

BTB 蛋白泛素化介导植物发育和逆境应答的研究进展

吕彤彤¹, 颜文慧¹, 梁艳², 丁寅², 颜庆霞², 李金华^{1,2*}

1 西南大学创新创业学院 含弘学院, 重庆 400715

2 西南大学园艺园林学院 长江上游农业生物安全与绿色生产教育部重点实验室, 重庆 400715

吕彤彤, 颜文慧, 梁艳, 丁寅, 颜庆霞, 李金华. BTB 蛋白泛素化介导植物发育和逆境应答的研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(1): 63-80.

Lǚ Tongtong, YAN Wenhui, LIANG Yan, DING Yin, YAN Qingxia, LI Jinhua. Advances on BTB protein ubiquitination mediated plant development and stress response[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(1): 63-80.

摘要: BTB (broad-complex, tramtrack, and bric-à-brac)结构域是在真核生物中发现的高度保守的蛋白质相互作用基序。含有 BTB 结构域的一类蛋白统称为 BTB 蛋白, 它们广泛参与转录调控、蛋白质降解等过程。越来越多的研究表明, 该基因在植物生长发育、生物与非生物胁迫等生理过程中具有重要的作用。本文以蛋白结构域为基础, 系统总结了该基因家族蛋白在泛素化介导植物发育和逆境应答等过程中的研究进展, 为植物中该类基因的研究提供了参考。

关键词: BTB 结构域蛋白; 蛋白泛素化; 植物发育; 逆境应答

Advances on BTB protein ubiquitination mediated plant development and stress response

Lǚ Tongtong¹, YAN Wenhui¹, LIANG Yan², DING Yin², YAN Qingxia², LI Jinhua^{1,2*}

1 Hanhong College, Institute of Innovation & Entrepreneurship, Southwest University, Chongqing 400715, China

2 Key Laboratory of Agricultural Biosafety and Green Production of Upper Yangtze River (Ministry of Education), College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: The BTB (broad-complex, tramtrack, and bric-à-brac) domain is a highly conserved

资助项目: 国家自然科学基金(31872123); 重庆市自然科学基金(cstc2019jcyj-msxmX0333); 中央高校项目(XDJK2020B060); 重庆市级大学生创新创业训练计划(S202210635079)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31872123), the Natural Science Foundation of Chongqing, China (cstc2019jcyj-msxmX0333), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (XDJK2020B060), and the Chongqing Municipal College Students Innovation and Entrepreneurship Training Program (S202210635079).

*Corresponding author. E-mail: ljh502@swu.edu.cn

Received: 2023-03-22; Accepted: 2023-05-15; Published online: 2023-05-17

protein interaction motif in eukaryotes. They are widely involved in transcriptional regulation, protein degradation and other processes. Recently, an increasing number of studies have shown that these genes play important roles in plant growth and development, biotic and abiotic stress processes. Here, we summarize the advances of these proteins ubiquitination-mediated development and abiotic stress responses in plants based on the protein structure, which may facilitate the study of this type of gene in plants.

Keywords: BTB domain protein; protein ubiquitination; plant development; abiotic stress responses

BTB (broad-complex, tramtrack, and bric-à-brac)结构域(也称为 POZ 结构域)最初被认为是存在于果蝇中保守的蛋白相互作用基序^[1-2]。Laski 等^[1,3]发现果蝇转录因子 bric-a-brac、tramtrack 和 broad complex 在其编码蛋白 N 端有 1 个序列保守的区域,将其命名为 BTB 结构域。同时, Bardwell 和 Treisman 发现一些痘病毒蛋白与锌指蛋白 ZID、GAGA 和 ZF5 的一部分相似,他们将这一区域命名为痘病毒和锌指(pox virus and zinc finger, POZ)结构域^[2]。POZ 基序与 BTB 结构域相同,于是统称为 BTB/POZ 结构域,通常简称为“BTB 结构域”。

BTB/POZ 家族蛋白存在 DNA 结合结构域,众多研究证明其可能参与调节基因表达。一方面,有些蛋白质只由 BTB 组成,比如 Skp1 和 ElonginC, Skp1 参与蛋白质降解, ElonginC 控制转录延伸^[4];另一方面, BTB 结构域也与其他结构域结合,从而扩大了 BTB 蛋白家族的功能范围^[5]。根据这些结构域, BTB 蛋白基因家族可以分为许多亚家族,包括 BTB-Only 蛋白、BTB-锌指(BTB zinc-finger, BTB-ZF)蛋白、BTB-Kelch 蛋白、BTB-BACK 蛋白、BTB-Back-Kelch 蛋白、Math-BTB 蛋白、BTB-ANK 蛋白、BTB-Back、BTB-PHR 蛋白和 Rho-BTB 蛋白^[6-7]。这表明 BTB 蛋白还包括其他多种不同的结构域,在植物中可能有多种功能。

关于 BTB 蛋白在植物的发育与非生物胁迫中的重要作用的研究已有一定的进展,但仍存在

待解决的问题。本文以蛋白结构为基础,就目前植物中发现的 BTB 基因家族成员泛素化介导植物发育和逆境应答等过程进行总结和深入解析,为后续研究提供参考。

1 BTB 蛋白在植物应激反应和信号传导中的作用

植物在应激反应中,泛素蛋白酶系统(ubiquitin protease system, UPS)结构性或条件性地降解激活物或者抑制物。在泛素化途径中,泛素连接酶(也称为 E3 酶或 E3S)参与抑制或激活反应关键步骤,它促进泛素化的氨基酸转移到底物蛋白上,然后通过 26S 蛋白酶体进行降解^[8-9]。CRL (cullin-ring)连接酶是最常见的一类泛素连接酶多聚体^[8-9],它包含 1 个特定的 CUL (cullin)蛋白作为分子支架,将由环指结构域蛋白[如 RBX (ring box protein 1)]和泛素结合酶(也称为 E2)组成的催化聚合体连接到特定的底物识别结构域,同时该聚合体与靶蛋白相互结合。在 CRL 多聚体中,比较常见的是 SCF [Skp1/CUL1/F-box protein (FBP)]复合体^[10-11]。真核生物中,除了 CUL1,还有一些其他的 CUL (CUL2、CUL3、CUL4、CUL5 和 CUL7)^[12-13],这些 CUL 蛋白同样是具有 E3 活性的蛋白复合体组成部分,通过不同的识别结构域来使各种蛋白底物泛素化。

最近的研究表明 CUL3 是控制不同发育和应激反应以及人类病理的一大类 CRL 的分子支

架,它存在于所有真核生物的基因组中,在蛋白水平上 CUL3 与 BTB 蛋白相互作用,作为底物特异性识别器^[14-15]。同时 BTB 结构域另一端通过蛋白相互作用结构域 (protein-protein interaction domain, PID)特异地结合底物。与 CUL1 需要通过 SCF 复合体与底物结合不同的是,CUL3 可以直接与 BTB 结构域相结合^[14-15],这说明了 BTB 结构域在蛋白质泛素化过程中的重要作用。

下文将分别阐述 BTB 蛋白各个亚家族通过介导蛋白泛素化在植物发育和逆境应答中的作用。

1.1 BTB-MATH

MATH 是肿瘤坏死因子受体相关因子 (tumor necrosis factor receptor-associated factor, TRAF)类结构域的 1 个亚型,TRAF 蛋白有分子衔接剂或 E3 泛素连接酶的功能,有助于将细胞表面受体的上游信号传导到下游效应物^[16]。含有 MATH 和 BTB/POZ 结构域的蛋白称作 BPM (BTB/POZ and MATH protein)蛋白,其中 MATH 结构域作为底物受体,BTB/POZ 结构域结合 CUL3^[17],CUL3 和 BPM 蛋白结合形成 CUL3^{BPM} 复合体。

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)核心分支 BPM 基因家族已经得到了广泛的研究。拟南芥基因组只编码 6 个 BPM 基因,对应 *AtBPM1-6*^[18]。BPM 蛋白作为基于 CUL3 的 E3 连接酶的底物特异性结合蛋白,与不同的转录因子家族成员相互结合,因此被认为是各种发育过程和胁迫反应的重要调节因子。过表达 *BPM3* 或 *BPM5* 会增强植物脱落酸(abscisic acid, ABA)的敏感性,抑制种子萌发、幼苗形态建成和根生长^[19]。同时,过表达 *BPM3* 或 *BPM5* 的植物失水减少,气孔关闭增加,抗旱性提高^[19]。

BPM 通过和 CUL3 的结合形成 CUL^{BPM},其通过介导 ABA 反应的负调节转录因子 AtHB6

(homeobox 6)和 PP2C (protein phosphatases type 2C)的降解来调节 ABA 信号传导^[19-20]。此外,BPM 蛋白也与乙烯反应有关。例如,BPM 蛋白负调控乙烯反应转录因子 WRI1 (wrinkled1),从而影响拟南芥的脂肪酸代谢和种子发育^[21]。BPM 蛋白还可以促进耐旱和耐热胁迫的脱水响应性元件结合蛋白 2A 蛋白(dehydration-responsive element binding protein2A, DREB2A)的降解,负向调节拟南芥的热应激反应^[22],防止过量的 DREB2A 的积累。由此可见,BPM 可能介导相关转录因子的降解来调节植物的发育和逆境应答。

最近的研究表明,CUL^{BPM} 影响茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号传导。JA 是一种含氧的脂肪衍生物,是植物必需的激素。骨髓细胞组织增生蛋白(myelocytomatosis protein, MYC)是 JA 诱导的信号通路的关键分子之一,在番茄(*Solanum lycopersicum*)中的研究表明其在应激代谢中具有双重作用^[23]。CUL^{BPM} 被证实可以促进 MYC2/3/4 的降解,并调控信号传导阻止茉莉酸介导的生物有害进程^[24]。此外,JA 通过稳定转录因子 AP2 (APETALA2)/ERF (ethylene response factor)中的成员氧化还原响应转录因子 (redox-responsive transcription factors 1, RRTF1)来促进植物分泌抗性物质 *p*-香豆酰胍基丁胺 (*p*-coumaroylagmatine, CouAgm),而 CUL^{BPM} 通过介导 RRTF1 降解负调控 JA 信号^[25]。但是 JA 还可以促进 BPM3 蛋白的稳定,表明还存在负反馈调节机制来控制 MYC 活性,避免有害的应激反应^[24]。

BPM 蛋白不仅影响植物体内激素信号的传导,还被证明与植物开花有关。在拟南芥中,*bpm* 突变体表现为晚花^[26],而 *AtBPM1* 的超表达植株表现为早花^[27],因此预测 BPM 正向调控植物的开花时间。此外,转录因子 AtMYB56 和 AtMYB106 与营养到生殖转换的关键调节因子

AtFT (flowering locus T)的启动子结合,从而抑制其转录,而 CUL^{BPM} 介导转录因子 *AtMYB56* 和 *AtMYB106* 的泛素化降解,从而使 *AtFT* 转录增加并促进开花^[26,28]。因此, BPM 蛋白在植物开花中起重要作用。

综上所述,这些发现证明 BPM 参与了激素介导的应激反应和开花调控,是植物生理应答的蛋白质翻译后调节因子。值得注意的是,虽然 6 个拟南芥 BPM 蛋白都被证明与 *AtHB6*、*WR11*、*MYB56* 和 *DREB2A* 等蛋白质相互作用^[20-22,29],但只有特定的成员被证明与 *PP2C* 相互作用^[19],并且不同的 BPM 在结合 3 种 MYC 蛋白方面存在相似的功能^[24]。此外,只有 *BPM1*、*BPM2* 和 *BPM4* 与 *MYB106* 相互作用^[28],只有 *BPM1* 和 *BPM3* 与 *RRTF1* 相互作用^[25](图 1A)。这意味着在这个高度保守的蛋白质家族中既存在功能冗余又存在个别不同的功能,其中一些可能在特定的环境条件下才表现出来。

1.2 BTB-TPR

BTB-TPR 蛋白的特征是存在 1 个 N-末端的 BTB 结构域和 6 个 TPR 基序,以及在 C 末端的 1 个卷曲基序,该类型蛋白是植物中所特有的^[30]。

拟南芥中有 3 个 BTB-TPR 蛋白: *ETO1* (ethylene overproducer1)、*EOL1* (*ETO1-like1*) 和 *EOL2* (*ETO1-like2*),它们一起通过介导乙烯合成关键酶 1-氨基环丙烷-1-羧酸合酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase, ACS)的降解来负调控乙烯的合成^[31],并且这个过程是受到环境影响的。光会通过降低 *ETO1/EOLs* 复合体的稳定性促进乙烯的合成^[32],在各种生物和非生物胁迫中 *EOL2* 表达量会增高^[31],同时干旱胁迫和水淹胁迫会影响 *EOL1* 的表达模式。研究表明,在生殖阶段,水稻(*Oryza sativa*) *OsETOL1* 的转录水平受到干旱和脱落酸的强烈诱导,使水稻成熟延迟;而水淹条件下, *OsETOL* 转录本在 5 d 后被抑制,可能促使上部叶片生长到水面以上^[33]。其中 *ETO1* 以 2 种截然不同的方式作用于 ACS5:一方面,它通过直接结合酶来抑制 ACS5 的活性;另一方面,它通过与 *CUL3* 的相互作用促进 ACS5 的降解^[34]。此外,在 *cul3a/b* 基因敲除突变体中, ACS5 蛋白和乙烯含量的提高证实了 $CUL3^{ETO1}$ 对乙烯生物合成的调控^[35]。这些说明 BTB-TPR 蛋白亚基在植物的泛素化介导的乙烯调控途径中具有重要的作用(图 1B)。

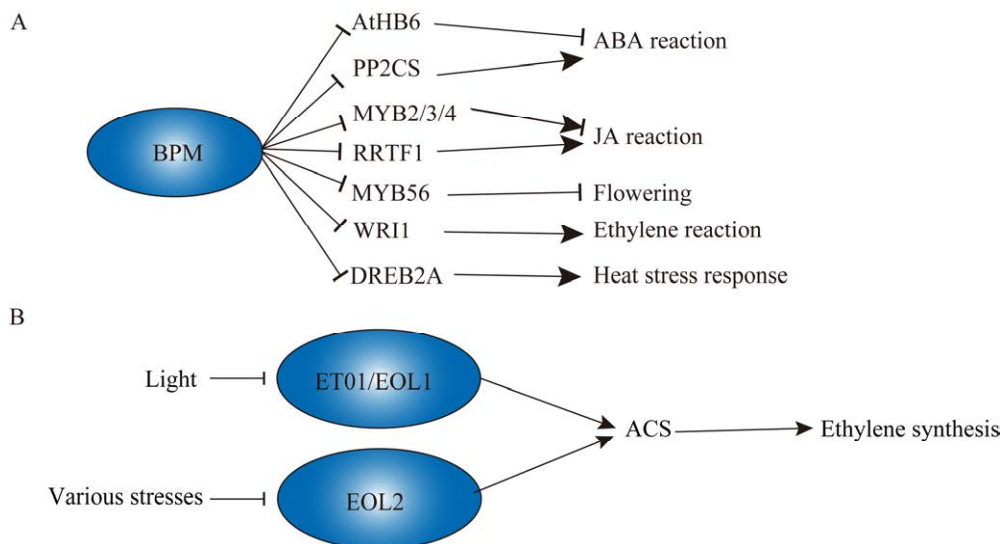


图 1 BTB-MATH (A)和 BTB-TPR (B)在植物中的作用模式图

Figure 1 Modes of action of BTB-MATH (A) and BTB-TPR (B) in plants.

1.3 BTB-ANK (ankyrin-repeat)

病程相关的非表达因子(nonexpressor of pathogenesis related, NPR)蛋白包含1个N-末端的BTB结构域、1个中央ANK结构域和1个C-末端的反式激活结构域^[36-37]。拟南芥中NPR1是水杨酸(salicylic acid, SA)诱导的病程相关基因(pathogenesis-related gene, PR)表达和对病原菌抗性所必需的^[38-39]。NPR3和NPR4是NPR1的2个直系同源基因,其编码的蛋白结构与NPR1具有很高的相似性。研究表明NPR1、NPR3和NPR4与植物免疫反应中的SA介导的转录调控有关。SA是植物的防御激素,对植物免疫反应至关重要,拟南芥的NPR1、NPR3和NPR4蛋白被认为是SA的受体^[40]。SA结合NPR1并调控其转录激活活性,同时抑制NPR3/NPR4的转录活性,并通过招募防御相关基因的转录抑制物TGAs(TGACG-binding factors)诱导防御相关基因的表达^[41](图2)。

NPR参与的SA信号传导作用过程如下:SA浓度增加时,位于核外的NPR1稳定性发生变化,一部分进入细胞核形成三元复合体促进致病相关基因PRs的表达。在细胞核内会形成HAC-NPR1-TGAs复合体和NPR1-CDK8-TGAs复合体,SA结合的两者的都会被招募到致病相关基因PRs启动子上,随后前者被组蛋白乙酰化的染色质重编程来转录激活^[42],后者中的CDK8s及其结合的其他因子还会将RNA聚合酶II(RNA polymerase II, Pol II)招募到PRI基因的启动子和编码区,以促进PRI基因的表达,从而激活植物病程防御^[43]。细胞核内还会形成NPR1-CDK8-WRKYS三元复合体正调控NPR1的合成。WRKYS作用于W-Box序列上的NPR1启动子,CDK8s及其结合的其他因子将RNA聚合酶II招募到NPR1基因上,促进NPR1基因的转录,合成更多的NPR1^[43](图2)。

然而NPR1虽然有BTB结构域,但不与CUL3直接相互作用,而是由NPR3和NPR4将其招募至CUL3进行泛素化降解^[44]。同时SA也增强了NPR3/NPR4与茉莉酸之间的相互作用,促进茉莉酸在植物效应免疫(effector-triggered-immunity, ETI)过程中触发免疫因子,从而促进中早期的有害蛋白的降解。NPR3/NPR4也可以促进植物免疫调节的核心蛋白之一——疾病易感性增强1(enhanced disease susceptibility 1, EDS1)的降解^[45],而NPR1在其中起到与之相同的作用,其也可以促进EDS1及其在EIT期间诱导细胞凋亡的正调节因子WRKY54/70的降解,从而促进植物细胞的存活^[46](图2)。

BTB参与的泛素化过程还在其他发育过程中发挥作用。BOP1(blade-on-petiole 1)和BOP2也属于BTB-ankyrin家族,是基于CUL3的E3连接酶的底物适配子,与其他BTB结构域家族不同,此蛋白亚家族有多种蛋白组合形式。研究发现BOP1/2与转录因子LFY(LEAFY)一起促进花分生组织的形成^[47]。矛盾的是,BOP1/2在体外促进LFY的泛素化并调节LFY的活性,但在体内却是LFY稳定所必需的,这2个E3连接酶如何调节LFY功能尚不清楚。

1.4 BTB-TAZ

拟南芥BTB-TAZ(BT)结构域蛋白含有1个位于N-端的BTB结构域、1个位于中心的TAZ锌指蛋白结构域和1个位于C-末端的钙调蛋白结合域^[48-49]。BT蛋白是陆地植物所特有的^[48],根据编码蛋白的氨基酸序列同源性,拟南芥BT家族的5个成员可以划分出2组:第1组由BT1和BT2组成,第2组由BT3、BT4和BT5组成。BT成员之间存在相当大的功能冗余,BT在雄配子体和雌配子体发育的早期阶段都是至关重要的^[48]。在这一过程中,BT2基因是主导基因,在BT2功能缺失突变体中,BT2基因在功能上被

BT3 取代, 在 *BT2* 功能缺失突变体中也被 *BT1* 部分取代, 通过转录相互调节^[48]。这种表达补偿是 *BTs* 基因功能冗余的重要机制。

前期研究预测 *BT2* 是逆境互联信号网络中心的关键蛋白, 其响应多种逆境^[50]。在苹果 (*Malus pumila*) 中, *MdBT2* 可以与多种底物蛋白相互作用, 参与不同的信号传导途径, 如 *MdBT2* 与 *MdbHLH104* (basic helix-loop-helix)、*MdbHLH93* 和 *MdMYB23* 相互作用, 负向调节铁的动态平衡、叶片衰老和冷胁迫^[51-53]。

此外, 在拟南芥中的研究表明, *BT2* 是植物氮利用效率(nitrogen use efficiency, *NUE*)网络的保守的负调控因子, 也是 *NUE* 网络中最核心和联系最紧密的基因^[54]。*MdBT2* 受到硝酸盐的诱导表达^[55-58], 推测其通过介导植物对硝酸盐的响应来调控苹果植物生长发育及抗旱性。*MdBT2* 通过直接与 *DELLA* 蛋白 *MdRGL3a* 相互作用, 发挥调节植物生长的作用^[59], 从而促进其泛素化和响应硝酸盐的降解。

NAC (*NAM*, *ATAF1/2*, *CUC*) 转录因子被证明通过增强 *ABA* 信号传导而提高植物的耐旱性^[60]。对 *BT* 基因介导的干旱响应的研究中, 苹果中的 *MdBT2* 通过与转录因子 *MdNAC143* 相互作用负调控干旱胁迫响应^[61]。干旱水平下 *MdBT2* 在蛋白质水平受到抑制, 但 *MdNAC143* 不再受抑制, 其激活与耐旱性相关的下游基因的表达, 从而降低了活性氧(reactive oxygen species, *ROS*)积累和水分流失率^[61], 提高植物的抗旱性。除此之外, *MdBT2* 可能通过介导 *MdNAC1* 的蛋白稳定性负调控铁离子的吸收利用^[62], 改善植物的缺铁逆境, 这说明 *NAC* 基因在植物体内存在更多未知的靶基因, 从而扩展了 *BT2* 基因的功能。

MdBT2 还是苹果中不定根(adventitious root, *AR*)形成的负调节剂, 主要通过直接作用和间接作用 2 种方式。一方面, *MdBT2* 通过直接与 *MdARF8* (auxin response factor 8) 和 *MdIAA3* (indole-3-acetic acid inducible 3) 相互作用来抑制

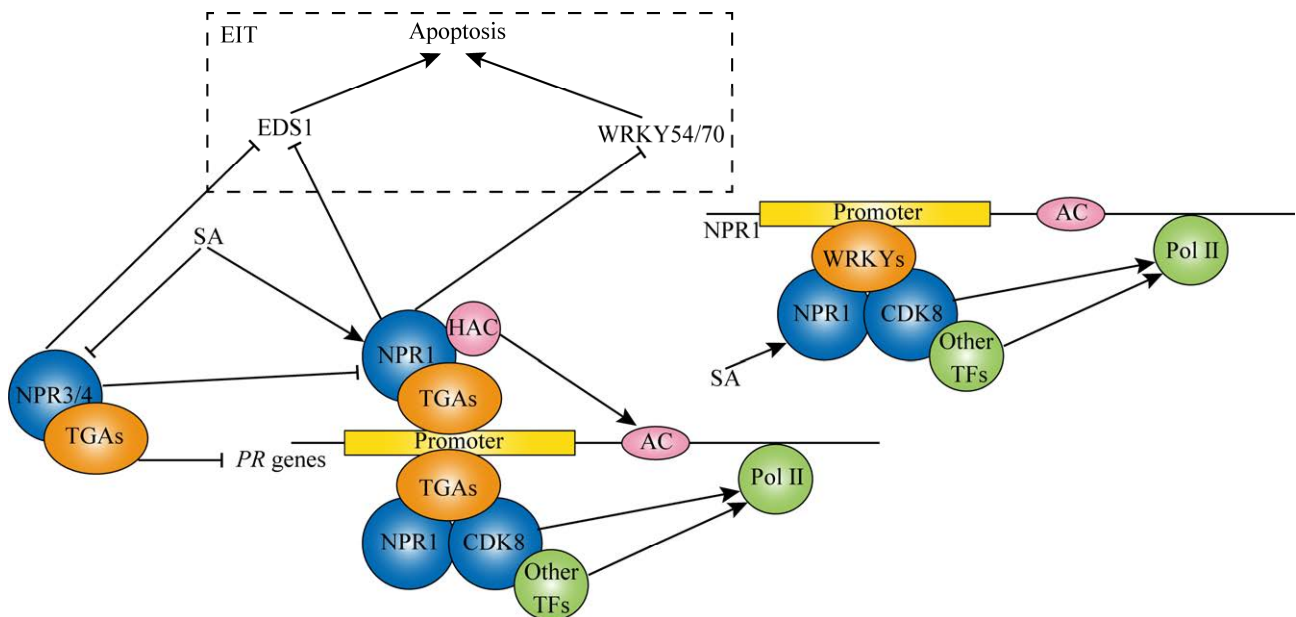


图 2 NPR 在植物中的作用途径

Figure 2 Modes of action of NPR in plants.

AR 的形成。另一方面, MdARF 通过诱导 MdGH3s (*gretchen hagen*) 的转录来调节 AR 的形成, 而 MdBT2 通过 26S 蛋白酶体途径促进 MdARF8 的泛素化和降解, 并负调控 *MdGH3.1* 和 *MdGH3.6* 的表达。同时, MdIAA3 通过与 MdARFs 形成异二聚体来抑制 AR 的形成, MdBT2 促进了 MdIAA3 的稳定性并略微促进了其与 MdARF8 的相互作用, 稳定了异二聚体结构, 间接抑制了 AR 的形成^[63](图 3)。

研究表明, 苹果 MdBT2 在不同激素和环境信号诱导的花青素生物合成中起负调控作用, 表明 MdBT2 整合了胁迫信号和花青素的生物合成; 研究发现, 苹果中的 MdBT2 通过泛素化途径加速花青素生物合成的正调控蛋白 MdMYB1 的降解, 从而负面调节氮缺乏情况下的花青素的生物合成^[64]。有研究提出了“BT2-靶蛋白-MdMYB1”的机制, 即在尚无非生物逆境胁迫的情况下, MdBT2 与靶蛋白相互作用, 对其进行泛素化降解, 从而负调控靶蛋白促进的花青素的生物合成; 在非生物逆境胁迫条件下, MdBT2 的表达受到抑制, 从而抑制了靶蛋白的降解, 从而促进了胁迫诱导的花青素的生物合成。目前发现的靶蛋白有 MdBZIP44、MdWRKY40、MdERF38 和 MdTCP46, 在 ABA 诱导、创伤、干旱和高光强的情况下, MdBT2 的表达受到抑制, 以上靶蛋白的表达量就会增高并与 MdMYB1 相结合, 促进花青素的生物合成^[65-68]。

MdBBX22 直接与光形态建成和花青素合成的正调节因子下胚轴 5 (*hypocotyl 5*, MdHY5) 相互作用^[69], 增强 MdHY5 与其靶基因的结合活性, 然而 MdBBX22 通过泛素-蛋白酶体途径被 MdBT2 介导降解^[70]。氮素充足的条件下, MdBT2 促进了构成型光形态 1 (*constitutively photomorphogenic 1*, MdCOP1) 介导的泛素化和

MdMYB2 蛋白的降解^[64,71], 抑制了花青素合成基因的表达和花青素的积累; 氮素缺乏条件下, 14-3-3 蛋白家族成员生长调节因素 11 (*growth-regulating factors 11*, MdGRF11) 促进了 MdBT2 的降解, 从而增加了 MdMYB1 蛋白的丰度进而诱导花青素积累以响应氮素的缺乏^[72]。14-3-3 蛋白是一个高度保守的磷酸肽结合蛋白家族, 通过磷酸化介导蛋白质间的相互作用。该蛋白家族参与了广泛的细胞功能, 包括调节激素对胁迫刺激的诱导^[73]。这些结果表明, MdBT2 是一种整合多种胁迫信号的多功能蛋白, 也是调节花青素生物合成的关键蛋白(图 3)。

那么 BT2 如何影响多条信号通路呢? 前期有研究预测其可能与其他 BTB 家族成员或溴域蛋白相互作用。有研究表明, CUL^{BT2} 泛素连接酶通过与 GTE9 和 GTE11 相互作用来调节拟南芥中 35S 增强子的活性^[74-75], 因此 BT2 还是维持多聚化的 35S 增强子转录活性所必需的, 缺乏 BT2 会导致 35S 增强子的高度甲基化^[74]。除此之外, 拟南芥 AtBET10 (*bromodomain and extra-terminal domain*) 也是一种含有溴结构域的蛋白, 是糖和 ABA 信号的负调节因子, 并在花粉萌发和花粉管伸长过程中起作用^[49]。研究发现玉米 (*Zea mays*) 中 ZmBT4、ZmBT2b 蛋白的 BTB 结构域 ZmBT4-BTB、ZmBT2b-BTB 均能与 ZmBET10 互作^[76], 表明 BTB 结构域在 BTB-TAZ 蛋白与转录因子 ZmBET10 互作过程中具有重要作用, 同时在水杨酸、茉莉酸、乙烯处理后玉米植株体内的 ZmBT2 表达水平发生明显的变化^[77], 该研究结果进一步证明了 BTB-TAZ 蛋白在玉米抗病中的功能与调控机制。因此, 对相关溴域蛋白的研究有助于探究 BT2 同时影响多条信号通路的分子机制, 进而促进对植物抗生物和非生物胁迫的研究。

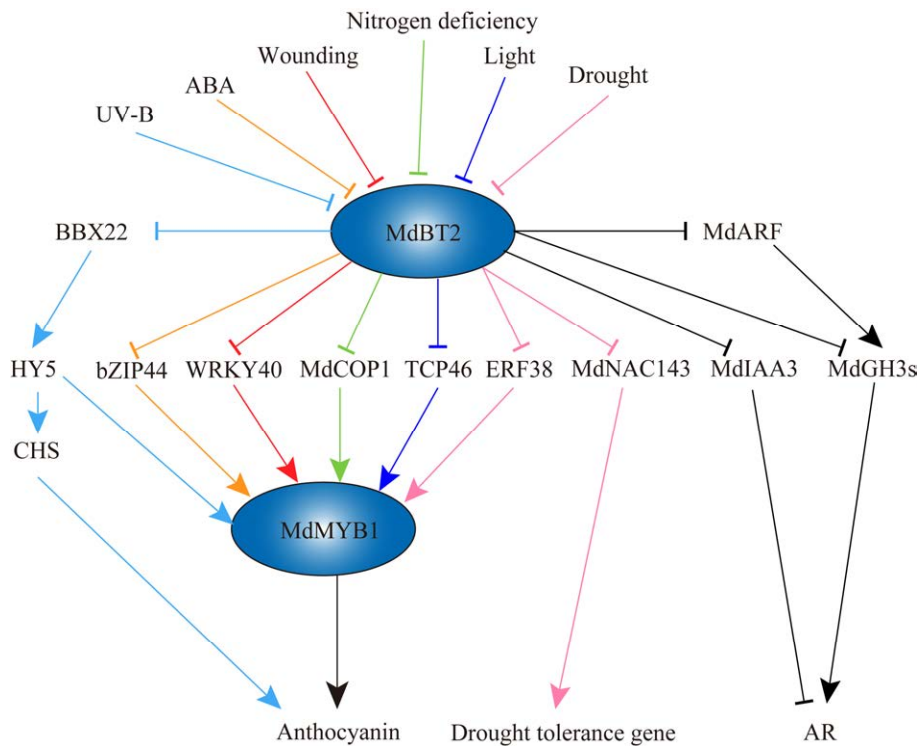


图3 MdBT2在多种合成途径中的作用
Figure 3 Modes of MdBT2 in multiple pathways.

1.5 BTB-NPH3

在拟南芥中，有 21 个 BTB-NPH3 (nonphototropic hypocotyl 3) 蛋白，它们是植物特有的蛋白^[7]。BTB-NPH3 含有 1 个 N-末端的 BTB 结构域和 1 个 C 末端 NPH3 结构域，一些成员还含有 1 个额外的 C 末端卷曲结构域。随后的研究者将拟南芥中的 33 个以 NPH3 结构域为中心结构域的蛋白鉴定为 NRL (NPH3/RPT2-like) 蛋白家族，其中只有 2 个无 BTB 结构域，该家族的生物功能还有待详细研究^[78]。其中，NPH3 蛋白和根向光性 2 (root phototropism 2, RPT2) 蛋白是主要成员。其中 NPH3 有助于建立这种差异生长反应所需的横向生长素梯度分布^[79]。RPT2 通过改变 NPH3 的定位和磷酸化状态来调节光响应^[80]。

非光致性下胚轴 1 (nonphototropic hypocotyl

1, *NPH1*) 编码大小为 120 kDa、依赖蓝光进行蛋白磷酸化的蛋白^[81-82]。作为一种新的光受体蛋白，研究者又将 *NPH1* 命名为 *PHOT1* (phototropin1)^[83]。同时研究表明 *NPH3* 和 *PHOT1* 在酵母中是相互作用的^[84]。低强度蓝光下，*CRL3*^{NPH3} 介导 *Phot1* 的单、多泛素化，从而调节蓝光诱导的生长素转运蛋白的重新定位^[85-86]。高强度蓝光下，*CRL3*^{NPH3} 介导的 *Phot1* 的多聚泛素化以及其后的降解可能使受体失去特异性^[85]。蓝光刺激的 *NPH3* 去磷酸化和从质膜释放后，*Phot1*-*NPH3* 的相互作用被破坏^[79]，导致受体信号传导停止(图 4)。因此在连续高光强下，要重建和维持光致信号，*Phot1*-*NPH3* 复合体必须重建，*RPT2* 的存在对促进这一过程是必需的^[79]。基于这些发现，*RPT2* 被认为有助于光感官适应，并在较亮的光条件下促进

高效的向光性。

拟南芥的大多数 NRL 蛋白包含 1 个 BTB 结构域, 它可以作为底物适配器来招募特定的蛋白质进行泛素化和降解^[80]。阐明 NRL 蛋白如何在生化水平上发挥作用, 以及它们的定位和磷酸化状态的变化如何影响它们的活性, 这对于理解生长素梯度如何促进向光性、叶片定位和叶片展开等反应是至关重要的。

1.6 BTB-Kelch

研究证明拟南芥中一对光响应 BTB 蛋白——光响应 BTB1 (light-response BTB1, LRB1) 和 LRB2 (light-response BTB2) 与植物光反应有关。这 2 个蛋白均含有 BTB 结构域, 同时通过比对和同源性搜索发现, 在 BTB 结构域下游有 1 个 Kelch 结构域, 并且在所有多肽的 N 端附近都有 1 个可能的核定位序列^[87]。过量光胁迫触发的局部和系统气孔关闭反应以及 ROS 反应, 都依赖于光敏色素 B (phytochrome B, phyB) 的功能^[88], 与 LRB1/2 组装的泛素连接酶作为光形态发生的负调控因子。LRB1 和 LRB2 似乎并不直接促进 phyA 的积累, 而是通过抑制 phyB 的过程来依赖性地间接促进 phyA 的积累, 从而抑制 phyA 转录^[88], LRB1/2 更可能通过直接地控制 phyB/D

水平或者作用于 phyB/D 而间接地发挥作用^[87], 但 LRB1/2 是否直接参与光敏色素的转换仍有待确定。

CUL3^{LRB} 介导光敏色素相互作用因子 3 (phytochrome interacting factor 3, PIF3) 和 phyB 的降解。光激活的 phyB 通过直接相互作用诱导 PIF3 的磷酸化, 这种磷酸化增强了 PIF3 与 LRB 的亲合力, 导致 PIF3 和 phyB 的降解^[89]。同时 PIF3 的降解改变了下游靶基因的转录, 而 PhyB 的降解作为反馈调节, 使细胞对红光不敏感^[89]。研究发现 BOPs (上文提到的 BTB-ANK 蛋白) 在体外促进光敏色素相互作用因子 PIF4 的泛素化以促进光形态发生和调节热形态发生^[90], 与 PIF3 和 CUL3^{LRBs} 结合不同, BOP2 与 PIF4 结合可能不需要 PIF4 的磷酸化(图 5)。

CRL3 也参与植物对春化的反应。FRI (frigida) 作为抑花因子开花位点 C (flowering locus C, FLC) 的激活剂, 增加 FLC 表达并延迟开花^[91]。冷胁迫后, LRB1 和 LRB2 与 CUL3a 和 FRI 结合, 促进 FRI 降解。此外, 冷诱导的 WRKY34 转录因子促进 CUL3a 的积累, 从而促进 FRI 蛋白降解^[92]。

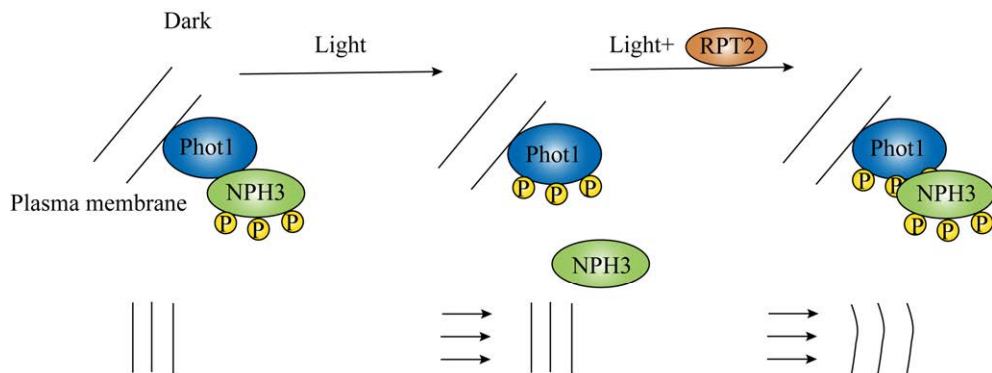


图 4 BTB-NPH 在植物向光性中的作用途径^[80]

Figure 4 Modes of action of BTB-NPH in plant phototropism^[80].

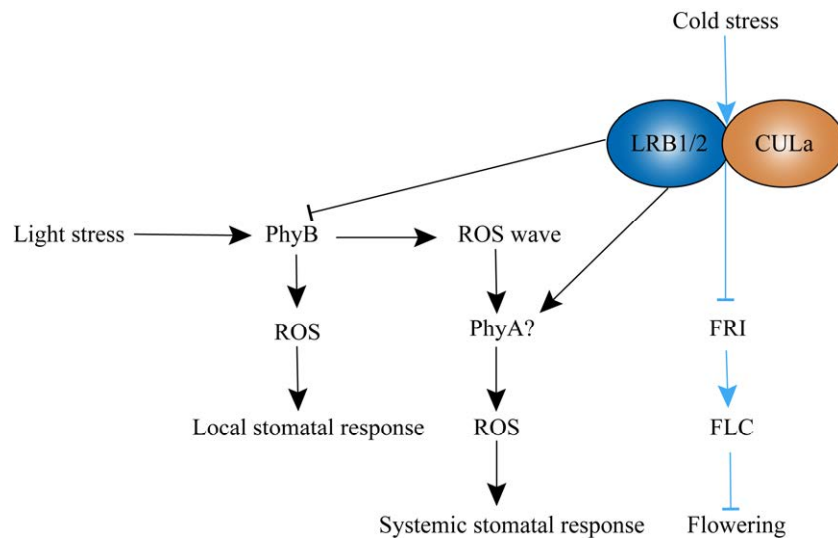


图 5 BTB-Kelch 在植物中的作用途径

Figure 5 Modes of action of BTB-Kelch in plants.

1.7 BTB-only

Skp1 和 ElonginC 是 BTB-only 蛋白, 只含有 BTB 结构域^[7]。作为 CUL1 SCF 复合物的一个关键组成部分, Skp1 形成了 CUL2 和底物识别蛋白之间的结构连接, 它作为接头的同时结合 CUL 的 N 端和泛素降解过程中的 F-box 蛋白和 F-box 基序。在本实验室早期的一份研究中, 番茄 SIBTB14、SIBTB15 和 SIBTB16 含 Skp1 结构^[93], 因此可能在泛素化中发挥作用。拟南芥 AtSIBP1 是盐胁迫的正调节因子, 属于 Skp 或 ElonginC 家族, 正向调控拟南芥中的盐信号^[94], 可能与 CUL1 参与的蛋白质泛素化过程有关, 其酶作用底物还有待探究。

2 展望

在动物中, BTB 蛋白结构域还有一个重要的功能就是参与转录调控。在转录因子中经常观察到二聚化, 可以提高 DNA 的亲合力和特异性, 并提供一种简单的机制使因子在一定浓度的阈值下失活^[95]。BTB 在转录因子中的功能是提供二聚化界面和招募转录辅助因子。如在动物中 PLZF 是致癌的 BRB-ZF 转录因子, 其中的 BTB

结构域驱动视黄酸受体 a (retinic acid receptor A, RARa) 的同源二聚化^[96], 招募转录辅助抑制因子 SMRT 从而抑制 RARa 的靶基因并阻断骨髓祖细胞的分化^[97]。

然而在植物中, BTB 结构域蛋白更多以参与泛素连接酶 E3 的组成来介导应激反应和信号传导, 本文对其进行了总结(表 1)。但是仍有许多关于这些连接酶的问题需要深入研究, 包括泛素连接酶 E3 的未知功能、其组分的进化历史和活性的精确调控。同时已有 BTB 蛋白结构域介导二聚体化的研究^[63], 它在植物中是否具有进一步参与转录调控的功能还有待研究。

前期研究大多证明 BTB 结构域蛋白在加强植物防御中起到很重要的作用, 但也有研究者在烟草中鉴定出一种含 BTB 结构域的蛋白质, 负调节效应蛋白的积累, 预测该蛋白是植物基础防御和 ETI 中的负调节剂, 但它是否作为参与 E3 泛素复合体的成员来影响植物 ETI 的过程还不清楚^[98]。同时, 仍有一些功能蛋白的生理靶标未被发现。在拟南芥中过表达小麦 (*Triticum aestivum*) 的 BTB-MATH 蛋白 TaMAB (*triticum*

aestivum), 出现了多种表型的生理缺陷^[99], 其影响了细胞长度, 且与泛素共定位, 说明与 CUL3 E3 酶参与的泛素化过程有关, 因此可能与细胞骨架或者其他调节网络的蛋白互作, 但目前并未在拟南芥中发现特定的生理靶标^[100]。TaMAB2 在酵母异源系统中无法被识别, 是因为在 BTB 蛋白的扩张过程中, TaMAB2 可能发生了太大的变化, 也可能是因为受到翻译后修饰的限制, 这些修饰无法在酵母中发生或其互作蛋白无法进入酵母核。用于分析蛋白质相互作用的其他技术

的进步也有助于分析可能的体外相互作用或体内相互作用。除此之外, CUL3 的新作用正在被发现。最近的研究发现 BPM1 在 RNA 引导的 DNA 甲基化中的 1 种新的 CUL3 非依赖性作用, BPM1 可能促进 DNA 甲基化的活性^[101]。

综上所述, BTB 蛋白家族在植物泛素化介导的植物发育和逆境应答等过程中发挥着重要的作用, 但仍有一些问题有待探索, 相信随着研究的深入, 会发现 BTB 蛋白更多的功能以及更多的靶标, 推动植物相关领域的研究进程。

表 1 不同含 BTB 结构域的蛋白在植物不同泛素化过程中的作用

Table 1 Functions of various proteins containing the BTB domain in different ubiquitination processes in plants

| Adaptor name | Protein subfamily | Substrate | CUL3 E3 function | Physiological function | References |
|------------------------|-------------------|----------------|--|--|------------|
| BPMs | BTB-MATH | AtHB6 | CUL3 ^{BPM} targets AtHB6 for ubiquitylation and protein degradation | Negatively regulates ABA signaling | [19] |
| | BTB-MATH | PP2Cs | CUL3 ^{BPM3/5} targets PP2Cs for degradation in the nucleus | Positively regulates ABA signaling | [20] |
| | BTB-MATH | WR1 | CUL3 ^{BPM} targets ethylene reaction transcription factors WR1 for degradation | Affects <i>Arabidopsis</i> fatty acid metabolism and seed development | [21] |
| | BTB-MATH | DREB2A | CUL3 ^{BPM2/4} negatively regulates heat stress by promoting the degradation of DREB2A | Negatively regulates heat stress response and prevents accumulation of excess DREB2A | [22] |
| | BTB-MATH | MYC2/MYC3/MYC4 | CUL3 ^{BPM} can promote degradation of MYC2, MYC3, and MYC4, which are regulators fine-tune jasmonate defense and plant growth | Reset the signal and prevent the harmful JA reaction from getting out of hand | [24] |
| | BTB-MATH | RRTF1 | CUL3 ^{BPM} promotes RRTF1 degradation | Affects JA signaling and promotes the secretion of CouAgm | [25] |
| | BTB-MATH | MYB56 MYB106 | CUL3 ^{BPM} targets MYB56 and MYB106 for degradation | Promotes flowering | [26,28] |
| ETO1/ EOL1/ EOL2 | BTB-TPR | ACSs | ETO1 inhibits the activity of ACS5 by directly binding the enzyme, it promotes the degradation of ACS5 by interacting with CUL3 as well EOL1 and EOL2 also contribute to ACS degeneration | Negatively regulates ethylene production | [31-35] |
| NPR3/ NPR4 | BTB-ankyrin | EDS1 | NPR3/NPR4 recruit NPR1 to CUL3 for degradation. NPR3/NPR4 can also promote the degradation of EDS1 | Negatively regulate plant immunity | [45] |

(待续)

(续表 1)

| Adaptor name | Protein subfamily | Substrate | CRL3 E3 function | Physiological function | References |
|-----------------------|-------------------|---|---|---|------------|
| NPR1 | BTB-ankyrin | EDS1 WRKY54/70 | NPR1 can promote the degradation of EDS1 and WRKY54/70 | Promote cell survival during EIT | [46] |
| BOP1/2 | BTB-ANK | LFY | BOP1/2 promotes ubiquitylation of LFY <i>in vitro</i> and also regulates LFY activity, and contributes to the stability of LFY <i>in vivo</i> | Promotes flower development | [47] |
| | BTB-ANK | PIF4 | BOPs promote ubiquitylation of PIF4 <i>in vitro</i> | Promotes photomorphogenesis and modulates thermomorphogenesis | [90] |
| MdBT2 | BTB-TAZ | MdbHLH104/Mdb HLH93/MdMYB23 | MdBT2 can interact with a variety of substrate proteins | Negatively regulates iron homeostasis, leaf senescence and cold stress | [51-53] |
| | BTB-TAZ | MdRGL3a | MdBT2 directly interacting with MdRGL3a | Promotes MdRGL3a ubiquitination and degradation in response to nitrate | [59] |
| | BTB-TAZ | MdNAC143 | MdBT2 interacts with the transcription factor MdNAC143 | Negative regulation of drought stress response | [61] |
| | BTB-TAZ | MdARF8/MdIAA3 | MdBT2 interacts directly with MdARF8 and MdIAA3 | Inhibits adventitious root formation | [63] |
| | BTB-TAZ | MdMYB1 | CUL3 ^{BT2} targets MdMYB1 for degradation | Promote the degradation of MdARFs and slightly promote the stability of MdIAA3 | [63] |
| | BTB-TAZ | MdMYB1 | CUL3 ^{BT2} targets MdMYB1 for degradation | Negatively regulate the biosynthesis of anthocyanins under nitrogen deficiency conditions | [64] |
| | BTB-TAZ | MdBZIP44\MdW RKY40\MdERF38 \MdTCP46 | CUL3 ^{BT2} targets them for degradation | Negatively regulate anthocyanin synthesis | [65-68] |
| | BTB-TAZ | MdBBX22 | CUL3 ^{BT2} targets MdBBX22 for degradation, inhibits the binding of MdBBX22 to MdHY5 | Negatively regulate anthocyanin synthesis | [70] |
| | BTB-TAZ | MdCOP1\MdMYB 2 | Promotes MdCOP1-mediated ubiquitination and degradation of MdMYB2 protein | Negatively regulate anthocyanin synthesis | [64,71] |
| | BTB-TAZ | GTE9/GTE 11 | CUL ^{BT2} ubiquitin ligase interacts with GTE9 and GTE11 | Regulation of 35S enhancer activity in <i>Arabidopsis</i> | [74-75] |
| NPH3 | BTB-NPH3 | PHOT1 | CRL3 ^{NPH3} promotes the degradation of PHOT1 | Regulates the blue light response | [85-86] |
| LRB1/2 | BTB-Kelch | PIF3/PhyB | CUL3 ^{LRB} mediates the degradation of both PIF3 and PhyB | Feedback regulation in response to red light | [89] |
| | BTB-Kelch | FRI | LRB1/LRB2 promote FRI degradation | Promote flowering | [92] |
| Skp1/ Elongin C | BTB-only | | Skp1 forms the structural link between CUL1 and substrate recognition proteins | Plays a role in ubiquitination and positive regulation of salt signaling | [94] |

REFERENCES

- [1] ZOLLMAN S, GODT D, PRIVÉ GG, COUDERC JL, LASKI FA. The BTB domain, found primarily in zinc finger proteins, defines an evolutionarily conserved family that includes several developmentally regulated genes in *Drosophila*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91(22): 10717-10721.
- [2] BARDWELL VJ, TREISMAN R. The POZ domain: a conserved protein-protein interaction motif[J]. Genes & Development, 1994, 8(14): 1664-1677.
- [3] GODT D, COUDERC J, CRAMTON S, LASKI F. Pattern formation in the limbs of *Drosophila*: bric à brac is expressed in both a gradient and a wave-like pattern and is required for specification and proper segmentation of the tarsus[J]. Development, 1993, 119(3): 799-812.
- [4] PEREZ-TORRADO R, YAMADA D, DEFOSSEZ PA. Born to bind: the BTB protein-protein interaction domain[J]. BioEssays, 2006, 28(12): 1194-1202.
- [5] CHAHARBAKHSI E, JEMC JC. Broad-complex, tramtrack, and bric-à-brac (BTB) proteins: critical regulators of development[J]. Genesis, 2016, 54(10): 505-518.
- [6] CHENG DJ, QIAN WL, MENG M, WANG YH, PENG J, XIA QY. Identification and expression profiling of the BTB domain-containing protein gene family in the silkworm, *Bombyx mori*[J]. International Journal of Genomics, 2014, 2014: 1-14.
- [7] STOGIOS PJ, DOWNS GS, JAUHAL JJS, NANDRA SK, PRIVÉ GG. Sequence and structural analysis of BTB domain proteins[J]. Genome Biology, 2005, 6(10): 1-18.
- [8] PETROSKI MD, DESHAIES RJ. Function and regulation of cullin-RING ubiquitin ligases[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2005, 6(1): 9-20.
- [9] HUA ZH, VIERSTRA RD. The cullin-RING ubiquitin-protein ligases[J]. Annual Review of Plant Biology, 2011, 62: 299-334.
- [10] JIN JP, CARDOZO T, LOVERING RC, ELLEDGE SJ, PAGANO M, HARPER JW. Systematic analysis and nomenclature of mammalian F-box proteins[J]. Genes & Development, 2004, 18(21): 2573-2580.
- [11] GAGNE JM, DOWNES BP, SHIU SH, DURSKI AM, VIERSTRA RD. The F-box subunit of the SCF E3 complex is encoded by a diverse superfamily of genes in *Arabidopsis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2002, 99(17): 11519-11524.
- [12] SARIKAS A, XU XS, FIELD LJ, PAN ZQ. The Cullin7 E3 ubiquitin ligase: a novel player in growth control[J]. Cell Cycle, 2008, 7(20): 3154-3161.
- [13] GIEFFERS C, SCHLEIFFER A, PETERS JM. Cullins and cell cycle control[J]. Protoplasma, 2000, 211(1/2): 20-28.
- [14] XU L, WEI Y, REBOUL J, VAGLIO P, SHIN TH, VIDAL M, ELLEDGE SJ, HARPER JW. BTB proteins are substrate-specific adaptors in an SCF-like modular ubiquitin ligase containing CUL-3[J]. Nature, 2003, 425(6955): 316-321.
- [15] PINTARD L, WILLIS JH, WILLEMS A, JOHNSON JL F, SRAYKO M, KURZ T, GLASER S, MAINS PE, TYERS M, BOWERMAN B, PETER M. The BTB protein MEL-26 is a substrate-specific adaptor of the CUL-3 ubiquitin-ligase[J]. Nature, 2003, 425(6955): 311-316.
- [16] PARK HH. Structure of TRAF family: current understanding of receptor recognition[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 1999.
- [17] GENSCHIK P, SUMARA I, LECHNER E. The emerging family of CULLIN3-RING ubiquitin ligases (CRL3s): cellular functions and disease implications[J]. The EMBO Journal, 2013, 32(17): 2307-2320.
- [18] GINGERICH DJ, GAGNE JM, SALTER DW, HELLMANN H, ESTELLE M, MA LG, VIERSTRA RD. Cullins 3a and 3b assemble with members of the broad complex/tramtrack/bric-a-brac (BTB) protein family to form essential ubiquitin-protein ligases (E3s) in *Arabidopsis*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(19): 18810-18821.
- [19] JULIAN J, COEGO A, LOZANO-JUSTE J, LECHNER E, WU Q, ZHANG X, MERILO E, BELDA-PALAZÓN B, PARK SY, CUTLER S, AN CC, GENSCHIK P, RODRIGUEZ PL. The MATH-BTB BPM3 and BPM5 subunits of Cullin3-RING E3 ubiquitin ligases target PP2CA and other clade A PP2Cs for degradation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116: 15725-15734.
- [20] LECHNER E, LEONHARDT N, EISLER H, PARMENTIER Y, ALIOUA M, JACQUET H, LEUNG J, GENSCHIK P. MATH/BTB CRL3 receptors target the homeodomain-leucine zipper ATHB6 to modulate abscisic acid signaling[J]. Developmental Cell, 2011, 21(6): 1116-1128.
- [21] CHEN L, LEE JH, WEBER H, TOHGE T, WITT S, ROJE S, FERNIE AR, HELLMANN H. *Arabidopsis*

- BPM proteins function as substrate adaptors to a CULLIN3-based E3 ligase to affect fatty acid metabolism in plants[J]. *The Plant Cell*, 2013, 25(6): 2253-2264.
- [22] MORIMOTO K, OHAMA N, KIDOKORO S, MIZOI J, TAKAHASHI F, TODAKA D, MOGAMI J, SATO H, QIN F, KIM JS, FUKAO Y, FUJIWARA M, SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. BPM-CUL3 E3 ligase modulates thermotolerance by facilitating negative regulatory domain-mediated degradation of DREB2A in *Arabidopsis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(40): E8528-E8536.
- [23] SWINNEN G, de MEYER M, POLLIER J, MOLINA-HIDALGO FJ, CEULEMANS E, VENEGAS-MOLINA J, de MILDE L, FERNÁNDEZ-CALVO P, RON M, PAUWELS L, GOOSSENS A. The basic-helix-loop-helix transcription factors MYC1 and MYC2 have a dual role in the regulation of constitutive and stress-inducible specialized metabolism in tomato[J]. *New Phytologist*, 2022, 236(3): 911-928.
- [24] CHICO JM, LECHNER E, FERNANDEZ-BARBERO G, CANIBANO E, GARCÍA-CASADO G, FRANCO-ZORRILLA JM, HAMMANN P, ZAMARREÑO AM, GARCÍA-MINA JM, RUBIO V, GENSHIK P, SOLANO R. CUL3^{BPM} E3 ubiquitin ligases regulate MYC2, MYC3, and MYC4 stability and JA responses[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(11): 6205-6215.
- [25] LI JB, MENG Y, ZHANG KX, LI Q, LI SJ, XU BL, GEORGIEV MI, ZHOU ML. Jasmonic acid-responsive RRTF1 transcription factor controls *DTX18* gene expression in hydroxycinnamic acid amide secretion[J]. *Plant Physiology*, 2021, 185(2): 369-384.
- [26] CHEN L, BERNHARDT A, LEE J, HELLMANN H. Identification of *Arabidopsis* MYB56 as a novel substrate for CRL3^{BPM} E3 ligases[J]. *Molecular Plant*, 2014: 242-250.
- [27] ŠKILJAICA A, LECHNER E, JAGIĆ M, MAJSEC K, MALENICA N, GENSHIK P, BAUER N. The protein turnover of *Arabidopsis* BPM1 is involved in regulation of flowering time and abiotic stress response[J]. *Plant Molecular Biology*, 2020, 102(4-5): 359-372.
- [28] HONG L, NIU FF, LIN YS, WANG S, CHEN LY, JIANG LW. MYB106 is a negative regulator and a substrate for CRL3^{BPM} E3 ligase in regulating flowering time in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2021, 63(6): 1104-1119.
- [29] CHEN LY, HELLMANN H. Plant E3 ligases: flexible enzymes in a sessile world[J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(5): 1388-1404.
- [30] BAN ZN, ESTELLE M. CUL3 E3 ligases in plant development and environmental response[J]. *Nature Plants*, 2021, 7(1): 6-16.
- [31] CHRISTIANS MJ, GINGERICH DJ, HANSEN M, BINDER BM, KIEBER JJ, VIERSTRA RD. The BTB ubiquitin ligases ETO1, EOL1 and EOL2 act collectively to regulate ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* by controlling type-2 ACC synthase levels[J]. *The Plant Journal*, 2009, 57(2): 332-345.
- [32] YOON GM, KIEBER JJ. ACC synthase and its cognate E3 ligase are inversely regulated by light[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2013, 8(12): e26478.
- [33] DU H, WU N, CUI F, YOU L, LI X, XIONG L. A homolog of ETHYLENE OVERPRODUCER, OsETOL1, differentially modulates drought and submergence tolerance in rice[J]. *The Plant Journal*, 2014, 78(5): 834-849.
- [34] WANG KLC, YOSHIDA H, LURIN C, ECKER JR. Regulation of ethylene gas biosynthesis by the *Arabidopsis* ETO1 protein[J]. *Nature*, 2004, 428(6986): 945-950.
- [35] THOMANN A, LECHNER E, HANSEN M, DUMBIAUSKAS E, PARMENTIER Y, KIEBER J, SCHERES B, GENSHIK P. *Arabidopsis* CULLIN3 genes regulate primary root growth and patterning by ethylene-dependent and -independent mechanisms[J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(1): e1000328.
- [36] ROCHON A, BOYLE P, WIGNES T, FOBERT PR, DESPRÉS C. The coactivator function of *Arabidopsis* NPR1 requires the core of its BTB/POZ domain and the oxidation of C-terminal cysteines[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(12): 3670-3685.
- [37] CAO H, GLAZEBROOK J, CLARKE JD, VOLKO S, DONG XN. The *Arabidopsis* NPR1 gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats[J]. *Cell*, 1997, 88(1): 57-63.
- [38] DELANEY TP, FRIEDRICH L, RYALS JA. *Arabidopsis* signal transduction mutant defective in chemically and biologically induced disease resistance[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(14):

- 6602-6606.
- [39] CAO H, BOWLING SA, GORDON AS, DONG X. Characterization of an *Arabidopsis* mutant that is nonresponsive to inducers of systemic acquired resistance[J]. *The Plant Cell*, 1994, 6(11): 1583-1592.
- [40] WU Y, ZHANG D, CHU JY, BOYLE P, WANG Y, BRINDLE ID, de LUCA V, DESPRÉS C. The *Arabidopsis* NPR1 protein is a receptor for the plant defense hormone salicylic acid[J]. *Cell Reports*, 2012, 1(6): 639-647.
- [41] WANG W, WITHERS J, LI H, ZWACK PJ, RUSNAC DV, SHI H, LIU LJ, YAN SP, HINDS TR, GUTTMAN M, DONG XN, ZHENG N. Structural basis of salicylic acid perception by *Arabidopsis* NPR proteins[J]. *Nature*, 2020, 586(7828): 311-316.
- [42] JIN HS, CHOI SM, KANG MJ, YUN SH, KWON DJ, NOH YS, NOH B. Salicylic acid-induced transcriptional reprogramming by the HAC-NPR1-TGA histone acetyltransferase complex in *Arabidopsis*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(22): 11712-11725.
- [43] CHEN J, MOHAN R, ZHANG YQ, LI M, CHEN H, PALMER IA, CHANG M, QI G, SPOEL SH, MENGISTE T, WANG DW, LIU FQ, FU ZQ. NPR1 promotes its own and target gene expression in plant defense by recruiting CDK8[J]. *Plant Physiology*, 2019, 181(1): 289-304.
- [44] FU ZQ, YAN SP, SALEH A, WANG W, RUBLE J, OKA N, MOHAN R, SPOEL SH, TADA Y, ZHENG N, DONG XN. NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants[J]. *Nature*, 2012, 486(7402): 228-232.
- [45] CHANG M, ZHAO JP, CHEN H, LI GY, CHEN J, LI M, PALMER IA, SONG JQ, ALFANO JR, LIU FQ, FU ZQ. PBS3 protects EDS1 from proteasome-mediated degradation in plant immunity[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(5): 678-688.
- [46] ZAVALIEV R, MOHAN R, CHEN TY, DONG XN. Formation of NPR1 condensates promotes cell survival during the plant immune response[J]. *Cell*, 2020, 182(5): 1093-1108.
- [47] CHAHTANE H, ZHANG B, NORBERG M, LEMASSON M, THÉVENON E, BAKÓ L, BENLLOCH R, HOLMLUND M, PARCY F, NILSSON O, VACHON G. LEAFY activity is post-transcriptionally regulated by BLADE ON PETIOLE2 and CULLIN3 in *Arabidopsis*[J]. *New Phytologist*, 2018, 220(2): 579-592.
- [48] ROBERT HS, QUINT A, BRAND D, VIVIAN-SMITH A, OFFRINGA R. BTB and TAZ domain scaffold proteins perform a crucial function in *Arabidopsis* development[J]. *The Plant Journal*, 2009, 58(1): 109-121.
- [49] DU LQ, POOVAIAH BW. A novel family of Ca²⁺/calmodulin-binding proteins involved in transcriptional regulation: interaction with fsh/Ring3 class transcription activators[J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 54(4): 549-569.
- [50] MANDADI KK, MISRA A, REN SX, MCKNIGHT TD. BT2, a BTB protein, mediates multiple responses to nutrients, stresses, and hormones in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(4): 1930-1939.
- [51] AN JP, ZHANG XW, BI SQ, YOU CX, WANG XF, HAO YJ. Mdb HLH 93, an apple activator regulating leaf senescence, is regulated by ABA and MdbT2 in antagonistic ways[J]. *New Phytologist*, 2019, 222(2): 735-751.
- [52] AN JP, LI R, QU FJ, YOU CX, WANG XF, HAO YJ. R2R3-MYB transcription factor MdMYB23 is involved in the cold tolerance and proanthocyanidin accumulation in apple[J]. *The Plant Journal*, 2018, 96(3): 562-577.
- [53] ZHAO Q, REN YR, WANG QJ, WANG XF, YOU CX, HAO YJ. Ubiquitination-related MdbT scaffold proteins target a bHLH transcription factor for iron homeostasis[J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(3): 1973-1988.
- [54] VIVIANA A, VIDAL ELENA A, TOMAS P, SIMÓN A, DELPHINE M, EMMANUEL G, GUTIÉRREZ RODRIGO A. Members of *BTB* gene family of scaffold proteins suppress nitrate uptake and nitrogen use efficiency[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(2): 1523-1532.
- [55] USADEL B, BLÄSING OE, GIBON Y, RETZLAFF K, HÖHNE M, GÜNTHER M, STITT M. Global transcript levels respond to small changes of the carbon status during progressive exhaustion of carbohydrates in *Arabidopsis* rosettes[J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(4): 1834-1861.
- [56] BLÄSING O, GIBON Y, GÜNTHER M, HÖHNE M, MORCUENDE R, OSUNA D, THIMM O, USADEL B, SCHEIBLE W, STITT M. Sugars and circadian regulation make major contributions to the global regulation of diurnal gene expression in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(12): 3257-3281.
- [57] WANG RC, TISCHNER R, GUTIÉRREZ R,

- HOFFMAN M, XING XJ, CHEN MS, CORUZZI G, CRAWFORD N. Genomic analysis of the nitrate response using a nitrate reductase-null mutant of *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2004, 136: 2512-2522.
- [58] SCHEIBLE WR, MORCUENDE R, CZECHOWSKI T, FRITZ C, OSUNA D, PALACIOS-ROJAS N, SCHINDELASCH D, THIMM O, UDVARDI MK, STITT M. Genome-wide reprogramming of primary and secondary metabolism, protein synthesis, cellular growth processes, and the regulatory infrastructure of *Arabidopsis* in response to nitrogen[J]. *Plant Physiology*, 2004, 136(1): 2483-2499.
- [59] REN YR, ZHAO Q, YANG YY, ZHANG R, WANG XF, ZHANG TE, YOU CX, HUO HQ, HAO YJ. Interaction of BTB-TAZ protein MdBT2 and DELLA protein MdRGL3a regulates nitrate-mediated plant growth[J]. *Plant Physiology*, 2021, 186(1): 750-766.
- [60] TRAN LS P, NAKASHIMA K, SAKUMA Y, SIMPSON SD, FUJITA Y, MARUYAMA K, FUJITA M, SEKI M, SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Isolation and functional analysis of *Arabidopsis* stress-inducible NAC transcription factors that bind to a drought-responsive *cis*-element in the early responsive to dehydration stress 1 promoter[J]. *The Plant Cell*, 2004, 16(9): 2481-2498.
- [61] JI XL, LI HL, QIAO ZW, ZHANG JC, SUN WJ, WANG CK, YANG K, YOU CX, HAO YJ. The BTB-TAZ protein MdBT2 negatively regulates the drought stress response by interacting with the transcription factor MdNAC143 in apple[J]. *Plant Science*, 2020, 301: 110689.
- [62] 陈西霞. 苹果 BTB 蛋白 MdBT2 与 MdNAC1 互作负调控铁离子稳态[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2022.
- CHEN XX. BTB protein MdBT2 interacts with MdNAC to negatively regulates iron homeostasis in apple[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [63] JI XL, LI HL, QIAO ZW, ZHANG JC, SUN WJ, YOU CX, HAO YJ, WANG XF. The BTB protein MdBT2 recruits auxin signaling components to regulate adventitious root formation in apple[J]. *Plant Physiology*, 2022, 189(2): 1005-1020.
- [64] WANG XF, AN JP, LIU X, SU L, YOU CX, HAO YJ. The nitrate-responsive protein MdBT2 regulates anthocyanin biosynthesis by interacting with the MdMYB1 transcription factor[J]. *Plant Physiology*, 2018, 178(2): 890-906.
- [65] AN JP, ZHANG XW, BI SQ, YOU CX, WANG XF, HAO YJ. The ERF transcription factor MdERF38 promotes drought stress-induced anthocyanin biosynthesis in apple[J]. *The Plant Journal*, 2020, 101(3): 573-589.
- [66] AN JP, LIU YJ, ZHANG XW, BI SQ, WANG XF, YOU CX, HAO YJ. Dynamic regulation of anthocyanin biosynthesis at different light intensities by the BT2-TCP46-MYB1 module in apple[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(10): 3094-3109.
- [67] AN JP, ZHANG XW, YOU CX, BI SQ, WANG XF, HAO YJ. MdWRKY 40 promotes wounding-induced anthocyanin biosynthesis in association with MdMYB 1 and undergoes MdBT 2-mediated degradation[J]. *New Phytologist*, 2019, 224(1): 380-395.
- [68] AN JP, YAO JF, XU RR, YOU CX, WANG XF, HAO YJ. Apple bZIP transcription factor MbZIP44 regulates abscisic acid-promoted anthocyanin accumulation[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2018, 41(11): 2678-2692.
- [69] GANGAPPA SN, BOTTO JF. The multifaceted roles of HY5 in plant growth and development[J]. *Molecular Plant*, 2016, 9(10): 1353-1365.
- [70] AN JP, WANG XF, ZHANG XW, BI SQ, YOU CX, HAO YJ. MdBBX 22 regulates UV-B-induced anthocyanin biosynthesis through regulating the function of MdHY5 and is targeted by MdBT2 for 26S proteasome-mediated degradation[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(12): 2231-2233.
- [71] KANG H, ZHANG TT, LI YY, KUI LW, ESPLEY RV, DU YP, GUAN QM, MA FW, HAO YJ, YOU CX, WANG XF. The apple BTB protein MdBT2 positively regulates MdCOP1 abundance to repress anthocyanin biosynthesis[J]. *Plant Physiology*, 2022, 190(1): 305-318.
- [72] REN YR, ZHAO Q, YANG YY, ZHANG TE, WANG XF, YOU CX, HAO YJ. The apple 14-3-3 protein MdGRF11 interacts with the BTB protein MdBT2 to regulate nitrate deficiency-induced anthocyanin accumulation[J]. *Horticulture Research*, 2021, 8(1): 22.
- [73] KELLER CK, RADWAN O. The functional role of 14-3-3 proteins in plant-stress interactions[J]. *i-ACES*, 2015, 1(2): 100-110.
- [74] IRIGOYEN S, RAMASAMY M, MISRA A, MCKNIGHT TD, MANDADI KK. A BTB-TAZ protein is required for gene activation by cauliflower

- mosaic virus 35S multimerized enhancers[J]. *Plant Physiology*, 2022, 188(1): 397-410.
- [75] MISRA A, MCKNIGHT TD, MANDADI KK. Bromodomain proteins GTE9 and GTE11 are essential for specific BT2-mediated sugar and ABA responses in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2018, 96(4/5): 393-402.
- [76] 刘玲玉, 李紫媛, 张思怡, 曹宏哲, 张康, 时翠平, 邢继红. 玉米 BTB-TAZ 蛋白与转录因子 ZmBET10 的互作分析[J]. *分子植物育种*, 2022: 1-11.
LIU LY, LI ZY, ZHANG SY, CAO HZ, ZHANG K, SHI CP, XING JH. Study on the interaction of transcription factors ZmBET10 with maize BTB-TAZ protein[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022: 1-11 (in Chinese).
- [77] 刘鹏飞, 张康, 李玉琦, 周帆, 白华, 藏金萍, 曹宏哲, 邢继红, 董金皋. 玉米 BTB 家族基因的鉴定与表达规律分析[J]. *植物病理学报*, 2021, 51(2): 268-281.
LIU PF, ZHANG K, LI YQ, ZHOU F, BAI H, (CANG/ZANG) JP, CAO HZ, XING JH, DONG JG. Identification and expression analysis of *BTB* family genes in *Zea mays*[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2021, 51(2): 268-281 (in Chinese).
- [78] LISCUM E, ASKINOSIE SK, LEUCHTMAN DL, MORROW J, WILLENBURG KT, COATS DR. Phototropism: growing towards an understanding of plant movement[J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(1): 38-55.
- [79] KEN HG, TSUCHIDA-MAYAMA T, YAMADA M, SAKAI T. *Arabidopsis* ROOT PHOTOTROPISM2 contributes to the adaptation to high-intensity light in phototropic responses[J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(4): 1098-1112.
- [80] CHRISTIE JM, SUETSUGU N, SULLIVAN S, WADA M. Shining light on the function of NPH3/RPT2-like proteins in phototropin signaling[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(2): 1015-1024.
- [81] SAKAI T, WADA T, ISHIGURO S, OKADA K. RPT2. A signal transducer of the phototropic response in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2000, 12(2): 225-236.
- [82] HUALA E, OELLER PW, LISCUM E, HAN IS, LARSEN E, BRIGGS WR. *Arabidopsis* NPH1: a protein kinase with a putative redox-sensing domain[J]. *Science*, 1997, 278(5346): 2120-2123.
- [83] BRIGGS WR, BECK CF, CASHMORE AR, CHRISTIE JM, HUGHES J, JARILLO JA, KAGAWA T, KANEGAE H, LISCUM E, NAGATANI A, OKADA K, SALOMON M, RUDIGER W, SAKAI T, TAKANO M, WADA M, WATSON JC. The phototropin family of photoreceptors[J]. *The Plant Cell*, 2001, 13(5): 993-997.
- [84] MOTCHOULSKI A, LISCUM E. *Arabidopsis* NPH3: a NPH1 photoreceptor-interacting protein essential for phototropism[J]. *Science*, 1999, 286(5441): 961-964.
- [85] DIANA R, PEDMALE ULLAS V, JOHANNA M, SHRIKESH S, ESTHER L, TANG XB, ZHENG N, MARK H, PASCAL G, EMMANUEL L. Modulation of phototropic responsiveness in *Arabidopsis* through ubiquitination of phototropin 1 by the CUL3-ring E3 ubiquitin ligase CRL3(NPH3)[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(10): 3627-3640.
- [86] BLAKESLEE JOSHUA J, ANINDITA B, ANN PW, MAKAM SRINIVAS N, MURPHY ANGUS S. Relocalization of the PIN1 auxin efflux facilitator plays a role in phototropic responses[J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(1): 28-31.
- [87] CHRISTIANS MATTHEW J, GINGERICH DEREK J, HUA ZH, LAUER TIMOTHY D, VIERSTRA RICHARD D. The light-response BTB1 and BTB2 proteins assemble nuclear ubiquitin ligases that modify phytochrome B and D signaling in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2012, 160(1): 118-134.
- [88] DEVIREDDY AR, LISCUM E, MITTLER R. Phytochrome B is required for systemic stomatal responses and reactive oxygen species signaling during light stress[J]. *Plant Physiology*, 2020, 184(3): 1563-1572.
- [89] NI WM, XU SL, TEPPERMAN JM, STANLEY DJ, MALTBY DA, GROSS JD, BURLINGAME AL, WANG ZY, QUAIL PH. A mutually assured destruction mechanism attenuates light signaling in *Arabidopsis*[J]. *Science*, 2014, 344(6188): 1160-1164.
- [90] ZHANG B, HOLMLUND M, LORRAIN S, NORBERG M, BAKO L, FANKHAUSER C, NILSSON O. BLADE-ON-PETIOLE proteins act in an E3 ubiquitin ligase complex to regulate PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4 abundance[J]. *Elife*, 2017, 6: e26759.
- [91] SCHON M, BAXTER C, XU C, ENUGUTTI B, NODINE MD, DEAN C. Antagonistic activities of cotranscriptional regulators within an early developmental window set FLC expression level[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2021, 118(17): e2102753118.
- [92] HU XY, KONG XX, WANG CT, MA L, ZHAO JJ, WEI JJ, ZHANG XM, LOAKE GJ, ZHANG TC, HUANG JL, YANG YP. Proteasome-mediated

- degradation of FRIGIDA modulates flowering time in *Arabidopsis* during vernalization[J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(12): 4763-4781.
- [93] LI JH, SU XX, WANG YL, YANG W, PAN Y, SU CG, ZHANG XG. Genome-wide identification and expression analysis of the BTB domain-containing protein gene family in tomato[J]. *Genes and Genomics*, 2018, 40(1): 1-15.
- [94] WAN X, PENG L, XIONG J, LI XY, WANG JM, LI XF, YANG Y. AtSIBP1, a novel BTB domain-containing protein, positively regulates salt signaling in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plants*, 2019, 8(12): 573.
- [95] MARIANAYAGAM NJ, SUNDE M, MATTHEWS JM. The power of two: protein dimerization in biology[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2004, 29(11): 618-625.
- [96] KWOK C, ZEISIG BB, DONG S, SO CWE. Forced homo-oligomerization of RAR α leads to transformation of primary hematopoietic cells[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(2): 95-108.
- [97] LIN RJ, NAGY L, INOUE S, SHAO W, MILLER WH, EVANS RM. Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukaemia[J]. *Nature*, 1998, 391(6669): 811-814.
- [98] ZHAO MW, GE Y, XU ZY, OUYANG X, JIA YL, LIU JT, ZHANG MX, AN YY. A BTB/POZ domain-containing protein negatively regulates plant immunity in *Nicotiana benthamiana*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2022, 600: 54-59.
- [99] BAUER N, ŠKILJAICA A, MALENICA N, RAZDOROV G, KLASIĆ M, JURANIĆ M, MOČIBOB M, SPRUNCK S, DRESSELHAUS T, LELJAK LEVANIĆ D. The MATH-BTB protein TaMAB2 accumulates in ubiquitin-containing foci and interacts with the translation initiation machinery in *Arabidopsis*[J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1469.
- [100] ŠKILJAICA A. The role of MATH-BTB family proteins TaMAB2 and AtBPM1 in plant development and stress response[D]. Croatia, Zagreb: University of Zagreb, 2022.
- [101] JAGIĆ M, VUK T, ŠKILJAICA A, MARKULIN L, VIČIĆ BOČKOR V, TOKIĆ M, MIŠKEC K, RAZDOROV G, HABAZIN S, ŠOŠTAR M, WEBER I, BAUER N, LELJAK LEVANIĆ D. BPM1 regulates RdDM-mediated DNA methylation via a cullin 3 independent mechanism[J]. *Plant Cell Reports*, 2022, 41(11): 2139-2157.

(本文责编 陈宏宇)