

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2019.02.029

26S 蛋白酶体调控微管蛋白的降解

潘婷¹, 杨慕童², 刘阳轩¹, 孙秀强¹, 涂升斌¹, Jan Smalle³, 汪松虎^{1,4}

(1. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041; 2. 成都七中高 2017 级五班, 成都 610041;

3. 美国肯塔基大学, 美国肯塔基州莱克星顿, 40546; 4. 中国科学院东南亚生物多样性研究中心, 缅甸内比都 05282)

摘要: 为了探究微管蛋白在植物细胞中的降解机制, 本文利用微管解聚药物、蛋白酶体抑制剂 MG132 结合遗传学和分子生物学等体内体外研究技术发现微管蛋白 TUA 和 TUB 是通过泛素化/26S 蛋白酶体途径降解的, 同时在 26S 蛋白酶体调节亚基 RPN10 突变体 *rpn10-1* 的植株中, TUA 的降解与野生型相比没有显著差别, 但是 TUB 的降解在突变体中被严重削弱, 使得 TUB 在突变体中过量积累. 此外, 在突变体中分别过量表达 TUA 和 TUB, 对转基因植株鉴定表明过量表达 TUA 促进突变体根的生长而过量表达 TUB 严重抑制了突变体的生长, 说明在突变体中 TUA/TUB 的比例是失衡的, 过量的 TUB 蛋白对植物的生长是不利的. 以上结果表明, 26S 蛋白酶体可以调控微管蛋白 TUA 和 TUB 的降解, 蛋白酶体调控亚基 RPN10 可以通过调控 TUB 的稳定性来影响植物的生长和发育.

关键词: 微管; 26S 蛋白酶体; 蛋白质降解; 拟南芥

中图分类号: Q519 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2019)02-0351-06

26S proteasome regulates the degradation of microtubule

PAN Ting¹, YANG Mu-Tong², LIU Yang-Xuan¹, SUN Xiu-Qiang¹, TU Sheng-Bin¹,
JAN Smalle³, WANG Song-Hu^{1,4}

(1. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China; 2. Chengdu NO. 7 High School, Class Five of 2017, Chengdu 610041, China; 3. University of Kentucky, Lexington, KY 40546, USA; 4. Southeast Asia Biodiversity Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Yezin, Nay Pyi Taw 05282, Myanmar)

Abstract: To analyze the degradation mechanism of microtubules protein in the plant cell, we used anti-MT, proteasome inhibitor MG132 combining the in vivo and in vitro techniques of genetics and plant molecular biology to reveal that the degradation of TUA and TUB was mediated by the ubiquitin/26S proteasome. Our results indicated that in the loss-of-function mutant *rpn10-1* of regulatory subunit RPN10 of the 26S proteasome, the degradation of TUB was impaired while that of TUA was not affected, as compared with wild type plants. Meanwhile, overexpression of TUA in mutant *rpn10-1* increased the root length while overexpression of TUB inhibited root elongation of *rpn10-1* and the ratio of TUA to TUB were an imbalance in mutant *rpn10-1*, which suppressed the root growth. Together, our results indicated that 26S proteasome is required for the degradation of tubulins (TUA and TUB) and RPN10 can influence plant growth by regulating protein stability of TUB.

Keywords: Microtubule; 26S proteasome; Protein degradation; *Arabidopsis*

收稿日期: 2018-02-28

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0100201); 四川省国际合作项目(2017HH0025); 中国科学院东南亚生物多样性研究中心(Y4ZK111B01); 四川省千人计划项目

作者简介: 潘婷(1989-), 女, 汉族, 博士研究生, 研究方向植物遗传与分子生物学. E-mail: panting@cib.ac.cn

通讯作者: 汪松虎. E-mail: wangsh1@cib.ac.cn

1 引言

泛素/26S 蛋白酶体系统(Ubiquitin/26S Proteasome System, UPS)通过控制大多数蛋白质的降解速度来调控生物体内最基本的细胞生命活动^[1]. UPS 只要由泛素蛋白(Ubiquitin, Ub)、E1(Ub 活化酶)、E2(Ub 结合酶)、E3(Ub 蛋白质连接酶)、DUB(Ub-C 末端水解酶)和 26S 蛋白酶体(26S Proteasome)组成. 泛素蛋白是一个可重复利用的识别靶蛋白的标记信号, Ub 聚合体通过 E1、E2 和 E3 的酶接合级联反应与靶蛋白共价结合, 并将靶蛋白运输至 26S 蛋白酶体并导致降解, 同时 Ub 被释放出来^[2]. 26S 蛋白酶体是一种高度保守且依赖 ATP 的复合酶, 由一个圆柱形的 20S 核心颗粒(20S core particle, CP)和两个 V 形的 19S 调节颗粒(regulatory particle, RP)所组成^[3]. 20S 的核心颗粒是一种不依赖 ATP 和泛素的蛋白酶, 由 A 和 B 两种亚基组成, 19S 的调节颗粒赋予 26S 蛋白酶体 ATP 依赖性和底物特异性. 19S 调节颗粒由至少 19 个蛋白亚基构成, 还可进一步将其分为盖部(Lid)和基部(Base)两个亚复合体, Lid 执行去泛化的功能, Base 的主要功能是利用 ATP 水解提供能量, 对切掉泛素链的蛋白质底物进行去折叠并转运至 20S 核心颗粒中进行降解.

在模式植物拟南芥中, 通常利用蛋白酶体调控亚基的突变体和蛋白酶体抑制剂来研究蛋白酶体特异识别的靶蛋白及其参与调控的途径^[4]. 19S 调节颗粒非 ATP 水解酶亚基(RP non-ATPase subunits, RPNs)主要负责识别被降解的靶蛋白, 对调节颗粒亚基 RPN10 和 RPN1a 功能缺失突变体 *rpn10-1* 和 *rpn1a-4* 的研究表明 26S 蛋白酶体降解系统不仅在植物细胞的分裂与增殖、植物激素信号传导、配子体发育等过程起着重要作用, 而且与野生型相比较, 蛋白酶体突变体具有较强的抗氧化性, 较差的抗高温和盐胁迫的能力^[4-8].

MG132 是一种常见的、有效、可逆的醛基肽类特异性蛋白酶体抑制剂, 它能阻止 26S 蛋白酶体对泛素化靶蛋白的降解, 抑制 20S 蛋白酶体中类糜蛋白酶(chymotrypsin-like, Ch TL)活性, 从而影响泛素-蛋白酶体通路^[9]. 利用 MG132 研究发现 UPS 参与调控一些微管(Microtubules, MT)介导的生命过程^[10-13], 但是目前具体的机制还不清楚. 微管是一种具有极性的细胞骨架, 在维持细胞形态与结构、调节细胞分裂与定向延伸中担负着许多重

要的生理功能^[14]. 微管由 α 、 β 微管蛋白异二聚体组成的一种中空管状结构, α -微管蛋白(α -tubulin)和 β -微管蛋白(β -tubulin)分别用 TUA 和 TUB 来表示. 微管具有正负两端: 聚合速度较快解离速度较慢的称为正端(+), 而聚合速度较慢解离速度较快的称为(-)负端. 在正负两端 α/β -异源二聚体的聚合和解聚就形成了微管骨架的动态性变化. 微管的动态性依赖于细胞中一定数量的游离的 α/β -异源二聚体以及形成二聚体的 TUA 和 TUB 的正确折叠和组装^[15]. 微管蛋白的正确折叠离不开微管蛋白折叠协同因子(Tubulin-folding cofactors, TFCs), 微管蛋白折叠协同因子 A(TFC A)的缺失突变导致植物细胞内 TUA 和 TUB 比例的不平衡, 从而影响了植株的生长和发育^[16], 说明 TUA/TUB 的比例对维持微管的正常功能以及植物正常生长发育是至关重要的.

尽管已有研究表明一些微管结合蛋白(Microtubule-associated proteins, MAPs)是通过 UPS 途径降解的^[17], 但是在植物细胞中微管蛋白 TUA 和 TUB 是如何被降解的, 目前还不清楚. 本研究结果表明微管蛋白也是通过 26S 蛋白酶体途径降解的.

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 植物材料 拟南芥种子种植在 MS/2 含 1% 蔗糖培养基中. 持续光照, 光照强度 $140 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温室温度 $22 \text{ }^\circ\text{C}$, 相对湿度 60%. 蛋白酶体亚基突变 *rpn10-1* 由美国肯塔基大学(University of Kentucky) Jan Smalle 实验室友情赠送, GFP-TUA6 和 GFP-TUB6 转基因植株来自 TAIR 网站(<http://www.arabidopsis.org>).

2.1.2 主要化学试剂 翻译抑制剂放线菌酮(Cycloheximide, CHX)、微管解聚药物氨磺乐灵(Oryzalin)和炔苯酰草胺(Propyzamide)以及促进微管聚合药物紫杉醇(Taxol)均购自 Sigma 公司. 蛋白酶体抑制剂 MG132 来自恩佐生命科学.

2.2 方法

2.2.1 样品处理方法 样品处理所需所有药物配置成 1000 倍储存液. MG132、CHX、和 Propyzamide 被溶解在 DMSO 中, Oryzalin 溶解在 100% 乙醇中. 所有拟南芥种子经表明消毒后放置在含 MS/2 培养基的平板中萌发 6 d, 再将幼苗转移至包含不同药物的 MS/2 液体培养基中处理过

夜(16 h).

2.2.2 免疫印迹分析 对 12 后处理的拟南芥种子和 15 d 生长在平板上的拟南芥种子称重, 放置到 1.5 mL 的离心管中, 利用液氮进行磨碎后, 加入蛋白 $2 \times$ loading buffer. 提取的总蛋白, 利用 SDS-PAGE 进行蛋白大小的分离, 对于 RPN1 蛋白的分析中配置 8% 的分离胶, 对于其他蛋白的分析均配置 10% 的分离胶. 抗体 Anti-TUA 和 Anti-TUB 和二抗购自 Santa Cruz Biotechnology, Inc 公司, 谷氨酸合成酶(GS)抗体购买自 Agrisera AB 公司.

3 结果与分析

3.1 微管解聚药物处理诱导微管蛋白的泛素化降解

在液体 MS/2 液体培养基中添加微管解聚药物 Oryzalin ($20 \mu\text{M}$) 和 Propyzamide ($30 \mu\text{M}$) 以及微管稳定药物 Taxol ($10 \mu\text{M}$), 将野生型拟南芥萌发 12 天的幼苗放入添加药物和不添加药物 (Control) 的培养基中过夜处理 (约 16 h), 然后提取总蛋白, 利用 Western-blot 技术对 TUA 和 TUB 蛋白的丰度进行检测. 如图 1 左侧所示, 和对照 (图 1 中“C”) 相比, 微管解聚药物 Oryzalin 和 Propyzamide 处理显著降低微管蛋白 TUA 和 TUB 的丰度, 而微管稳定药物 Taxol 对微管蛋白的丰度没有显著影响, 说明解聚药物加速微管蛋白的降解. 同时, 另一组相似处理中添加了蛋白酶体抑制剂 MG132 (图 1 右侧), 结果表明 MG132 可以抑制解聚药物诱导的蛋白丰度降低, 说明 TUA 和 TUB 的降解是通过泛素蛋白酶体的.

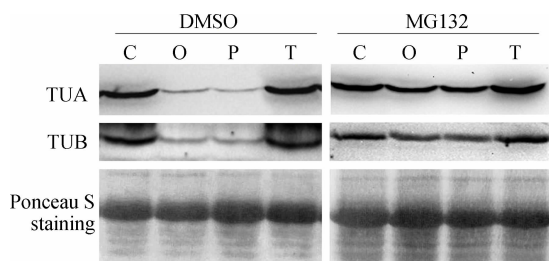


图 1 微管解聚药物加速 TUA 和 TUB 蛋白的降解
Fig. 1 The MT-disrupting drugs lead to proteasome-mediated degradation of TUA and TUB

Wild type (Col-0) seedlings were treated in the liquid MS/2 media without (C: control) and with MT-disrupting drugs (O: Oryzalin $20 \mu\text{M}$; P: Propyzamide $30 \mu\text{M}$ and T: Taxol $10 \mu\text{M}$) and proteasome inhibitor MG132 ($200 \mu\text{M}$) for overnight. The protein abundance of TUA and TUB were checked by Western-blot with anti-TUA and anti-TUB antibodies. The Ponceau S staining indicated the equal loading of total proteins.

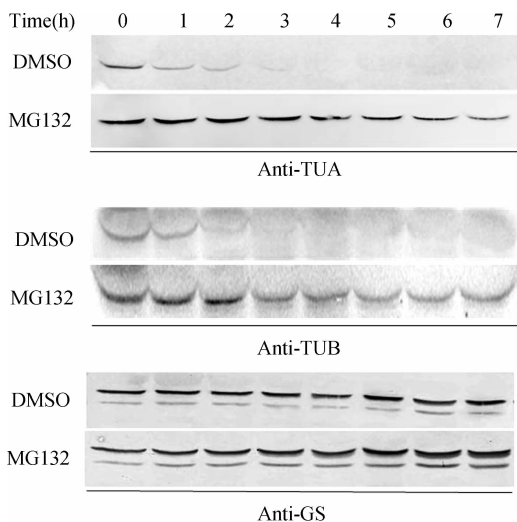


图 2 微管蛋白在无细胞检测系统中的降解

Fig. 2 The degradation of tubulins in cell-free assay system

The total proteins of wild type seedlings were extracted to set up cell-free assay systems with DMSO or MG132. The samples from 0 to 7 h were analyzed by western-blot with anti-TUA, anti-TUB, and anti-GS antibodies.

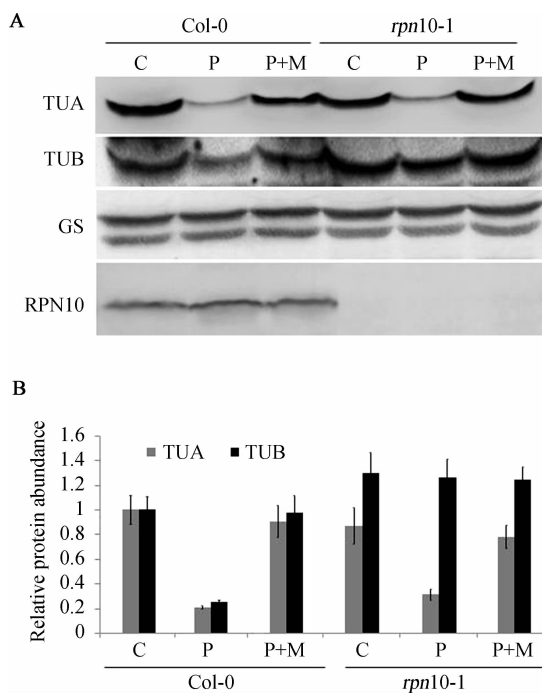


图 3 RPN10 的缺失突变导致 TUB 的降解被抑制
Fig. 3 The degradation of TUB was impaired in *rpn10-1* mutant

(A) Wild type (Col-0) and mutant *rpn10-1* seedlings were treated in the liquid MS/2 media without (C: control) and with MT-disrupting drugs $30 \mu\text{M}$ Propyzamide (P) and proteasome inhibitor $200 \mu\text{M}$ MG132 (M) for overnight. The protein abundance of TUA, TUB and GS were checked by Western-blot. (B) The relative protein abundance was quantitatively measured from three repeated experiments of (A) by software ImageJ.

为了排除基因转录水平对蛋白丰度的影响, 我们利用“无细胞检测系统”(Cell-free assay system,

CHX)来进一步研究确认微管蛋白的降解^[18].将野生型拟南芥植株制备成无细胞检测系统,系统添加翻译抑制剂放线菌酮(CHX)以抑制新蛋白的合成,同时将系统分成两份,一份加入蛋白酶体抑制剂 MG132,一份加入 DMS O 作为对照,然后分别在 0~7 h 取样,进行 Western-blot 分析,检查 TUA 和 TUB 蛋白的丰度.检测结果如图 2 所示,TUA 和 TUB 蛋白在 4 h 时就已经完全降解,而添加了 MG132 以后,微管蛋白在 7 h 后还是稳定的(图 2).谷氨酸合成酶(GS)不是 26S 蛋白酶体降解的靶蛋白^[19],在有或无 MG132 处理的系统里都是很稳定的(图 2).这些结果进一步说明微管蛋白是通过蛋白酶体进行降解的.

3.2 蛋白酶体调控亚基 RPN10 影响微管蛋白的降解

我们又利用前文介绍过的方法,用微管解聚药物(Propyzamide)和 MG132 处理野生型 Col-0 和蛋白酶体调控亚基 RPN10 缺失突变体 *rpn10-1* 的幼苗,Western-blot 结果表明,在 *rpn10-1* 突变

体中,微管药物诱导的 TUA 蛋白的降解与野生型没有显著差异,但是微管药物诱导的 TUB 的降解在 *rpn10-1* 突变体中却被抑制了(图 3A 和 3B),说明 RPN10 亚基的缺失对 TUA 的降解没有显著的影响,但是却抑制了 TUB 的泛素化降解.此外,与野生型相比,TUA/TUB 蛋白的比率发生了变化(图 3B),说明蛋白酶体调控亚基 RPN10 对维持微管蛋白 TUA 和 TUB 的比率也是至关重要的.

3.3 在 *rpn10-1* 中过表达 Tubulins 影响植株的发育

为了进一步验证在 *rpn10-1* 突变体中 TUA 和 TUB 比例失调对发育的影响,我们分别将 GFP-TUB 和 GFP-TUA 过表达的植株与 *rpn10-1* 进行杂交.分离得到混合体之后分别命名为 *rpn10-1*/GFP-TUA 和 *rpn10-1*/GFP-TUB,利用 anti-GFP 抗体进行 Western-blot 检测证明(图 4A) GFP-TUA 和 GFP-TUB 确实在 *rpn10-1* 突变体中稳定表达.

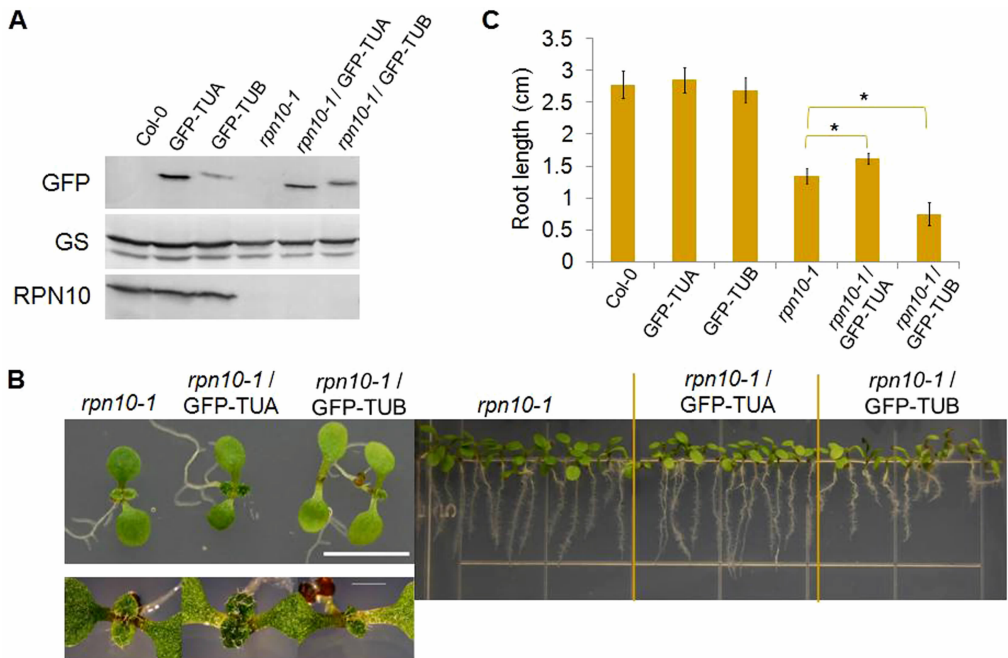


图 4 过量表达 TUA 和 TUB 对 *rpn10-1* 突变体的生长发育产生不同的影响

Fig. 4 Overexpression of TUA and TUB caused different effects on development of *rpn10-1* mutant
(A) Western-blot analysis of transgenic plants with anti-GFP and anti-GS antibodies. (B) The phenotype of 7-day-old seedlings of *rpn10-1*, *rpn10-1*/GFP-TUA 和 *rpn10-1*/GFP-TUB. (C) Quantitative measurement of primary root length of 7-day-old seedlings of Col-0, *rpn10-1* and the plants transformed with GFP-TUA and GFP-TUB.

将 *rpn10-1*、*rpn10-1*/GFP-TUA 和 *rpn10-1*/GFP-TUB 的种子在 MS/2 培养基中萌发 7 d 后发现,*rpn10-1*/GFP-TUB 幼苗子叶颜色更浅,真叶和根的生长更慢(图 4B).定量测量根长后发现,

rpn10-1/GFP-TUB 幼苗的根长比 *rpn10-1* 的更短,而 *rpn10-1*/GFP-TUA 的根却比 *rpn10-1* 的根生长的更快(图 4C),在野生型的背景下,过量表达 GFP-TUA 或 GFP-TUB 对幼苗的根的长度没

有显著的影响(图 4C). 这些结果表明, 在 *rpn10-1* 突变体中过量表达 GFP-TUB 显著影响了植株的发育和生长, 很可能是因为导致了突变体内 TUA/TUB 比例的进一步失衡.

4 讨 论

微管动态组织行为容易受到药物影响. 微管骨架解聚和聚合药物不仅能够用来探究微管骨架空间动态组合方式, 也具有较大的实用性应用. 目前, 微管靶蛋白合成物被用来治疗癌症和寄生虫感染^[20]. 很多植物微管解聚化合物是有效的除草剂 Oryzalin 是农业中常用的一种除草剂, 被用来控制一年生杂草和一些阔叶杂草再生. Oryzalin 与 TUA 的某个位点结合, 阻碍 TUA 与 TUB 形成异源二聚体^[21], 从而导致微管解聚. Propyzamide 一种酰胺类除草剂, 能够与 TUB 微管蛋白结合, 诱导微管解聚^[22]. 低浓度的 Oryzalin 和 Propyzamide 能够改变微管动态稳定性^[23]. 紫杉醇(Taxol)通过与微管蛋白上 GTP 水解位点附近的位点特异性结合, 增强 GTP 的作用, 促进微管蛋白的聚合活性, 稳定微管结构. 本实验发现, 经过 Oryzalin 和 Propyzamide 处理的拟南芥幼苗, 与未经处理的对照组相比, TUA 和 TUB 微管蛋白的含量显著降低, 说明微管骨架经 Oryzalin 和 Propyzamide 处理后, 解聚的微管蛋白加速了 TUA 和 TUB 的降解速度, Cell-free 系统也证明了蛋白含量的降低不是因为表达水平的降低, 而是蛋白的降解加剧.

MG132 是一种常用的蛋白酶体抑制剂, 可以抑制泛素-蛋白酶体途径(UPPs)中起主要催化作用蛋白酶体的催化活性, 从而阻断了 UPS 对异常蛋白的降解. 本实验发现, 加入 MG132 的处理液, 通过 Western blot 检测 TUA 和 TUB 蛋白质的表达量, 结果分析, MG132 的加入抑制了 TUA 和 TUB 的降解, 说明 TUA 和 TUB 可能是通过泛素化/蛋白酶体途径降解的, 与已知的微管结合蛋白 SPR1 的降解途径一致^[24]. 已有研究表明渗透胁迫可以诱导 TUA 的快速磷酸化^[25], 磷酸化修饰不就是诱导蛋白降解的信号还有待进一步证实.

已有的研究表明, 在拟南芥 26S 蛋白酶体 RP 亚基 RPN1a、RPN10 和 RPN12a 突变体中, 某些蛋白酶体靶蛋白的降解受到了影响, 从而改变了植株的生长发育、对激素的敏感性和对非生物胁迫的应答^[26]. 其中对 *rpn10-1* 的突变体研究较为深入, 研究表明, ABI5 是通过蛋白酶体途径降解的,

ABI5 的降解在 *rpn10-1* 突变体中被显著抑制, 从而使突变体对 ABA 非常敏感. 此外, 该突变体与野生型植株相比, 发育较为缓慢, 根的长度比野生型短(图 4C), 但此发育上的表型的具体原因目前并不清楚. 我们的研究表明, 在 *rpn10-1* 突变体中, TUA 的降解与野生型相比没有明显差异, 但是 TUB 的降解被严重抑制了(图 3A 和 3B), 突变体内存在更多的 TUB 蛋白, 这不仅说明 RPN10 亚基对 TUB 的降解至关重要, 而且也表明 TUA/TUB 的比例在突变体中是失衡的, 这可能就是突变体生长发育延迟的一部分原因, 因为以前的研究已经表明过量的 TUB 的存在对植物的生长发育是不利^[16]. 我们通过在突变体中过量表达 GFP-TUA 和 GFP-TUB 可以发现, 过量表达 GFP-TUB 进一步抑制了突变体的生长和发育, 而过来表达 GFP-TUA 可以一定程度上缓解突变发育迟缓的表型, 这些实验结果也说明了突变体内 TUA/TUB 的比例是失衡, 并影响了植株的生长和发育.

微管蛋白的正确折叠离不开微管蛋白折叠协同因子(Tubulin-folding cofactors, TFCs), 微管蛋白折叠协同因子 A(TFC A)的缺失突变影响 TUA 的正确折叠, 导致有活性的 TUA 减少, 相对的 TUB 蛋白的含量就增加, 这种 TUA/TUB 比例的不平衡, 影响了植株的生长和发育^[16]. 我们的研究表明, 除了在蛋白合成阶段严格调控 TUA/TUB 蛋白的比例, 植物也可以通过控制 TUA 和 TUB 的降解来维持 TUA/TUB 的平衡, 保持微管的动态性和植株的正常生长和发育.

参考文献:

- [1] Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system [J]. Annu Rev Biochem, 1998, 67: 79.
- [2] Glickman M H. Getting in and out of the proteasome [J]. Semin Cell Dev Biol, 2000, 11: 58.
- [3] Kurepa J, Smalle J A. Structure, function and regulation of plant proteasomes [J]. Biochimie, 2008, 90: 35.
- [4] Kurepa J, Smalle J A. Structure, function and regulation of plant proteasomes [J]. Biochimie, 2008, 90: 35.
- [5] Kurepa J, Toh-E A, Smalle J A. 26S proteasome regulatory particle mutants have increased oxidative stress tolerance [J]. Plant J, 2008, 53: 14.
- [6] Kurepa J, Wang S, Li Y, *et al.* Proteasome regulation, plant growth and stress tolerance [J]. Plant

- Signal Behav, 2009, 4: 7.
- [7] Kurepa J, Wang S, Li Y, *et al.* Loss of 26S proteasome function leads to increased cell size and decreased cell number in *Arabidopsis* shoot organs [J]. Plant Physiol, 2009, 150: 89.
- [8] Wang S H, Kurepa J, Smalle J A. The arabidopsis 26S proteasome subunit RPN1a is required for optimal plant growth and stress responses [J]. Plant Cell Physiol, 2009, 50: 5.
- [9] Lee D H, Goldberg A L. Proteasome inhibitors: valuable new tools for cell biologists [J]. Trends Cell Biol, 1998, 8: 397.
- [10] Yanagawa Y, Hasezawa S, Kumagai F, *et al.* Cell-cycle dependent dynamic change of 26S proteasome distribution in tobacco BY-2 cells [J]. Plant Cell Physiol, 2002, 43: 13.
- [11] Oka M, Yanagawa Y, Asada T, *et al.* Inhibition of proteasome by MG-132 treatment causes extra phragmoplast formation and cortical microtubule disorganization during M/G₁ transition in synchronized tobacco cells [J]. Plant Cell Physiol, 2004, 45: 1623.
- [12] Sheng X, Hu Z, Lü H, *et al.* Roles of the ubiquitin/proteasome pathway in pollen tube growth with emphasis on MG132-induced alterations in ultrastructure, cytoskeleton, and cell wall components [J]. Plant Physiol, 2006, 141: 90.
- [13] Wang S, Kurepa J, Smalle J A. Ultra-small TiO₂ nanoparticles disrupt microtubular networks in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Environ, 2011, 34: 20.
- [14] Nogales E. Structural insights into microtubule function [J]. Annu Rev Bioph Biom, 2001, 30: 397.
- [15] Gu Y, Deng Z P, Paredez A R, *et al.* Prefoldin 6 is required for normal microtubule dynamics and organization in *Arabidopsis* [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2008, 105: 9.
- [16] Kirik V, Grini P E, Mathur J, *et al.* The Arabidopsis tubulin-folding cofactor A gene is involved in the control of the alpha/beta-tubulin monomer balance [J]. The Plant cell, 2002, 14: 76.
- [17] Wang S H, Kurepa J, Hashimoto T, *et al.* Salt stress-induced disassembly of arabidopsis cortical microtubule arrays involves 26S proteasome-dependent degradation of SPIRAL1 [J]. The Plant cell, 2011, 23: 27.
- [18] Wang F, Zhu D, Huang X, *et al.* Biochemical insights on degradation of *Arabidopsis* DELLA proteins gained from a cell-free assay system [J]. Plant Cell, 2009, 21: 2378.
- [19] Kurepa J, Karangwa C, Duke L S, *et al.* *Arabidopsis* sensitivity to protein synthesis inhibitors depends on 26S proteasome activity [J]. Plant Cell Rep, 2010, 29: 59.
- [20] Jordan A, Hadfield J A, Lawrence N J, *et al.* Tubulin as a target for anticancer drugs: agents which interact with the mitotic spindle [J]. Med Res Rev, 1998, 18: 96.
- [21] Blume Y B, Nyporko A Y, Yemets A I, *et al.* Structural modeling of the interaction of plant α -tubulin with dinitroaniline and phosphoramidate herbicides [J]. Cell Biol Int, 2003, 27: 4.
- [22] Young D H, Lewandowski V T. Covalent binding of the benzamide RH-4032 to tubulin in suspension-cultured tobacco cells and its application in a cell-based competitive-binding assay [J]. Plant Physiol, 2000, 124: 24.
- [23] Nakamura M, Naoi K, Shoji T, *et al.* Low concentrations of propyzamide and oryzalin alter microtubule dynamics in arabidopsis epidermal cells [J]. Plant Cell Physiol, 2004, 45: 4.
- [24] Wang S, Kurepa J, Smalle J A. The *Arabidopsis* 26S proteasome subunit RPN1a is required for optimal plant growth and stress responses [J]. Plant Cell Physiol, 2009, 50: 5.
- [25] Ban Y, Kobayashi Y, Hara T, *et al.* α -tubulin is rapidly phosphorylated in response to hyperosmotic stress in rice and *Arabidopsis* [J]. Plant Cell Physiol, 2013, 54: 58.
- [26] Kurepa J, Tohe A, Smalle J A. 26S proteasome regulatory particle mutants have increased oxidative stress tolerance [J]. Plant J, 2008, 53: 14.

引用本文格式:

中文: 潘婷, 杨慕童, 刘阳轩, 等. 26S 蛋白酶体调控微管蛋白的降解 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2019, 56: 351.

英文: Pan T, Yang M T, Liu Y X, *et al.* 26S proteasome regulates the degradation of microtubule [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2019, 56: 351.