

胚胎晚期富集蛋白与生物的干旱胁迫耐受性

刘昀, 刘国宝, 李冉辉, 邹永东, 郑易之

深圳大学生命科学学院 深圳市微生物基因工程重点实验室, 深圳 518060

摘要: 胚胎晚期富集蛋白 (Late embryogenesis abundant, LEA) 是参与生物体抵抗干旱胁迫的一类重要蛋白。LEA 蛋白可分为 7 组。大多数 LEA 蛋白具有亲水性及热稳定性。LEA 蛋白在水溶液中通常为无折叠状态, 但脱水胁迫可诱导其转变为 α -螺旋。近年来关于 LEA 蛋白的研究取得了较多进展。研究结果表明 LEA 蛋白可定位于细胞内的多种细胞器中, 且 LEA 蛋白可能具有多重保护作用, 如保护蛋白质及酶活性、或保护细胞的膜结构、或具有抗氧化作用、结合离子或保护 DNA 等。以下主要介绍了 LEA 蛋白的功能、二级结构及保护作用机制。

关键词: 胚胎晚期富集蛋白, 干旱胁迫, 亚细胞定位, 蛋白质二级结构, 多重保护功能

Functions of late embryogenesis abundant proteins in desiccation-tolerance of organisms: a review

Yun Liu, Guobao Liu, Ranhui Li, Yongdong Zou, and Yizhi Zheng

Key Laboratory of Microorganism and Genetic Engineering of Shenzhen City, College of Life Science, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China

Abstract: Late embryogenesis abundant (LEA) proteins are well associated with the desiccation tolerance in organisms. LEA proteins are categorized into at least seven groups by virtue of similarities in their deduced amino acid sequences. Most of the LEA proteins have the characteristics of high hydrophilicity and thermo-stability. The LEA proteins are in unstructured conformation in aqueous solution. However, they adopted amphiphilic α -helix structure during desiccation condition. LEA proteins are localized to the different organelles in the cells, i.e. cytoplasm, endoplasmic reticulum, mitochondria and nucleus. The multi-functional capacity of LEA proteins are suggested, as protein stabilization, protection of enzyme activity, membrane association and stabilization, antioxidant function, metal-ion binding or DNA protection, etc. Here, we review the structural and functional characteristics of LEA proteins to provide a reference platform to understand their protective mechanisms during the adaptive response to desiccation in organisms.

Keywords: late embryogenesis abundant protein, desiccation tolerance, subcellular localization, secondary structure, protective functions

水分缺失是影响生物体生命活动的重要环境因素。在长期进化过程中, 生物体演化出多种分子机制抵御水分的缺失, 如基因的表达、代谢的调节、酶活性的改变等。胚胎晚期富集蛋白 (Late

Received: December 11, 2009; **Accepted:** March 9, 2010

Supported by: National Natural Science Foundation of China (Nos. 30470107, 30670180, 30811130217), Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. 8451806001001736).

Corresponding author: Yizhi Zheng. Tel: +86-755-26558941; Fax: +86-755-26534274; E-mail: yzzheng@szu.edu.cn

国家自然科学基金项目 (Nos. 30470107, 30670180, 30811130217), 广东省自然科学基金项目 (No. 8451806001001736) 资助。

embryogenesis abundant, LEA) 是参与细胞抗逆保护的一类重要蛋白质。上世纪 80 年代, Dure 等首次报告了在棉花发育种子中存在 *LEA* 基因^[1]。随后, 在许多其他植物的种子、花粉粒和营养组织中发现了多个 *LEA* 蛋白^[2]。这些 *LEA* 蛋白的高水平表达与植物耐旱、耐盐或耐低温能力的提高密切相关。利用分子育种技术, 证明了导入外源 *LEA* 基因 (如大麦 *HVA1*, 小麦 *PMA80*) 可改善转基因水稻的抗旱、耐盐特性^[3-4], 这些结果显示 *LEA* 基因在提高农作物抗逆性方面有着广阔的应用前景。

近年来, 科学家们在非植物界生物体 (如线虫、蛭形轮虫、藻类、地衣、古细菌、微生物及节肢动物卤虫) 中也发现了 *LEA* 蛋白^[2,5], 并发现了 *LEA* 蛋白的新功能。在 *LEA* 蛋白抗脱水分子机制方面也取得了新的研究进展。以下将对近年来 *LEA* 蛋白与生物体干旱胁迫耐受性的关系研究进行综述。

1 *LEA* 蛋白家族的理化性质及分类

LEA 蛋白大多数为低分子量蛋白, 分子量约在 10~30 kDa 之间, 少部分在 30 kDa 以上。*LEA* 蛋白多由碱性和亲水性氨基酸组成, 富含甘氨酸以及小分子量氨基酸, 如丙氨酸和丝氨酸。该蛋白缺少半胱氨酸和色氨酸, 疏水氨基酸含量也很少。该蛋白质具有高度亲水性, 且在沸水处理后仍可保持稳定^[2]。

LEA 蛋白是一个大的蛋白家族。拟南芥中就有 50 种以上的 *LEA* 蛋白^[6]。根据 *LEA* 蛋白保守序列的特点, Battaglia 将 *LEA* 蛋白分为 7 组^[2]。其中 *LEA1* 蛋白高度亲水, 其序列内含 20 个氨基酸的保守基序 (TRKEQG[T/E]EGY[Q/K]EMGRKGG[L/E])。该序列在植物 *LEA1* 蛋白中通常可串联 1~4 次, 也可重复 8 次左右。此外, 在植物 *LEA1* 蛋白的 N-端和 C-端还分别存在着另 2 个保守序列 (TVVPGGTGGKSLEAQE[H/N]LAE) 和 D[K/E]SGGERA[A/E][E/R]EGI[E/D]IDESK[F/Y])^[2]。

LEA2 蛋白又称脱水素 (Dehydrin)。该组 *LEA* 蛋白通常具有由 15 个氨基酸组成的 K 片段 (EKKGIMDKIKEKLP)。K 片段可串联排列, 其重复次数为 1~11。*LEA2* 蛋白还具有串联丝氨酸区 (S-片段)、Y-片段 ([V/T]D[E/Q]YGNP) n ($n=1\sim35$) 和

富含甘氨酸和极性氨基酸 (如苏氨酸) 的 Φ -片段。 Φ -片段在 K-片段之间重复出现。根据 K、Y 和 S 片段的分布情况, 可将 *LEA2* 蛋白分为 K-、SK-、YSK-、YK-和 KS-亚组^[2]。

LEA3 蛋白具有高保守的 11-氨基酸基序 (TAQAAKEKAGE)。该序列的拷贝数为 5~30。该基序第 1、2、5 和 9 位氨基酸为疏水残基 (F); 第 3、7 和 11 位为带负电荷或为极性氨基酸 (E、D、Q); 第 6 和 8 位为带正电荷氨基酸; 第 4 和 10 位是随机氨基酸 (X)^[7]。在 *LEA3* 蛋白的 11 氨基酸重复序列之间还常存在着不完整的 11-氨基酸基序。此外, 部分 *LEA3* 蛋白序列中还存在着 22-氨基酸基序 (VNKMGEYKDYAAEKAKEGKDAT)^[8]。

LEA4 蛋白的 N 端多为由 70~80 个氨基酸组成的保守区域。其中, 基序 1 (AQEKAEKMTA[R/H]DPXKEMAHERR[E/K][A/E][K/R]) 在 N 端序列中较保守^[2]。

LEA5 蛋白与其他 *LEA* 蛋白相比有较大差异。它通常含有高比例疏水氨基酸残基, 且不具有对热的稳定特性。*LEA5* 蛋白为球蛋白^[2,9]。

LEA6 蛋白序列内有 4 个保守基序。其中的基序 1 (LEDYKMQGYGTQGHQQPKPGRG) 和基序 2 (GSTDAPTLSSGAV) 高度保守, 且基序下划线部分的氨基酸序列在已发现的 36 个 *LEA6* 蛋白中的保守性可达 100%^[2]。

LEA7 蛋白含 6 个保守氨基酸序列。位于蛋白质 C-末端的保守序列可能含有核定位信号。位于 N-末端的串联组氨酸可能具有依赖 Zn^{2+} 离子的 DNA 结合活性^[2,10]。

2 *LEA* 蛋白家族的亚细胞定位

LEA 蛋白多分布于细胞质内。在棉花胚细胞中, *LEA* 蛋白可占细胞质可溶性蛋白的 4% 左右。此外, *LEA* 蛋白还可分布在细胞的内质网、线粒体、叶绿体和细胞核中, 表明 *LEA* 蛋白对细胞可能具有多重保护作用。

一些 *LEA3* 蛋白 (如大豆 GmPM8) 的 N 端含有典型的信号肽序列。这类蛋白质在合成后被转运至内质网中, 同时信号肽被切除。利用免疫电镜技术

可观测到桑树 *Morus bombycis* Koidz 的 WAP27 蛋白 (LEA3) 位于内质网上。在冷冻胁迫下, WAP27 蛋白可能通过减少内质网膜的流动性, 赋予桑树薄壁组织细胞较强的抗冻能力^[11]。

豌豆 *Pisum sativum* 的 LEAM 蛋白 (LEA3) 则存在于种子细胞的线粒体基质中。当 LEAM 前体蛋白进入线粒体基质后, 其 N 端的转运肽被切掉。在脱水条件下, LEAM 蛋白可保护线粒体基质中的延胡索酸酶和硫氰酸酶活性, 使线粒体免受脱水胁迫的伤害。LEAM 蛋白还有可能保护经干燥胁迫的线粒体内膜^[12-13]。最近的研究结果表明, 卤虫 *Afrlea3m* 蛋白定位于线粒体基质中。随着 *Afrlea3m* 蛋白表达水平的提高, 卤虫的耐脱水能力也得到提高^[5]。

拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 的 Cor15 蛋白 N 端具有转运肽序列。利用免疫法可检测到 Cor15 蛋白位于拟南芥细胞的叶绿体内^[14]。小麦 *Triticum aestivum* 的 Wcs19 蛋白也定位于叶绿体^[15]。

在细胞核中也发现有 LEA 蛋白。如玉米 *Zea mays* 胚中的 Rab17 蛋白是一个高度磷酸化的蛋白。Rab17 蛋白不仅分布在细胞质中, 也分布在细胞核内。而且在细胞质和细胞核中的 Rab17 蛋白有着不同程度的磷酸化^[16]。

3 LEA 蛋白的表达与生物的胁迫耐受性

3.1 LEA 蛋白家族的基因表达模式

LEA 蛋白不仅在种子发育后期大量表达, 也受多种胁迫的诱导表达。大量证据表明, 当干旱、高盐及低温胁迫发生、或外源脱落酸水平升高时, 植物营养组织中也积累 LEA 蛋白^[2,6]。然而, 也有一些例外情况。如用 ABA 处理拟南芥后, 一些 LEA 基因 (如 *AtLEA5-2*、*AtLEA9-1*) 的表达量保持不变, 或呈下调趋势^[6]。利用比较热稳定蛋白组技术, 发现鹰嘴豆 *Cicer arietinum* L. 种子中不仅有诱导表达的 LEA 蛋白, 也有组成型表达的 LEA 蛋白^[17]。

近年来在非植物界的生物中也发现有 LEA 蛋白, 如原核生物 *Deinococcus radiodurans*、藻类 *Chlamydomonas W80*、酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*、线虫 *Aphelenchus avenae*、摇蚊 *Polypedilum vanderplanki* 和卤虫 *Artemia franciscana*^[2,5,18]等。利

用 RNAi 方法抑制秀丽线虫 *Ce-lea-1* 基因的表达, 秀丽线虫的耐脱水胁迫能力明显下降^[19]。此外, 在极端耐辐射细菌 *Deinococcus radiodurans* 中也存在 LEA 基因, 暗示着 LEA 蛋白的存在可能与该细菌的耐辐射能力有关^[20]。

通过对不同来源的 LEA 蛋白进行系统树分析, Tunnacliffe 等推测 LEA 蛋白起源于古细菌蛋白^[18]。LEA 蛋白起源早、进化上高保守的特点暗示其在生物体中可能具有重要的生理功能。

3.2 LEA 蛋白的干燥依赖性加工

大量研究表明, LEA 蛋白的表达与细胞对干燥脱水及盐胁迫耐受性的获得直接相关。然而, 目前还不清楚 LEA 蛋白如何参与细胞的保护作用。Goyal 等报告线虫 *Aphelenchus avenae* 可表达 AavLEA1 蛋白 (16.5 kDa)。在脱水胁迫诱导下, AavLEA1 蛋白将断裂成分子量较小的多肽 (9 kDa)。体外实验表明, AavLEA1 全长蛋白及其断裂小肽对柠檬酸合成酶有保护作用^[21]。与线虫 AavLEA1 蛋白类似, 摇蚊幼虫的 PvLEA2 蛋白 (20.6 kDa) 在脱水胁迫下也可断裂产生小肽 (14.7 kDa)^[22]。Goyal 等将这种受干燥胁迫诱导的蛋白质断裂现象称为干燥依赖性的蛋白质加工 (Dehydration-regulated processing)^[18]。然而, 这种蛋白质加工现象是否也发生在受胁迫的植物 LEA 蛋白序列, 以及细胞内诱导 LEA 蛋白产生干燥依赖性加工的分子机理, 均是科学家们关注的问题。

3.3 LEA 蛋白与转基因生物的抗逆性

利用遗传学方法鉴定 LEA 基因的抗逆功能已积累了较多资料。如将大麦 *HVA1* (LEA3) 基因转化小麦和水稻, 转基因植物在经过干旱胁迫后可迅速恢复生长, 且转基因水稻根细胞膜的透性降低^[3]。小麦 *PMA80* (LEA2)、*PMA1959* (LEA1) 基因在水稻中的过表达可明显提高转基因植株在干旱条件下的叶绿素含量和根系的重量^[4]。

近年来, 有研究人员利用酵母、大肠杆菌等单细胞生物研究 LEA 蛋白的功能。如小麦 *TaLEA2* 和 *TaLEA3* 基因 (LEA3) 在酵母中的表达可提高酵母转化子的耐渗、耐盐和耐低温能力^[23]。Zhang 等将西红柿 *LE4* 基因 (LEA2) 及大麦 *HVA1* 基因

(LEA3)分别转入酵母。证明不同 LEA 蛋白在渗透胁迫中的保护作用存在差异^[24]。本研究小组首次用大肠杆菌表达体系鉴定 LEA 蛋白的耐盐功能。如将大豆 *PM2* (LEA3) 基因和 *PM11* (LEA1)、*PM30* (LEA3) 基因分别转化大肠杆菌。过量表达 LEA 蛋白的重组菌在高盐下的存活率明显高于对照菌^[8,25]。可见,酵母和大肠杆菌体系可作为研究某些 LEA 蛋白抗逆功能的简单、快捷、有效的体系。

4 LEA 蛋白的二级结构特征

蛋白质的结构与功能有密切的关系。近年来的研究结果显示 LEA1~LEA3 蛋白在水溶液中呈无折叠状态 (Unfolded state)^[26]。然而, LEA 蛋白序列中还可能某些结构元件。此外,在 LEA1~LEA3 蛋白中都发现了伸展的左手 PPII 螺旋 (Polyproline II helix) 结构^[27-28]。这种 PPII 螺旋可能与水紧密结合,为细胞提供缓冲环境^[26]。

LEA 蛋白的结构变化具有可逆性。在 SDS 和 TFE 诱导下, LEA 蛋白可形成高比例 α -螺旋。但去除溶液中的 SDS 和 TFE 后, LEA 蛋白又可恢复无折叠状态。脱水胁迫也可诱导一些 LEA 蛋白的 α -螺旋、 β 折叠结构增加^[13,17,28-29]。当豇豆 DHN1 蛋白 (LEA2) 与小单层脂质体 (Small unilamellar vesicles) 孵育时, α -螺旋明显增加^[30], LEA 蛋白的结构改变可能有助于行使其保护功能。然而,上述结果尚缺乏体内实验的支持。

5 LEA 蛋白的保护作用机制

LEA 蛋白与生物体耐受胁迫的能力密切相关,但其保护机制仍不清楚。根据生物信息学预测, LEA 蛋白的保护作用主要有保护蛋白质、与非还原性糖的互作、稳定膜结构、结合离子或保护 DNA 分子等。

5.1 LEA 蛋白对蛋白质的保护作用及其机制

5.1.1 稳定蛋白质的分子屏蔽 (Molecular shield) 假说

冻融和干燥引起的脱水可导致乳酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、延胡索酸酶和异硫氰酸酶活性的下降甚至完全丧失。LEA 蛋白可通过保护这些酶的活性,起到保护细胞及细胞器的作用^[12,31-32]。高温也可使

柠檬酸合成酶活性下降并发生聚集。高温下,细胞中的分子伴侣与被保护的蛋白质分子形成复合物,阻止其构象的错误变化,同时伴随着消耗能量 ATP。LEA 蛋白与海藻糖协同作用也可阻止柠檬酸合成酶聚集。然而, LEA 蛋白对酶活性的保护并不需要消耗 ATP^[32]。可见, LEA 蛋白对蛋白 (酶) 的保护机制与分子伴侣似乎并不相同。

Tunnacliffe 提出 LEA 蛋白保护蛋白质的分子屏蔽 (Molecular shield) 假说:无折叠 LEA 蛋白可填充于变性蛋白质分子之间,阻止了二者的互作,减少了部分变性蛋白质分子的聚集^[18,32]。

5.1.2 蛋白质间的相互作用

LEA 蛋白也可能通过蛋白质间的相互作用保护蛋白质活性。干燥可诱导鹰嘴豆 MtEm6(LEA1)和线虫 AaVLEA1 (LEA3) 蛋白形成大量 α -螺旋,后者可与部分变性的蛋白质的疏水基团互作,起到稳定蛋白质的作用^[17,28]。此外,位于 LEA1~LEA3 蛋白表面的左手伸展 PPII 结构可与其他蛋白质分子结合,保护蛋白质分子^[33]。

5.2 LEA 蛋白与非还原性糖互作的玻璃化模型

细胞质玻璃化模型是细胞耐脱水胁迫的一个重要模型。在胁迫条件下,生物体内非还原糖 (如蔗糖和海藻糖) 的合成和积累增加,形成玻璃化状态。同时,细胞内大量表达的 LEA 蛋白可参与非还原糖的玻璃态形成过程^[29]。在干燥胁迫下, LEA 蛋白可形成 α -螺旋结构,继而形成微纤维。这不仅有助于增强细胞的机械稳定性,提高细胞质玻璃体的强度,增强细胞质粘滞性,抑制了有害分子在细胞内的扩散^[29]。

5.3 与细胞膜结构的结合及对膜的稳定作用

逆境胁迫对细胞的伤害是破坏细胞膜系统和生物大分子结构。已有实验证据表明一些 LEA 蛋白可定位在膜结构丰富的区域。在体外, LEA 蛋白可与小的单层脂质体相互作用^[13]。而转基因实验结果显示,转大麦 *HVA1* 基因的水稻经干旱胁迫后,细胞膜透性降低,表明过量表达的 *HVA1* 蛋白可通过保护细胞膜提高植株抗旱性^[3]。此外,胁迫发生时,线粒体基质中的 LEA 蛋白也可保护线粒体内膜^[13]。然而,也存在着另一种可能性,即 LEA 蛋白在保护

线粒体内膜的同时, 也将影响线粒体内膜的氧化磷酸化过程。

5.4 结合金属离子

细胞的脱水不仅导致细胞内渗透压升高, 还将引起离子浓度升高。LEA 蛋白可整合过多的离子, 减轻离子毒害, 这可能是 LEA 蛋白的一个重要功能^[2,8]。

有研究表明, 高盐胁迫可诱导植物表达 LEA 蛋白^[2,18]。而且, LEA2 蛋白的丝氨酸被磷酸化后可结合溶液中的 Ca^{2+} , 显示出依赖磷酸化的 Ca^{2+} 结合特性^[34]。此外, LEA 蛋白还可结合 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Fe^{2+} 等离子^[35]。而且, LEA2 蛋白中的组氨酸残基也可与金属离子结合^[36]。

5.5 保护 DNA

最新的研究结果表明, 柑橘 *Citrus unshiu* 的 COR15 蛋白在 Zn^{2+} 作用下可与 DNA 和 tRNA 发生非特异相互作用。LEA 蛋白序列中富含组氨酸和赖氨酸的结构域可能在与 DNA 互作时起关键作用。以上研究表明 CuCOR15 蛋白可能对 DNA/RNA 有一定的保护作用^[37]。此外, Wise 等利用生物信息学预测 LEA 蛋白可以进入细胞核与 DNA 结合, 具有调控基因表达的功能^[38]。

6 一种 LEA 蛋白的多功能特性 (Multi-function)

蛭形轮虫可耐受极端脱水的环境。最近的研究表明, 蛭形轮虫的 LEA 基因具有两个不同的转录本, 可产生大小不同、功能各异两个 LEA 蛋白。其中一个基因转录本负责阻止一些重要蛋白质的聚集, 另一个基因转录本可维持细胞膜的完整性^[39]。暗示一种 LEA 蛋白可能具有多功能性。体外实验结果证实柑橘 COR15 蛋白不仅可螯合金属离子, 还具有保护 DNA/RNA 等功能^[36-37]。然而, “LEA 蛋白的多功能性” 假设仍需更多的实验证据来支持。

本课题组利用大肠杆菌、酵母和烟草证明了异源的大豆 Em (LEA1) 和 PM2 (LEA3) 蛋白的表达可提高宿主的耐盐性。这一结果为前人提出的“LEA 蛋白在原核细胞和真核生物中可能具有相似的耐盐机理” 这一假说提供了依据^[8,25]。本课题组还证明

Em 和 PM2 蛋白的高保守序列 (如 20-氨基酸基序, 11-氨基酸/22-氨基酸基序) 为耐盐功能结构域。最近, 刘响等证明一种 LEA 蛋白 (大豆 PM2) 的表达可赋予大肠杆菌重组子对低温、冷冻、高温及几种不同盐胁迫的耐受力。首次通过体内实验证明了一种 LEA 蛋白的多功能特性^[40]。

7 展望

LEA 蛋白对生物体、细胞及生物大分子的保护机理研究已积累了较多资料。然而, 在同一生物体内 LEA 蛋白家族成员是否存在冗余、不同成员的功能是否有差异、它们之间是否具有可替代性仍不清楚。尽管有研究指出 LEA 蛋白在胁迫处理时可由无折叠状态转变为有结构状态, 然而对 LEA 蛋白高级结构的形成及其与保护功能关系的研究并不多见。LEA 蛋白的多功能特性、以及 LEA 蛋白如何参与不同生物大分子的保护作用机理还需要实验证据的支持。因此, 对 LEA 蛋白的深入研究对于揭示和阐明生物体对胁迫应答的机理有重要意义。

REFERENCES

- [1] Dure L, Greenway SC, Galau GA. Developmental biochemistry of cottonseed embryogenesis and germination-changing messenger ribonucleic-acid populations as shown by *in vitro* and *in vivo* protein-synthesis. *Biochemistry*, 1981, **20**(14): 4162-4168.
- [2] Battaglia M, Olvera-Carrillo Y, Garcarrubio A, *et al.* The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins. *Plant Physiol*, 2008, **148**(1): 6-24.
- [3] Babu RC, Zhang JX, Blum A, *et al.* *HVA1*, a LEA gene from barley confers dehydration tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) via cell membrane protection. *Plant Sci*, 2004, **166**(4): 855-862.
- [4] Cheng ZQ, Targolli J, Huang XQ, *et al.* Wheat LEA genes, PMA80 and PMA1959, enhance dehydration tolerance of transgenic rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Breed*, 2002, **10**(1/2): 71-82.
- [5] Menze MA, Boswell L, Toner M, *et al.* Occurrence of mitochondria-targeted Late Embryogenesis Abundant (LEA) gene in animals increases organelle resistance to water stress. *J Biol Chem*, 2009, **284**(16): 10714-10719.

- [6] Bies-Etheve N, Gaubier-Comella P, Debures A, *et al.* Inventory, evolution and expression profiling diversity of the LEA (late embryogenesis abundant) protein gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 2008, **67**(1/2): 107–124.
- [7] Sun HD, Lan Y, Liu Y, *et al.* 11-amino acid motif in late embryogenesis abundant protein (LEA) and plant desiccation tolerance. *J Northeast Normal Univ: Nat Sci*, 2004, **36**(3): 85–90.
孙海丹, 兰英, 刘昀, 等. LEA 蛋白质 11-氨基酸基序与植物抗旱性. 东北师大学报: 自然科学版, 2004, **36**(3): 85–90.
- [8] Liu Y, Zheng YZ. PM2, a group 3 LEA protein from soybean, and its 22-mer repeating region confer salt tolerance in *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **331**(1): 325–332.
- [9] Singh S, Cornilescu CC, Tyler RC, *et al.* Solution structure of a late embryogenesis abundant protein (LEA14) from *Arabidopsis thaliana*, a cellular stress-related protein. *Protein Sci*, 2005, **14**(10): 2601–2609.
- [10] Goldgur Y, Rom S, Ghirlando R, *et al.* Desiccation and zinc binding induce transition of tomato abscisic acid stress ripening 1, a water stress- and salt stress-regulated plant-specific protein, from unfolded to folded state. *Plant Physiol*, 2007, **143**(2): 617–628.
- [11] Ukaji N, Kuwabara C, Takezawa D, *et al.* Cold acclimation-induced WAP27 localized in endoplasmic reticulum in cortical parenchyma cells of mulberry tree was homologous to group 3 late-embryogenesis abundant proteins. *Plant Physiol*, 2001, **126**(4): 1588–1597.
- [12] Grelet J, Benamar A, Teyssier E, *et al.* Identification in pea seed mitochondria of a late-embryogenesis abundant protein able to protect enzymes from drying. *Plant Physiol*, 2005, **137**(1): 157–167.
- [13] Tolleter D, Jaquinod M, Mangavel C, *et al.* Structure and function of a mitochondrial late embryogenesis abundant protein are revealed by desiccation. *Plant Cell*, 2007, **19**(5): 1580–1589.
- [14] Nakayama K, Okawa K, Kakizaki T, *et al.* *Arabidopsis* Cor15am is a chloroplast stromal protein that has cryoprotective activity and forms oligomers. *Plant Physiol*, 2007, **144**(1): 513–523.
- [15] Dong CN, Danyluk J, Wilson KE, *et al.* Cold-regulated cereal chloroplast late embryogenesis abundant-like proteins. Molecular characterization and functional analyses. *Plant Physiol*, 2002, **129**(3): 1368–1381.
- [16] Goday A, Jensen AB, Culianez-Macia FA, *et al.* The maize abscisic acid-responsive protein Rab17 is located in the nucleus and interacts with nuclear localization signals. *Plant Cell*, 1994, **6**(3): 351–360.
- [17] Boudet J, Buitink J, Hoekstra FA, *et al.* Comparative analysis of the heat stable proteome of radicles of *Medicago truncatula* seeds during germination identifies late embryogenesis abundant proteins associated with desiccation tolerance. *Plant Physiol*, 2006, **140**(4): 1418–1436.
- [18] Tunnacliffe A, Wise MJ. The continuing conundrum of the LEA proteins. *Naturwissenschaften*, 2007, **94**(10): 791–812.
- [19] Gal TZ, Glazer I, Koltai H. An LEA group 3 family member is involved in survival of *C. elegans* during exposure to stress. *FEBS Lett*, 2004, **577**(1/2): 21–26.
- [20] Makarova KS, Aravind L, Wolf YI, *et al.* Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2001, **65**(1): 44–79.
- [21] Goyal K, Pinelli C, Maslen SL, *et al.* Dehydration-regulated processing of late embryogenesis abundant protein in a desiccation-tolerant nematode. *FEBS Lett*, 2005, **579**(19): 4093–4098.
- [22] Kikawada T, Nakahara Y, Kanamori Y, *et al.* Dehydration-induced expression of LEA proteins in an anhydrobiotic chironomid. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **348**(1): 56–61.
- [23] Yu JN, Zhang JS, Shan L, *et al.* Two new Group 3 LEA genes of wheat and their functional analysis in yeast. *J Integr Plant Biol*, 2005, **47**(11): 1372–1381.
- [24] Zhang L, Ohta A, Takagi M, *et al.* Expression of plant group 2 and group 3 lea genes in *Saccharomyces cerevisiae* revealed functional divergence among LEA proteins. *J Biochem*, 2000, **127**(4): 611–616.
- [25] Lan Y, Cai D, Zheng YZ. Expression in *Escherichia coli* of three different soybean late embryogenesis abundant (LEA) genes to investigate enhanced stress tolerance. *J Integr Plant Biol*, 2005, **47**(5): 613–621.
- [26] Mouillon JM, Gustafsson P, Harryson P. Structural investigation of disordered stress proteins. Comparison of full-length dehydrins with isolated peptides of their conserved segments. *Plant Physiol*, 2006, **141**(2): 638–650.
- [27] Soulages JL, Kim K, Arrese EL, *et al.* Conformation of a group 2 late embryogenesis abundant protein from

- soybean. Evidence of poly (L-proline)-type II structure. *Plant Physiol*, 2003, **131**(3): 963–975.
- [28] Goyal K, Tisi L, Basran A, *et al.* Transition from natively unfolded to folded state induced by desiccation in an anhydrobiotic nematode protein. *J Biol Chem*, 2003, **278**(15): 12977–12984.
- [29] Wolkers WF, McCreedy S, Brandt WF, *et al.* Isolation and characterization of a D-7 LEA protein from pollen that stabilizes glasses *in vitro*. *Biochim Biophys Acta*, 2001, **1544**(1/2): 196–206.
- [30] Koag MC, Wilkens S, Fenton RD, *et al.* The K-segment of maize DHN1 mediates binding to anionic phospholipid vesicles and concomitant structural changes. *Plant Physiol*, 2009, **150**(3): 1503–1514.
- [31] Reyes JL, Campos F, Wei H, *et al.* Functional dissection of hydrophilins during *in vitro* freeze protection. *Plant Cell Environ*, 2008, **31**(12): 1781–1790.
- [32] Goyal K, Walton LJ, Tunnacliffe A. LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress. *Biochem J*, 2005, **388**: 151–157.
- [33] Rath A, Davidson AR, Deber CM. The structure of “unstructured” regions in peptides and proteins: role of the polyproline II helix in protein folding and recognition. *Biopolymers*, 2005, **80**(2/3): 179–185.
- [34] Alsheikh MK, Svensson JT, Randall SK. Phosphorylation regulated ion-binding is a property shared by the acidic subclass dehydrins. *Plant Cell Environ*, 2005, **28**(9): 1114–1122.
- [35] Kruger C, Berkowitz O, Stephan UW, *et al.* A metal-binding member of the late embryogenesis abundant protein family transports iron in the phloem of *Ricinus communis* L.. *J Biol Chem*, 2002, **277**(28): 25062–25069.
- [36] Hara M, Fujinaga M, Kuboi T. Metal binding by citrus dehydrin with histidine-rich domains. *J Exp Bot*, 2005, **56**: 2695–2703.
- [37] Hara M, Shinoda Y, Tanaka Y, *et al.* DNA binding of citrus dehydrin promoted by zinc ion. *Plant Cell Environ*, 2009, **32**(5): 532–541.
- [38] Wise MJ, Tunnacliffe A. POPP the question: what do LEA proteins do? *Trends Plant Sci*, 2004, **9**(1): 13–17.
- [39] Pouchkina-Stantcheva NN, McGee BM, Boschetti C, *et al.* Functional divergence of former alleles in an ancient asexual invertebrate. *Science*, 2007, **318**(5848): 268–271.
- [40] Liu Y, Zheng Y, Zhang Y, *et al.* Soybean PM2 protein (LEA3) confers the tolerance of *Escherichia coli* and stabilization of enzyme activity under diverse stresses. *Curr Microbiol*, 2010, **260**: 373–378.