

植物细胞亲环素研究进展

白宇杰^{1,2}, 马华升², 王火旭¹, 阮松林^{2,*}

¹ 辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁大连 116029; ² 杭州市农业科学研究院生物技术研究所植物分子生物学与蛋白质组学实验室, 杭州 310024

摘要: 亲环素(cyclophilin, CyP)是能够与免疫抑制药物环孢霉素 A (cyclosporine A, CsA)特异结合的、高度保守的一个蛋白家族, 广泛存在于细菌、酵母、植物和动物等各种有机体中。在高等植物中存在多种同工型亲环素, 它们位于细胞浆、细胞核、线粒体和叶绿体等不同亚细胞分室中, 参与多种重要的生理生化过程。本文从亲环素的发现、结构特点、生化特性及生物学功能等方面进行综述, 并对植物亲环素研究前景进行了讨论。

关键词: 亲环素; 肽脯氨酰顺反异构酶; 环孢霉素A; 免疫抑制

Advances in Plant Cyclophilins

BAI Yu-Jie^{1,2}, MA Hua-Sheng², WANG Huo-Xu¹, RUAN Song-Lin^{2,*}

¹ College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Liaoning 116029, China; ² Plant Molecular Biology and Proteomics Laboratory, Institute of Biotechnology, Hangzhou Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310024, China

Abstract: Cyclophilin is a highly conserved protein family that can specifically bind to the immunosuppressive drug cyclosporin A, which has been found in diverse organisms including bacteria, yeast, plants, and animals. In higher plants, there exist multiple isoforms that are located in different sub-cellular compartments including cytoplasm, nucleus, mitochondria, chloroplast, and are involved in numerous physiological and biochemical processes. Here, the discovery, structure, biochemical characteristics and biological function on plant cyclophilins are reviewed, and prospects of plant cyclophilins are discussed.

Key words: cyclophilin; peptidyl-prolyl *cis-trans*-isomerase; cyclosporin A; immunosuppressant

细胞亲环素(cyclophilin, CyP)是能够与免疫抑制剂环孢霉素A (cyclosporine A, CsA)特异结合, 普遍存在于细菌、真菌、植物和动物等有机体中的一个较大的蛋白家族, 具有肽脯氨酰顺反异构酶(peptidyl-prolyl *cis-trans*-isomerase, PPIase)活性, 能够催化脯氨酸肽键(Xaa-Pro)的顺反异构化。在新蛋白的合成过程中, CyP能够加快蛋白质特别是富含脯氨酸的蛋白质的折叠。此外, CyP也作为分子伴侣, 在细胞分裂、转录调节、信号转导、mRNA前体剪接以及胁迫应答等多种生理过程中发挥重要的作用。迄今为止, 已经从原核和真核生物包括细菌、酵母、植物和动物等各种生物有机体中分离出许多CyP。在高等植物中, CyP普遍存在并高水平表达于生长旺盛的分生组织中, 在植物体生长和发育调节、代谢调控(Oh等2006)以及逆境应答(Küllertz等1999)等方面均发挥重要作用。近年来, 国内外对植物亲环素蛋白相关基因的分离、鉴定、表达调控、生物学功能及其作用机制等方面的研究取得了可喜的进展。

1 细胞亲环素的发现

早在20世纪70年代, 瑞士一家制药公司的职员从所收集的土壤样品中发现, 土壤真菌*Tolypocladium inflatum*能合成一种环状的十肽菌素。进一步的研究表明, 该十肽菌素具有特异的抗菌活性, 于是将其命名为cyclosporin A (CsA)。CsA作为一种有效的免疫抑制剂, 在临床治疗, 特别是在器官移植领域中, 由于能有效抑制器官移植后的排斥反应而得到广泛应用。随后于1984年, cyclophilin A (也称CyPA或CyP18)作为细胞内CsA的特异受体蛋白, 首次从牛胸腺细胞中被鉴定并纯化出来(Romano等2005; Handschumacher等1984)。CyPA的分子量为18 kDa, 是一个在所有的组织和真核细

收稿 2010-05-19 修定 2010-06-17

资助 国家转基因重大专项(2009ZX08001-027B)、浙江省自然科学基金(Y307016)和杭州市重大科技创新项目(20072312A03)。

* 通讯作者(E-mail: ruansl1@hotmail.com; Tel: 0571-87093826)。

胞中普遍表达的蛋白,在整个进化过程中具有高度的保守性(Handschumacher等1984; Galat 1993)。

20世纪90年代早期,植物CyP被首次鉴定(Gasser等1990),并已经从大白菜(Gasser等1990)、水稻(Buchholz等1994)、玉米(Marivet等1992, 1995)、拟南芥(Chou和Gasser 1997; Saito等1995, 1999)和豆类(Kinoshita和Shimazaki 1999; Marivet等1994)等植物中克隆出了类亲环素的cDNA序列或基因片段。在植物中,亲环素基因是一个多基因家族。目前在拟南芥中发现共有29个细胞亲环素基因,属于目前已鉴定的最大的亲环素基因家族,这些基因编码的产物广泛分布于细胞核、细胞质、叶绿体、线粒体以及分泌路径等亚细胞结构中(Romano等2004)。

2 植物细胞亲环素的结构特征

CyP家族成员蛋白质结构有两种:一种是只含有一个长度约为109个氨基酸的类亲环蛋白区域(cyclophilin-like domain, CLD),即单结构域(single domain, SD)。单结构域类CyP又包括以下几种类型:(1)仅含有一个保守的CLD结构域;(2)除了含

有CLD外,在N末端还含有定位序列;(3)除了CLD,在N末端或C末端含有一个TMD结构域。CyP的另一种类型是多结构域(multidomain, MD)。多结构域CyP除了CLD外,在两翼还含有与亚细胞定位等细胞特定功能有关的序列(Romano等2004)。目前已知,在拟南芥基因组中编码亲环素的29个细胞亲环素基因中,21个编码保守的单结构域CyP,已经确定其中有5个定位在叶绿体中,推测有9个位于细胞质、5个位于分泌路径、2个定位在线粒体中,其余的8个亲环素基因编码多结构域CyP(Romano等2005, 2004)。详见图1及表1。

目前研究较多的亲环素是CyP40。CyP40是成熟的类固醇受体复合物中的一个主要成分,也是孕酮和糖皮质激素的一个小组分,最早从类固醇受体- α (ER- α)中分离得到。它普遍存在于酵母、动物和植物中,结构上由一个N端保守的PPIase结构域和一个C端含3个单元的TPR结构域组成,中间由含有30个氨基酸残基(186~215)的酸性接头连接(图2)

CyP40是免疫素类辅助分子伴侣,除了具有一

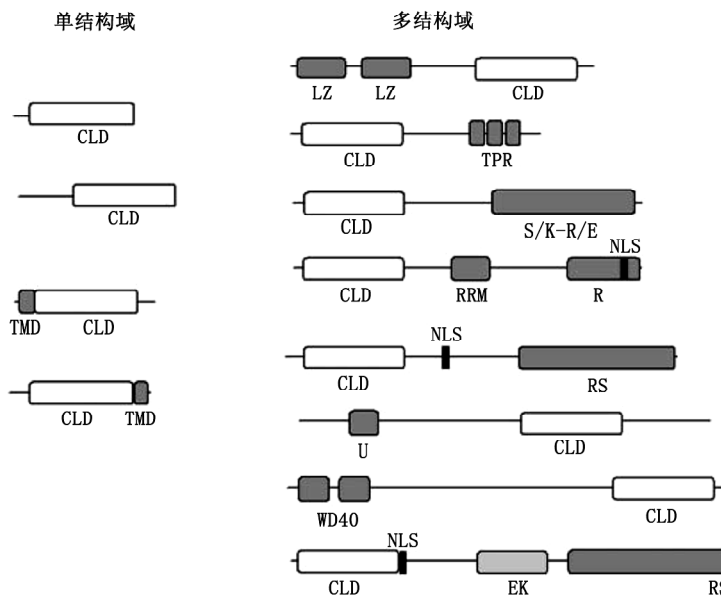


图1 拟南芥中单结构域及多结构域亲环素的结构域类型

Fig.1 Types of single domain and multidomain for CyPs

TMD: transmembrane domain (跨膜结构域); TPR: tetratricopeptide repeat (四联重复肽); S/K-R/E: Ser/Lys-Arg/Glu-rich region (丝氨酸/赖氨酸-精氨酸/谷氨酸富集区); U: U-box domain (U型框); WD40: WD40 repeat (WD40重复); RRM: RNA recognition motif (RNA识别基序); R: Arg-rich region (精氨酸富集区); NLS: nuclear localization signal (核定位信号区); EK: Glu-Lys-rich region (谷胱甘肽-赖氨酸富集区); RS: Arg-Ser-rich region (精氨酸-丝氨酸富集区); LZ: Leu zipper (亮氨酸拉链结构)。

表1 拟南芥中 CyP 的细胞定位及结构特征

Table 1 Cellular localization and structural characteristics of CyP in *Arabidopsis thaliana*

结构类型	CyP 种类	细胞定位	结构特征
单结构域(SD)	AtCYP18-1	细胞质	仅含有一个保守的 CLD 结构域
	AtCYP18-2	细胞质	
	AtCYP18-3 (ROC1)	细胞质	
	AtCYP18-4 (ROC5, AtCYP1)	细胞质	
	AtCYP19-1 (ROC3)	细胞质	
	AtCYP19-2 (ROC6)	细胞质	
	AtCYP19-3 (ROC2)	细胞质	
	AtCYP22-1	细胞质	含有 CLD 和 N 末端定位序列
	AtCYP19-4 (Cyp5)	分泌途径	
	AtCYP20-1 (ROC7)	分泌途径	
	AtCYP21-1	分泌途径	
	AtCYP21-2	分泌途径	
	AtCYP21-3	线粒体	
	AtCYP21-4	线粒体	
	AtCYP26-2	叶绿体	
	AtCYP28	叶绿体	
	AtCYP37	叶绿体	
	AtCYP20-2	叶绿体	
	AtCYP20-3 (ROC4)	叶绿体	
	AtCYP23-1	分泌途径	含有 CLD 和 N 末端 TMD 结构域
AtCYP26-1	细胞质	含有 CLD 和 C 末端 TMD 结构域	
多结构域(MD)	AtCYP38	叶绿体	含有 CLD 和 N 端两个 LZ 结构域
	AtCYP40 (CYP40)	细胞质	含 CLD 和 C 端 TPR 结构
	AtCYP57	细胞质	含 CLD 和 C 端 S/K-R/E 结构域
	AtCYP65	细胞质	含 CLD 和 N 端 U 形框结构域
	AtCYP71	细胞质	含 CLD 和 N 端两个 WD40 结构域
	AtCYP63	细胞核	含 CLD 和 C 端 RS 结构域(含 NLS)
	AtCYP59	细胞核	含 CLD 以及 C 端 RRM 和 R 结构域(含 NLS)
	AtCYP95	细胞核	含 CLD 以及 C 端 EK 和 RS 结构域(含 NLS)

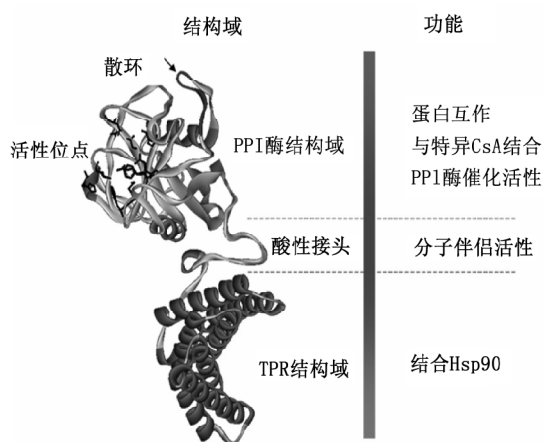


图2 CyP40 的功能域及结构

Fig.2 Functional domains and structure of CyP40

般亲环素所具有的肽脯氨酰顺反异构酶(PPI酶)活性以及能够与CsA特异结合等特点外, CyP40还具有蛋白质伴侣活性以及独特的催化功能, 其TPR结构域对于Hsp90-伴侣复合物的形成是必需的, 而且决定了作用受体的组织特异性功能, 它通过TPR结构域与Hsp90的C-端MWWVD结构域相互结合, 30个氨基酸残基连接子有助于Hsp90与CyP40交互作用, 并且形成一个结合底物的疏水性腔体, 这个结构对于CyP40发挥分子伴侣的功能起关键作用。此外, 在受体与Hsp90装配期间, CyP40也对Hsp90的ATP酶活性进行调节(Ratajczak等2009)。

此外, CyP40在芳香烃信号通路中发挥重要作用。研究表明, 在此通路中起关键作用的既不

是 PPIase 结构域也不是 TPR 结构域, 而是 30 个氨基酸残基连接肽(Luu 等 2008)。所以, CyP40 中, 30 个氨基酸残基连接子对于其发挥重要功能也是必不可少的。在植物中, CyP40 对营养生长阶段向成熟发展变化起关键的调节作用, CyP40 突变致其幼叶数量减少和叶形改变(Berardini 等 2001)。据报道 CyP40 突变体表型与 *CyP40* 对 microRNA 介导的基因沉默的调节作用相关。

3 植物细胞亲环素的生化特性

3.1 具有肽脯氨酰顺反异构酶活性 肽脯氨酰顺反异构酶(PPIase)是催化肽键和蛋白底物中肽脯基键 Xaa-Pro 顺反异构化的酶类, 包括三类序列结构上不相关的蛋白家族: CyP、FKBPs 和 Parvulins。由于 CyP 和 FKBPs 分别能与免疫抑制剂 CsA 和 FK506 特异结合致其 PPIase 的活性受到抑制, 两者组合总称免疫素(immunophilins)。PPIase 催化域(即单结构域)在 10~20 kDa 之间。结构较复杂的 PPIase (即多结构域), 大小约 35 kDa, 除了催化结构域外, 还包括与之相连接的若干结合模块, 这些结合模块决定了底物依赖的活性以及 PPIase 的特定功能。由 PPIase 催化的异构化作用很少依赖于肽序列。

PPIase 结构域较为保守, 分布广泛, 功能多样。虽然 3 组 PPIase 在序列上没有太大的相关性, 但每一组内形成 PPIase 活性位点和结合大环内酯的氨基酸残基是高度保守的, 显示出每组 PPIase 的空间结构和功能是相对保守的。无论是处于自由状态还是定位在膜上, PPIase 几乎出现在细胞的每一个组分中, 与许多控制一系列细胞活动过程的靶分子相互作用, 如分子伴侣或二硫化异构酶等。在新蛋白合成过程中, Xaa-Pro 键的异构反应是蛋白折叠过程中的一个限速步骤, 而 CyP 作为催化剂能够加快限速步骤的异构化作用, 并作为分子伴侣的一部分, 参与膜结构的转运及蛋白复合物的整合。CyP 是蛋白质折叠、运输、装配以及细胞周期调节的关键点(Freskgard 等 1992)。此外, PPIase 在转录后修饰、N 末端修饰及磷酸化作用中发挥重要作用。遗传学分析结果表明, 拟南芥有 52 个编码免疫素基因, 多个位于叶绿体, 尤其是分布在叶绿体类囊体内腔的小组分中(He 等 2004), 这些免疫素基因对叶绿体正常功能的发挥起至关重要的调节作用。

3.2 能够与免疫抑制剂环孢霉素A特异性结合 CyP 的另一特征是能够与免疫抑制剂 CsA 特异性结合。CyP 与 CsA 具有高度的亲和力, 特异结合后使后者具有高效的免疫抑制性能, 使其在哺乳动物免疫抑制调节中的 T-细胞激活过程中(通过钙调磷酸酶抑制免疫反应)发挥重要作用。CsA 与 CyP 结合能够抑制其肽脯氨酰顺反异构酶活性, 但是有证据显示, CyP 的免疫抑制作用与其是否具有 PPIase 活性没有相关性, 而是取决于它与 CsA 所形成的复合物(CyP-CsA), 该复合物产生一个特殊的合成物表面, 能够结合并抑制钙调磷酸酶蛋白活性, 使受该酶底物活化的 T-细胞核因子(NF-AT)不能够去磷酸化, 致其不能从细胞浆转到细胞核, 即在转录水平阻断淋巴细胞的活化, 因此, 可用于自身免疫性疾病如红斑狼疮、皮炎等和器官移植治疗中(Colgan 等 2005)。在植物细胞生理中, CyP-CsA 也有一个类似的作用。在植物蚕豆保卫细胞中, Luan 等(1994)曾经发现, CsA 能阻止一个 Ca^{2+} 依赖型的信号转导途径。进一步实验证明是 pCyP B-CsA 复合物而非单独的 pCyP B 或 CsA 作为钙调磷酸酶的抑制剂, 阻断了钙调节的信号转导途径。同样, 一种通过 CyP-CsA 复合物而对钙调磷酸酶活性的相似的抑制作用也存在于酵母中(Foor 等 1992)。

综上所述, CyP 可能在各种不同生物体内的信号转导过程中起着类似的作用。这与在不同有机体中 CyP 序列上的高度保守性是统一的。

3.3 可能具有核酸酶活性 Montague 等(1997)提出 CyP 具有与细胞内 DNA 结合的核酸酶活性。在细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)过程中, CyP 受到激活而使核酸降解, 起到调节细胞凋亡的作用。在植物受病原菌侵袭时, 受感染部位发生超敏反应, 局部细胞死亡, 亲环素高量表达而积累, 从而激活与此相关的抗性反应, 使整个植株获得抗性。在此过程中, 推测大量表达的亲环素可能降解了植物基因组 DNA, 导致 PCD 的发生。该作用属于细胞非免疫应答性反应, 与其 PPIase 活性无关。

3.4 是一种花粉过敏原 CyP 作为一种过敏原, 也存在于植物的花粉中。Cadot 等(2000)从桦树(*Betula verrucosa*)花粉提取物中分离出一种新的大小为 18 kDa 的过敏原 Bet v 7, 并证实该蛋白属于 CyP 家族, 是 CyPA 亚族中的一个成员, 然后对编码该蛋白的

基因进行了克隆和异源系统表达分析(Cadot等2006)。最近, Pazouki等(2009)利用基质辅助激光解吸附电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)技术在法国梧桐(*Platanus orientalis*)的花粉提取物中也鉴定出了一个18 kDa的属于CyP家族的过敏原。

4 植物细胞亲环素的生物学功能

4.1 参与叶绿体的光保护和氧化还原调节 在绿色植物中, 叶绿体进行光合作用依赖于定位在类囊体膜上的大蛋白复合物, 包括光合系统I (PSI)和光合系统II (PSII)。所以这些蛋白复合物的有效装配及稳定性保持对于植物进行有效光合作用是至关重要的。在叶绿体类囊体内腔中存在有80~100种不同的可溶性蛋白, 其中多数属于免疫素蛋白家族。这些蛋白除作为基本的蛋白折叠催化剂, 参与调节细胞信号转导、生物发生、以及受体的活性等细胞各种不同生理过程外, 同时也对光合作用过程以及叶绿体的光保护进行调节。在拟南芥29个CyP中, 目前已知至少有6个定位在叶绿体类囊体内腔。实验证明, 在叶绿体进行光合作用过程中, CyP在光合系统的装配、维持以及光保护方面均发挥重要作用。Fu等(2007)的实验结果显示, 在拟南芥叶绿体内腔中, CyP38对叶绿体中PSII超级复合物的装配及稳定性维持起关键作用, *cyp38*突变体植株的PSII存在明显缺陷, 并具有生长矮小、对强光超级敏感等特点。

CyP20-3 (即ROC4), 一个由核基因组编码的单结构域CyP, 是CyP家族中唯一一个定位在叶绿体液相基质中的成员, *CyP20-3*基因仅在光合组织中表达, 受光的强烈诱导, 其PPIase活性受氧化还原作用的调节。Dominguez-Solis等(2008)对拟南芥*cyp20-3*突变体的研究结果显示, 这些突变体植株在由强光等产生的氧化性胁迫下表现出极度的敏感性。进一步证实, 在叶绿体中, CyP20-3是将光合电子传递和氧化还原调节与半胱氨酸生物合成和外界胁迫应答联系起来的一个关键性枢纽。

在高等植物叶绿体中, CyP的PPIase活性受氧化还原作用的调节, 但是究竟其氧化态抑或是还原态形式有活性目前仍存在争议。Motohashi等(2003)的研究结果显示, CyP的PPIase活性在氧化形式下是完全被抑制的, 氧化形式的CyP (CyP_{ox})在硫氧还蛋白(Trx-*m*)和50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTT的共同作用下可

被还原, 其PPIase活性可达到还原形式(CyP_{red})下的55%; Shapiguzov等(2006)的研究结果则显示, 免疫素的PPIase活性在硫醇还原作用下会受到强烈抑制, 暗示植物在受到氧化胁迫和叶绿体的类囊体腔中光合氧产生条件下, 出现蛋白折叠催化的氧化激活作用。作为光合氧产生的位点, 叶绿体类囊体内腔对氧化胁迫是高度敏感的, 光合系统抗氧化胁迫的分子机制可能包括对类囊体内腔和类囊体膜表面的蛋白折叠催化的氧化还原调节作用。

4.2 调节植物发育 植物体的正常生长和发育需要许多因子来进行有效的调节。实验证明, CyP对植物体的正常发育起关键调节作用。*cyp*突变体植株的生长通常表现异常。Marivet等(1994)在对豆类植株发育过程的研究中发现, 正常豆类植物萌发3 d后开始在正在发育的组织中出现CyP转录物, 说明CyP参与正常豆类植物发育过程的调节。Berardini等(2001)研究证实, CyP40在拟南芥生长发育过程中是一个必需的调节因子, 编码CyP40的同源基因*SQUINT* (*SQN*)的功能缺失突变体表现出幼叶数量减少和花形态改变, 但开花时间及生殖能力受影响较小。最近, Smith等(2009)也对拟南芥中*SQN*的功能缺失突变体进行相关研究, 结果显示这些突变体同样表现出成熟植物特性的早熟、心皮数目增加以及花序空间排列异常等类似的表型特征。通过进一步实验说明引起这些突变体异常表型的原因在于: *SQN*基因突变导致了受小RNA (microRNA, miRNA) miR156调节的转录因子SPL家族成员的上调表达。*SQN*对于miR156的活性是必需的, 它通过提高ARGONAUTE1 (AGO1)的活性而间接提高miR156的活性, 从而能够对miR156介导的基因抑制作用进行间接的调控。这与先前曾报道的在拟南芥中, miR156对转录因子SPL家族的10个成员进行调节, 在*sqn*突变体中SPL转录物会明显增加(Schwab等2005), AGO1在拟南芥中能导致miRNA介导的转录后基因沉默(Baumberger和Baulcombe 2005; Qi等2005)以及在拟南芥和玉米中发现的miR156的组成型表达能够延长植物发育的幼态阶段并且增加叶的发生率等结果(Wu和Poethig 2006; Chuck等2007; Gandikota等2007; Schwarz等2008; Wang等2008)相吻合。发育中的植物*cyp*突变体的遗传学分析结果显示, 缺乏

CyP的植物会表现出子叶细胞增殖异常、下胚轴细胞额外分层以及顶端分生组织异常等特点。Oh等(2006)对番茄中编码LeCyP1的单基因*dgt*突变体进行研究,结果显示该突变体表现出向重力性应答缓慢、侧根缺乏、顶端优势不明显、导管发育改变、果实生长减少等多效性表型。Li等(2007)从拟南芥中鉴定出一个含WD40结构域的CyP(CyP71),该亲环素蛋白与靶基因座的染色质相关联,能够与组氨酸H3产生物理性互作,在基因抑制与器官发生方面起关键作用,*cyp71*突变体显示出明显的发育缺陷表型,包括顶端分生组织活性减弱,侧生器官发生缓慢并畸变以及根生长停止等症状。Cho和Kim(2008)将从红藻中分离出的一个CyP基因(*GjCyP-1*)转入烟草中研究该基因对植物生长和发育的影响。结果显示,*GjCyP-1*组成型过表达植株根系及叶片均比较小,萌发率较高,说明*GjCyP-1*与种子萌发和植物生长相关。

此外,CyP与植物胚乳发育及胚形成有关。在小麦胚乳发育过程中,储藏蛋白聚合体的快速沉积需要其在内质网中进行有效的折叠与装配。在小麦胚乳蛋白中,醇溶谷蛋白中含有大量的脯氨酸残基(10%~30%),在胚乳发育过程中,其蛋白亚基在核糖体中合成并被转运到内质网(ER)腔中,位于内质网中的PPIase(ER-CyP)作为主要的折叠酶,能够加速这些蛋白亚基的有效折叠与装配,使其在胚乳细胞中形成大的蛋白聚合体。同时也充当分子伴侣的角色,在小麦胚乳蛋白的折叠、装配、蛋白分选与蛋白体沉积等过程中发挥重要作用(Johnson等2001; Johnson和Bhave 2004)。目前,Wu等(2009)已经从小麦中鉴定出编码ER-CyPB的一个基因*CyPB*,并证实*CyPB*与小麦品质相关。

4.3 参与逆境响应过程 植物CyP基因的一个显著特征是它们的表达受逆境胁迫诱导,即当植物受非生物以及病原菌胁迫时,CyP基因会受胁迫诱导而进行表达积累。

4.3.1 非生物逆境 在高盐、热激、低温、光照、化学药剂和机械损伤等非生物胁迫条件下,植物体内CyP表达量会显著增加。Luan等(1994)曾提出蚕豆叶绿体中的pCyPB在转录水平上其表达受光和热激诱导。*pCyPB* mRNA在蚕豆叶片中受光诱导高度表达积累。同样在热激处理后其转录物

显著增加。Chen等(2007)对盐生植物水芹亲环素基因*ThCyP1*的研究证实,该基因在正常水芹的根、茎、叶和花中组成型表达,但是在盐、ABA、双氧水和热激等条件下其表达被强烈诱导。在拟南芥CyP家族中,(rotamase CyP)ROC1、ROC2、ROC3和ROC5均受光诱导表达。在黑暗条件下ROC1、ROC2和ROC3的表达量都有所下降,而在植株受伤情况下这些基因的表达量上升;ROC4仅在植株的光合器官中表达,在根中不表达,但能被光强烈地诱导表达(Chou和Gasser 1997);ROC5(*AtCyP1*)受光照影响较小。Cho和Kim(2008)研究了转*GjCyP-1*基因烟草在植物激素处理下的表达模式,结果表明赤霉素(GA₃),吲哚乙酸(IAA),玉米素(ZA)均能诱导*GjCyP-1*的转录。

4.3.2 生物逆境 植物体内CyP受病原菌胁迫诱导表达,能够提高植物的抗逆性。Kong等(2001)从受病原菌感染而发生超敏反应的辣椒叶片的cDNA文库中分离出一个的亲环素基因*CaCyP1*,并通过Northern杂交实验分析证实,该基因在健康辣椒的叶、茎、根和花中组成型表达,在绿色未成熟以及红色成熟的果实中不表达;但在受病原菌感染的辣椒植物中,*CaCyP1* mRNA受病原菌强烈诱导而表达积累。采用水杨酸、乙烯和茉莉酮酸酯处理胡椒叶片,也同样会强烈的诱导*CACYP1*转录物的积累。Godoy等(2000)从受真菌感染的马铃薯块茎中分离出一个编码细胞溶质亲环素的基因*StCyP*,并证实*StCyP* mRNA在健康马铃薯光合器官如叶和茎以及发育器官如块茎芽中高度积累,在块茎中积累程度则相对较低,但在受机械损伤和受真菌感染的马铃薯块茎中该基因的转录水平显著提高。植物激素甲基茉莉酮酸酯(MeJA)和脱落酸(ABA)以及热激均能够诱导马铃薯块茎中*StCyP* mRNA的积累。Lee等(2007)从大白菜叶片的cDNA文库中分离出大白菜亲环素基因*C-CyP*基因,发现该基因编码的蛋白C-CyP具有抗真菌活性,能抑制真菌病原体生长。Viaud等(2002)也证实水稻线粒体和胞浆中的亲环素1(CyP1)能够抑制稻瘟病菌附着孢形成和菌丝生长。Ye和Ng(2000)从绿豆种子中分离出一种结构上类似于CyP的新的抗真菌蛋白——绿豆素。拟南芥ROC1作为一个激活植物效应蛋白的分子开关,调控植物对病原体的抗性(Coaker等

2006)。

此外,在应答各种非生物逆境及病原体胁迫的条件下,大豆和玉米 *CyP* mRNA 均会表达积累

(Buchholz 等 1994; Marivet 等 1995, 1994; Luan 等 1994)。

表2中罗列了已知植物亲环素基因及其功能。

表2 植物亲环素基因及其功能

Table 2 Genes and functions of CyP in plant

亲环素基因	来源物种	功能	参考文献
<i>Bet v 7</i>	桦树(<i>Betula verrucosa</i>)	花粉中的一种过敏原	Cadot 等 2000
<i>CyP38</i>	拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	参与叶绿体中 PSII 复合物的装配及稳定性维持	Fu 等 2007
<i>CYP20-3 (ROC4)</i>	拟南芥	受光诱导,是光合电子传递和氧化还原调节与半胱氨酸生物合成和外界胁迫应答联系的关键点	Dominguez-Solis 等 2008
<i>LeCyP1</i>	番茄(<i>Lycopersicon esculentum</i>)	是植物生长素信号通路中的一个组分	Oh 等 2006
<i>CyP40</i>	拟南芥	调节植物营养阶段的生长发育成熟变化过程	Luu 等 2008
<i>CyP71</i>	拟南芥	对基因抑制作用及以及器官的发生进行调控	Li 等 2007
<i>GjCyP-1</i>	红藻(<i>Griffithsia japonica</i>)	调节种子的萌发及植物的生长,参与激素应答	Cho 和 Kim 2008
<i>CyPB</i>	小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	参与蛋白亚基的有效折叠与装配,同时也影响谷物品质	Wu 等 2009
<i>pCyP B</i>	蚕豆(<i>Vicia faba</i>)	响应逆境,受光和热激诱导	Luan 等 1994
<i>CaCyP1</i>	辣椒(<i>Capsicum annuum</i>)	响应逆境,受病原菌以及植物激素的诱导	Kong 等 2001
<i>StCyP</i>	马铃薯(<i>Solanum tuberosum</i>)	参与逆境应答,受机械损伤、病原菌以及植物激素诱导	Godoy 等 2000
<i>C-CyP</i>	大白菜(<i>Chinese Cabbage</i>)	响应生物逆境,具有抗真菌活性,能抑制真菌病原体生长	Lee 等 2007
<i>CyP1</i>	水稻(<i>Oryza sativa</i>)	响应生物逆境,能够抑制稻瘟病菌附着孢形成和菌丝生长	Viaud 等 2002

5 展望

当前, *CyP* 已经被鉴定为一种胁迫应答蛋白,其表达和积累受逆境胁迫诱导,通过响应逆境胁迫因子而调节植物的抗逆性。在逆境胁迫条件下,植物需要多种蛋白参与一系列应答胁迫的过程,大量的 *CyP* 可能作为分子伴侣来诱导这些蛋白质快速折叠、翻译后修饰及蛋白质再分配,保护蛋白质免于水解或聚集。这种机制对于植物在胁迫条件下的信号转导或新蛋白的折叠和装配是非常重要的。在受某种或某些病原体感染后, *CyP* 可能作为信号转导过程中的一个组分,在体内表达量显著增加,使植物能有效抵抗病原菌的侵害,提高了植物的抗病能力。此外,在感病植物中, *CyP* 也可能扮演分子伴侣的角色,来应对胁迫条件下蛋白的降解或大量蛋白聚集的风险。截止目前,尽管我们对于许多植物亲环素生物学功能的研究已经取得了一定进展,但许多还仅仅停留在推导和假设水平,尤其是 *CyP* 在植物逆境应答方面的功能及确切机制仍不明确。

例如,在生物或非生物胁迫条件下 *CyP* mRNA 表达量是上调的,但对其具体的应答机制很难解释清楚,有待于进一步的实验研究证实。

此外,在植物中已经鉴定出的单结构域和多结构域的 *CyP* 异构体种类多样,分布广泛。*CyP* 异构体的丰富性和多样性决定了这个家族功能上的多样性。因此,随着对 *CyP* 广泛参与的细胞的各种生理过程的不断发现,其生物学功能及其作用机制也有待于进一步的深入研究。

参考文献

- Baumberger N, Baulcombe DC (2005). *Arabidopsis* ARGONAUTE1 is an RNA Slicer that selectively recruits microRNAs and short interfering RNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (33): 11928~11933
- Berardini TZ, Bollman K, Sun H, Poethig RS (2001). Regulation of vegetative phase change in *Arabidopsis thaliana* by cyclophilin 40. *Science*, 291 (5512): 2405~2407
- Buchholz WG, Harris-Haller L, DeRose RT, Hall TC (1994). Cyclophilins are encoded by a small gene family in rice.

- Plant Mol Biol, 25 (5): 837~843
- Cadot P, Diaz JF, Proost P, Van Damme J, Engelborghs Y, Stevens EA, Ceuppens JL (2000). Purification and characterization of an 18-kDa allergen of birch (*Betula verrucosa*) pollen: identification as a cyclophilin. J Allergy Clin Immunol, 105 (2 Pt 1): 286~291
- Cadot P, Nelles L, Srahna M, Dilissen E, Ceuppens JL (2006). Cloning and expression of the cyclophilin Bet v 7, and analysis of immunological cross-reactivity among the cyclophilin A family. Mol Immunol, 43 (3): 226~235
- Chen AP, Wang GL, Qu ZL, Lu CX, Liu N, Wang F, Xia GX (2007). Ectopic expression of *ThCYPI*, a stress-responsive cyclophilin gene from *Thellungiella halophila*, confers salt tolerance in fission yeast and tobacco cells. Plant Cell Rep, 26 (2): 237~245
- Cho EK, Kim M (2008). A red algal cyclophilin has an effect on development and growth in *Nicotiana tabacum*. Plant Physiol Biochem, 46 (10): 868~874
- Chou IT, Gasser CS (1997). Characterization of the cyclophilin gene family of *Arabidopsis thaliana* and phylogenetic analysis of known cyclophilin proteins. Plant Mol Biol, 35 (6): 873~892
- Chuck G, Cigan AM, Saetern K, Hake S (2007). The heterochronic maize mutant *Corngrass1* results from overexpression of a tandem microRNA. Nat Genet, 39 (4): 544~549
- Coaker G, Zhu G, Ding Z, Van Doren SR, Staskawicz B (2006). Eukaryotic cyclophilin as a molecular switch for effector activation. Mol Microbiol, 61 (6): 1485~1496
- Colgan J, Asmal M, Yu B, Luban J (2005). Cyclophilin A-deficient mice are resistant to immunosuppression by cyclosporine. J Immunol, 174 (10): 6030~6038
- Dominguez-Solis JR, He Z, Lima A, Ting J, Buchanan BB, Luan S (2008). A cyclophilin links redox and light signals to cysteine biosynthesis and stress responses in chloroplasts. Proc Natl Acad Sci USA, 105 (42): 16386~16391
- Foor F, Parent SA, Morin N, Dahl AM, Ramadan N, Chretien G, Bostian KA, Nielsen JB (1992). Calcineurin mediates inhibition by FK506 and cyclosporin of recovery from alpha-factor arrest in yeast. Nature, 360 (6405): 682~684
- Freskgard PO, Bergenhem N, Jonsson BH, Svensson M, Carlsson U (1992). Isomerase and chaperone activity of prolyl isomerase in the folding of carbonic anhydrase, Science, 258 (5081): 466~468
- Fu A, He Z, Cho HS, Lima A, Buchanan BB, Luan S (2007). A chloroplast cyclophilin functions in the assembly and maintenance of photosystem II in *Arabidopsis thaliana*. Proc Natl Acad Sci USA, 104 (40): 15947~15952
- Galat A (1993). Peptidylproline *cis-trans*-isomerases: immunophilins. Eur J Biochem, 216 (3): 689~707
- Gandikota M, Birkenbihl RP, Höhmann S, Cardon GH, Saedler H, Huijser P (2007). The miRNA156/157 recognition element in the 3' UTR of the *Arabidopsis* SBP box gene *SPL3* prevents early flowering by translational inhibition in seedlings. Plant J, 49 (4): 683~693
- Gasser CS, Gunning DA, Budelier KA, Brown SM (1990). Structure and expression of cytosolic cyclophilin/peptidyl-prolyl *cis-trans* isomerase of higher plants and production of active tomato cyclophilin in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci USA, 87 (24): 9519~9523
- Godoy AV, Lazzaro AS, Casalongue CA, Segundo BS (2000). Expression of a *Solanum tuberosum* cyclophilin gene is regulated by fungal infection and abiotic stress conditions. Plant Sci, 152 (2): 123~134
- Handschumacher RE, Harding MV, Rice J, Drugge RJ, Speicher DW (1984). Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for cyclosporin A. Science, 226 (4674): 544~547
- He Z, Li L, Luan S (2004). Immunophilins and parvulins. Superfamily of peptidyl prolyl isomerases in *Arabidopsis*. Plant Physiol, 134 (4): 1248~1267
- Johnson JC, Bhave M (2004). Characterisation and physical mapping of cyclophilin A genes and identification of new classes of cyclophilins in wheat. J Cereal Sci, 40 (2): 137~150
- Johnson JC, Clarke BC, Bhave M (2001). Isolation and characterisation of cDNAs encoding protein disulphide isomerases and cyclophilins in wheat. J Cereal Sci, 34 (2): 159~171
- Kinoshita T, Shimazaki K (1999). Characterization of cytosolic cyclophilin from guard cells of *Vicia faba* L. Plant Cell Physiol, 40 (1): 53~59
- Kong HY, Lee SC, Hwang BK (2001). Expression of pepper cyclophilin gene is differentially regulated during the pathogen infection and abiotic stress conditions. Physiol Mol Plant Pathol, 59 (4): 189~199
- Küllertz G, Liebau A, Rücknagel P, Schierhorn A, Dietrich B, Fischer G, Luckner M (1999). Stress-induced expression of cyclophilins in proembryonic masses of *Digitalis lanata* does not protect against freezing/thawing stress. Planta, 208 (4): 599~605
- Lee JR, Park SC, Kim JY, Lee SS, Park Y, Cheong GW, Hahn KS, Lee SY (2007). Molecular and functional characterization of a cyclophilin with antifungal activity from Chinese cabbage. Biochem Biophys Res Commun, 353 (3): 672~678
- Li H, He Z, Lu G, Lee SC, Alonso J, Ecker JR, Luan S (2007). A WD40 domain cyclophilin interacts with histone H3 and functions in gene repression and organogenesis in *Arabidopsis*. Plant Cell, 19 (8): 2403~2416
- Luan S, Lane WS, Schreiber SL (1994). pCyPB: a chloroplastic localized, heat shock-responsive cyclophilin from fava bean. Plant Cell, 6 (6): 885~892
- Luu TC, Bhattacharya P, Chan WK (2008). Cyclophilin-40 has a cellular role in the aryl hydrocarbon receptor signaling. FEBS Lett, 582 (21-22): 3167~3173
- Marivet J, Frendo P, Burkard G (1992). Effects of abiotic stresses on cyclophilin gene expression in maize and bean and sequence analysis of bean cyclophilin cDNA. Plant Sci, 84 (2): 171~178
- Marivet J, Frendo P, Burkard G (1995). DNA sequence analysis of a cyclophilin gene from maize: developmental expression and regulation by salicylic acid. Mol Gen Genet, 247 (2):

222~228

- Marivet J, Margis-Pinheiro M, Frendo P, Burkard G (1994). Bean cyclophilin gene expression during development and stress conditions. *Plant Mol Biol*, 26 (4): 1181~1189
- Montague JW, Hughes FM Jr, Cidowski JA (1997). Native recombinant cyclophilin A, B, and C degrade DNA independently of peptidyl *cis-trans* isomerase activity potential roles of cyclophilins in apoptosis. *J Biol Chem*, 272 (10): 6677~6684
- Motohashi K, Koyama F, Nakanishi Y, Ueoka-Nakanishi H, Hisabori T (2003). Chloroplast cyclophilin is a target protein of thioredoxin. *J Biol Chem*, 278 (34): 31848~31852
- Oh K, Ivanchenko MG, White TJ, Lomax TL (2006). The *diageotropica* gene of tomato encodes a cyclophilin: a novel player in auxin signaling. *Planta*, 224 (1): 133~144
- Pazouki N, Sankian M, Leung PT, Nejadattari T, Khavari-Nejad RA, Varasteh AR (2009). Identification of cyclophilin as a novel allergen from *Platanus orientalis* pollens by mass spectrometry. *J Biosci Bioeng*, 107 (2): 215~217
- Qi Y, Denli AM, Hannon GJ (2005). Biochemical specialization within *Arabidopsis* RNA silencing pathways. *Mol Cell*, 19 (3): 421~428
- Ratajczak T, Ward BK, Cluning C, Allan RK (2009). Cyclophilin 40: an Hsp90-cochaperone associated with apo-steroid receptors. *Int J Biochem Cell Biol*, 41 (8-9): 1652~1655
- Romano P, Gray J, Horton P, Luan S (2005). Plant immunophilins: functional versatility beyond protein maturation. *New Phytol*, 166 (3): 753~769
- Romano PG, Horton P, Gray JE (2004). The *Arabidopsis* cyclophilin gene family. *Plant Physiol*, 134 (4): 1268~1282
- Saito T, Ishiguro S, Ashida H, Kawamukai M, Matsuda H, Ochiai H, Nakagawa T (1995). Cloning and sequence analysis of genes for cyclophilin from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 36 (2): 377~382
- Saito T, Niwa Y, Ashida H, Tanaka K, Kawamukai M, Matsuda H, Nakagawa T (1999). Expression of a gene for cyclophilin which contains an amino-terminal endoplasmic reticulum-targeting signal. *Plant Cell Physiol*, 40 (1): 77~87
- Schwab R, Palatnik JF, Rieger M, Schommer C, Schmid M, Weigel D (2005). Specific effects of microRNAs on the plant transcriptome. *Dev Cell*, 8 (4): 517~527
- Schwarz S, Grande AV, Bujdoso N, Saedler H, Huijser P (2008). The microRNA regulated SBP-box genes *SPL9* and *SPL15* control shoot maturation in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 67 (1-2): 183~195
- Shapiguzov A, Edvardsson A, Vener AV (2006). Profound redox sensitivity of peptidyl-prolyl isomerase activity in *Arabidopsis* thylakoid lumen. *FEBS Lett*, 580 (15): 3671~3676
- Smith MR, Willmann MR, Wu G, Berardini TZ, Möller B, Weijers D, Poethig RS (2009). Cyclophilin 40 is required for microRNA activity in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106 (13): 5424~5429
- Viaud MC, Balhadere PV, Talbot NJ (2002). A *Magnaporthe grisea* cyclophilin acts as a virulence determinant during plant infection. *Plant Cell*, 14 (4): 917~930
- Wang JW, Schwab R, Czech B, Mica E, Weigel D (2008). Dual effects of miR156-targeted *SPL* genes and *CYP78A5/KLUH* on plastochron length and organ size in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 20 (5): 1231~1243
- Wu G, Poethig RS (2006). Temporal regulation of shoot development in *Arabidopsis thaliana* by miR156 and its target *SPL3*. *Development*, 133 (18): 3539~3547
- Wu HM, Wensley E, Bhave M (2009). Identification and analysis of genes encoding a novel ER-localised *Cyclophilin B* in wheat potentially involved in storage protein folding. *Plant Sci*, 176 (3): 420~432
- Ye XY, Ng TB (2000). Mungin, a novel cyclophilin-like antifungal protein from the mung bean. *Biochem Biophys Res Commun*, 273 (3): 1111~1115