

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.04.024

周小东, 沈富兵. MAP30 蛋白结构功能的生物信息学研究[J]. 广西植物, 2013, 33(4): 560-563

Zhou XD, Shen FB. Research on bioinformatics of MAP30 protein structural function[J]. *Guihaia*, 2013, 33(4): 560-563

## MAP30 蛋白结构功能的生物信息学研究

周小东, 沈富兵

(成都医学院 检验医学院, 成都 610083)

**摘要:** 使用 protparam、PHDhtm、PredictProtein 等生物信息学在线服务器, 对 MAP30 蛋白进行全面分析预测, 研究 MAP30 蛋白具有的抗 HIV 活性, 为临床应用提供抗科学依据和理论基础。结果表明: MAP30 蛋白为稳定的碱性疏水蛋白, 序列上存在三段跨膜螺旋结构和一段无序化位区域, 肽链上的二硫键可使分子间形成聚集集体, 是一种分泌蛋白。MAP30 蛋白序列包含信号肽、低复杂度区域和 RIP 样活性区域 3 个区域, 具有细胞外被膜、异构酶、免疫应答三种功能。序列上分布着 N-糖基化位点、N-豆蔻酰化位点、Shiga/ricin 核糖体失活蛋白活性位点和多段蛋白激酶磷酸化位点。

**关键词:** MAP30; 抗 HIV; 生物信息学

中图分类号: Q811.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)04-0560-04

## Research on bioinformatics of MAP30 protein structural function

ZHOU Xiao-Dong, SHEN Fu-Bing

(School of Laboratory Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China)

**Abstract:** It was designed to research the anti-HIV activities of protein MAP30 so as to provide scientific basis and theoretical basis for clinical application, to analyze and predict the protein MAP30 comprehensively using bioinformatics online servers, such as protparam, PHDhtm and PredictProtein. The results were as follows: MAP30 was stable alkali hydrophobin and the sequence thereof comprises three sections of transmembrane spiral structures and a section of disordering bit field; aggregates were formed among the molecules by the disulfide bond on peptide chain, therefore, it was a secretory protein. The protein MAP30 sequence contained signal peptide, a low complexity region and an RIP active region, therefore, it had three functions of cell envelope, isomerase and immune response. The sequence was distributed with N-glycosylation loci, N-myristoylation loci, Shiga/ricin ribosome inactivating protein loci and multi-zone protein kinase phosphorylation loci.

**Key words:** MAP30; anti-HIV; bioinformatics

核糖体失活蛋白(ribosome-inactivating protein, RIP)广泛存在于植物中,具有破坏核糖体的功能,抑制蛋白质的生物合成。国内外研究者从苦瓜中分离到多种核糖体失活蛋白,包括 $\alpha$ -苦瓜素( $\alpha$ -Momorcharin)、 $\beta$ -苦瓜素( $\beta$ -Momorcharin)和 MAP30 蛋

白(Momordica anti-HIV protein of 30KD)等。MAP30 蛋白是苦瓜中一种具有抗 HIV 活性的核糖体失活蛋白,具有不易产生耐药性特征。研究表明其抗 HIV 机制有: MAP30 蛋白进入 HIV 感染细胞,使核糖体失活,干扰病毒复制;直接使 HIV 超螺旋 DNA

收稿日期: 2012-12-13 修回日期: 2013-03-01

基金项目: 成都医学院校基金(N00072); 四川省教育厅资助项目(09zc084)

作者简介: 周小东(1975-)男,四川广汉人,硕士,讲师,主要从事临床检验诊断和生物信息学方面的研究。(E-mail) zhouxd@cmc.edu.cn。

通讯作者: 沈富兵,博士,副教授,主要从事免疫药理学研究。(E-mail) shenfubing@163.com。

转为线状或缺口环状而拓扑失活;抑制 HIV 整体酶等多途径多环节,所以 MAP30 蛋白又被称为抗艾滋病蛋白。近年的研究还表明 MAP30 蛋白还具有酶活性,具有抗生育、抗肿瘤、蛋白免疫抑制等药理活性(王临旭,2002)。但从分子结构层面研究分析 MAP30 蛋白的尚未见有报道,本研究以 MAP30 蛋白为材料,应用生物信息学方法对 MAP30 蛋白的结构、性质、细胞定位、修饰等进行分析,为深入研究 MAP30 蛋白的抗 HIV 机制和临床应用提供科学依据和理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 数据来源

数据资料来自美国国立信息技术中心 NCBI 检索下载 MAP30 蛋白序列,序列号为 P24817。

### 1.2 研究方法

研究中应用多种在线生物信息学分析程序,全面对 MAP30 蛋白的性质进行分析预测。蛋白质基本理化性质分析程序 <http://web.expasy.org/prot-param/>;跨膜螺旋、蛋白结构和修饰位点预测程序 <http://www.predictprotein.org/>;无序化分析程序 <http://bioportal.weizmann.ac.il/fldbin/findex>;细胞定位分析 <http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>;结构域预测程序 <http://smart.embl-heidelberg.de/>;蛋白功能预测程序 <http://www.cbs.dtu.dk/services/ProtFun/>。

## 2 结果与分析

### 2.1 理化性质分析

使用在线服务器 expasy 的 protparam 程序预测 MAP30 蛋白的理化性质,预测结果如下:

分子量为 32013.1;等电点(PI)为 9.41;酸性氨基酸残基(Asp+Glu)为 24;碱性氨基酸残基(Arg+Lys)为 29;分子式为  $C_{1468}H_{2306}N_{372}O_{423}S_3$ ;消光系数为 280 nm;不稳定指数(II)为 29.49;脂肪指数(AI)为 103.01;平均亲水性(GRAVY)为 0.084。

### 2.2 跨膜螺旋结构预测

使用在线程序 PHDhtm 预测 MAP30 蛋白的跨膜螺旋结构,该程序基于拓扑数学法,结果显示 MAP30 蛋白存在三段跨膜螺旋结构,如表 1 所示。这三段跨膜螺旋分别位于 4~21 位、166~183 位和 82~99 位。

表 1 MAP30 蛋白的跨膜螺旋结构预测

Table 1 Prediction figure of MAP30 membrane helices

序号 No.	总分 Total score	优势值 Best HTM	相匹配的氨基酸 序列 c-N
1	0.8713	0.6420	4~21
2	0.8854	0.6116	166~183
3	0.8875	0.5172	82~99

### 2.3 蛋白结构预测

使用在线服务器 PredictProtein 预测 MAP30 蛋白结构,在第 4 位的半胱氨酸可形成二硫键,无  $\beta$  桶状跨膜蛋白结构。程序 Globularity 显示 MAP30 蛋白有 163 个预测暴露残基,121 个预期暴露残基,综合分析得 MAP30 蛋白为致密的球状蛋白。

### 2.4 无序化分析

蛋白质的固有无序化特征执行着重要的生理功能,是蛋白质功能的重要指标,集合了多种动态互变结构。利用在线程序 Fldbin 对 MAP30 蛋白进行折叠的无序化分析(Wang,2005),结果显示 MAP30 蛋白无序化分值为 0.25,仅在 127~132 位存在一段无序化位区域 LFKGTR,见图 1。

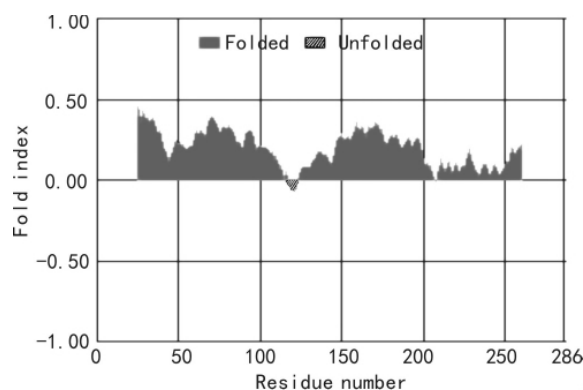


图 1 MAP30 的蛋白质固有无序化特征分析

Fig. 1 Intrinsically disordered protein analysis of MAP30

### 2.5 亚细胞定位分析

使用在线程序 TargetP 分析 MAP30 蛋白亚细胞定位分析(Emanuelsson *et al.*,2000)。MAP30 蛋白的序列有 286 个氨基酸,叶绿体转运肽分值为 0.013,线粒体靶向肽分值为 0.010,分泌通路信号肽分值为 0.980,其它部位前导肽分值为 0.164,定位为 S,可信度为 1。结果显示叶绿体转运肽和线粒体靶向肽分值都极低,而分泌通路信号肽分值很高,分析说明 MAP30 蛋白可能在细胞核内合成,不是定位于叶绿体、线粒体,因为有信号肽,故为分泌型蛋白。

2.6 结构域预测

使用在线程序 SMART 对 MAP30 蛋白进行结构域分析,结果表明 MAP30 蛋白序列包含 3 个区域。序列 1~23 位是第一区域为信号肽序列,说明 MAP30 蛋白为信号肽引导的分泌蛋白。序列 5~16 位是第二区域为低复杂度区域,因位于信号肽上而被切除。序列 26~223 位是第三区域为 RIP 样活性区域,具有抗被 HIV 病毒感染的细胞活性功能。

2.7 蛋白功能预测

使用在线服务器 CBS 的 Profun 程序预测 MAP30 蛋白的功能,其功能分类见表 2,该蛋白具

表 2 MAP30 蛋白功能预测  
Table 2 Function prediction of MAP30

功能类别 Functional category	得分 Prob	优势值 Supiority value
Amino acid biosynthesis(氨基酸生活合成)	0.035	1.568
Biosynthesis of cofactors(生物合成的辅助因子)	0.119	1.659
Cell envelope(细胞外被膜)	0.718	11.763
Cellular processes(细胞加工)	0.059	0.814
Central intermediary metabolism(中间代谢)	0.050	0.790
Energy metabolism(能量代谢)	0.114	1.261
Fatty acid metabolism(脂肪酸代谢)	0.029	2.262
Purines and pyrimidines(嘌呤嘧啶)	0.481	1.980
Regulatory functions(调控)	0.013	0.079
Replication and transcription(转录复制)	0.025	0.093
Translation(转录)	0.033	0.749
Transport and binding(转运结合)	0.800	1.952
<b>酶类</b> Enzyme	<b>得分</b> Prob	<b>优势值</b> Supiority value
Oxidoreductase(氧化还原酶)	0.136	0.654
Transferase(转移酶)	0.129	0.375
Hydrolase(水解酶)	0.072	0.228
Lyase(裂解酶)	0.021	0.456
Isomerase(异构酶)	0.071	2.229
Ligase(连接酶)	0.079	1.561
<b>基因存在类别</b> Gene Ontology category	<b>得分</b> Prob	<b>优势值</b> Supiority value
Signal transducer(信号转导)	0.128	0.597
Receptor(受体)	0.080	0.470
Hormone(荷尔蒙)	0.002	0.347
Structural protein(结构蛋白)	0.010	0.355
Transporter(载体)	0.025	0.229
Ion channel(离子通道)	0.015	0.258
Voltage-gated ion channel (电压门控离子通道)	0.003	0.121
Cation channel(阳离子通道)	0.011	0.239
Transcription(转录)	0.030	0.235
Transcription regulation(转录调控)	0.018	0.143
Stress response(胁迫应答)	0.103	1.165
Immune response(免疫应答)	0.273	3.209
Growth factor(生长因子)	0.011	0.793
Metal ion transport(金属离子转运)	0.010	0.022

有细胞外被膜、异构酶、免疫应答的功能,其可能性分值分别为 11.763、2.229、3.209。

2.8 蛋白修饰位点预测

使用在线程序 Prosite 分析 MAP30 蛋白修饰位点(Hulo *et al.*, 2008)结果表明 MAP30 蛋白序列含 7 种,16 个蛋白修饰位点:1 个 N-糖基化位点,1 个 CAMP 依赖的蛋白激酶磷酸化位点,5 个蛋白激酶 C 磷酸化位点,5 个蛋白激酶 CK2 磷酸化位点,1 个酪氨酸激酶磷酸化位点,2 个 N-豆蔻酰化位点,1 个 Shiga/ricin 核糖体失活蛋白活性位点。如表 3 所示。

表 3 MAP30 蛋白修饰位点分析  
Table 3 Themodify prediction of MAP3

类别 Category	相匹配的氨基酸 序列 c-N
AsnGlycosylation( N-糖基化位点)	74 ~ 77
CampPhospho site ( CAMP 依赖的蛋白激酶磷酸化位点)	122 ~ 125
PKCPhospho site (蛋白激酶 C 磷酸化位点)	20 ~ 22 ,33 ~ 35 ,51 ~ 53 ,67 ~ 69 ,121 ~ 123
CK2Phospho site (蛋白激酶 CK2 磷酸化位点)	63 ~ 66 ,109 ~ 112 ,178 ~ 181 ,247 ~ 250 ,267 ~ 270
TYR Phospho site (酪氨酸激酶磷酸化位点)	98 ~ 104
Myristyl( N-豆蔻酰化位点)	17 ~ 22 ,130 ~ 135
ShigaRicin( Shiga/Ricin 核糖体失活蛋白活性位点)	176 ~ 192

3 结论与讨论

理化性质分析预测出 MAP30 蛋白的消光系数为 280 nm,不稳定指数为 29.49,脂肪指数为 103.01,平均亲水性为 0.084 等指标。蛋白质的紫外吸收谱主要有胱氨酸、酪氨酸和色氨酸等芳香族残基,在溶液中苯酚基团离子化而产生的吸收光谱,用紫外吸收法测定 MAP30 蛋白溶液浓度时,应选择波长 280 nm。蛋白质不稳定指数>40 时,该蛋白不稳定,MAP30 蛋白为稳定蛋白。脂肪指数常作为蛋白热稳定性增加的阳性因素,是蛋白质中脂肪侧链如异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸等所占的比重,MAP30 蛋白脂肪指数为 103.01。蛋白亲水性是研究蛋白质性质不可缺少的一环,平均亲水性 GRAVY( grand average of hydropathicity) 范围在-2 ~ 2 之间(徐庆华等 2011),MAP30 蛋白 GRAVY 值为 0.084。以上预测说明 MAP30 蛋白为稳定的碱性疏水蛋白。

MAP30 蛋白的结构预测包括跨膜螺旋结构、二硫键、无序化区域。跨膜螺旋结构预测显示 MAP30 蛋白序列在 4~21 位、82~99 位和 166~183 位存在三段跨膜螺旋结构。植物跨膜区蛋白一般由 20 个左右疏水氨基酸组成,以特定的  $\alpha$  螺旋或  $\beta$  折叠嵌入膜中,介导细胞内外的信号传导,执行多种重要的细胞生物学功能,如物质能量交换等(宋江华等, 2009)。MAP30 蛋白序列在第 4 位存在二硫键,二硫键可使分子间形成聚集体,是维持蛋白质空间构象的重要共价键。蛋白质无序化区域大多存在于细胞质、细胞核中,具有重要的生物学功能。在线程序 Fldbin 分析蛋白的无序化区域,集合了多种动态互变结构,模拟生理条件下蛋白具有的可塑性三维结构。MAP30 蛋白无序化分值为 0.25,仅在 127~132 位存在一段无序化区域 LFKGTR。说明 MAP30 蛋白仅有低的固有无序化区域,在生理状态下结构稳定,具有刚性结构的酶特性,能较好地与底物结合,完成酶的催化反应(史铁伟等 2010)。

本研究预测 MAP30 蛋白的 MAP30 蛋白亚细胞定位、结构域和蛋白功能。亚细胞定位是指某种蛋白在细胞内的具体存在部位,与蛋白功能密切相关。MAP30 蛋白分泌通路信号肽分值为 0.980,叶绿体转运肽和线粒体靶向肽分值都极低,仅为 0.013、0.010,说明 MAP30 蛋白是一种分泌蛋白,在细胞核合成后被信号肽引导下,分泌到胞外(朱玉娟等, 2009)。MAP30 蛋白序列包含 3 段结构域,分别为信号肽、低复杂度区域和 RIP 样活性区域。结构域是蛋白序列的结构、功能和进化单元,通常由肽链上 40~300 个氨基酸残基折叠成的特定三维结构,其结构亚单位又称为模体,具有一定生物学功能,空间三维结构明显区分并相对独立(高春林等, 2011)。蛋白功能预测显示 MAP30 蛋白主要具有细胞外被膜、异构酶、免疫应答 3 种功能,说明 MAP30 蛋白位于细胞外被膜上,是贯穿苦瓜细胞磷脂层的蛋白。具有催化一种同分异构体转变为另一种同分异构体的异构酶活性。还有参与免疫活性细胞识别抗原,产生应答并将抗原破坏、清除的功能。

蛋白修饰位点预测显示 MAP30 蛋白在 74~77 位氨基酸残基具有 N-糖基化位点,说明该段肽链在酶催化天冬酰胺残基侧链氮原子上可加上糖基。在 MAP30 蛋白存在多段蛋白激酶磷酸化位点,这是一类催化蛋白质磷酸化的酶反应,多为把 ATP 上的  $\gamma$ -磷酸转移到蛋白质分子的丝氨酸残基上。122~125

位氨基酸残基具有依赖于环腺苷酸(cAMP)的蛋白激酶磷酸化作用。20~22,33~35,51~53,67~69,121~123 位氨基酸残基为蛋白激酶 C 磷酸化位点,即一类可使苏氨酸、丝氨酸残基磷酸化的蛋白激酶。蛋白激酶 C 有多种作用,能作用于细胞核中的转录因子,能激活细胞质中的靶酶参与生化反应的调控,参与细胞的生长和分化相关的基因表达的调控。63~66,109~112,178~181,247~250,267~270 位氨基酸残基为蛋白激酶 CK2 磷酸化位点,蛋白激酶 CK2 是在真核细胞内广泛存在的信使非依赖性苏氨酸、丝氨酸蛋白激酶,参与细胞生长、增殖、凋亡过程(黄功华等, 2003)。98~104 位氨基酸残基为酪氨酸激酶磷酸化位点,酪氨酸蛋白激酶能催化自身磷酸化,也可磷酸化其他的蛋白质,反应专一地发生在特定的酪氨酸的羟基上。MAP30 蛋白在序列 17~22,130~135 位氨基酸残基上发生 N-豆蔻酰化,豆蔻酰化又名十四酰化,多发生在真核生物蛋白的肽链 N 端的甘氨酸残基上,豆蔻酸作为酰化基团进行的酰化作用。176~192 位氨基酸残基具有志贺\蓖麻毒性核糖体失活蛋白活性,其具有 rRNA N-糖苷酶活性,能够抑制蛋白质的生物合成,该段序列可能就是 MAP30 蛋白的核糖体蛋白失活作用所在。

本研究用生物信息学的方法对 MAP30 蛋白进行系统研究,初步确定 MAP30 蛋白的序列结构、理化性质、细胞定位、蛋白修饰等,为探索其抗生育、抗肿瘤、蛋白免疫抑制等药理活性提供帮助,为将来临床上使用 MAP30 蛋白抗肿瘤、抗 HIV 提供科学依据和理论基础。

#### 参考文献:

- Emanuelsson O, Nielsen H, Brunak S *et al.* 2000. Predicting sub-cellular localization of proteins based on their N-terminal amino acid sequence [J]. *J Mol Biol* **300** (4): 1 005-1 016
- Gao CL (高春林), Liu GL (刘光陵), Xia ZK (夏正坤), *et al.* 2011. A novel gene six-transmembrane epithelial antigen of the prostate 4: expression in the adipose tissue of obese children and bioinformatic analysis(新基因 6 次跨膜表位抗原 4 在肥胖患儿脂肪组织的表达及生物信息学分析) [J]. *Bull Med Postgrad* (医学研究生学报) **24** (2): 117-121
- Huang GH (黄功华), Liu XG (刘新光), Liang NC (梁念慈). 2003. Progress of protein kinase CK2(蛋白激酶 CK2 的研究进展) [J]. *Chem life*(生命的化学) **23** (3): 169-172
- Hulo N, Bairoch A, Bulliard V *et al.* 2008. The 20 years of PROSITE [J]. *Nucl Acids Res* **36**: 245-249
- Shi TW (史铁伟), Li Y (李勇), Han B (韩冰) *et al.* 2010. cDNA (下转第 542 页 Continue on page 542)

表 3 后蕊苣苔属植物分类系统与花粉形态分类比较  
Table 3 Plant groups and pollen morphology groups of *Opithandra*

植物分类 Plant group	种 Species	花粉形态类群 Group of pollen morphology
后蕊苣苔组 sect. <i>Opithandra</i>	后蕊苣苔 <i>Opithandra primuloides</i> 毡毛后蕊苣苔 <i>O. sinohenryi</i> 龙南后蕊苣苔 <i>O. burttii</i>	第一大类群
皱叶后蕊苣苔组 sect. <i>Stenosiphon</i>	皱叶后蕊苣苔 <i>O. fargesii</i>	
小花后蕊苣苔组 sect. <i>Microstigma</i>	小花后蕊苣苔 <i>O. acaulis</i>	第二大类群
裂檐苣苔组 sect. <i>Schistolobos</i>	裂檐苣苔 <i>O. pumila</i>	
汕头后蕊苣苔组 sect. <i>Briggsioides</i>	汕头后蕊苣苔 <i>O. dalzielii</i> 鼎湖后蕊苣苔 <i>O. dinghushanensis</i> 灰叶后蕊苣苔 <i>O. cinerea</i> 钝齿后蕊苣苔 <i>O. obtusidentata</i> 文采后蕊苣苔 <i>O. wentsaii</i>	第三大类群 第四大类群

花药均圆卵形,顶端连着,裂缝弧状弯曲。尽管 5 种具相似的雄蕊类型,但它们的花粉形状发生了分化:汕头后蕊苣苔、鼎湖后蕊苣苔和灰叶后蕊苣苔的花粉近球形或扁球形,钝齿后蕊苣苔和文采后蕊苣苔的花粉长椭圆球形。因此我们认为王文采(1987)分类系统中汕头后蕊苣苔组仍可细分为 2 类(表 3):汕头后蕊苣苔、鼎湖后蕊苣苔和灰叶后蕊苣苔为同一类群;钝齿后蕊苣苔和文采后蕊苣苔为同一类群。本研究的结果也表明,花粉粒形状和外界纹饰能反映后蕊苣苔属植物组间的差异,能够为后蕊苣苔属的系统发育提供重要证据。

致谢 黄向荣、王君等同学在采样过程中的帮助和鼓励。感谢华南植物园胡晓颖老师在样品处理及技术方面的支持,在此谨致谢意!

参考文献:

王开发. 1983. 孢粉学概论[M]. 北京: 北京大学出版社: 1-25  
李振宇, 王印政. 2005. 中国苦苣苔科植物[M]. 郑州: 河南科学技术出版社: 113-118  
Burt BL. 1956. An independent genus for *Oreocharis primuloides* [J]. *Baileya* 4(4): 160-162  
Burt BL. 1958. Studies in the Gesneriaceae of the old world. XII. *Opithandra*: a genus with sterile antecous stamens [J]. *Not Bot Gard Edinb* 22(4): 301-303  
Feng LG (冯立国), Shao DW (邵大伟), Sheng LX (生利霞), et al. 2007. Pollen morphology of wild *Rosa rugosa* and discussion on its origin and evolution(野生玫瑰的花粉形态及其起源与演化的探讨) [J]. *Sci Silv Sin* (林业科学) 43(12): 76-80  
Hu CC (胡嘉琪), Tsui HP (崔鸿宾), Zhang YL (张玉龙). 2005. Pollen morphology of the tribe Ruellieae (Acanthaceae) from China(国产爵床科芦荟花族植物的花粉形态) [J]. *Acta Phytot Sin* (植物分类学报) 43(2): 123-150  
Li ZY. 2003. A new species of *Opithandra* (Gesneriaceae) from Guizhou, China [J]. *Bot Bull Acad Sin* 44: 73-75  
Möller M, Forrest A, Wei YG, et al. 2011a. A molecular phylogenetic assessment of the advanced Asiatic and Malesian didymocarpoid Gesneriaceae with focus on non-monophyletic and monotypic genera [J]. *Plant Syst Evol* 292: 223-248  
Möller M, Middleton D, Nishii K, et al. 2011b. A new delineation for *Oreocharis* incorporating an additional ten genera of Chinese Gesneriaceae [J]. *Phytotax* 23: 1-36  
Wang WT (王文采). 1987. Classification specierum *Opithandra* (Gesneriaceae) (后蕊苣苔属分类) [J]. *Bull Bot Res* (植物研究) 7(2): 1-16  
Wang WT (王文采). 1992. Notulae de Gesneriaceis sinensibus (X) (中国苦苣苔科的研究(十)) [J]. *Guihaia* (广西植物), 12(4): 289-330  
Wu ZH (吴祝华), Shi JS (施季森), Xi ML (席梦利), et al. 2007. Pollen characteristics and relationships of 12 species and 6 cultivars of *Lilium* (百合种质资源花粉形态及亲缘关系研究) [J]. *J Zhejiang Fore Coll* (浙江林学院学报) 24(4): 406-412  
Xi YZ (席以珍). 1987. Pollen morphology of *Opithandra* Burt (Gesneriaceae) (后蕊苣苔属的花粉形态) [J]. *Bull Bot Res* (植物研究) 7(2): 17-23

( 上接第 563 页 Continue from page 563 )

cloning of phospholipase D gene from *Agropyron cristatum* (L) Gaertn and its bioinformatic analysis(扁穗冰草 PLD 基因 cDNA 序列克隆及生物信息学分析) [J]. *J Zhejiang Univ: Sci Edit* (浙江大学学报·理学版) 37(6): 691-699  
Song JH (宋江华), Zhang LX (张立新). 2009. Progress on the transmembrane protein in plants(植物跨膜蛋白研究进展) [J]. *J Biol* (生物学杂志) 26(6): 62-64  
Wang LX (王临旭). 2002. A new generation of anti-HIV plant protein-MAP30(新一代抗 HIV 植物蛋白-MAP30) [J]. *Infect Dis Inf* (传染病信息) 15(1): 13-15  
Wang XM. 2005. Regulatory functions of phospholipase D and

phosphatidic acid in plant growth, development, and stress responses [J]. *Plant Physiol* 139(2): 566-573  
Xu QH (徐庆华), Hu BZ (胡宝忠). 2011. Nucleotide and protein sequences analysis of csCCD7 in *Cucumis sativus* L(黄瓜 CsCCD7 基因的核酸和蛋白质序列分析) [J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报) 27(8): 172-180  
Zhu YJ (朱玉娟), Lü ZB (吕正兵), Chen Q, et al. 2009. Expression and subcellular localization of bombyx mori secreted protein acidic and rich in cysteine gene(家蚕富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白基因 BmSPARC 的表达及亚细胞定位) [J]. *Acta Sericol Sin* (蚕业科学) 35(2): 225-263