuclear import, *J. Cell. Biol.*, 167(4): 649-659 <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.200406001> PMID:15545318 PMID:2172591
- Schwede T., Kopp J., Guex N., and Peitsch M.C., 2003, SWISS-MODEL: an automated protein homology-modeling server. *Nucleic. Acids. Res.*, 31(13): 3381-3385 <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkg520> PMID:12824332 PMID:168927
- Sheng X.Y., Hu Z.H., and Lin J.X., 2004, Ubiquitin/proteasome pathway and its role in high plant sexual reproduction, *Xibeizi Zhiwu Xuebao (Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica)*, 24(8): 1527-1536 (盛仙永, 胡正海, 林金星, 2004, 泛素/蛋白酶体途径及其在高等植物有性生殖中的作用, 西北植物学报, 24(8): 1527-1536)
- Shi S.Q., Shi Z., Jiang Z.P., Qi L.W., Sun X.M., Li C.X., Liu J.F., Xiao W.F., and Zhang S.G., 2009, Effects of exogenous GABA on gene expression of *Caragana intermedia* roots under NaCl stress: regulatory roles for H₂O₂ and ethylene production, *Plant. Cell. Environ.*, 33(2):149-162 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02065.x> PMID:19895397
- Smalle J., and Vierstra R.D., 2004, The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway, *Annu. Rev. Plant. Biol.*, 55: 555-590 <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141801> PMID:15377232
- Wang J.L., Shi S.Q., Jia L.Q., and Jiang Z.P., 2010, Progress on functions of ubiquitin-conjugating enzyme (E2) in plants, *Shengwu Jishu Tongbao (Biotechnology Bulletin)*, 4: 7-10 (王金利, 史胜青, 贾利强, 江泽平, 2010, 植物泛素结合酶E2功能研究进展, 生物技术通报, 4: 7-10)
- Xu C.J., and Li L., 2007, The ubiquitin 26S proteasome path-

- way and plant development, Xibei Zhiwu Xuebao (Acta Botanica Boreali-Occidentalia sinica), 27(3): 635-643 (许传俊, 李玲, 2007, 泛素/26S 蛋白酶体途径与植物的生长发育, 西北植物学报, 27(3): 635-643)
- Xu C.X., Jiang J., Wang Y.C., Liu G.F., and Yang C.P., 2007, Sequence analysis and function determination of E2s gene from *Tamarix androssowii*, Dongbei Linye Daxue Xuebao (Journal of Northeast Forestry University), 35(11): 1-4 (徐晨曦, 姜静, 刘甜甜, 王玉成, 刘桂丰, 杨传平, 2007, 柽柳泛素结合酶基因(E2s)的序列分析及功能验证, 东北林业大学学报, 35(11): 1-4)
- Yi L.F., Liu C.W., Wang P., and Zhou X.H., 2009, cDNA cloning and characterization of a novel ubiquitin-conjugating enzyme gene from *Porphyra yezoensis* Ueda, Shuichan Xuebao (Journal of fisheries of China), 33(5): 719-726 (易乐飞, 刘楚吾, 王萍, 周向红, 2009, 条斑紫菜泛素结合酶基因的cDNA序列克隆与分析, 水产学报, 33(5): 719-726)
- Zhang Y., Yang C., Li Y., Zheng N., Chen H., Zhao Q., Gao T., Guo H., and Xie Q., 2007, SDIR1 is a RING finger E3 ligase that positively regulates stress-responsive abscisic acid signaling in *Arabidopsis*, Plant Cell, 19(6): 1912-1929 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.106.048488> PMID: 17573536 PMCID:1955734
- Zhu J.C., Wang T., and Chen K.C., 1999, Components and functions of the ubiquitin system (I) components, recognition of substrates and protein ubiquitination, Zhiwuxue Tongbao (Chinese Bulletin of Botany), 16(3): 208-218 (朱经春, 王台, 陈克成, 1999, 泛肽系统的组成和功能(一)-系统组成、底物识别与蛋白质泛肽化, 植物学通报, 16(3): 208- 218)
- Zhuang R.L. eds., 2008, Camellia in China, China Forestry Press II, Beijing, China, pp.3-4 (庄瑞林主编, 2008, 中国油茶, 第2版, 中国林业出版社, 中国, 北京, pp.3-4)