

DOI: 10.11931/guiahia.gxzw201312016

储士润,徐德林,张林,等.千里光 $\alpha$ 输入蛋白( $\alpha$ -Importin)的序列特征、结构与功能分析[J].广西植物,2015,35(5):748—754Chu SR, Xu DL, Zhang L, et al. Functional analysis of  $\alpha$ -Importin in *Senecio scandens*, based on sequence and putative structural domain[J]. Guihaia, 2015, 35(5): 748—754

# 千里光 $\alpha$ 输入蛋白( $\alpha$ -Importin)的序列特征、结构与功能分析

储士润<sup>1</sup>,徐德林<sup>1</sup>,张林<sup>1</sup>,乔晓颖<sup>2</sup>,罗绍媛<sup>2</sup>,钱刚<sup>1\*</sup>

(1. 遵义医学院细胞生物学与遗传学教研室,贵州遵义 563099; 2. 遵义医学院第一临床学院,贵州遵义 563099)

**摘要:**  $\alpha$ 输入蛋白存在于胞质溶胶中,是核孔转运复合体的重要组成部分,与核定位信号结合,通过受体介导蛋白物质转入和转出,在此过程中起连接器的作用。该研究以千里光全长cDNA文库为基础,对 $\alpha$ 输入蛋白的序列、结构、性质和功能进行了分析,并在千里光 $\alpha$ 输入蛋白核苷酸序列的基础上,采用生物信息学软件,分析 $\alpha$ 输入蛋白的氨基酸序列结构和基因进化树,得到了 $\alpha$ 输入蛋白的一级、二级、三级等结构和结构域特征,以此为依据,系统分析千里光 $\alpha$ 输入蛋白的理化性质、结构和功能。结果表明:千里光 $\alpha$ 输入蛋白基因编码529个氨基酸,与烟草(GenBank登录号:ABM05487.1)的同源性最高,为84%;蛋白质分子量58.46 kDa,理论等电点5.08;二级结构由 $\alpha$ 螺旋、无规则卷曲和延伸主链构成;高级结构域由IBB和ARM结构构成;三级结构是4个功能结构域构成的空间立体结构。此外,还发现千里光 $\alpha$ 输入蛋白具有调控激素反应、传输信号、细胞生长、信息转录和转录调控功能的概率较高,推测可能与细胞非凋亡性死亡、抗病性防御反应、激素受体反应以及基因转录调控表达密切相关。该研究结果可为其他物种 $\alpha$ 输入蛋白结构与功能关系的分析提供参考。

**关键词:** 千里光; $\alpha$ -Importin; 序列分析; 结构预测

中图分类号: Q949.783 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2015)05-0748-07

# Functional analysis of $\alpha$ -Importin in *Senecio scandens*, based on sequence and putative structural domain

CHU Shi-Run<sup>1</sup>, XU De-Lin<sup>1</sup>, ZHANG Lin<sup>1</sup>, QIAO Xiao-Ying<sup>2</sup>, LUO Shao-Yuan<sup>2</sup>, QIAN Gang<sup>1\*</sup>

(1. Department of Cell Biology and Genetics, Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China;

2. The First Clinical Institute of Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China)

**Abstract:** Alpha Importin is located in cytosolic space and is an important part of nuclear pore complex (NPC). After integrating with nuclear localization signal (NLS), it plays an essential role in mediating proteins' nucleocytoplasmic transporting as a connector. In the current study, to systematically explore the properties of physicochemical, sequence structure, function and the relationships between structural domain and its function of  $\alpha$ -Importin, its nucleotide sequence was selected from a former constructed full-length cDNA library in *Senecio scandens* for probing its sequence features and composition, and gene's function by applying a series of bioinformatics software. The structure properties of primary, secondary, domain and tertiary of the amino acid sequence were analyzed, too. And the phylogenetic relationships among  $\alpha$ -Importin of *S. scandens* with other species were also constructed. These exploration found that this gene encoded a length of 529 amino acid polypeptide with the calculated molecular weight of 58.46

收稿日期: 2014-10-20 修回日期: 2014-12-16

基金项目: 贵州省优秀科技教育人才省长基金(黔省专合字2008-61号);遵义医学院博士启动基金(F-567)。

作者简介: 储士润(1988-),男,安徽六安霍山县人,硕士研究生,研究方向为药用植物分子遗传学,(E-mail)loveliyqiong2013@163.com。

\*通讯作者: 钱刚,博士,教授,研究方向为药用植物分子遗传学,(E-mail)pengjiaqiong@163.com。

kDa, and its theoretical isoelectric point was 5.08. It shared 84.0% identity with tobacco  $\alpha$ -Importin gene (GenBank ID: ABM05487.1) by amino acid sequence alignment. The structure analysis showed its secondary structure was composed of  $\alpha$  helix protein, a random coil and an extended main-chain. The function domain probing found the target gene was composed domains of IBB and ARM. While its three-dimensional structure was mainly consisted of four structural domains. In conclusion, this study found that the function of this  $\alpha$ -Importin gene was regulation of hormone secretion, a signal transducer, growth factor, transcription and transcription regulation with higher rank of probability ratio. The current study also founded that this  $\alpha$ -Importin gene could play important roles in many biology processes such as non-apoptotic programmed cell death, defence response of higher plants against pathogens, hormone receptor effect and gene transcription reactions and expression. According to the exploring of the properties of gene sequences, structure and function of  $\alpha$ -Importin in *S. scandens*, this paper would provide a reference for similar analysis of the relationship between the structure and function of  $\alpha$ -Importin genes in other species.

**Key words:** *Senecio scandens*;  $\alpha$ -Importin; sequence analyzing; structure prediction

在真核细胞内,  $\alpha$  输入蛋白( $\alpha$ -Importin)参与了绝大多数具有核定位信号(classical nuclear localization signal, cNLS)功能蛋白质的核质间转运过程,也是核膜物质转运的重要工具,在被转运的亲核蛋白与核孔复合体运输装置之间作为一种衔接体蛋白而起作用,将在细胞质中结合的蛋白转运到核内。其作用方式有三个方面:(1)本身是核孔复合体的组分之一,结合亲核蛋白直接转运到核内;(2)作为一种锚泊受体(docking receptor),在细胞质内与cNLS结合,然后把亲核蛋白运输到核孔复合体再向核内转运;(3)作为一种穿梭受体,在细胞质内与亲核蛋白结合,一起穿过核孔复合体,在核内解离,然后再返回细胞质。 $\alpha$  输入蛋白是一个至少有8个亚型的螺旋分子,基于他们氨基酸序列的相似性,可以分为三个不同系统发育的亚型( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 和  $\alpha$ 3)。亚型  $\alpha$ 1 包含 Importin  $\alpha$ 5、Importin  $\alpha$ 6、Importin  $\alpha$ 7; 亚型  $\alpha$ 2 包含 Importin  $\alpha$ 1 和 Importin  $\alpha$ 8; 亚型  $\alpha$ 3 包含 Importin  $\alpha$ 3 和 Importin  $\alpha$ 4, 这些亚型具有50%的同源性。相对于特定底物,不同的 Importin  $\alpha$  亚型在它们的核质转运效率以及不同组织和细胞中显示出独特的表达模式,其功能取决于细胞的状态、新陈代谢过程和分化阶段(成钢等,2010; Nalani *et al.*, 2013)。不同  $\alpha$  输入蛋白有各自独特的 cNLS 结合特点,一个  $\alpha$  输入蛋白可以结合不同类型的 cNLS,且他们的表达水平在蛋白质和 mRNA 不同的组织中具有选择性(高英等,2010; 尹超等,2013)。因此,有关  $\alpha$  输入蛋白序列特征、结构与功能关系的分析有待于进一步研究。

目前,在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)中已有关于  $\alpha$  输入蛋白功能的报道(Jiang *et al.*, 1998; Bhattacharjee

*et al.*, 2008);但在其它高等植物中,基于  $\alpha$  输入蛋白的性质结构、功能及进化关系的研究还十分有限。千里光(*Senecio scandens*)是菊科千里光属植物,是我国一种传统的中草药,有清热解毒、散血消肿之功效,代表性植物是四川三尖千里光(彭玉兰等,2009)。本研究从构建的千里光全长 cDNA 文库中分离出  $\alpha$ -Importin,分析其序列和结构特征及其功能,并在分子水平上对千里光  $\alpha$  输入蛋白的结构、核输入功能和功能机制的基础进行了研究,为阐明  $\alpha$  输入蛋白的细胞生物学功能和遗传进化作用奠定了理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料为千里光(SC-36)资源,系本课题组人员采自贵州省遵义市境内的野生种。

### 1.2 方法

1.2.1 千里光全长 cDNA 文库 提取千里光叶片组织的总 RNA 是依据 RNA 提取试剂盒的说明书,采用 SMART 方法构建了千里光的全长 cDNA 文库(平军娇等,2012),随机挑选阳性克隆进行测序(华大基因)。

1.2.2  $\alpha$  输入蛋白序列的生物信息及功能分析 据测序结果,在 NCBI(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>)上进行 Blastp 核苷酸序列比对,用 ORF finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>)确定开放阅读框;用 DNAMAN 软件进行多物种氨基酸序列比对;用 Expasy Protparam (<http://web.expasy.org/protparam/>)软件分析  $\alpha$  输入蛋白的分子量、等电点和氨基酸成分组成;使用

在线工具 Psort(<http://psort.hgc.jp/form.html>)预测 $\alpha$ 输入蛋白亚细胞定位;采用 ProtFun2.2 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/ProtFun/>) 在线工具预测千里光 $\alpha$ 输入蛋白的功能分类;使用在线工具 Prosise(<http://prosite.expasy.org/>)对 $\alpha$ 输入蛋白进行生物单位聚合体、配体结构的一级结构分析;使用在线工具 SOPM([http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=npsa\\_sopm.html](http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopm.html))对 $\alpha$ 输入蛋白进行二级结构分析;通过 NCBI 数据库 GenBank 和 Conserved domains 分析蛋白质保守结构域;采用 Swiss-model (<http://swissmodel.expasy.org/workspace/index>) 软件利用同源建模原理对 $\alpha$ 输入蛋白进行三维结构及结构域预测;使用 MEGA5.02 软件邻接法(Neighbor joining)构建系统进化树。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\alpha$ 输入蛋白氨基酸序列分析和系统发育分析

通过对克隆文库进行测序获得千里光 $\alpha$ 输入蛋白基因的全长 cDNA 序列,去除载体及冗余序列后通过 NCBI 的 Blastp 比对分析发现 $\alpha$ 输入蛋白的核苷酸序列与本氏烟(*Nicotiana benthamiana*) Importin $\alpha$ 2(GenBank ID: ABM05488.1)的同源性最高,为 84.0%;通过 ORF finder 对目的序列进行分析,结果表明该序列全长 1 590 bp,包含一个完整的读码框,编码含 529 个氨基酸残基的多肽。采用 Prosise 分析发现 $\alpha$ 输入蛋白有 1 个 IBB(Importin $\beta$  Binding profile) 和 4 个重复 ARM (Armadillo profile) 配置序列,如表 1 所示。

根据基因特征序列和保守基序,将千里光的 $\alpha$ -Importin 氨基酸序列在 GenBank 数据库进行检索,用 MEGA 软件构建物种间系统进化树,Bootstrap 方法试验引导复制次数 1 000,遗传距离标尺为 0.02。分析结果显示,千里光 $\alpha$ 输入蛋白基因与番茄和本氏烟同处一个分支,序列同源性达 87.0%,与拟南芥、筷子芥、甜椒、可可树的距离较远(图 1)。

### 2.2 $\alpha$ 输入蛋白理化性质

依据软件 Protparam 对千里光 $\alpha$ 输入蛋白基因所编码的 529 个氨基酸序列的在线分析结果, $\alpha$ 输入蛋白的分子量为 58.46 kDa,理论等电点 pI 为 5.08;该蛋白由 20 种氨基酸组成,Ala、Leu 和 Val 含量较高,其中 Leu 含量最高,达 11.5%,不含 Pyl

表 1  $\alpha$ 输入蛋白氨基酸序列  
Table 1 Amino acid sequence of  $\alpha$ -Importin

名称 Apellation	氨基酸序列 Amino acid sequence	氨基酸位置 Amino acid position
IBB	—	1~58
ARM	MSLRPSARTDVRSSRYK-VAV- DAEGERRRREDNMVIEIRKTR- REENILKKRREGLQAAQQF GVVPRFVEFLARED- YPQLQFEAAWALTNIASGTS- DNTKVVIDHG GAVPIFKVLLSFPSD- DVREQAVWALGNVAGDSP- KCRDLVLVSYG PALPALAHLIHTND-EEVLT- DACWALSYLSDTND- KIQAVIEAG GIVSPLVALLQSAEF- EIKKEAAWAISNAT	115~158 158~200 242~284 369~397

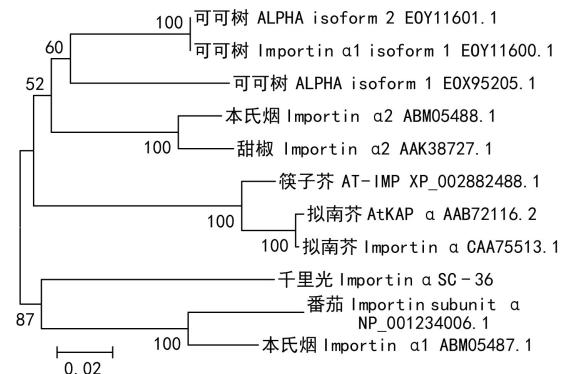


图 1  $\alpha$ 输入蛋白基因序列进化树分析  
Fig. 1 Analysis of phylogenetic tree of  $\alpha$ -Importin

和 Sec;原子组成为 C<sub>2589</sub>H<sub>4163</sub>N<sub>717</sub>O<sub>792</sub>S<sub>14</sub>;带负电荷残基(Asp+Glu)总数量 73 个,带正电荷残基(Arg+Lys)总数量 58 个;不稳定系数为 46.60,表明 $\alpha$ 输入蛋白状态不稳定;脂溶指数为 99.53;总平均疏水指数为 -0.203。

### 2.3 $\alpha$ 输入蛋白亚细胞定位

使用在线工具 Psort 对千里光 $\alpha$ 输入蛋白亚细胞定位进行分析,结果如表 2 所示, $\alpha$ 输入蛋白主要定位于线粒体基质空间、细胞核、线粒体膜、线粒体膜间空间中。

### 2.4 $\alpha$ 输入蛋白功能预测分析

利用 ProtFun 2.2 预测千里光 $\alpha$ 输入蛋白的功能,结果见表 3。由表 3 可知, $\alpha$ 输入蛋白在激素反应、信号传输、细胞生长、信息转录和转录调控等方面的功能的概率较高,依次为 0.632、0.545、0.373、0.261、0.261。

### 2.5 二级结构预测

用在线工具 SPOM 对千里光 $\alpha$ 输入蛋白进行

表2  $\alpha$ 输入蛋白亚细胞定位预测结果Table 2 Prediction results of subcellular localization of  $\alpha$ -Importin

亚细胞定位 Subcellular localization	概率 Odds
线粒体基质空间 Mitochondrial matrix space	0.849
细胞核 Nucleus	0.844
线粒体膜 Mitochondrial inner membrane	0.532
线粒体膜间空间 Mitochondrial intermembrane space	0.532

表3  $\alpha$ 输入蛋白功能分析Table 3 Functional analysis of  $\alpha$ -Importin

功能分类 Gene ontology category	产物 Prod	概率 Odds
信号转导 Signal transducer	0.117	0.545
受体 Receptor	0.004	0.022
荷尔蒙 Hormone	0.004	0.632
结构蛋白 Structural protein	0.003	0.125
运载体 Transporter	0.025	0.229
离子通道 Ion channel	0.013	0.220
电压门控离子通道 Voltage gated ion channel	0.004	0.201
阳离子通道 Cation channel	0.010	0.216
转录 Transcription	0.033	0.261
转录调控 Transcription regulation	0.033	0.261
胁迫应答 Stress response	0.021	0.237
免疫应答 Immune response	0.013	0.153
生长因子 Growth factor	0.005	0.373

二级结构分析,结果见图2。 $\alpha$ 输入蛋白的二级结构中, $\alpha$ 螺旋结构(Alpha helix)为52.17%,线性结构(Extended strand)为14.37%, $\beta$ 折叠结构(Beta-turn)为6.99%,卷曲结构(Random coil)为26.47%。由此可知, $\alpha$ 螺旋结构、无规则卷曲和线性结构是该蛋白质二级结构的主要组成部分。

## 2.6 $\alpha$ 输入蛋白高级结构、结构域分析及其功能预测

在线工具Prosite分析发现 $\alpha$ 输入蛋白具有5个结构域1个IBB结构和4个重复的ARM结构(图3:a);在NCBI上利用Conserved domains工具进行保守区分析,发现 $\alpha$ 输入蛋白具有4个结构功能域(图3:b):1个IBB结构和3个重复的ARM结构,属于多结构域家族SRP1(System Response Patterns, SRP)。IBB结构域介导Importin $\alpha$ 、Importin $\beta$ 复合物的形成,是经典的NLS(Nuclear localization signal, NLS)的蛋白质通过核孔复合体跨过核膜进入细胞核,ARM是一个约40个氨基酸长的串联犰狳蛋白样重复序列首次在果蝇中发现,重复牵连的ARM结构介导蛋白质-蛋白质相互作用,也是相关热结构域的重复。采用Prosite分析核出口复杂装配的结构基础(图3:c,d),发现 $\alpha$ 输入蛋白

白属于基本的生物单位聚合体,三磷酸鸟苷、镁离子、GTP结合核蛋白、 $\alpha$ 输入蛋白亚基、再出口 $\alpha$ 输入蛋白共同组成聚合体。

基于同源建模原理,通过SWISS-MODEL软件得到 $\alpha$ 输入蛋白的三维结构模型(图3:e,f),分析出 $\alpha$ 输入蛋白的QMEAN4模型数据(表4)。从表4可以看出,得到的三维结构模型具有可靠性。

表4  $\alpha$ 输入蛋白的QMEAN4值Table 4 QMEAN4 global scores of  $\alpha$ -Importin

计分功能 Scoring function	原始分数 Raw score	Z分数 Z-score
C $\beta$ 相互作用能 C beta interaction energy	-376.93	2.90
所有原子成对能 All-atom pairwise energy	-17 710.01	1.89
溶剂化能 Solvation energy	-56.54	0.88
扭转角能 Torsion angle energy	-41.02	-3.47
Qmean 评分 Qmean score	0.633	-2.15

## 3 讨论与结论

我们发现千里光 $\alpha$ 输入蛋白也有保守的特异序列和较高的同源性。经核苷酸序列、氨基酸序列分析知,千里光 $\alpha$ 输入蛋白Importin $\alpha$ 与本氏烟、拟南芥、筷子芥、本氏烟、可可树、川椒、番茄的氨基酸序列同源性很高,均在82%以上;由千里光 $\alpha$ 输入蛋白基本生物单位组成和蛋白质一级结构分析得 $\alpha$ 输入蛋白固定的含有1个IBB和4个ARM配置序列(表1)。Sundy *et al.*(2010)和Sachan *et al.*(2013)等报道由 $\alpha$ 输入蛋白的不同选择序列非常相似的亚科Importin $\alpha$ 1和Importin $\alpha$ 5,研究表明这两个旁系同源Importin $\alpha$ 任何功能上的差异不会导致在主要的核定位信息分析结合位点识别特异性的差异。由此可见, $\alpha$ 输入蛋白基因是有很高的同源性的。MEGA5.02软件构建的 $\alpha$ 输入蛋白系统进化树(图1)。由千里光 $\alpha$ 输入蛋白保守的配置序列和其他构建的系统进化树可以看出,千里光 $\alpha$ 输入蛋白与本氏烟Importin $\alpha$ 1亲缘关系最近,与可可树、甜椒拟南芥亲缘关系较远。

核输入信号(nuclear import signal, NIS)指导蛋白质从细胞质经核孔复合体输入到细胞核内,起分拣信号功能。NIS一般由4~8个氨基酸组成,含有脯氨酸、赖氨酸和精氨酸,由表1可知,千里光 $\alpha$ 输入蛋白ARM结构域中就含有PALPAL序列,其氨基酸序列分析发现第3~5位氨基酸即是L、R和P,结合上述内容可认为千里光 $\alpha$ 输入蛋白含核输

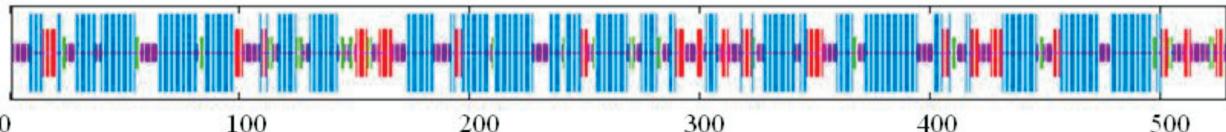


图 2  $\alpha$  输入蛋白二级结构分析 横轴表示氨基酸位置；蓝色表示  $\alpha$ -螺旋；红色表示无规则卷曲。

Fig. 2 Analysis of secondary structure of  $\alpha$ -Importin Horizontal axis indicates amino acid site; Blue indicates alpha helix; Red indicates random curl.

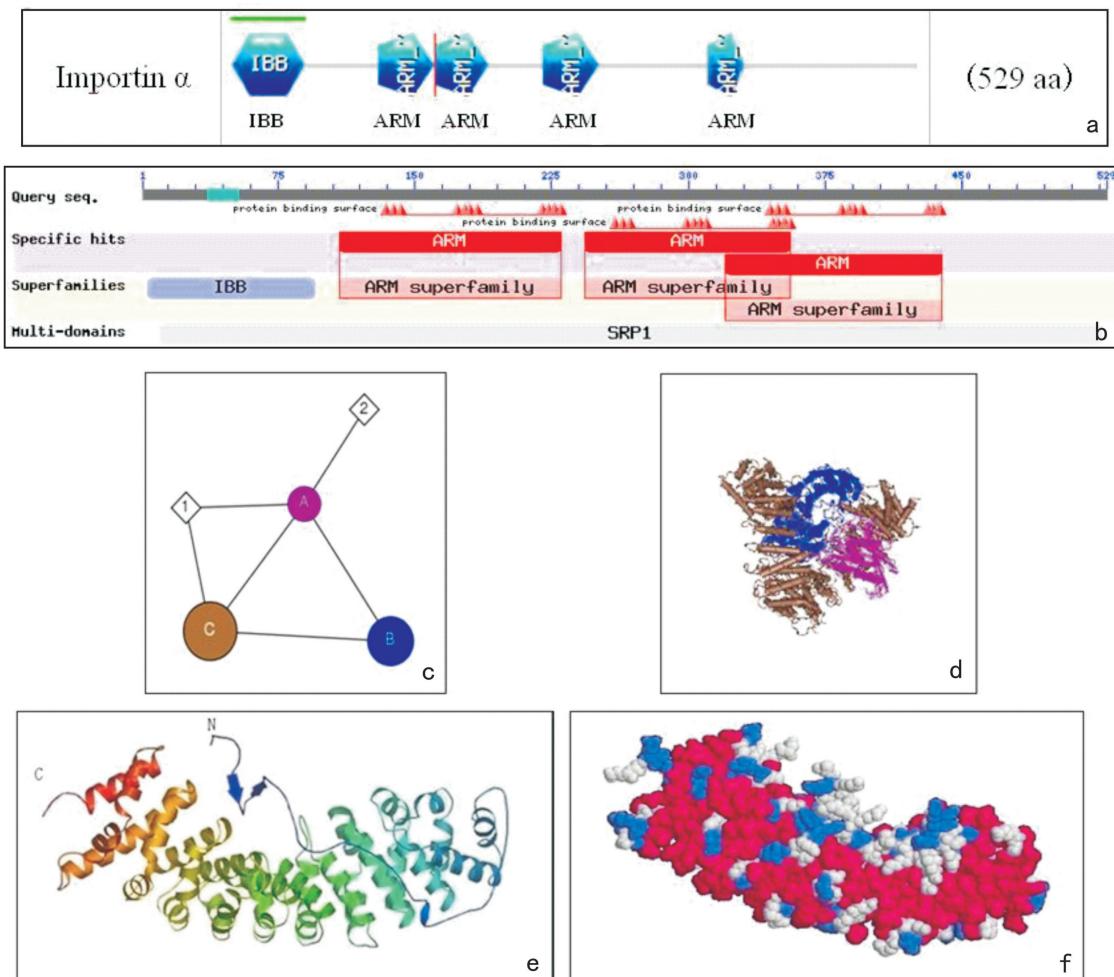


图 3  $\alpha$  输入蛋白保守域预测与高级结构 a. 用 Prosite 分析出的结构域；b. 用 Conserved domains 预测的结构域；c. 用 Prosite 分析出的核出口装配基础结构：Guanosine-5'-Triphosphate； $Mg^{2+}$  (Magnesium Ion) Gtp-binding Nuclear Protein Ran；Importin Alpha Subunit；Importin Alpha Re-exporter；d. 用 Prosite 分析核出口装配结构的螺旋模型；e. 螺旋结构模型；f. 球形结构模型。

Fig. 3 Conserved domain prediction and advanced structure of  $\alpha$ -Importin a. Analysis of the domain of Importin  $\alpha$  with Prosite; b. Forecast of the domain of Importin  $\alpha$  with conserved domains; c. Analysis of nuclear export assembly infrastructure of Importin  $\alpha$  with Prosite; Guanosine-5'-Triphosphate ;  $Mg^{2+}$  (Magnesium Ion) Gtp-binding Nuclear Protein Ran; Importin Alpha Subunit; Importin Alpha Re-exporter; d. Analysis of nuclear export assembly infrastructure of Importin  $\alpha$  helices model with Prosite; e. Helices model of Importin  $\alpha$ ; f. Ball model of Importin  $\alpha$ .

入信号。 $\alpha$  输入蛋白向细胞核的输入过程可能如下(图 3:c, d):  $\alpha$  输入蛋白和 Importin  $\beta$  连接, 完成 NLS 受体结合; 货物和受体的结合体与核孔复合体细胞质环上的纤维结合; 纤维向核弯曲, 转运器构象

发生改变, 形成亲水通道, 运载物通过; 运载物受体结合体与 Ran-GTP 结合, 结合体解散, 释放出运载物; 与 Ran-GTP 结合的 Importin  $\beta$ , 输出细胞核, 在细胞质中 Ran 结合的 GTP 水解, Ran-GDP 返回细

胞核重新转换为 Ran-GTP;  $\alpha$  输入蛋白在核内核输出蛋白的帮助下运回细胞质(Chang *et al.*, 2013)。 $\alpha$  输入蛋白又有核定位信号,由此更加说明千里光的  $\alpha$  输入蛋白作为运输蛋白,可以往返细胞核和细胞质的功能。由亚细胞定位分析结果可知,千里光  $\alpha$  输入蛋白主要定位于线粒体和细胞核中特别在线粒体中定位最多(表 2),推测千里光  $\alpha$  输入蛋白与线粒体能量转换功能、亲核蛋白入核出核功能以及作为分子伴侣蛋白协助核编码蛋白进入线粒体等功能相关密切。由功能分类的预测结果,推测出千里光  $\alpha$  输入蛋白具有激素反应、信号转导、细胞生长以及基因转录调控表达的功能的可能性较高,分别为 0.632、0.545、0.373 和 0.261(表 3)。Rashid *et al.*(2011)发现 C2C12 细胞的 E47 有类似  $\alpha$  输入蛋白蛋白核进口特点,  $\alpha$  输入蛋白和 E47 同属于合作伙伴转录因子。Rachel *et al.*(2009)研究表明 Importin  $\alpha$  明确的和 NLS 结合存在胞质尾的 NR1-1a 的 NMDA(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体亚基上,而这种结合的存在使  $\alpha$  输入蛋白的特定结构与 PSD(postsynaptic density, PSD)相互作用形成有序的信号转导将不同的胞外刺激转化为特定的胞内信号。因此,我们推测千里光  $\alpha$  输入蛋白参与细胞激素与受体相互作用而导致环化酶的激活,激素受体、调节蛋白质和环化酶可能通过在脂膜内的流动而彼此靠拢,环化酶激活后该体系能降低受体和激素的亲和力,促使复合体解离。Yoichi *et al.*(2012) 和 Yoshinari *et al.*(2012) 研究发现, Importin  $\alpha$  扮演一个转录因子的消除器,该蛋白阻止 STK35(Serine Threonine Kinase 35, STK35) 核心启动子的抑制,导致 STK35 活性增强;揭示了通过重新分配  $\alpha$  输入蛋白入核,细胞在应激状态下减少细胞内的 ATP,从而引起非凋亡性细胞死亡。

由高级结构、结构域分析及其功能预测结果可知,Conserved domains 分析发现千里光  $\alpha$  输入蛋白是由 1 个 IBB 结构和 3 个重复的 ARM 结构;Prosite 分析发现千里光  $\alpha$  输入蛋白是由 1 个 IBB 结构和 4 个重复的 ARM 结构有差异(图 3:a,b)。推测可能是  $\alpha$  输入蛋白在遗传衍化中的功能结构变化较小,各  $\alpha$  输入蛋白间氨基酸序列相类似,而且主要结合位点有差异以及蛋白在不同组织中有选择性,造成功能结构域有差异。本研究发现该蛋白 C 端与 Importin  $\beta$  相互作用和 Importin  $\beta$  形成同源二聚体共同调解核蛋白质的进口,使基板的核定位信

号定位在进口,还可以调节的蛋白质降解中发挥作用。由此推测千里光  $\alpha$  输入蛋白较高的敏感性引起细胞具有抗病性防御反应、应对外界环境调节等功能的可能性很高。Kristoffer *et al.*(2005)研究发现  $\alpha$  输入蛋白是参与植物体拟南芥防御反应的必须组分;Kodiha *et al.*(2008)研究表明,  $\alpha$  输入蛋白及一些核孔蛋白在氧化刺激下可引起核内滞留形成核内高分子量复合物,随着氧化刺激强度增加形成核内高分子量复合物量也增加。Furuta *et al.*(2004)研究发现,热刺激可导致  $\alpha$  输入蛋白核内蓄积、滞留及循环受阻,因而造成核质物质运输抑制,这种反应可能是细胞适应外界环境变化新的调节机制。由此我们推测,  $\alpha$  输入蛋白的高级结构和功能域很可能影响调节着高等植物蛋白质入核,参与细胞抗病性防御反应并应对外界环境的调节。

结合  $\alpha$  输入蛋白的序列比对结果、功能分析和  $\alpha$  输入蛋白作为分子伴侣引导核编码蛋白进入线粒体以及参与组成核孔转运复合体,兼有协助抗病性防御反应,细胞非凋亡性死亡,激素受体反应等重要功能和进化关系,我们可以推测在植物进化和生命活动中,  $\alpha$  输入蛋白对植物抗病性防御蛋白入核和出核的反应机制、维持细胞的生理功能发挥着重要作用。其中研究初步结果是千里光  $\alpha$  输入蛋白可能具有的敏感性、调节细胞非凋亡性死亡、参与抗病性防御反应和激素受体相互反应,这与已有的  $\alpha$  输入蛋白基础研究有所区别,为  $\alpha$  输入蛋白分子结构与功能分析提供了新的思路。

## 参考文献:

- Bhattacharjee S, Lee LY, Oltmanns, *et al.* 2008. IMPa-4, an *Arabidopsis* importin  $\alpha$  isoform, is preferentially involved in *Agrobacterium*-mediated plant transformation[J]. *Plant Cell*, **20**(10): 2 661–2 680
- Cheng G(成钢), Hu WX(胡维新). 2010. Nuclear transport receptor-importin  $\alpha$  and nucleocytoplasmic transport(细胞核质转运受体- $\alpha$  输入蛋白与核质转运)[J]. *Chem Life(生命的化学)*, **30**(4): 504–508
- Chiung WC, Rafael MC, Simon JW, *et al.* 2013. The distribution of different classes of nuclear localization signals (NLSs) in diverse organisms and the utilization of the minor NLS-binding site in plant nuclear import factor importin- $\alpha$ [J]. *Plant Sign Behav*, **8**(10): e25976. doi: 10. 4161/psb. 25976
- Furuta M, Kose S, Koike M, *et al.* 2004. Heat-shock induced nuclear retention and recycling inhibition of importin  $\alpha$ [J]. *Genes Cell*, **9**(5): 429–441
- Gao Y(高英), Zhao KJ(赵开军), Guo JQ(郭建强), *et al.* 2010. Nucleo-cytoplasmic transport related-proteins in plant(植物中的核质转运相关蛋白)[J]. *Chin J Biochem Mol Biol(中*

- 国生物化学与分子生物学报),**26**(8):705—711
- Jiang CJ, Naoko I, Rikyu M, et al. 1998. Functional characterization of aplant importin  $\alpha$  homologue[J]. *J Biol Chem*,**273**(37):24 083—24 087
- Kodiha M, Tran D, Qian C, et al. 2008. Oxidative stress mislocalizes and retains transport factor importin- $\alpha$  and nucleoporins *Nup*153 and *Nup*88 in nuclei where they generate high molecular mass complexes[J]. *Biochim Biophys Acta*,**1783**(3):405—418
- Kristoffer P, Zhang YL, Li X, et al. 2005. An importin alpha homolog, MOS6, plays an important role in plant innate immunity [J]. *Curr Biol*,**15**(12):1 129—1 135
- Nalani S, Abhinava KM, Mousumi M, et al. 2013. The *Drosophila* importin  $\alpha$ 3 Is required for nuclear import of notch in vivo and It displays synergistic effects with notch receptor on cell proliferation[J]. *PLoS ONE*,**8**(7):e68247. doi: 10.1371/journal.pone.0068247
- Peng YL(彭玉兰), Gao XF(高信芬). 2009. New records to compositae of Sichuan(四川菊科植物新纪录)[J]. *Guiaia*(广西植物),**29**(1):51—54
- Ping JJ(平军娇), Zhang Z(张珍), Cai ZF(蔡振锋), et al. 2012. Construction of full-length cDNA library for *Senecio scandens*(千里光全长 cDNA 文库的构建与分析)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药),**43**(3):557—561
- Rachel AJ, Toh HC, Thomas JO, et al. 2009. Activity-dependent anchoring of importin  $\alpha$  at the synapse involves regulated binding to the cytoplasmic tail of the NR1-1a subunit of the NMDA receptor[J]. *J Neurosci*,**29**(50):15 613—15 620
- Rashid M, Noriko Y, Masahiro F, et al. 2011. Cross-talk between distinct nuclear import pathways enables efficient nuclear import of E47 in conjunction with its partner transcription factors [J]. *Mol Biol Cell*,**22**(19):3 715—3 724
- Sundy NYY, Agnes AST, Marcos RMF, et al. 2010. Probing the specificity of binding to the majornuclear localizationsequence-binding site of importin  $\alpha$  using oriented peptide library screening [J]. *J Biol Chem*,**285**(26):9 935—19 946
- Yin C(尹超), Li M(李梅), Liu YH(刘昱辉). 2013. The role of the nucleus in plant defense response(细胞核在植物防御反应中的作用)[J]. *Curr Biotechnol(生物技术进展)*,**3**(1):12—17
- Yoichi M, Kate LL, Yoshihiro Y, et al. 2012. Nuclear importin  $\alpha$  and its physiological importance[J]. *Comm Integr Biol*,**5**(2):220—222
- Yoshinari Y, Yoichi M, Tomoko Y, et al. 2012. Nuclear retention of importin  $\alpha$  coordinates cell fate through changes in gene expression[J]. *EMBO J*,**31**(1):83—94

## 《广西植物》再次入选“国家中文核心期刊” 2014 年版 (即第七版)

近日,接北京大学图书馆通知,《广西植物》入选《中文核心期刊要目总览》2014 年版(即第七版)之生物科学类的核心期刊。

据《〈中文核心期刊要目总览〉入选通知》介绍,此次核心期刊的评选工作,是依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析以及学科专家评审,对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平及其学术影响力,采用定量评价和定性评价相结合的方法进行综合评价。选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达 50 余种,统计到的文献数量共计 65 亿余篇次,涉及期刊 14728 种,参加核心期刊评价的学科专家达 3700 多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出 1983 种核心期刊。

《广西植物》是由广西植物研究所和广西植物学会联合主办,科学出版社出版、面向国内外公开发行的植物学综合性学术期刊。自 1981 年创刊以来,坚持正确的办刊宗旨,不断提高刊物质量和学术影响力,已连续多次入选国家中文核心期刊,并被编入《中文核心期刊要目总览》。