

研究通讯 Research Letter

植物细胞中的膜联蛋白(annexin)

张娜, 尚忠林*

河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050016

Annexins in Plant Cells

ZHANG Na, SHANG Zhong-Lin*

College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China

摘要:膜联蛋白(annexin)是存在于动植物细胞中的钙依赖性磷脂结合蛋白,广泛参与受钙离子调控的生命活动,如囊泡运输、膜融合、信号转导、钙离子通道的形成、细胞分化和细胞骨架蛋白间的相互作用等。本文就植物细胞中 annexin 的研究进展进行了介绍。

关键词: annexin; Ca^{2+} ; 植物细胞

膜联蛋白(annexin)是一类 Ca^{2+} 及磷脂结合蛋白,广泛存在于除酵母外的真核生物细胞中,形成在进化上属于保守的多基因家族。20世纪70年代末,annexin开始引起人们的重视,目前在动物体中已经发现了多种 annexin (如 annexin B1, annexin I、II、V等)。植物细胞中 annexin 的研究起步较晚,目前也已发现 annexin 蛋白在植物体内广泛分布,在植物生长发育和应对环境胁迫和刺激的过程中起作用。

1 动物细胞中的 annexin 蛋白

1978年,Creutz等从牛肾上腺髓质中分离纯化出一种分子量为47 kDa的蛋白质,由于它能促使嗜铬细胞颗粒聚集,故称为 synexin (希腊语意思为聚集),即现在的 annexin A7 蛋白(Creutz 等 1978)。后来,在许多种属的组织细胞中均发现了此类蛋白,1990年将其正式命名为 annexin,至今在真核细胞中已被确认的 annexin 家族成员超过1 000种。Annexin 家族由两类蛋白组成:一种是可溶性蛋白,存在于细胞浆或核内;另一种为结构蛋白,参与细胞骨架的构成或介导细胞与胞外基质的连接(Gerke 和 Moss 2002)。两种蛋白在结构上具有极大的相似性,在动物细胞中参与囊泡运输、胞吐作用、信号转导、钙离子通道的形成、细胞分化和细胞骨架蛋白间的相互作用等。

1.1 动物细胞中 annexin 的分子结构 Annexin 蛋白家族由超过500种基因编码,这些蛋白的结构具有极高的相似性。每个 annexin 蛋白包含2个主要区域:即多样的N端和保守的C端。保守的羧基末端一般具有4个 annexin 重复序列(annexin A6 含有

8个),每一重复序列由大约70个高度保守的氨基酸残基构成,每一重复序列形成5个 α 螺旋结构,它们堆叠成致密的圆盘状,该结构域具有结合钙离子的能力,是所有 annexins 家族成员的核心区域,与钙离子结合后,此结构域再与带负电荷的磷脂分子极性头部结合。N端结构域也称尾区,包括蛋白水解位点、磷酸化位点以及与其他蛋白结合位点,是 annexins 分子的功能调节区(Gerke 和 Moss 2002; Seaton 和 Dedma 1998) (图1)。

Annexin 的功能与其结构紧密相关,其N端区域在序列和长度上具有多样性,能够根据蛋白的配体进行结构变化,调节 annexin 与膜的结合(Gerke 和 Moss 2002; Raynal 和 Pollard 1994)。钙离子与 annexin 的结合和解离对于其结构变化和功行使至关重要,在无钙离子的条件下,一种被称为钙释放蛋白的蛋白质分子结合在 annexin 上,使其N端结构被隐藏在分子内部,annexin 此时不具备生理活性;当 Ca^{2+} 与 annexin 结合后,钙释放蛋白解离下来,annexin 的N末端即暴露出来,能够与膜结合,完成其生理活性(Rescher 和 Gerke 2004)。

1.2 动物细胞中 annexin 的功能 作为一种膜磷脂结合蛋白,annexin 参与了与生物膜结构和功能有关的多种生命活动,包括生物膜结构的稳定性、吞噬

收稿 2009-11-25 修定 2009-12-24

资助 国家自然科学基金(30570152, 30871297)。

* 通讯作者(E-mail: shangzhonglin@hebtu.edu.cn; Tel: 0311-86269814)。

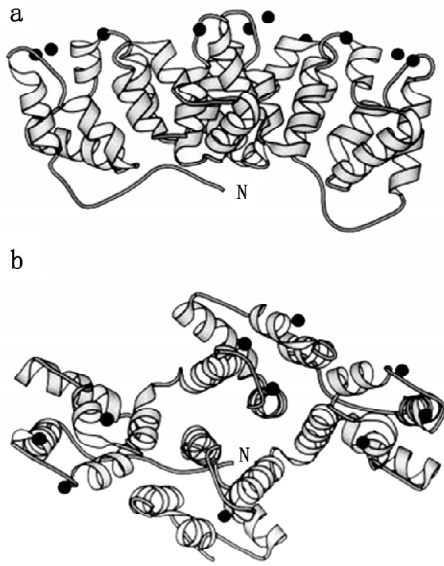


图1 动物细胞中 annexin V 的空间结构
(Seaton 和 Dedman 1998)

黑色圆点代表钙离子。a 为 annexin 侧面图, b 为 annexin 俯视图。Annexin 有 4 个 α 螺旋折叠同源结构区域, 每个同源区域由 5 个 α 螺旋构成, 这些区域对称排列在双轴线的两边, 其中心位置有 Ca^{2+} 结合位点。

泡的形成、离子转运等, 并与细胞骨架相互作用参与细胞的有丝分裂(Rescher 和 Gerke 2004)。

Annexin 参与细胞膜之间紧密连接的形成, Lee 等(2004)采用双向电泳、免疫荧光方法发现在犬的肾单层 II 型细胞中有大量的 annexin II 蛋白表达, 免疫胶体金标记实验表明 annexin II 和一些紧密连

接蛋白共定位于细胞之间的连接处, 用人工合成的细胞外多肽干扰 annexin II 蛋白异源四聚体的形成则完全抑制了紧密连接的形成, 实验结果充分证明, annexin II 是参与紧密连接形成的关键组分之一。

X- 射线晶体学、电泳分析和同源建模的研究结果表明, 某些 annexin 可直接作用于 Ca^{2+} 通道。特别是 annexin I、annexin V、annexin VI 和 annexin VII 都参与了体外电压门控 Ca^{2+} 通道的活动(Pollard 等 1992)。AnxVI 是动物 annexin 家族中最大的一个成员, 它是可溶性蛋白, 还可以作为周边蛋白与膜结合。在中性 pH 值条件下, AnxVI 以依赖钙离子的方式与膜发生可逆结合, 并在膜脂双层和脂质体上形成特定的电压依赖性钙离子通道, 酸性磷脂促进 annexin 与膜脂的结合, 以致 AnxVI 能够识别脂质分子的头部。在弱酸条件下, AnxVI 发生构象变化, 其疏水性、溶解度和分子形状都发生变化, 形成了 AnxVI- Ca^{2+} -磷脂三元复合体, 复合体对离子浓度和钙螯合剂非常敏感, 并在不依赖钙离子的情况下插入膜表面的疏水核心区域。pH 值增大到 7.4 时, AnxVI 仍然可以结合在膜上, 但是通道运输受到强烈的抑制(Golczak 等 2001)。如图 2 所示, 生理条件下 annexin 与膜结合, 改变膜的稳定性, 随后在弱酸性条件下蛋白的初始 α 螺旋结构被破坏, 重新折叠成七跨膜结构, 插入磷脂双分子层中形成离子通道。

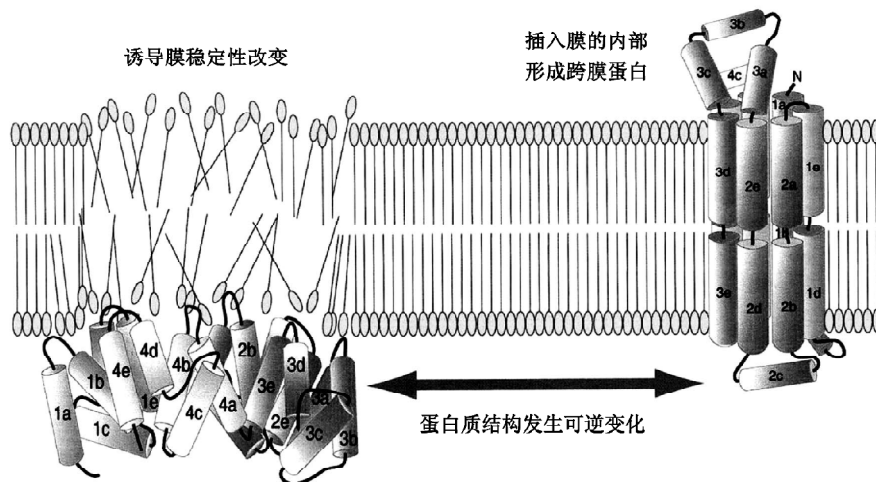


图2 Annexin 插入质膜并形成钙离子通道的过程(Gerke 和 Moss 2002)

Annexin 与膜内表面结合后, 诱导膜稳定性变化, 蛋白随即插入膜内, 并发生空间结构的变化, 形成跨膜的钙离子通道, 这种变化是可逆的。

细胞膜融合是真核细胞中的一种重要生物现象。膜融合是物质运输的基础, 细胞吞噬作用过程中, 质膜内陷形成吞噬泡, 吞噬泡和溶酶体的融合使吞噬泡内的物质被消化利用; 包裹分泌蛋白的囊泡从内质网运输到高尔基体, 高尔基体形成的运输小泡与质膜融合实现物质的分泌。在细胞吞噬和分泌物质的过程中, annexin对于膜的融合起到了关键的介导作用。当 annexin 结合钙离子之后, 其N

端结构域发生变化, 能够与一种称为S100A10的蛋白结合, 2个annexin-S100A10蛋白复合体结合形成异四聚体即蛋白, 借助于这种结合作用, 细胞膜之间距离可拉近、膜脂融合形成囊泡(图3) (Bever等 2000; Rety等 1999), 随后 annexin 磷酸化, 以致其N端区域很容易受到蛋白水解酶的攻击(Futter等 1993), 蛋白质水解过程中释放出 S100A11 二聚体, 随之膜裂解、囊泡被释放。

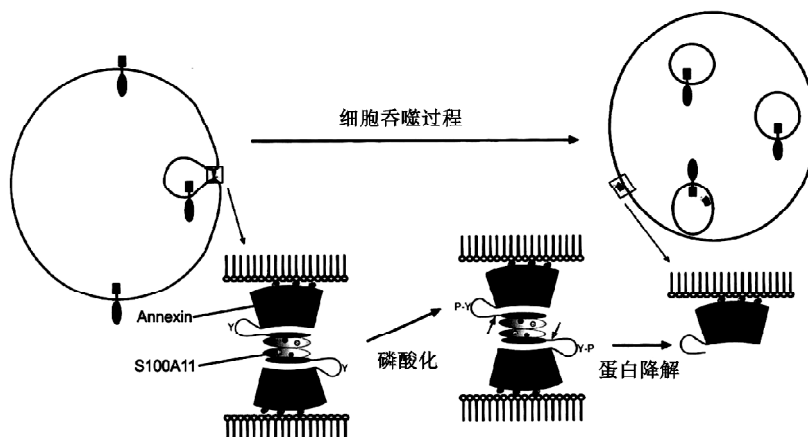


图3 Annexin 蛋白参与细胞吞噬泡形成过程(Gerke 和 Moss 2002)

2 植物细胞中的 annexin 蛋白

1989年 Boustead 等从番茄悬浮培养细胞系中纯化出 annexin P34 和 P35, 并发现这2种蛋白能与 Ca^{2+} 和磷脂酰丝氨酸发生沉淀, P34 和 P35 的部分序列与动物 annexin 家族具有同源性, 随后又用相似的方法从玉米(*Zea mays*)和百合(*Lilium longiflorum*)的花粉管中分离得到 annexin P33 和 P35。这一结果引起了人们对植物中 annexin 的关注, 后来陆续又从烟草(*Nicotiana tabacum*)、玉米、辣椒(*Capsicum annuum*)、芹菜(*Oenanthe clecumbens*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中检测到 annexin。

2.1 植物细胞annexin的结构 植物细胞中的annexin 分子量一般在 32~42 kDa 之间, 其含量约占植物蛋白总含量的 0.1%。芹菜 annexin 结合 Ca^{2+} 离子后结合于液泡膜上, 这是迄今发现的唯一定位于液泡膜上的 annexin (Seals 等 1994)。蕨类植物 annexin 具有 8 个重复区, 其分子量高达 70 kDa (Liemann 和 Lewit-Bentley 1995)。从氨基酸序列来说, 植物

annexin 与动物 annexin 具有较大的相似性, 植物 annexin 各成员之间有 97% 的相似性(Clark 等 2001)。

2000年, Hofmann等采用X射线衍射晶体学及多种生物物理学方法首次阐明辣椒 annexin 24 (Ca32)的三维结构, 因而人们对植物annexin有了直观的了解。相对于动物 annexin 而言, 植物的 annexin 具有相同的4个区域, 但是其第一和第四个重叠区域具有特有的内融合蛋白序列, 植物annexin 的N端区域比较短, 约 10 个氨基酸序列, 胡椒 annexin 的晶体结构显示, 这个比较短的N端区域与中心区域相联系, 对 annexin 的功能具有调节作用 (Mortimer 等 2008)。辣椒的 annexin 24 (Ca32)具有 annexin 家族共有的特征, 但其核心区与非植物 annexins 结构有些不同, 尤其在第一和第三重复区域, 其N端由大约 20 个氨基酸组成, 并且通过氢键与核心区相连, 这是在其他 annexin 结构中从未观察到的(Hofmann 等 2000)。

不同植物来源的annexin虽然它们的氨基酸序

列有高度相似性,但它们之间的分子性能不同。有分析表明,辣椒中 Anx23 和 Anx24 (Proust 等 1996)、番茄中的 Anx (Le34)和 Anx (Le35) (Smallwood 等 1990)、棉花中的 Anx (Gh1)和 Anx (Gh2) (Andrews 等 1993)具有相似的分子量,大致在 33~35 kDa 范围内(Hofmann 等 2002)。凝胶过滤结果显示,在同样浓度的盐下,这 5 种蛋白的存在方式也有很大的差异,在低浓度盐下 Anx (Gh1)主要以单体存在, Anx (Gh2)其单体和二聚体之间的比例为 40:60, Anx24 主要以三聚体存在,而 Anx23 的单体和三聚体之间的比例为 40:60;在高浓度盐下 Anx (Gh1), Anx24 的存在形式基本上没有变化,依然各自分别以单体和三聚体形式存在;而 Anx (Gh2)的二聚体减少 20%,主要以单体形式存在, Anx23 单体和三聚体的比例变为 60:40 (Hofmann 等 2002)。Hofmann 等(2002)确定不同植物的 annexin 行为的结果表明,虽然它们具有高度相似的氨基酸序列,但它们在行为上特别对钙离子的亲和性有差异,在钙离子存在的情况下,凝胶过滤结果显示, Anx23 (Ca38)的洗脱结果不变,依然大都是二聚体,但其他的几种都洗脱出少量的三聚体,而 Anx (Gh2)则出现严重沉淀,其上清液只含有少量的三聚体,而非二聚体。由此可以看出, Anx (Gh2)是非钙离子依赖性的蛋白。

2.2 植物 annexin 在植物体内的分布

自从 Boustead 等(1989)在番茄中发现了 annexin 之后, Proust 等(1996)用 Western blot 等方法从辣椒的不同组织(根、叶以及各成熟阶段的果实)中分离出 annexin, Clark 等(1998)和 Kovacs 等(1998)在豌豆植株细胞的核仁中发现了 AnxMs2, Niebel 等(1998)在核膜上发现了 AnxMt1, Seigneurin-Berny 等(2000)在菠菜叶细胞的叶绿体膜上发现了 annexin。

在拟南芥植株的不同组织中也发现了 annexin, 并且发现随着植株的生长发育, annexin 在组织中的表达具有很大的差异(Peltier 等 2002, 2006; Friso 等 2004; Kleffmann 等 2004; Renaut 等 2006)。种子萌发时期, annexin 在分生区表皮细胞即幼苗的根尖、根冠、子叶、胚轴、种皮部位都有表达,进而在根的内部细胞,胚轴的表皮细胞,幼苗胚轴导管组织中也有表达;随着幼苗的生长, annexin 的表达几乎贯穿了整个根部,包括根毛细胞;7 d 幼苗的纵切片显示此时期 annexin 在表皮毛(trichomes)、

胚轴的导管系统、子叶的导管系统、叶原基等部位都表达;苗龄 14 d 幼苗的纵切片显示, annexin 在表皮毛、髓分生组织、叶基部、胚轴的导管系统和叶脉中均有表达(Clark 等 2001, Clark 和 Roux 2005)。免疫定位结果表明花粉管内也有大量的 annexin 聚集(Clark 等 1992, 1994)。

上述实验结果显示, annexin 在研究过的多种植物中都有发现,在植物生长的各个阶段、不同器官组织和细胞中都有表达,其表达规律与生长发育之间有密切关系,表明 annexin 作为一种功能蛋白参与植物代谢和生长发育的调节过程。

2.3 植物细胞中 annexin 蛋白的功能

(1)参与细胞分泌。在动物细胞中发现, annexin 参与细胞分泌过程,因此对植物 annexin 功能的研究一开始就把焦点集中在此。1992 年 Clark 等在棉花幼苗细胞中对 annexin 进行免疫定位的结果显示,棉花幼苗的分泌型细胞,如根冠外皮细胞和正在发育的木质部、韧皮部及其表皮细胞中 annexin 含量非常高,随后在豌豆幼苗中也观察到类似的现象。采用免疫荧光和免疫金电镜技术观察的结果表明, annexin P35 在豌豆胚芽和根部的幼嫩区细胞液泡和根冠外围粘液分泌细胞中含量最高。这一结果表明,植物 annexin 可能参与调节分泌作用。

Blackbourn 和 Battey (1993)在玉米中发现一种钙离子依赖性的磷脂结合蛋白(annexin),此蛋白与来自牛体内的 annexin 功能类似,都有促进膜聚合的功能,当胞内钙离子浓度升高时,胞吐速度即加快,显示 annexin 结合钙离子在活性增强时能够促进胞吐过程。1998 年 Carroll 等的实验显示 annexin 可以影响分泌泡的融合。他们把从玉米胚芽中纯化出来的 annexin (P33, P35)加入到玉米根冠外部,然后在根冠部位外加钙离子以活化 annexin,使胞吐过程受到显著的促进;当 Ca^{2+} 达到 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,达到饱和,继续增加钙离子浓度则胞吐作用不再增强;外加灭活的 annexin 时,对于胞吐作用没有刺激作用;生化实验结果显示植物 annexins 能够引起囊泡的钙依赖性聚集。以上结果表明,植物 annexins 参与了胞吐过程。

(2)参与钙离子代谢。植物 annexin 是一类钙离子依赖性的膜结合和膜嵌入的小蛋白,它的结构特色决定其能够激活过氧化物酶的活性并能够转运

钙离子(Mortimer等2008)。最近有实验发现,在转水母发光蛋白的拟南芥根部提取原生质体过程中,annexin可促使钙离子内流,增加胞内钙离子浓度(Laohavisit等2009)。药理学实验表明,annexin参与决定可以通透钙离子的非选择性阳离子通道的活性,在适当的pH下只含有annexin蛋白的人工膜上可测到跨膜钙离子电流,这一电流对钙通道的抑制剂异搏定和 Gd^{3+} 非常敏感,其 Ca^{2+}/K^{+} 的通透性比值为0.36,这说明annexin直接构建了钙离子的内流通道(Laohavisit等2009)。

(3)参与抗寒反应。2000年Breton等在耐寒型小麦中发现了4种annexin,其中2种是可溶性蛋白,分子量分别为34 kDa和36 kDa,它们与以前在植物中发现的二聚体相似;另外2种是从微粒体分离出来的,分子量分别为39 kDa (P39)和225 kDa (P225)。生化分析表明,P39和P225都是胞内蛋白,与其他植物annexin不同的是,它们与膜的解离不依赖于 Ca^{2+} ,这是首次报道植物体内有对EGTA有抗性的annexin。免疫印迹分析表明,小麦低温处理1 d后,P39和P225含量达到最高,这种快速而大量的积累表明它们可能与低温信号转导的早期事件有关。但在耐寒的和不耐寒的小麦品种中,P39和P225的累积量基本上相同,这说明annexin的积累与耐冻性无关。由此推测,P39和P225可能是低温信号转导通路中的信号传递分子,或者是光传感蛋白,也可能是胞质 Ca^{2+} 浓度的调节子。电生理和晶体结构分析的结果显示,P39可能是 Ca^{2+} 通道蛋白(Gerkev和Moss 2002)。近来,已建立了耐寒型树木锦葵(*Lavatera thuringiaca*)的cDNA文库。在耐寒品种中,annexin cDNA的转录比正常品种快3倍。越来越多的证据表明,在低温信号转导过程中 Ca^{2+} 可能是第二信使,而annexin在此过程中的作用和确切生理功能尚不清楚。

(4)参与耐受盐胁迫。Lee等(2004)将拟南芥幼苗的根部浸入 $250\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl中2 h后,以分子技术分离调节盐胁迫的微粒体蛋白,发现AnnAt1和AnnAt4对盐非常敏感,进一步用蛋白凝胶电泳研究盐胁迫条件下AnnAt的表达差异表明,在一定范围内,盐浓度越高,AnnAt1的表达量越大, $250\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl条件下AnnAt的表达量最高。

但此实验并不能排除渗透胁迫对拟南芥生长

的影响,于是Lee等(2004)又做了关于渗透压胁迫的实验。他们分别用KCl、LiCl、CsCl和甘露醇进行实验的结果显示,AnnAt1对甘露醇非常敏感,而AnnAt4对甘露醇的敏感性略低于AnnAt1;AnnAt4对LiCl、CsCl敏感而对KCl的敏感性略低;AnnAt1对KCl和CsCl敏感,而对LiCl敏感性较低。这一结果说明,AnnAt1与AnnAt4受渗透胁迫的影响,并且具有离子特异性。

(5)参与干旱胁迫。Konopka-Postupolska等(2009)针对拟南芥对干旱胁迫的耐受程度以及存活率进行了实验。首先是对干旱的耐受程度实验,将拟南芥植株在短日照下培养4周,然后进行干旱处理至完全脱水,观察植株的表形。结果发现,annexin缺失突变体Atann1在干旱处理后第5天出现枯萎症状,而野生型和annexin超表达株系依然保持绿色的饱满状态。干旱胁迫2周后,Atann1突变体完全枯萎,野生型开始出现枯萎,而超表达株系依旧保持绿色。其次是存活率实验,将种子种在盆里,短日照下进行培养,种子萌发4周后,减少浇水量以形成水分胁迫。胁迫处理3周之后,所有基因型的植株都陆续出现干枯死亡的现象;然后恢复浇水,2周之后,所有的超表达株系幼苗恢复正常生活状态,而Atann1突变体植株无一存活(Konopka-Postupolska等2009)。实验结果显示,拟南芥植株对干旱胁迫的耐受程度与体内annexin蛋白的表达水平有密切的关系。

(6)参与ABA信号转导。2004年Lee等报道,annexin参与ABA介导的干旱和盐胁迫的反应。后来他又进一步用实验证实了annexin的这一功能。他们将拟南芥annexin突变体的种子放在含有不同浓度ABA的培养基上,观察其萌发率的结果显示,2种annexin突变体AnnAt1与AnnAt4都对ABA敏感(在低浓度即 $0.25\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA的培养基上AnnAt1比AnnAt4的高)。同时还显示,将生长在含有ABA的培养基上的植株转移到不含ABA的培养基上,AnnAt1与AnnAt4这2种突变体可恢复正常生长,与用含有盐的培养基进行的实验见到的现象一致。这说明植物annexins参与ABA介导的干旱和盐胁迫的反应。

依据现有的结果,Clark和Roux(1995,2005)、Clark等(1998,2001)认为植物细胞内存在可溶性和

膜结合的 annexin 蛋白, 他们在影响囊泡运输和影响胞吐作用、促进钙离子吸收以及影响膜联酶活性中发挥功能(图 4)。

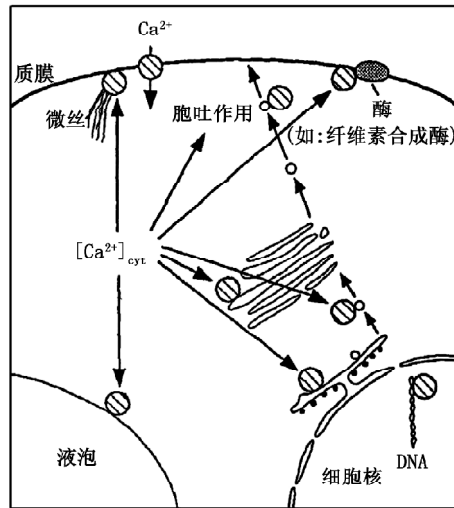


图4 植物细胞内 annexin 的多样性及其相互间的关系
(Clark 和 Roux 1995)

钙离子依赖型 annexin 与细胞膜、液泡膜、高尔基体和线粒体的结合。显示 annexin 中潜在的钙离子通道活性, annexin 与 DNA、微丝及质膜酶的结合。

参考文献

Andrews A, Solomon M, Delmer DP (1993). Cotton fiber annexins: a potential role in the regulation of callose synthase. *Plant J*, 3 (6): 763~772

Beyers EM, Janssen MP, Willems GM, Zwaal FA (2000). No evidence for enhanced thrombin formation through displacement of annexin V by antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost*, 83: 792~794

Blackbourn HD, Battey NH (1993). The control of exocytosis in plant cells. *New Phytol*, 125: 307~338

Boustead CM, Smallwood M, Small H, Bowles DJ, Walker JH (1989). Identification of calcium-dependent phospholipid-binding proteins in higher plant cells. *FEBS Lett*, 244 (2): 456~460

Breton G, Vazquez-Tello A, Danyluk J, Sarhan F (2000). Two novel intrinsic annexins accumulate in wheat membranes in response to low temperature. *Plant Cell Physiol*, 41(2): 177~184

Carroll AD, Moyon C, Van Kesteren P, Tooke F, Battey NH, Brownlee C (1998). Ca^{2+} , annexins, and GTP modulate exocytosis from maize root cap protoplasts. *Plant Cell*, 10: 1267~1276

Clark GB, Roux SJ (2005). Immunolocalization and histochemical evidence for the association of two different *Arabidopsis* annexins with secretion during early seedling growth and

development. *Planta*, 220: 621~631

Clark GB, Roux SJ (1995). Annexins of Plant Cells. *Plant Physiol*, 109: 1133~1139

Clark GB, Dauwalder M, Roux SJ (1994). Immunolocalization of an annexin-like protein in corn. *Adv Space Res*, 14: 341~346

Clark GB, Dauwalder M, Roux SJ (1992). Purification and immunolocalization of annexin-like protein in pea seedlings. *Planta*, 187: 1~9

Clark GB, Dauwalder M, Roux SJ (1998). Immunological and biochemical evidence for nuclear localization of annexin in peas. *Plant Physiol Biochem*, 36 (9): 621~627

Clark GB, Sessions A, Eastburn DJ, Roux SJ (2001). Differential expression of members of the annexin multigene family in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 126: 1072~1084

Creutz CE, Pazoles CJ, Pollard HB (1978). Identification and purification of an adrenal medullary protein (synexin) that causes calcium-dependent aggregation of isolated chromaffin granules. *J Biol Chem*, 253: 2858~2866

de Carvalho Niebel F, Lescure N, Cullimore JV, Gamas P (1998). The *Medicago truncatula MtAnn1* gene encoding an annexin is induced by nod factors and during the symbiotic interaction with *Rhizobium meliloti*. *Mol Plant-Microbe Interactions*, 11: 504~513

Friso G, Giacomelli L, Ytterberg AJ, Peltier JB, Rudella A, Sun Q, Wijk KJ (2004). In-depth analysis of the thylakoid membrane proteome of *Arabidopsis thaliana* chloroplasts: new proteins, new functions, and a plastid proteome data base. *Plant Cell*, 16 (2): 478~499

Futter CE, Felder S, Schlessinger J, Ullrich A, Hopkins CR (1993). Annexin I is phosphorylated in the multivesicular body during the processing of the epidermal growth factor receptor. *J Cell Biol*, 120: 77~83

Gerke V, Moss SE (2002). Annexins: from structure to function. *Physiol Rev*, 82: 331~371

Golczak M, Kicinska A, Bendorowicz-Pikula J, Buchet R, Szweczyk A, Pikula S (2001). Acidic pH-induced folding of annexin VI is a prerequisite for its insertion into lipid bilayers and formation of ion channels by the protein molecules. *FASEB J*, 15 (6): 1083~1085

Hofmann A, Proust J, Dorowska A, Schantz R, Huber R (2000). Annexin 24 from *Casipum annuum*: x-ray structure and biochemical characterization. *J Biol Chem*, 275 (11): 8072~8082

Hofmann A, Ruvinov S, Hess S, Schantz R, Delmer DP, Wlodawer A (2002). Plant annexins form calcium-independent oligomers in solution. *Protein Sci*, 11 (8): 2033~2040

Kleffmann T, Russenberger D, von Zychlinski A, Christopher W, Sjolander K, Gruißem W, Baginsky S (2004). The *Arabidopsis thaliana* chloroplast proteome reveals pathway abundance and novel protein functions. *Curr Biol*, 14 (5): 354~362

Konopka-Postupska D, Clark G, Goch G, Debski J, Floras K, Cantero A, Fijolek B, Roux S, Hennig J (2009). The role of annexin 1 in drought stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 150 (3): 1394~1410

Kovacs I, Ayaydin F, Oberschall A, Ipacs I, Bottka S, Pongor S,

- Dudits D, Toth EC (1998). Immunolocalization of a novel annexin-like protein encoded by a stress and abscisic acid responsive gene in alfalfa. *Plant J*, 159 (2): 185~197
- Laohavisit A, Mortimer JC, Demidchik V, Coxon KM, Stancombe MA, Macpherson N, Brownlee C, Hofmann A, Webb AA, Davies JM (2009). *Zea mays* annexins modulate cytosolic free Ca^{2+} and generate a Ca^{2+} -permeable conductance. *Plant Cell*, 21 (2): 479~493
- Lee SM, Lee EJ, Yang EJ, Lee JE, Park AR, Song WH, Park OK (2004). Identification of annexins, calcium-dependent membrane binding proteins that mediate osmotic stress and abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 1378~1391
- Liemann S, Lewit-Bentley A (1995). Annexins: a novel family of calcium- and membrane-binding proteins in search of a function. *Structure*, 3: 233~237
- Mortimer JC, Laohavisit A, Macpherson N, Macpherson N, Webb A, Brownlee C, Battey NH, Davies JM (2008). Annexins: multifunctional components of growth and adaptation. *J Exp Bot*, 599 (3): 533~544
- Peltier JB, Cai Y, Sun Q, Zabrouskov V, Giacomelli L, Rudella A, Ytterberg AJ, Rutschow H, Van Wijk KJ (2006). The oligomeric stromal proteome of *Arabidopsis thaliana* chloroplasts. *Mol Cell Proteomics*, 5 (1): 114~133
- Peltier JB, Emanulelson O, Kalume DE, Ytterberg J, Friso G, Rudella A, Liberles DA, Söderberg L, Roepstorff P (2002). Central functions of the luminal and peripheral thylakoid proteome of *Arabidopsis thaliana* determined by experimentation and genome-wide prediction. *Plant Cell*, 14: 211~236
- Pollard HB, Guy HR, Arispe N, de la Fuente M, Lee G, Rojas EM, Pollard JR, Srivastava M, Zhang-Keck ZY, Merezhinskaya N (1992). Calcium channel and membrane fusion activity of synexin and other membranes of annexin gene family. *Biophys J*, 62: 15~18
- Proust J, Houlne G, Schantz ML, Schantz R (1996). Characterization and gene expression of an annexin during fruit development in *Capsicum annum*. *FEBS Lett*, 383: 208~212
- Raynal P, Pollard HB (1994). Annexins: the problem of assessing the biological role for a gene family of multifunctional calcium- and phospholipid-binding proteins. *Biochim Biophys Acta*, 1197: 63~93
- Renaut J, Hausman JF, Wisniewski ME (2006). Proteomics and low-temperature studies: bridging the gap between gene expression and metabolism. *Physiol Plant*, 126: 97~109
- Rescher U, Gerke V (2004). Annexins unique membrane binding proteins with diverse functions. *J Cell Sci*, 117: 2631~2639
- Rety S, Sopkova J, Renouard M, Osterloh D, Gerke V, Tabaries S, Russo-Marie F, Lewit-Bentley A (1999). The crystal structure of a complex of p11 with the annexin II N-terminal peptide. *Nat Struct Biol*, 6: 89~95
- Seals DF, Parrish ML, Randall SK (1994). A 42-kilodalton annexin-like protein is associated with plant vacuoles. *Plant Physiol*, 106: 14032~14039
- Seaton BA, Dedman JR (1998). Annexins. *BioMetals*, 11: 399~404
- Seigneurin-Berny D, Rolland N, Dorne AJ, Joyard J (2000). Sulfolipid is a potential candidate for annexin binding to the outer surface of chloroplast. *Biochem Biophys Res Commun*, 272 (2): 519~524
- Smallwood MF, Gurr SJ, McPherson MJ, Roberts K, Bowles D (1990). Purification and partial sequence analysis of plant annexins. *Biochem J*, 281: 501~505