

## 小麦钙联蛋白基因 *TaCNX60.0* 的克隆与表达分析

邢晶莉<sup>1,2</sup> 王凤涛<sup>1</sup> 安艳秋<sup>1</sup> 关尔鑫<sup>1</sup> 蔺瑞明<sup>1\*</sup> 冯晶<sup>1</sup> 郭玉华<sup>2</sup> 徐世昌<sup>1</sup>

(1. 中国农业科学院 植物保护研究所/植物病虫害生物学国家重点实验室,北京 100193;

2. 沈阳农业大学 农学院,沈阳 110866)

**摘要** 钙联蛋白(Calnexin)是一类结构和功能非常保守的分子伴侣,在调控生物代谢和  $\text{Ca}^{2+}$  信号传导等方面发挥重要作用。本研究通过筛选 Yr5 近等基因系 cDNA 文库,分离获得 1 个钙联蛋白基因,将其命名为 *TaCNX60.0*。序列分析发现,该 cDNA 片段包含 1 个 1 921 bp 的开放阅读框,推测其编码包含 535 个氨基酸残基的蛋白质。利用半定量 RT-PCR 分析该基因的表达谱,发现小麦受到植物激素 ABA、低温和干旱胁迫处理后,*TaCNX60.0* 的表达受到抑制,而条锈菌小种 CYR32 和白粉菌混合菌系侵染能诱导 *TaCNX60.0* 表达量增加,说明小麦钙联蛋白基因 *TaCNX60.0* 可能在植物防卫反应和抵抗逆境胁迫过程中发挥作用。

**关键词** 小麦; 钙联蛋白; 分子伴侣; 条锈菌; 逆境胁迫

中图分类号 S 512

文章编号 1007-4333(2012)01-0020-06

文献标志码 A

## Molecular cloning of wheat calnexin gene *TaCNX60.0* and analyzing of its expression

XING Jing-li<sup>1,2</sup>, WANG Feng-tao<sup>1</sup>, AN Yan-qiu<sup>1</sup>, GUAN Er-xin<sup>1</sup>, LIN Rui-ming<sup>1\*</sup>,  
FENG Jing<sup>1</sup>, GUO Yu-hua<sup>2</sup>, XU Shi-chang<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests/Institute of Plant Protection,  
Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;

2. College of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

**Abstract** Calnexin is one of the molecular chaperone molecules with highly conserved structures and biological functions. It plays crucial roles in the regulation processes of biological metabolism and  $\text{Ca}^{2+}$  signal transduction. In this study, we screened a cDNA library of a near-isogenic line of wheat stripe rust resistance gene Yr5 and cloned a calnexin gene named *TaCNX60.0*. Sequence analysis showed that the cDNA fragment contained a 1 921-bp open reading frame, and was predicted to encode a protein with 535 amino acids. Semi-quantitative RT-PCR was performed to investigate the gene expression profiles when wheat plants were treated with different stress conditions and after inoculated with wheat pathogens. It was found that *TaCNX60.0* expression was suppressed by exogenous phytohormone ABA, cold and drought treatments. However, it was induced after infection by a strain of *Puccinia striiformis* CYR32 and mixed races of *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*. These results indicated that *TaCNX60.0* may involve in wheat defense and stress responses.

**Key words** wheat; calnexin; molecular chaperone; *Puccinia striiformis*; abiotic stress

内质网是真核细胞中蛋白质合成和加工的主要场所,内质网中未折叠蛋白的积累会引起内质网胁迫

(ER stress),激活未折叠蛋白应答(UPR)信号途径,从而诱导内质网中分子伴侣(如 BiP 和 Calnexin

收稿日期: 2011-04-12

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项(2009ZX08009-053B); 国家自然科学基金国际合作项目(30821140351); 国家“973”计划项目(2011CB100403); 公益性行业专项(200903035)

第一作者: 邢晶莉, 硕士研究生, E-mail: xingjingli2004@163.com

通讯作者: 蔺瑞明, 副研究员, 博士, 主要从事麦类作物抗病遗传研究, E-mail: rmlin@ippcaas.cn

等)基因表达<sup>[1]</sup>。内质网中的类凝集素分子伴侣主要有钙联蛋白(Calnexin)和钙网蛋白(Calreticulin) 2 种, Calnexin 是一种跨膜蛋白<sup>[2]</sup>, 而 Calreticulin 是一种可溶性蛋白。两者在结构和作用机制方面有很高的相似性, 与辅助分子伴侣 ERp57 共同构成的循环体系能抑制新生糖蛋白不恰当聚集, 协助其正确折叠<sup>[3]</sup>。跨膜蛋白 Calnexin 与在内质网中合成、加工的绝大多数糖蛋白密切相关, 是内质网合成控制体系的成员之一, 与许多新生膜蛋白和可溶性蛋白的分泌途径相互作用<sup>[4]</sup>, 同时还可以调节内质网中的  $Ca^{2+}$  稳态平衡及其信号传导过程。

钙联蛋白结构比较保守, 是一种内质网跨膜蛋白, 它是由球状区和 2 个相连的重复序列(motif 1 和 motif 2)形成的延伸臂区以及跨膜区和胞质区组成, 富含脯氨酸的臂区重复序列基序 motif 1 和 motif 2 分别是 IXDP(D/E)AXKPEDWD(D/E)和 GXWXPXINXPXY<sup>[5]</sup>。钙联蛋白寡糖链结合位点主要位于球状区, 臂区的寡糖链结合位点专一性比较弱<sup>[6]</sup>。辅助分子伴侣结合位点位于球状区, 胞质区是钙联蛋白磷酸化的作用部位, 该区还可能含有钙联蛋白的滞留信号<sup>[7]</sup>。

钙联蛋白在调控糖蛋白以及在植物抗逆反应中发挥重要作用。利用基因敲除法分析酵母中钙联蛋白 *CNE1* 的功能, 发现缺失 *CNE1* 导致未折叠糖蛋白分泌的增加, 说明钙联蛋白可控制内质网中新生蛋白的加工<sup>[8-9]</sup>。另外发现裂殖酵母中钙联蛋白基因 *CNX1* 表达的同源蛋白是酵母发育所必需的<sup>[10]</sup>, 而在衣霉素胁迫下, 拟南芥 Calnexin 基因 *CNX1* 表达量上升<sup>[11]</sup>。环境胁迫对钙联蛋白基因的表达影响不同。裂殖酵母中钙联蛋白基因 *CNX1p* 表达受热胁迫诱导<sup>[10]</sup>, 而干旱胁迫能抑制大豆钙联蛋白基因 *NAC2* 表达, 使内质网折叠蛋白质的能力降低, 然而相同生长条件下, 干旱处理的转基因过量表达植株叶片中 *CNX* 转录水平比野生型高, 过量表达 *CNX* 可能使细胞对渗透压的敏感度降低, 使植株在严重干旱条件下保持正常基本生命活动水平<sup>[12]</sup>。

本研究从小麦 cDNA 文库中筛选获得 1 个钙联蛋白基因 *TaCNX60.0* 的全长序列, 并对其结构进行了相关分析, 同时研究了该基因在小麦抗逆和防卫反应中的表达动态, 旨在发现 *TaCNX60.0* 参与植物对低温、干旱等逆境胁迫和病原菌侵染的反应过程。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

抗条锈病基因 *Yr5* 近等基因系 Taichung29 \* 6/*Yr5* 为植物材料, 其抗条锈菌小种 CYR32, 对白粉菌混合小种敏感。利用非亲和条锈菌生理小种 CYR32 侵染诱导的 Taichung29 \* 6/*Yr5* 构建的 cDNA 文库以及条锈菌小种 CYR32 和白粉菌混合小种均由中国农业科学院植物保护研究所提供; 试验中所用引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 所用 EasyTaq 酶、Peasy-T3 载体、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒、质粒提取试剂盒和 RNA 反转录试剂盒均购自北京全式金生物技术公司, 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 $\alpha$  感受态细胞购自北京天根生化科技有限公司, 由北京博尚生物技术公司完成序列测定。

### 1.2 基因 cDNA 序列克隆

根据目的基因家族的保守结构域序列设计引物, 以 cDNA 文库为模板进行 PCR 扩增, 获得目的基因同源序列片段, 将获得的片段为探针进行文库筛选, 克隆该基因全长 cDNA 序列。

### 1.3 基因序列分析

运用 DNAMAN、DNASar 软件和 SWISS-MODEL 网站在线数据库推测目的基因所编码的氨基酸序列, 分析蛋白质基本性质并预测其三级结构和功能结构域。利用 ClustalX 和 Mega4.0 软件采用 ME 法进行钙联蛋白家族亲缘关系分析, 进而预测 *TaCNX60.0* 可能具有的功能。亲缘关系分析所用钙联蛋白家族成员分别为: 小麦 *TaCNX60.0*; 水稻 BAF14606; 玉米 CAA54678; 拟南芥 AT5G61790; 番茄 LeCNX61.0(BAD99512); 豌豆 CAA76741; 向日葵 CAA84491; 蓖麻 XP002511066; 芸苔 AAK84429; 小球藻 EFN53145; 假丝酵母 CAX42252; 青霉菌 AAX45072; 曲霉 CBF75819; 线虫 CAP29507; 果蝇 NP733286; 血吸虫 CAX75038; 意蜂 XP624907; 鲑鱼 NP001071009; 非洲爪蟾 NP001005668; 林蛙 BAA11426; 鼠 AAA21015; 犬 NP001003232; 猕猴 XP001101429; 黑猩猩 NP001127039; XP001151178。

### 1.4 半定量 RT-PCR 分析

对温室 (15~18 °C) 生长 7 d 的 Taichung29 \* 6/*Yr5* 幼苗做以下胁迫处理: 1) 低温胁迫: 将小麦幼苗置于 4 °C 条件下, 处理 0、1、3、6、12 和 24 h 后取样; 2) 干旱胁迫: 将小麦幼苗的根用清水冲洗干

净,吸去表面水分,置于滤纸上,处理0、2、4、6和8 h后取样;3)植物外源激素胁迫:用100 μmol/L脱落酸(ABA)溶液对小麦幼苗进行喷雾处理,0、1、3、6、12和24 h后取样;4)病原菌胁迫:待小麦第一片叶完全展开时(约出苗后7 d),采用扫抹法分别接种小麦条锈菌生理小种CYR32和白粉菌混合菌系,置于10~12 °C保湿24 h,然后放于日光温室(15~18 °C),在接种0、4、7、10、16、24、32、40、48、72、96和120 h时取样。以上所有样品取下后立即用液氮速冻,-80 °C保存备用。用Trizol法提取小麦总RNA,反转录成cDNA。利用合成的钙联蛋白基因*TaCNX60.0*特异引物对各处理样品进行半定量RT-PCR扩增,并以小麦Actin基因表达为对照,分析该基因在不同胁迫条件下的表达情况。引物序列见表1。

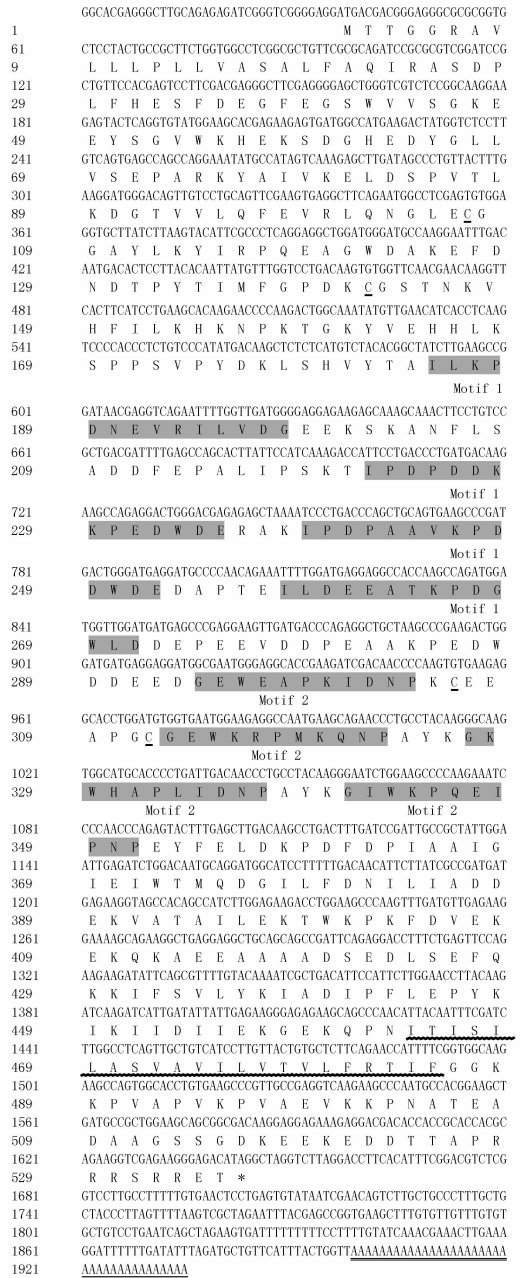
表1 *TaCNX60.0*表达分析中所用引物序列  
Table 1 Primer sequences used in *TaCNX60.0* expression analysis

引物名称	引物序列(5'-3')
Actin 上	GTTCCAATCTATGAGGGA-TACACGC
Actin 下	GAACCTGCCACAGTGAACAA-CATTACC
<i>TaCNX60.0</i> -RT-F	CGACGAGGCTTCGAGGGGA
<i>TaCNX60.0</i> -RT-R	CGGGCTTCACTGCAGCTGGG

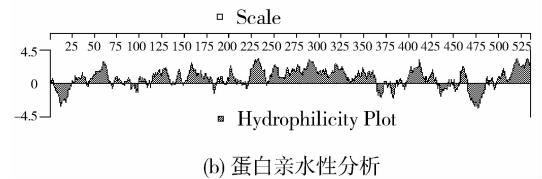
## 2 结果与分析

### 2.1 *TaCNX60.0* 克隆及序列分析

利用小麦cDNA文库筛选获得一个全长为1 921 bp的钙联蛋白基因cDNA序列。序列分析发现,该基因包含一个长度为1 680 bp的开放阅读框,推测其编码535个氨基酸,预测所编码的蛋白分子量为60.04 ku,等电点为4.42,是酸性蛋白。与其他钙联蛋白氨基酸序列比对分析发现,*TaCNX60.0*在氨基酸序列N端含有一个25个氨基酸残基组成的疏水性信号肽序列;在185~271和294~351之间发现分别有4个重复序列;整个蛋白序列中含有4个Cys残基构成的2个二硫桥;C端约有50个亲水性氨基酸,464~486为疏水性氨基酸,推测为蛋白跨膜区;C末端序列为RRSRRET,该序列与大豆钙联蛋白的C末端RRPRRET序列类似,推测是该蛋白的内质网滞留信号(图1(a),(b))。



(a) *TaCNX60.0* cDNA序列及其预测编码的氨基酸序列分析



(b) 蛋白亲水性分析

加粗斜体部分(氨基酸1~25)为推测的信号肽;加粗阴影部分显示内部重复序列(Motif 1:氨基酸185-178;222-235;239-252;258-271;Motif 2:氨基酸294-304,313-323,327-337,341-351);划波浪线的部分为跨膜区(氨基酸464-485);单下划线表示二硫桥中半胱氨酸残基。

图1 *TaCNX60.0*序列分析

Fig. 1 *TaCNX60.0* sequence analysis

### 2.2 *TaCNX60.0* 编码蛋白质三级结构预测

利用 SWISS—MODEL 网站 (<http://swissmodel.expasy.org/workspace/>) 在线数据库分析了 *TaCNX60.0* 蛋白质三级结构,结果显示其在内质网腔内的结构域包含 2 个部分:球状区和延伸臂区 2 个区域(图 2),与 Williams 等<sup>[13]</sup>报道的钙联蛋白的三维结构类似。*TaCNX60.0* 延伸臂区由一条氨基酸链对折组成,对折的一条链包括 4 次重复的 motif 1,对折的另一条链包含 4 次重复的 motif 2,三级结构图上可以看出 motif 是成对出现的。推测 *TaCNX60.0* 有 2 个不同的  $Ca^{2+}$  结合区<sup>[14]</sup>,其中 1 个钙离子结合域位于球状区<sup>[15]</sup>,另 1 个则锚定在内质网腔内,低级多聚糖蛋白结合区也位于球状区,2 个二硫桥的分布在图 2 中用箭头标出。

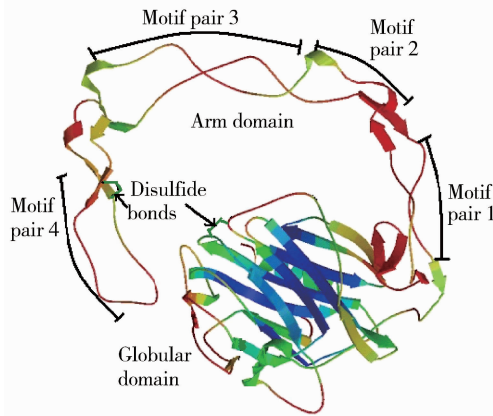


图 2 *TaCNX60.0* 三级结构分析

Fig. 2 Tertiary structure prediction of *TaCNX60.0*

### 2.3 *TaCNX60.0* 蛋白聚类分析

将 *TaCNX60.0* 与其他物种的钙联蛋白进行聚类分析,并对该蛋白家族进行初步分类。根据聚类分析结果可将所有参与分析的蛋白分为 3 个亚组,分别为亚组 I、亚组 II 和亚组 III(图 3)。亚组 I 包含来源于动物界的钙联蛋白,亲缘关系由近及远归类为:脊索动物门哺乳纲的黑猩猩、猕猴、犬和鼠的钙联蛋白(NP001127039, XP001151178, XP001101429, NP001003232, AAA21015),两栖纲的非洲爪蟾和林蛙的钙联蛋白(NP001005668, BAA11426),鱼纲的鲈鱼的钙联蛋白(NP001071009),扁形动物门吸虫纲的血吸虫的钙联蛋白(CAX75038),节肢动物门昆虫纲的果蝇和意蜂的钙联蛋白(NP733286, XP624907),线形动物门线虫纲的线虫的钙联蛋白

(CAP29507)。亚组 II 包含植物界钙联蛋白,如绿藻门绿藻纲的小球藻的钙联蛋白(EFN53145),被子植物门双子叶植物纲菊科的向日葵钙联蛋白(CAA84491),茄科的番茄钙联蛋白(BAD99512),十字花科的拟南芥和芸苔钙联蛋白(AT5G61790, AAK84429),蝶形花科的豌豆钙联蛋白(CAA76741),大戟科的蓖麻钙联蛋白(XP002511066);单子叶植物纲禾本科的玉米、水稻和小麦的钙联蛋白(CAA54678, BAF14606, *TaCNX60.0*)。亚组 III 的成员为 2 个真菌界半知菌亚门丝孢纲曲霉和青霉的钙联蛋白(CBF75819, AAX45072)及一个半知菌亚门芽孢菌纲假丝酵母的钙联蛋白(CAX42252)。因此,动物界、植物界和真菌界的钙联蛋白家族成员进化非常保守,动物界与植物界的钙联蛋白相似性较高,但与真菌界的钙联蛋白差异较大。

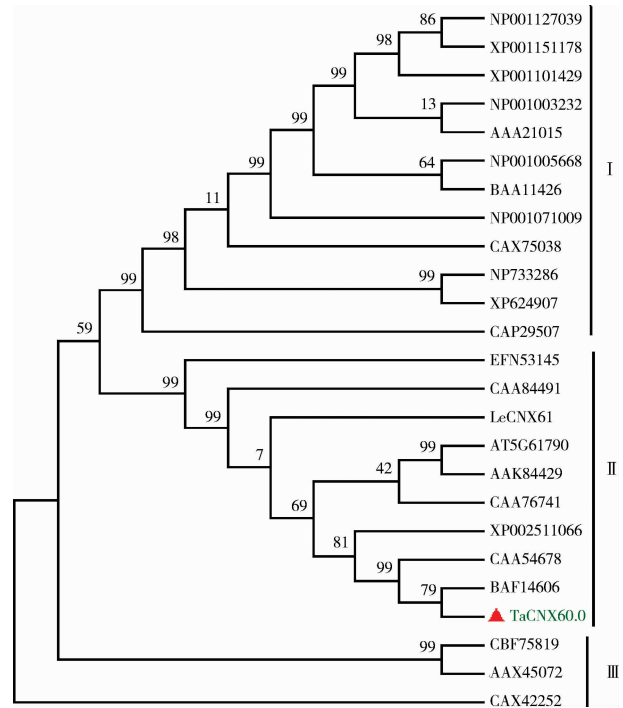


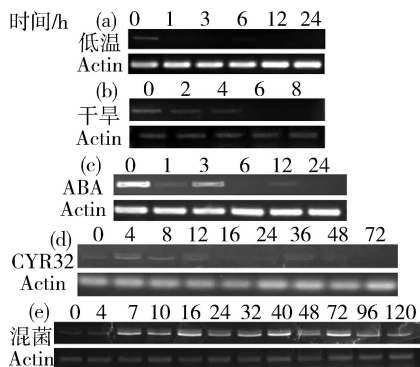
图 3 *TaCNX60.0* 的聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of *TaCNX60.0*

### 2.4 *TaCNX60.0* 基因表达谱分析

本研究采用半定量 RT-PCR 方法,分析了 *TaCNX60.0* 在低温、干旱、植物激素 ABA、条锈菌生理小种 CYR32 和白粉菌混合菌种侵染条件下小麦幼苗表达情况变化,明确了小麦钙联蛋白基因 *TaCNX60.0* 在不同处理条件下的表达谱变化。在

低温(4℃)胁迫处理过程中,*TaCNX60.0*表达明显受抑制,1和3h都没有表达,6h时有极微弱表达,但明显低于0h对照(图4(a));干旱胁迫处理2和4h后,*TaCNX60.0*表达明显减弱,处理6h后几乎检测不到该基因的表达(图4(b));在ABA胁迫处理过程中,*TaCNX60.0*转录水平在处理1h后骤然下降,表明*TaCNX60.0*正常转录因子对ABA非常敏感,然而处理3h后*TaCNX60.0*的表达量升高,之后又逐渐下降(图4(c));条锈菌CYR32和白粉菌混合菌种侵染能诱导*TaCNX60.0*表达。接种CYR32 4h后的表达量明显增加,12h时开始减弱,之后表达几乎为零,36h时又有微弱表达(图4(d));接种白粉混菌后,*TaCNX60.0*表达水平明显高于0h对照,在接种后7~120h内保持较高的表达水平(图4(e))。因此,*TaCNX60.0*表达受到干旱、低温胁迫抑制,ABA使该基因表达明显减弱,之后又诱导部分表达,但它能被条锈菌CYR32和白粉混菌侵染诱导。



(a)低温(4℃)处理;(b)干旱胁迫处理;(c)ABA处理;  
(d)条锈菌生理小种CYR32侵染处理;  
(e)白粉菌混合菌种侵染处理。

图4 *TaCNX60.0*的表达分析

Fig. 4 Expression analysis of *TaCNX60.0*

### 3 讨论

钙联蛋白普遍存在于动物、植物和微生物中,而且它的结构和序列在不同物种之间具有进化上的保守性<sup>[16]</sup>。钙联蛋白在内质网合成各类蛋白质的过程中发挥重要作用。许多胁迫条件都能干扰生物细胞内质网腔内的蛋白正常折叠和寡聚化<sup>[17]</sup>,导致未折叠蛋白在内质网腔内的积累<sup>[18]</sup>,从而激发细胞通过一种特殊的信号转导途径诱导分子伴侣钙联蛋白

基因表达<sup>[13]</sup>,帮助未折叠蛋白正确组装,完成各种应答机制。

钙联蛋白结构比较保守,它是内质网中的I型跨膜蛋白,由球状区和包含2个相连重复序列的延伸臂区及跨膜区和胞质区组成<sup>[19]</sup>,其中臂区的motif 1和motif 2分别重复4次,球状区包含保守的凝集素结合区和多肽结合区,寡糖结合区位于球状结构域,磷酸化作用部位则位于胞质区<sup>[16]</sup>。

本研究对来源于动、植物及微生物中的钙联蛋白进行聚类分析,发现该蛋白家族成员分布明显区分为动物、植物和真菌3个亚组,而且遗传距离也与进化关系非常一致,即亚组I成员均来自于动物界,由比较高等的哺乳纲、两栖纲、鱼纲到进化上比较低的吸虫纲、昆虫纲和线虫纲钙联蛋白组成;亚组II包含植物界绿藻纲、双子叶植物纲和单子叶植物纲,而且来自同一科植物的钙联蛋白遗传距离最近,如十字花科的拟南芥和芸苔的钙联蛋白AT5G61790和AAK84429,来自禾本科的玉米、水稻和小麦的钙联蛋白CAA54678、BAF14606和*TaCNX60.0*;亚组III中真菌钙联蛋白也具有同样规律,如丝孢纲的曲霉和青霉的钙联蛋白CBF75819和AAX45072之间的遗传距离比它们与芽孢菌纲假丝酵母的钙联蛋白近。由此可以推断不同生物界内和物种内钙联蛋白的进化具有结构和序列上的高度保守性,与Muller-Taubenberger等<sup>[20]</sup>的钙联蛋白聚类分析图结论相似。同时,来自动物界、植物界和真菌界钙联蛋白进化途径是相对独立,该蛋白家族在动物、植物和真菌分化之前已经存在。

真核细胞内质网腔内未折叠蛋白的过度积累会引起内质网胁迫(ER stress)反应,从而激活未折叠蛋白应答(UPR)信号途径,诱导编码定位于内质网中的分子伴侣蛋白类基因表达,协助内质网中蛋白折叠及其糖基化。该信号传导系统在生物体抗逆和防卫反应中发挥重要调控作用。本研究通过对不同逆境胁迫处理和病原菌侵染后钙联蛋白基因*TaCNX60.0*的表达进行分析,结果表明小麦*TaCNX60.0*表达受到ABA处理、干旱和低温胁迫抑制,但它能被条锈菌生理小种CYR32和白粉菌混合小种侵染诱导。李明辉<sup>[20]</sup>等研究结果显示番茄*Lecnx61.0*的表达受热激、冷害、盐胁迫和衣霉素处理诱导,但对干旱胁迫没有明显的反应。说明不同胁迫条件对同一物种钙联蛋白基因表达影响不同,同一胁迫条件对不同物种钙联蛋白基因表达

作用不同。因此, *TaCNX60.0* 在小麦逆境胁迫反应和防卫反应过程中的具体作用, 有待于利用转基因植物进行进一步验证。

### 参 考 文 献

- [1] Liu J X, Howell S H. Endoplasmic reticulum protein quality control and its relationship to environmental stress responses in plants[J]. *The Plant Cell Online*, 2010, 22(9): 2930-2942
- [2] Wada I, Rindress D, Cameron P H, et al. SSR alpha and associated calnexin are major calcium binding proteins of the endoplasmic reticulum membrane [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266(29): 19599-19610
- [3] Williams D B. Beyond lectins; the calnexin/calreticulin chaperone system of the endoplasmic reticulum[J]. *Journal of Cell Science*, 2006, 119(4): 615-624
- [4] Bergeron J J M, Brenner M B, Thomas D Y, et al. Calnexin: a membrane-bound chaperone of the endoplasmic reticulum[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 1994, 19(3): 124-128
- [5] Leach M R, Cohen-Doyle M F, Thomas D Y, et al. Localization of the lectin, ERp57 binding, and polypeptide binding sites of calnexin and calreticulin[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(33): 29686-29697
- [6] Caramelo J J, Parodi A J. Getting in and out from calnexin/calreticulin cycles[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(16): 10221-10225
- [7] Jessop C E, Tavender T J, Watkins R H, et al. Substrate specificity of the oxidoreductase ERp57 is determined primarily by its interaction with calnexin and calreticulin[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(4): 2194-2202
- [8] Arima H, Kinoshita T, Ibrahim H R, et al. Enhanced secretion of hydrophobic peptide fused lysozyme by the introduction of N-glycosylation signal and the disruption of calnexin gene in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *FEBS Letters*, 1998, 440(1/2): 89-92
- [9] Parlati F, Dominguez M, Bergeron J J M, et al. *Saccharomyces cerevisiae* CNE1 encodes an endoplasmic reticulum (ER) membrane protein with sequence similarity to calnexin and calreticulin and functions as a constituent of the ER quality control apparatus[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(1): 244-253
- [10] Jannatipour M, Rokeach L A. The *Schizosaccharomyces pombe* homologue of the chaperone calnexin is essential for viability [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(9): 4845-4853
- [11] Nozomu Koizumi, Immaculada M Martinez, Yukio Kimata, et al. Molecular characterization of two *Arabidopsis* Ire1 homologs, endoplasmic reticulum-located transmembrane protein kinases[J]. *Plant Physiology*, 2001, 127: 949-962
- [12] Valente M A S, Faria J A Q A, Soares-Ramos J R L, et al. The ER luminal binding protein (BiP) mediates an increase in drought tolerance in soybean and delays drought-induced leaf senescence in soybean and tobacco[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(2): 533-546
- [13] Williams D B. Beyond lectins; the calnexin/calreticulin chaperone system of the endoplasmic reticulum[J]. *Journal of Cell Science*, 2006, 119(4): 615-624
- [14] Kaufman R J. Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum; coordination of gene transcriptional and translational controls [J]. *Genes & Development*, 1999, 13(10): 1211-1233
- [15] Schrag J D, Bergeron J J M, Li Y, et al. The structure of calnexin, an ER chaperone involved in quality control of protein folding[J]. *Molecular Cell*, 2001, 8(3): 633-644
- [16] 张峰. 内质网分子伴侣 Calnexin 的研究进展[J]. *生物学通报*, 2008, 43(8): 7-10
- [17] Pelham H R B. Control of protein exit from the endoplasmic reticulum[J]. *Annual Review of Cell Biology*, 1989, 5(1): 1-23
- [18] Okushima Y, Koizumi N, Yamaguchi Y, et al. Isolation and characterization of a putative transducer of endoplasmic reticulum stress in *Oryza sativa* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2002, 43(5): 532-539
- [19] Müller-Taubenberger A, Lupas A N, Li H, et al. Calreticulin and calnexin in the endoplasmic reticulum are important for phagocytosis[J]. *The EMBO Journal*, 2001, 20(23): 6772-6782
- [20] 李明辉, 孙颖, 赵春梅, 等. 番茄 calnexin 基因的克隆及胁迫表达分析[J]. *武汉植物学研究*, 2006, 24(2): 100-105