

# 杜氏盐藻寡糖基转移酶亚基 STT3a 功能结构域的克隆与表达分析

王翠, 李杰, 柳丽平, 曾磊, 薛乐勋

郑州大学生物工程系 细胞生物学研究室, 郑州 450001

**摘要:** 为了研究 *STT3a* 基因在杜氏盐藻耐盐及鞭毛再生方面的作用, 根据衣藻、拟南芥等 *STT3a* 蛋白的氨基酸高度保守序列 VCVFTA、DVDYVL 设计一对简并引物, 采用 RT-PCR 及 3'RACE 的方法扩增杜氏盐藻 *STT3a* 蛋白功能结构域的 cDNA 序列。序列分析显示克隆的 cDNA 全长 1 650 bp, 具有一定保守性, 与衣藻、拟南芥和人的相似性分别为 48%、50% 和 46%。实时荧光定量 PCR 结果显示杜氏盐藻 *STT3a* mRNA 水平随着盐浓度的升高而逐渐增加, 其水平在 3.5 mol/L NaCl 浓度时比在 1.5 mol/L NaCl 浓度时升高了 11 倍 ( $P < 0.01$ )。另外, 与没有脱鞭毛的杜氏盐藻相比, *STT3a* mRNA 在鞭毛再生过程中持续高表达。本研究显示杜氏盐藻 *STT3a* 基因的高表达可以增强其盐适应和鞭毛再生能力。

**关键词:** 杜氏盐藻, *STT3a* 基因, 耐盐, 鞭毛再生

## Characterization of the functional domain of STT3a of oligosaccharyltransferase from *Dunaliella salina*

Cui Wang, Jie Li, Liping Liu, Lei Zeng, and Lexun Xue

Laboratory for Cell Biology, Department of Bioengineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

**Abstract:** To investigate the function of *STT3a* gene in salt adaptation and flagellar regeneration of *Dunaliella salina* (*D. salina*), a pair of degenerate primers was designed according to conserved homologous amino acid sequences of VCVFTA and DVDYVL of *STT3a* from *Chlamydomonas*, *Arabidopsis thaliana* and other organisms. A cDNA sequence of 1 650 bp encoding a whole functional domain of *STT3a* was amplified from *D. salina* by RT-PCR and 3' Rapid Amplification of cDNA Ends (RACE), which shared homology with *Chlamydomonas* (48%), *Arabidopsis thaliana* (50%), *Homo sapiens* (46%), etc. Real-time fluorescence quantitative PCR (real-time Q-PCR) demonstrated that the *STT3a* mRNAs from *D. salina* were induced by increased concentration of NaCl, and increased to 11-fold higher by 3.5 mol/L NaCl than that by 1.5 mol/L NaCl ( $P < 0.01$ ). Also, *STT3a* mRNA of *D. salina* maintained at a higher level in the process of flagellar regeneration with than without experiencing deflagellar treatment. In conclusion, the findings of this study demonstrate that the high expression of the *STT3a* gene enhances the capability of salt adaptation and flagellar regeneration in *D. salina*.

**Keywords:** *Dunaliella salina*, *STT3a* gene, salt adaptation, flagellar regeneration

**Received:** December 29, 2009; **Accepted:** April 21, 2010

**Supported by:** International Cooperative Project of the National Science and Technology Ministry (No. 2007DFA01240), National Natural Science Foundation of China (No. 30700014).

**Corresponding author:** Jie Li. Tel: +86-371-66658332; E-mail: lijiechen@zzu.edu.cn

Lexun Xue. Tel: +86-371-66658332; E-mail: xuexl@371.net

科技部国际科技合作项目 (No. 2007DFA01240), 国家自然科学基金项目 (No. 30700014) 资助。

N-连接糖基化是内质网中最常见的蛋白质修饰,这个过程是由位于糙面内质网膜上的寡糖基转移酶(OST)催化的。一系列的研究发现酿酒酵母的OST包含8个亚基:Ost1p, Ost2p, Wbp1, Stt3p, Swp1p, Ost4p, Ost5p, Ost3p/Ost6p<sup>[1]</sup>, STT3p在已知的OST亚基中是最保守的<sup>[2]</sup>,它在酵母中编码一个78 kDa的蛋白,为OST的催化亚基<sup>[3]</sup>。几乎所有的真核生物基因组中都存在编码酵母Stt3p蛋白的同系物。哺乳动物细胞表达Stt3p的两种同系物STT3a和STT3b,它们的表达具有组织特异性,并能调节OST的活性,且含有一个STT3a亚基的OST复合物比含有STT3b亚基的OST复合物对于选择完全装配的长链寡糖供体(Glac<sub>3</sub>Man<sub>9</sub>GlcNAc<sub>2</sub>-PP-Dol)更具有特异性<sup>[3]</sup>。最近的研究还发现拟南芥OST的STT3a亚基作为一种跨膜蛋白在高盐应激反应中发挥一定作用<sup>[4]</sup>。

杜氏盐藻 *Dunaliella salina* (*D. salina*) 是一种高度耐盐的单细胞真核绿藻,它能在 0.5~5 mol/L NaCl 盐浓度下生存,但是目前关于其耐盐机制还不清楚。另外,我们前期的研究发现:在高盐条件下,盐藻的运动性明显降低,而盐藻的鞭毛直接参与了盐藻自身的运动。为了探讨盐藻的盐耐受性和鞭毛介导的运动性之间是否有潜在的联系,本研究根据已知物种的STT3a高度保守序列设计一对简并引物,通过RT-PCR及RACE方法获得STT3a功能结构域的cDNA序列,并通过实时荧光定量PCR技术监测STT3a基因mRNA在杜氏盐藻盐适应及鞭毛再生过程中的动态变化,以期了解STT3a基因在杜氏盐藻耐盐及鞭毛再生中的作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 杜氏盐藻藻株、载体与菌株

杜氏盐藻藻株为 UTEX-LB-1644, 购自美国德州大学。载体 pMD18T-vector 购自大连宝生物工程公司。大肠杆菌 DH5 $\alpha$  为本室保存。

### 1.2 主要试剂

*Eco*R I、*Hind* III、*LA Taq* 酶、*rTaq* 酶、胶回收试剂盒、质粒提取试剂盒及反转录试剂盒均购自大连宝生物工程公司。实时定量 PCR 荧光染料购自天

根生化科技(北京)有限公司。First Choice RLM-RACE Kit 购自美国 Ambion 公司。

### 1.3 杜氏盐藻 cDNA 的制备及简并引物的设计

杜氏盐藻细胞按照  $5 \times 10^5$ /mL 的接种量接种于改良的 PKS 液体培养基中,培养温度为 26 $^{\circ}$ C,光照强度为 4500 Lux,光/暗培养各 12 h。取对数生长期的杜氏盐藻细胞,用 Trizol 法提取杜氏盐藻细胞的总 RNA,琼脂糖凝胶电泳及分光光度计检测所提取总 RNA 的质量和浓度。取 6  $\mu$ g RNA 作为模板,按照反转录试剂盒说明书制备反转录反应液,于 37 $^{\circ}$ C 反转录 1 h 后,70 $^{\circ}$ C 10 min,置于-20 $^{\circ}$ C 保存。从 GenBank 上搜索近 10 个物种的 STT3a 蛋白的氨基酸序列进行比对,找出两段相对比较保守的序列设计简并引物,上游引物:5'-GTNTG(T/C)GTNTT(T/C)ACNGC-3',下游引物:5'-A(A/G)NAC(A/G)TA(A/G)TCNAC(A/G)TC-3',引物由上海博尚生物技术有限公司合成。

### 1.4 RT-PCR

以制备的 cDNA 为模板,利用合成的简并引物,用 PCR 的方法扩增 STT3a 的部分基因片段。PCR 反应体系为: cDNA 0.5  $\mu$ L, 10 $\times$  LA Buffer 10  $\mu$ L, dNTPs (10 mmol/L) 8  $\mu$ L, 上、下游引物 (20  $\mu$ mol/L) 各 1  $\mu$ L, *LA Taq* 酶 0.5  $\mu$ L, dH<sub>2</sub>O 补至 100  $\mu$ L。反应程序: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 50 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min, 4 $^{\circ}$ C 终止反应。PCR 反应结束后,1%的琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果。将 PCR 产物胶回收,连接至 pMD18T-vector 中并转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ ,用含有 Amp、IPTG 和 X-Gal 的平板进行蓝白斑筛选,挑取阳性菌落扩大培养并提取质粒,将鉴定正确的菌样送北京博尚生物技术有限公司测序,序列通过 Primer Premier 5.0 整理并用 BLAST 进行同源性分析。

### 1.5 STT3a 基因的 3'RACE 扩增

根据简并引物扩增得到的已知序列,设计 STT3a 的 3'RACE 引物(表 1),提取杜氏盐藻的总 RNA,按照 FirstChoice RLM-RACE Kit 说明进行操作。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min, 4 $^{\circ}$ C 终止反应。巢式 PCR 反应产物经 1%的琼脂糖凝胶电泳检测。

对目的片段进行胶回收后连接于 pMD18T-vector 上, 转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ , 挑取阳性菌落提取质粒, 双酶切鉴定, 正确后由北京博尚生物技术有限公司进行测序, 序列通过 Primer Premier 5.0 整理并用 BLAST 进行同源性分析。

表 1 设计的 3'RACE 引物序列

Table 1 Primers used in 3'RACE

Primers	Primer sequences (5'-3')
3'RACE-outer-up	GTCCAACCGCACCGTCTTAG
3'RACE-inner-up	ACAAGGGATGGAAGATATACAGGA
3'RACE-outer-down	GCGAGCACAGAATTAATACGACT
3'RACE-inner-down	CGCGGATCCGAATTAATACGACTCACTATAGG

## 1.6 STT3a 结构域的功能分析

通过 Primer Premier 5.0 在 STT3a 结构域中设计一对特异性引物, 通过实时荧光定量 PCR 分析 STT3a 在杜氏盐藻盐诱导及鞭毛再生过程中的作用。将对数生长期的杜氏盐藻分别转入 0.75、1.0、1.5、2.0、3.0 及 3.5 mol/L NaCl 的 PKS 液体培养基中光培养 10 h 后, 收集不同盐浓度下的杜氏盐藻细胞; 同时, 将对数生长期的杜氏盐藻分别转入 1.5、3.0 mol/L NaCl 的 PKS 液体培养基中光照培养, 分别收集 0、2、4、6、8 和 10 h 的杜氏盐藻细胞, 分别提取上述处理细胞的总 RNA, 取 6  $\mu$ g RNA 作为模板反转录为 cDNA。取 0.8  $\mu$ L cDNA 作为模板, 按照实时荧光定量 PCR 说明书进行操作, 同时以 GAPDH 为内参。反应程序: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 35 个循环; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 95 $^{\circ}$ C 15 s。PCR 产物通过琼脂糖凝胶电泳检测及测序, 并运用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法<sup>[5]</sup>分析 STT3a 基因的相对表达量。

另外, 取对数生长期的杜氏盐藻细胞, 在添加甘油的电击缓冲液中用机械方法<sup>[6]</sup>去除鞭毛后, 分别收集 0、15、30、45、60、90、120、150、180、210、240、270、300、360 和 420 min 时的杜氏盐藻细胞, 同时以未经过去鞭毛处理的杜氏盐藻细胞作为对照组。按上述方法制备 cDNA, 进行实时荧光定量 PCR。

## 1.7 杜氏盐藻鞭毛再生不同时期的鞭毛银染

运用改进的银染法<sup>[7]</sup>对杜氏盐藻鞭毛及藻体进行银染。

## 1.8 杜氏盐藻鞭毛再生不同时期鞭毛长度的测量

用荧光显微镜在相同条件下对鞭毛再生不同时期的杜氏盐藻细胞照相, 然后每个时期分别取 30 个杜氏盐藻样本, 利用细线拟合鞭毛, 进行鞭毛长度的测量, 取其鞭毛生长平均值, 根据公式  $V=(S_2-S_1)/t$  (其中  $V$  为相对生长速率,  $S_2$  和  $S_1$  分别为相邻两个时间点的鞭毛长度平均值,  $t$  代表间隔时间), 最终求出杜氏盐藻鞭毛不同时期的相对生长速率。

## 1.9 统计学分析

试验中每项处理均重复 3 次。数据运用 SPSS 统计分析软件对样本进行方差检验, 每次试验中  $P<0.05$ , 表明差异显著。

## 2 结果

### 2.1 杜氏盐藻总 RNA 的纯度和质量鉴定

所提取的杜氏盐藻总 RNA 质量完好, 28S 和 18S rRNA 带比较清晰, 无拖尾现象, 其亮度比约为 2:1, 无 RNA 降解和 DNA、蛋白质污染, 可以用于下步实验。

### 2.2 RT-PCR 产物鉴定

电泳结果如图 1 所示, 所得片段长度约为 1 500 bp, 与理论值相符。胶回收后连接于 pMD18T-vector 上, 得到载体 pMD-stt3, 用 *EcoR* I 和 *Hind* III 进行双酶切鉴定, 可见一条载体片段和一条插入片段, 插入片段与回收片段大小一致。

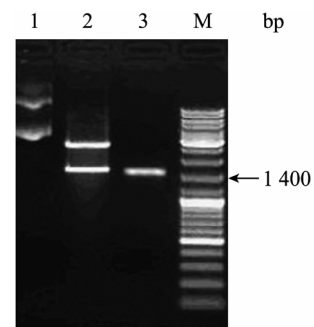


图 1 RT-PCR 扩增杜氏盐藻 STT3a cDNA

Fig. 1 Amplification of STT3a cDNA from *D. salina* by RT-PCR. 1: pMD-stt3; 2: pMD-stt3 digested with *EcoR* I and *Hind* III; 3: PCR amplification product; M: DNA marker.

### 2.3 杜氏盐藻 *STT3a* 基因 3'下游序列的扩增

经过巢式 PCR, 电泳结果如图 2 所示: 所得片段长度约为 850 bp, 胶回收后连接于 pMD18T-vector 上, 得到载体 pSTT3-1, 用 *EcoR* I 和 *Hind* III 进行双酶切鉴定, 可见一条载体片段和一条插入片段, 插入片段与回收片段大小一致。

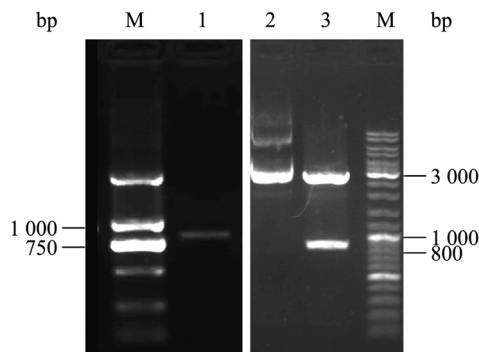


图 2 巢式 PCR 扩增杜氏盐藻 *STT3a* 基因 3'下游序列

Fig. 2 Amplification of the 3' downstream sequence of *D. salina* *STT3a* gene by nested PCR. M: DNA marker; 1: 3' downstream sequence amplification product of *STT3a* gene; 2: pSTT3-1; 3: pSTT3-1 digested with *EcoR* I and *Hind* III.

### 2.4 同源性分析

*STT3a* 基因的同源性分析表明: 在 *STT3a* 基因的 3'下游序列中发现 WWDYG 与 DK 两个保守的基

序。克隆获得 *STT3a* 基因 1 869 bp, 其中 *STT3a* 的功能结构域 cDNA 序列约为 1 650 bp, 编码 550 个氨基酸 (图 3), BLAST 比对显示它和衣藻、拟南芥、稻、高粱、毛果杨、玉米、人等的 *STT3a* 同源性分别为 48%、50%、50%、50%、49%、50% 和 46%。GenBank 登录序列号: GU301076。

### 2.5 不同盐浓度诱导下 *STT3a* mRNA 表达情况

如图 4 所示: 相对于 1.5 mol/L NaCl 盐浓度的正常培养条件, 杜氏盐藻 *STT3a* mRNA 水平在 0.75、1.0、2.0、3.0 和 3.5 mol/L NaCl 盐浓度培养条件下明显升高 ( $P < 0.01$ ), 且在 3.5 mol/L NaCl 浓度时比在 1.5 mol/L NaCl 浓度时升高了 11 倍。图 5 中可以看出, 在高盐胁迫下 (3.0 mol/L NaCl), *STT3a* mRNA 的水平高于正常盐浓度条件 (1.5 mol/L NaCl) 下的 *STT3a* mRNA 水平 ( $P < 0.05$ ), 在 10 h 时, *STT3a* mRNA 的水平相对于 0 h 升高了 8.5 倍。这说明 *STT3a* 基因的表达与盐诱导有关, *STT3a* 基因可能直接或间接参与了杜氏盐藻的耐盐机制。

### 2.6 杜氏盐藻鞭毛再生不同时期 *STT3a* mRNA 表达情况

如图 6 所示: 杜氏盐藻鞭毛再生过程中 *STT3a* mRNA 水平较正常培养条件下没有脱鞭毛的持续

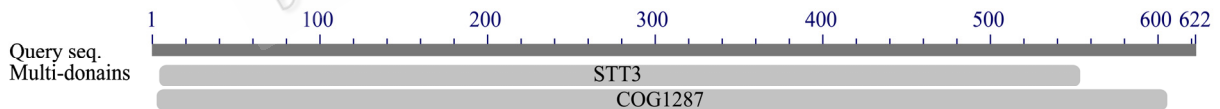


图 3 *STT3a* 蛋白推测的功能结构域

Fig. 3 Putative functional domains of *STT3a* from *D. salina*.

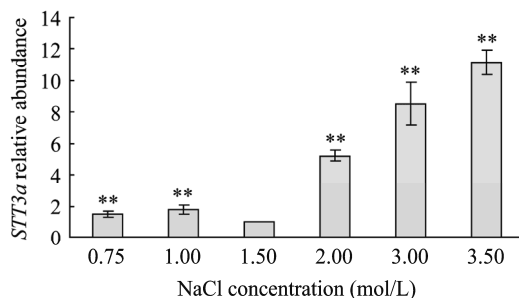


图 4 不同盐浓度诱导下 *STT3a* 基因表达情况 (\*\*  $P < 0.01$ )

Fig. 4 Expression of *D. salina* *STT3a* gene in different salt concentrations. \*\* $P < 0.01$ .

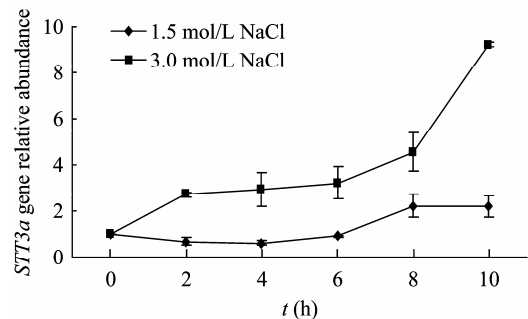


图 5 高盐胁迫 (3.0 mol/L NaCl) 下杜氏盐藻 *STT3a* 基因表达情况

Fig. 5 Expression of *D. salina* *STT3a* gene in high salt stress (3.0 mol/L NaCl).



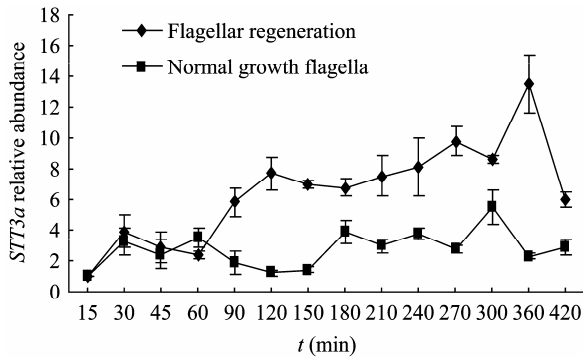


图6 鞭毛再生不同时期 *STT3a* 基因表达情况

Fig. 6 Expression of *D. salina* *STT3a* gene in different states of flagellar regeneration.

高表达。鞭毛再生过程 0~60 min 中 *STT3a* mRNA 的水平基本没有变化, 60~120 min 中 *STT3a* mRNA 的水平逐渐升高, 说明杜氏盐藻鞭毛在最初受损再生过程中延迟至 60 min 才开始逐渐大量表达, 120~300 min 中 *STT3a* mRNA 的水平处于平台期,

但相比较正常培养条件下的杜氏盐藻, 其 *STT3a* mRNA 仍大量表达, 这个时期的杜氏盐藻鞭毛仍在逐渐生长, 420 min 后, *STT3a* mRNA 的水平逐渐趋于正常值 ( $P < 0.05$ )。

## 2.7 杜氏盐藻鞭毛再生不同时期鞭毛长度变化及相对生长速率

从图 7 中可以清楚地看出杜氏盐藻鞭毛再生的前 15 min 鞭毛增长比较明显, 随着时间的延长, 杜氏盐藻鞭毛逐渐延长, 至 420 min 时基本上完成鞭毛再生。图 8 中可以看出, 在杜氏盐藻鞭毛再生的初级阶段, 鞭毛生长较快, 在前 15 min 内, 其相对生长速率为  $0.0835 \mu\text{m}/\text{min}$ , 30~240 min 时鞭毛的相对生长速率逐步降低, 300~360 min 时鞭毛相对生长速率降低至  $0.0017 \mu\text{m}/\text{min}$ , 表明鞭毛的生长基本完成。在杜氏盐藻鞭毛再生的不同时期, 其鞭毛相对生长速率的变化与 *STT3a* 基因 mRNA 水平的变化基本相一致。

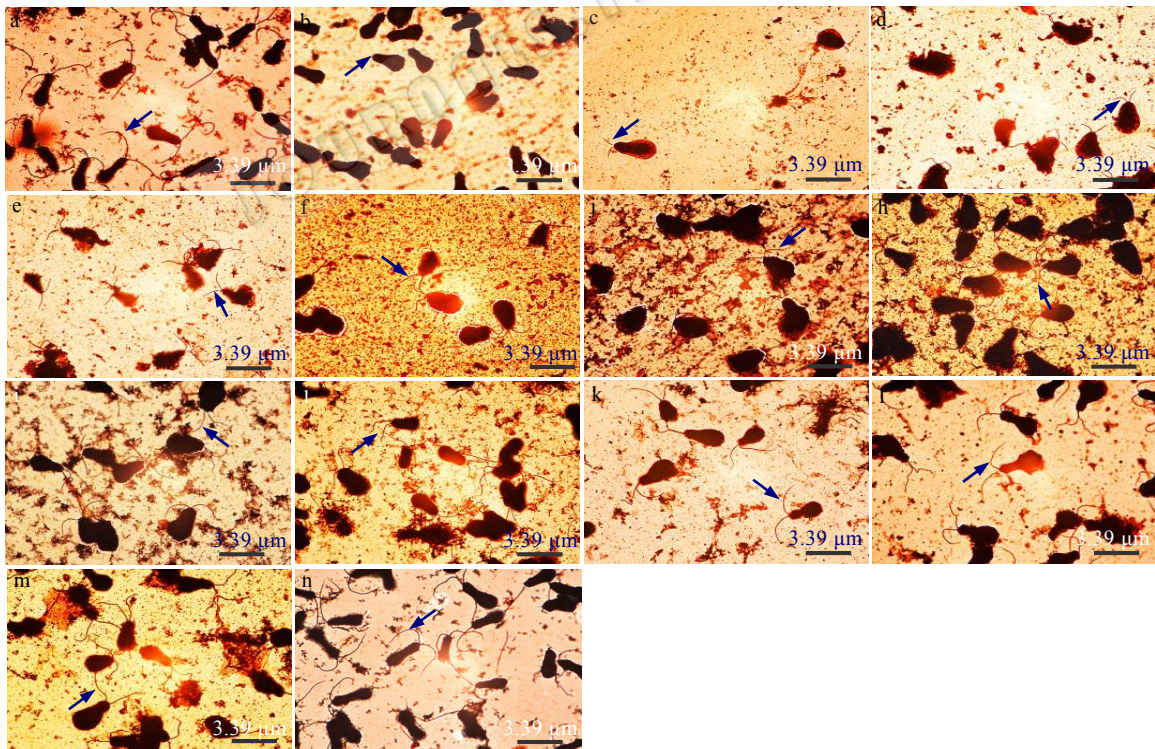


图7 杜氏盐藻鞭毛再生不同时期长度变化 (1 000×)

Fig. 7 The length changes of *D. salina* in different stages of flagellar regeneration (arrows) (1 000×). (a) Wild type cells of *D. salina*. (b-n): Flagellar regeneration times for 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360 and 420 min, respectively.

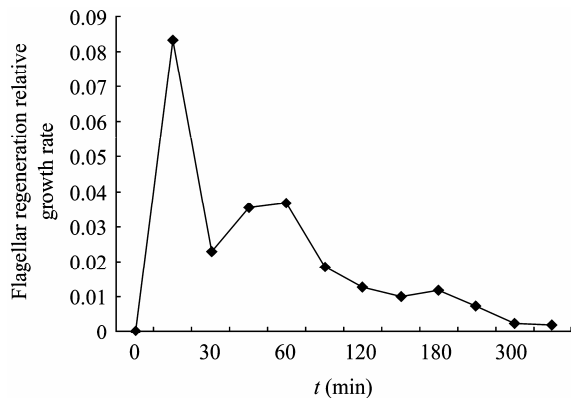


图8 杜氏盐藻鞭毛再生不同时期的相对生长速率  
Fig. 8 The relative growth rates of *D. salina* in different times of flagellar regeneration.

### 3 讨论

OST 是蛋白进入分泌途径的门户, 它负责催化完整的多萜醇结合前体聚糖向多肽接纳体的转移, 这种酶的特异性决定需要有 Asn-X-Ser/Thr (X 是除脯氨酸以外的任何氨基酸) 这一接纳体序列的存在。在 OST 的作用下, 寡糖链与膜上的磷酸多萜醇分离, 而与 Asn 的 N-端相连。完整的寡糖链向新生多肽链的转移发生在内质网的腔内侧。

以往对 STT3a 的研究多集中在对其结构方面的研究, 但对其功能的研究还相对较少。研究发现 STT3 为 OST 的催化亚单位, 它有一个  $N_{\text{cyt}}-C_{\text{lum}}$  拓扑结构, 含有 11 个跨膜螺旋<sup>[8]</sup>, 3'下游序列中有 WWYDG 与 DK 两个保守的基序<sup>[9]</sup>。Koiwa 等<sup>[4]</sup>发现拟南芥 OST 的 STT3a 亚基对盐和渗透压有反应, 本研究中我们也证实了 *STT3a* 基因的表达与盐诱导有关, 随着盐浓度的逐渐升高, *STT3a* 的 mRNA 表达也提高。

杜氏盐藻的耐盐机制比较复杂, 到目前为止还没有完全研究清楚。研究发现杜氏盐藻的耐盐机制除受到甘油和离子流动的调节外, 还有一些蛋白质的参与<sup>[10]</sup>。Fisher 等<sup>[11]</sup>在杜氏盐藻细胞膜中发现了一种 p60 蛋白质, 它是一种双拷贝的碳酸酐酶 (*DCA*) 基因, 具有调节细胞渗透压的作用, 而且随着盐浓度的升高, 其 mRNA 水平和细胞外 *DCA* 的活性也同时提高。本研究室也发现杜氏盐藻细胞膜中的 *DCA* 基因 mRNA 水平随着盐浓度的升高而升

高, 并且在 2.0 mol/L NaCl 盐浓度下杜氏盐藻 *DCA* 活性达到最高。*STT3a* 作为杜氏盐藻一种新发现的跨膜蛋白, 能直接感受培养基中盐浓度的变化, 本研究也证实杜氏盐藻 *STT3a* 的 mRNA 水平随着盐浓度的升高而升高。这些结果可能为我们研究杜氏盐藻 *DCA* 与 *STT3a* 在耐盐方面的协同作用提供理论依据。

鞭毛与纤毛是一种由细胞质膜延伸的细胞表面突起, 主要由微管组成。鞭毛膜作为特化的细胞膜, 其再生受到多种基因的精确调控, 然而关于其调控机制知之甚少。为了解跨膜蛋白 *STT3a* 在杜氏盐藻鞭毛再生中的作用, 本研究监测了鞭毛再生不同时期 *STT3a* mRNA 水平的变化。结果显示, *STT3a* 基因在杜氏盐藻鞭毛最初受损再生过程中延迟至 60 min 才开始逐渐大量表达, 之后直至鞭毛完成再生过程中都高表达。这可能是因为杜氏盐藻藻体本身储存的一些 *STT3a* 蛋白在鞭毛再生的初期起到作用, 随着鞭毛再生过程中对 *STT3a* 蛋白需求的增加, *STT3a* 基因开始逐渐大量表达。这提示 *STT3a* 可能作为一种跨膜蛋白, 直接或间接参与了杜氏盐藻鞭毛膜的再生或者鞭毛再生过程中所需相关蛋白的糖基化修饰, 这些结果可能为我们研究杜氏盐藻鞭毛再生过程中基因的调控机制提供理论依据。

鞭毛作为杜氏盐藻的运动细胞器直接参与盐藻的游动, 而高盐条件下杜氏盐藻运动迟缓是否和高盐影响相关基因的表达有关, 目前还没有实验证据。本研究发现跨膜蛋白 *STT3a* 既参与了杜氏盐藻的耐盐调控, 又参与了杜氏盐藻鞭毛的再生过程, 提示杜氏盐藻的盐耐受性和鞭毛介导的运动性之间可能有潜在的联系, 值得进一步的研究。

### REFERENCES

- [1] Knauer R, Lehle L. The oligosaccharyltransferase complex from yeast. *Biochim Biophys Acta*, 1999, **1426**(2): 259-273.
- [2] Burda P, Aebi M. The dolichol pathway of N-linked glycosylation. *Biochim Biophys Acta*, 1999, **1426**(2): 239-257.
- [3] Kelleher DJ, Karaoglu D, Mandon EC. Oligosaccharyltransferase isoforms that contain different

- catalytic STT3 subunits have distinct enzymatic properties. *Mol Cell*, 2003, **12**(1): 101–111.
- [4] Koiwa H, Li F, McCully MG, *et al.* The STT3a subunit isoform of the *Arabidopsis* oligosaccharyltransferase controls adaptive responses to salt/osmotic stress. *Plant Cell*, 2003, **15**(10): 2273–2284.
- [5] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  method. *Methods*, 2001, **25**(4): 402–408.
- [6] Rosenbaum JL, Moulder JE, Ringo DL. Flagellar elongation and shortening in *Chlamydomonas*. The use of cycloheximide and colchicine to study the synthesis and assembly of flagellar proteins. *J Cell Biol*, 1969, **41**(2): 600–619.
- [7] Jia YL, Xue LX, Li J, *et al.* Isolation and proteomic analysis of the halotolerant alga *Dunaliella salina* flagella using shotgun strategy. *Mol Biol Rep*, 2010, **37**: 311–316.
- [8] Kim H, von Heijne G, Nilsson I. Membrane topology of the STT3 subunit of the oligosaccharyl transferase complex. *J Biol Chem*, 2005, **280**(21): 20261–20267.
- [9] Igura M, Maita N, Kamishikiryo J, *et al.* Structure-guided identification of a new catalytic motif of oligosaccharyltransferase. *EMBO J*, 2008, **27**(1): 234–243.
- [10] Li J, Lu YM, Xue LX, *et al.* A structurally novel salt-regulated promoter of duplicated carbonic anhydrase gene 1 from *Dunaliella salina*. *Mol Biol Rep*, 2010, **37**: 1143–1154.
- [11] Fisher M, Gokhman I, Pick U, *et al.* A salt-resistant plasma membrane carbonic anhydrase is induced by salt in *Dunaliella salina*. *J Biol Chem*, 1996, **271**(30): 17718–17723.

## 科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

### 蛋白质组学研究——概念、技术及应用 (生命科学前沿丛书) (原书第二版)

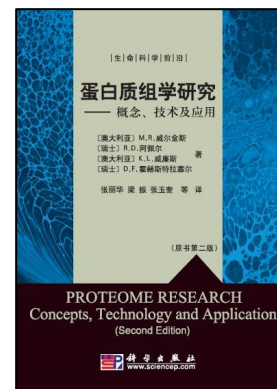
M.R.威尔金斯 等著 张丽华 等译

978-7-03-027218-8 ¥48.00 2010年5月

#### 内容简介

在蛋白质组学水平上，对生命活动的功能执行体——蛋白质进行深入系统的研究，不仅有助于全景式地揭示生命活动的本质，而且对于研究疾病机制、发展预警、诊断和治疗方法均具有重要意义。本书在综述蛋白质组学近10年的发展历程基础上，探讨了蛋白质组在样品预处理、质谱鉴定、定量分析、成像分析、数据处理、相互作用等方面的技术发展，并介绍了蛋白质组学在生物、医学领域的应用。此外，还对蛋白质组学未来的发展方向进行了展望。

本书可供生物、医学、化学、药学等领域的研究人员参考，也可作为高等院校相关专业本科生和研究生的参考书。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书 (免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编: 100717

联系人: 周文字 (010-64031535)

网上订购: [www.dangdang.com](http://www.dangdang.com) [www.joy.com](http://www.joy.com) [www.amazon.cn](http://www.amazon.cn) [www.beifabook.com](http://www.beifabook.com)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目