

叶绿体J蛋白研究进展

孔凡英, 邓永胜, 孟庆伟*

山东农业大学生命科学学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

摘要: J蛋白是广泛存在于细胞内的一种分子伴侣。它作为Hsp70的辅伴侣分子有着广泛而复杂的生物学功能。本文概述了J蛋白的相关概念、结构、种类、分布及其作用机制, 并重点讨论了其在叶绿体内的功能。最后对有关J蛋白研究中需要解决的问题做了展望。

关键词: 叶绿体; J蛋白; Hsp70; 分子伴侣

Research Advancement of J Proteins in Chloroplast

KONG Fan-Ying, DENG Yong-Sheng, MENG Qing-Wei*

State Key Laboratory of Crop Biology, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China

Abstract: J proteins are ubiquitous molecular chaperones in the cell and function in a myriad of biological processes as the co-chaperones of Hsp70. This review summarizes the related concepts, configuration, types, distribution, mechanism of J proteins and focuses on their functions in chloroplast. The problems remain to be determined are also prospected.

Key words: chloroplast; J protein; Hsp70; chaperone

蛋白质的空间结构是生物功能的基础, 蛋白质的折叠则是形成空间结构的过程, 蛋白质的折叠过程离不开分子伴侣的作用。研究表明分子伴侣大多为热激蛋白(heat shock protein, Hsp), 其主要的家族是Hsp110s、Hsp90s、Hsp70s、Hsp40s和其他一些小分子量的热激蛋白。Hsp40s家族中有一类蛋白质都含有一个大约70个氨基酸的J结构域, 人们称这类蛋白质为J蛋白。J蛋白最早是在*E. coli*中发现的, 分子量为41 kDa, 被命名为DnaJ蛋白。它作为Hsp70的辅伴侣分子, 促进其ATP酶活性, 帮助Hsp70完成蛋白质折叠、解折叠、向特定细胞器运输和调节蛋白复合物解聚等功能(Georgopoulos等1980; Hartl和Martin 1996; Yang 等1999)。以后在真核生物中, 包括人类、动物、植物、酵母等都发现有它的同源物, 它们都包含一个保守的J结构域。大量的研究表明J蛋白参与多种生物学过程, 在生物体的生长发育过程中发挥着重要的作用(Orme等2001)。

1 J蛋白的结构与分类

1.1 J蛋白的结构

*E. coli*的DnaJ蛋白有4个结构域: J结构域、G/F结构域、锌指结构域和羧基末端区(图1-A)。J结构域是J蛋白最重要的结构域, 是与Hsp70结合的

主要区域, 也是可以和Hsp70结合的最小单位(图1-B; Corsi和Schekman 1997)。这个结构域一般位于蛋白质的N端, 含有大约70个氨基酸, 由4个 α -螺旋组成。第2个螺旋的表面富含带正电荷的赖氨酸, 这对于Hsp70的ATP酶活性是必需的。第2个螺旋和第3个螺旋在结构上是反向平行的, 它们之间有极为保守的组氨酸、脯氨酸、天冬氨酸序列, 即HPD模块(Qian等1996)。HPD模块存在于几乎所有的J结构域, 只有极个别的例外, 如被疟原虫感染的红细胞表面抗体蛋白、*E. coli* DjIB/DjIC家族的蛋白(Kluck等2002)以及酵母的Tim16/Pam16等(Walsh等2004)。Tsai和Douglas (1996)研究表明保守的HPD模块是J蛋白和HSP70相互作用所必需的。但它是怎样与Hsp70相互作用, 如何改变Hsp70的构象, 从而改变Hsp70与底物的亲和力的具体机制还有待进一步的研究。

G/F结构域富含甘氨酸和苯丙氨酸, 是一个柔性的线性结构。除了连接相邻结构域外, G/F结构

收稿 2010-12-02 修定 2011-01-06

资助 国家重点基础研究发展计划(2009CB118505)和国家自然科学基金(30871458, 31071338)。

* 通讯作者(E-mail: qwmeng@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8249606)。

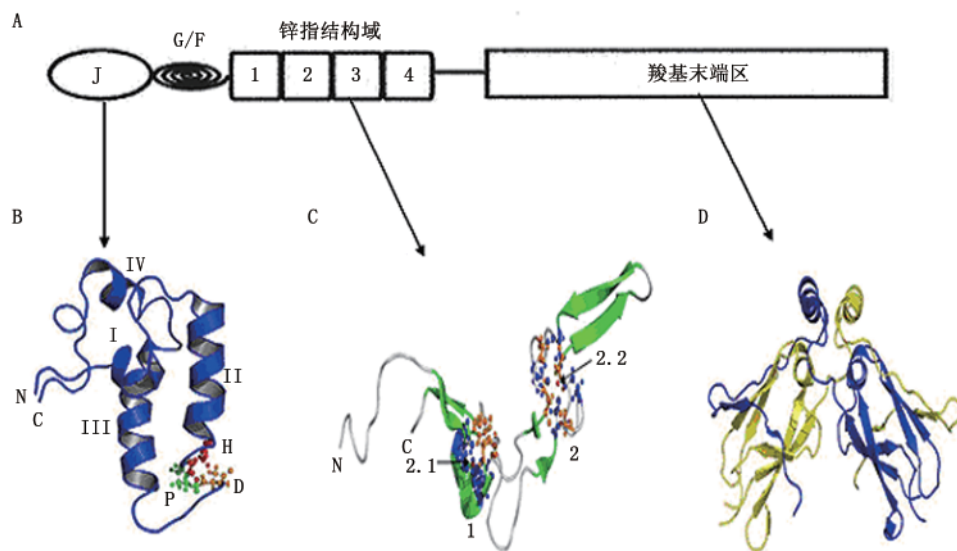


图1 J蛋白的结构

Fig.1 Structure of J proteins

A: DnaJ蛋白的4个结构域; B: J结构域的三维结构; C: 锌指结构域的三维结构; D: 羧基末端区的三维结构。改自Hennessy等(2005)。

域的功能目前还不清楚。有人认为它能稳定J蛋白和Hsp70之间的作用,并能保证两者互作的位置正确(Cheetham和Caplan 1998)。也有研究表明它可能影响J蛋白分子功能的特异性(Craig等2006; Szyperski等1996)。但Sahi和Craig (2007)证明该区域氨基酸的缺失不会影响J蛋白在体外的作用。

锌指结构域最典型的特征是有4个 $C_{xx}C_xG_xG$ 重复模块,该结构域被分为两簇,每簇都能和Zn离子作用(图1-C; Martinez-Yamout等2000)。锌指结构域既能与DNA、RNA相互作用,也能与蛋白质相互作用,这就使它能与各种各样的底物作用,进一步决定了J蛋白功能的多样性。花椰菜叶绿体定位的OR蛋白是一个含有锌指结构域的J蛋白,它能介导 β 胡萝卜素的大量积累(Lu等2006)。烟草Tsip1也是含有锌指结构域的J蛋白, GFP定位显示它位于叶绿体表面,但用水杨酸处理后它能从叶绿体表面分离,与Tsi类转录因子共定位于细胞核,并可以直接与Tsi相互作用,增强其介导的转录活性,在生物及非生物胁迫信号转导中起重要作用(Ham等2006)。

羧基末端区是J蛋白氨基酸序列最不保守的区域,被认为在J蛋白和Hsp70作用的特异性方面有重要作用(图1-D; Shi等2005)。尽管其氨基酸序列保守性低,羧基末端区三维结构却都类似,大都

包含两个 β 折叠,中间是短的 α -螺旋和对二聚化起重要作用的短序列。羧基末端区的二聚化作用能增强J蛋白与底物的亲和力,对J蛋白的功能有很大作用。事实上,大部分J蛋白都是以二聚体或四聚体的形式起作用的(Goffin和Georgopoulos 1998; Lu和Cyr 1998; Li等2003)。大量酵母双杂交实验证明羧基末端区还能够直接与底物作用。拟南芥的J3蛋白可以通过羧基末端区直接与PKS5作用,抑制其激酶活性,从而促进质膜 H^+ -ATPase活性(Yang等2010)。

另外, J蛋白除了具有以上4种常见的结构域外,还可能存在其他的结构域,如二硫化物异构酶结构域(PDI)、铁氧还原结构域、CAQQ基序、Coiled-coil结构域等。哺乳动物的ERdj5和JPD1具有PDI结构域,可以促进内质网蛋白形成正确的二硫键(Cunnea等2003; Hosoda等2003)。水稻中发现的一种J蛋白也含有该结构域,该J蛋白能显著提高水稻雄性配子体的稳定性(Yang等2009)。在衣藻叶绿体中发现的含有铁氧还原结构域的3种J蛋白(CDJ3、CDJ4、CDJ5)可能具有氧化还原开关的作用(Dorn等2010)。CAQQ基序是一种法尼基化信号,有助于蛋白质与膜的互作。MSJ1的C末端具有CAQQ基序,能够调节细胞周期(Frugis等1999)。

1.2 J蛋白的分类

J蛋白家族极大且多样, 对其进行适当的分类极具挑战性。人们曾用多种方法对其分类, 其中最为常见的是根据其结构将J蛋白分为三类(Cheetham和Caplan 1998)。I类型J蛋白具有全部4种常见的结构域: J结构域、G/F结构域、锌指结构域和羧基末端区(图2-A)。II类型J蛋白没有锌指结构域(图2-B)。III类型J蛋白只有J结构域(图2-C)。随着人们对J蛋白研究的深入, 这种分类方法已不能满足人们的需要。IV类型J蛋白也被发现, 它的J结构域没有HPD模块, 被称为J-like蛋白, 如拟南芥JLP2 (J-like protein 2)的HPD模块被组氨酸、缬氨酸、天冬氨酸(HVD)所取代(Walsh等2004; Peng等2005)。

2 J蛋白在植物细胞中的分布

Hsp70在细胞中的作用是极其广泛的, 它参与了新生肽的正确折叠、蛋白质正确构象的维持、蛋白质降解、蛋白质跨膜运输、蛋白复合体的聚合和解聚等过程。但Hsp70的种类却是极其有限的, 拟南芥中已发现的Hsp70仅有14个, 其中两个定位于叶绿体基质(Ratnayake等2008; Su和Li 2008)。有限的Hsp70是如何完成其复杂功能的呢? 现在大部分人都认为是J蛋白推动了Hsp70功能的多样化。这不仅仅与J蛋白多样化的结构有关, 而且与J蛋白广泛地分布也密切相关。Qiu等(2006)认为J蛋白的功能依赖于其亚细胞定位。

在植物细胞内, J蛋白广泛分布于细胞质、叶

绿体、线粒体、内质网等各种细胞器。在拟南芥中发现的120个J蛋白中, 50个定位在细胞质, 19个在线粒体, 12个在叶绿体, 9个在内质网, 3个位于细胞骨架, 1个位于质膜上, 24个在细胞核里, 2个在液泡里。定位于叶绿体的12个J蛋白又分别位于类囊体膜和叶绿体基质, 如AtDjA5、AtDjA6和AtDjA7位于叶绿体类囊体膜上, 而AtDjC25、AtDjC26和AtDjC29位于叶绿体基质中(Miernyk 2001; Orme等2001; Zybailov等2008)。

3 J蛋白的作用机制

J蛋白是Hsp70在体内作用必需的辅助因子, 这是由Hsp70本身的结构特点决定的。Hsp70包含3个结构域: ATPase活性区、多肽结合区、C端多变区(图3-A)。ATPase活性区可以和ATP结合, 也可以和ADP结合。因此Hsp70具有两种状态: ATP结合状态(ATP-Hsp70)和ADP结合状态(ADP-Hsp70)。前者具有低的底物亲和力, 后者具有高的底物亲和力(Rudigger等1997; Mayer和Bukau 2005)。但Hsp70自身的ATPase活性是很低的, 促使Hsp70在两种状态间转变的是J蛋白(图3-B; Laufen等1999)。J蛋白通过J结构域与Hsp70的ATPase活性区作用, 增强其ATPase活性, 使ATP水解为ADP, Hsp70由ATP结合状态转变为ADP结合状态。这种改变引起Hsp70多肽结合区构象的变化, 使其具有高的底物亲和力。

由于J蛋白结构的多样性, 在与Hsp70作用时又表现出不同的作用方式(Kampinga 和Craig

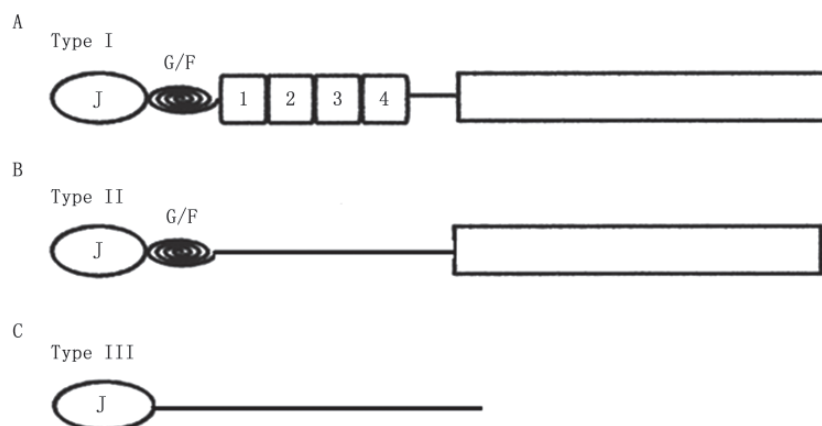


图2 J蛋白的分类

Fig.2 Types of J proteins

A: I类型J蛋白结构; B: II类型J蛋白结构; C: III类型J蛋白结构。

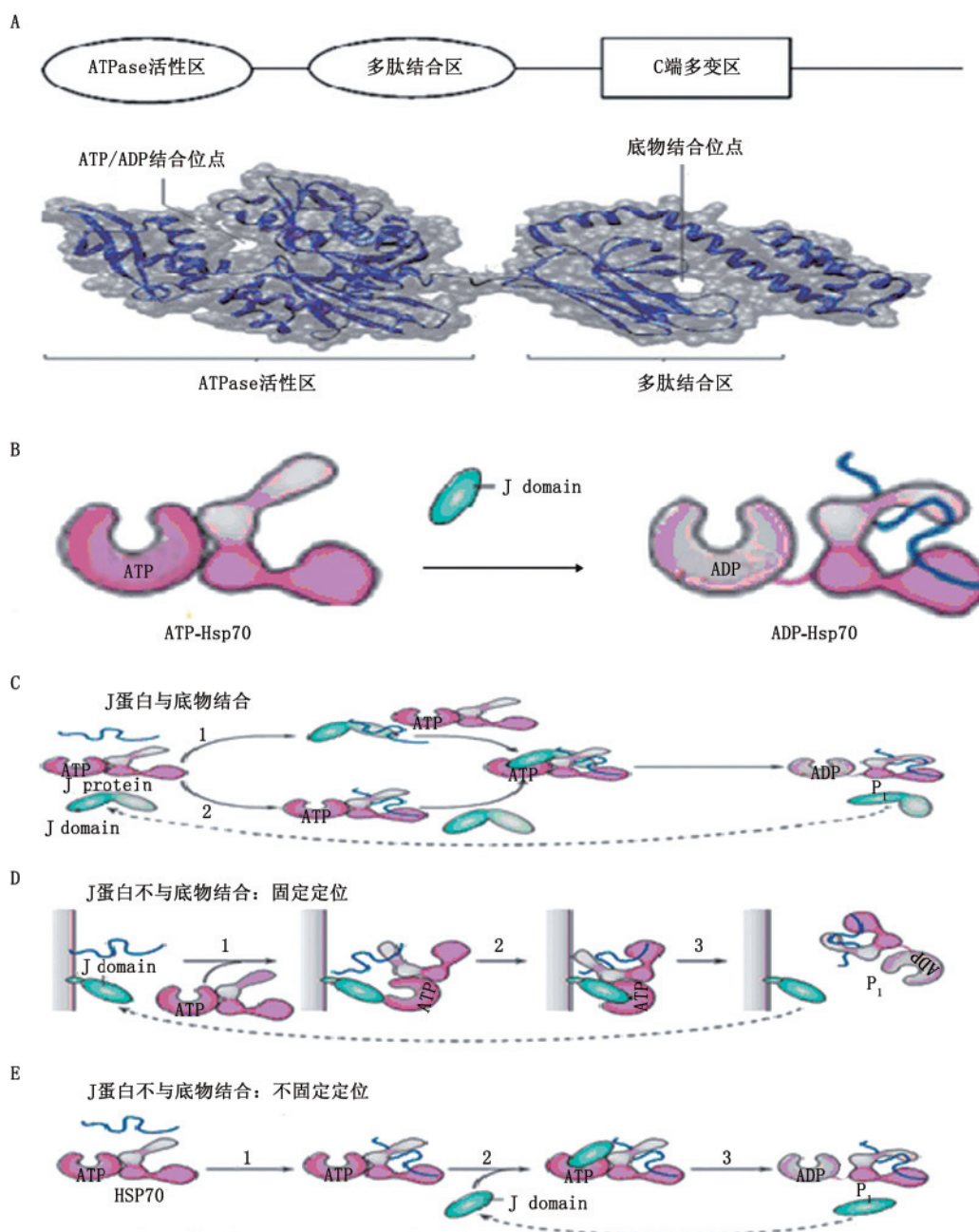


图3 J蛋白的作用机制

Fig.3 Mechanism of J proteins

A: Hsp70的结构; B: Hsp70两种状态间的转换; C~E: J蛋白的3种作用方式。改自Kampinga和Craig (2010)。

2010)。有的J蛋白可以直接和底物结合,防止底物聚合,并把底物传送给Hsp70,再通过J结构域激活Hsp70的ATPase (图3-C)。ERdj3是位于内质网腔内的一种含有多肽结合区的J蛋白,它可以直接和底物结合。因此,即使没有J结构域,它依然可以与新生肽结合,并帮助新生肽正确折叠,完成分泌过

程(Shen和Hendershot 2005)。除了帮助蛋白质折叠外,J蛋白还能够调节蛋白质聚合或解聚。HsDnaJB6和HsDnaJB8都含有富含丝氨酸的SSF-SST结构域,该结构域可以和蛋白底物相互作用,促进蛋白质解聚。与其他J蛋白不同的是它们作用时不是以二聚体的形式,而是形成大小不一的复合

体。SSF-SST结构域在这种复合体的形成过程中起作用。另外,SSF-SST结构域还可以和组氨酸脱乙酰基酶相互作用(Hageman等2010)。但是底物蛋白是如何与SSF-SST结构域相互作用的还有待进一步的研究。

有的J蛋白不能与底物结合,但依然具有非常重要的作用,它们又是如何发挥其作用的呢?它们的作用机制可以细分为两种情况:J蛋白固定定位(图3-D)和不固定定位(图3-E)。J蛋白固定地定位于细胞内某部位可以大大提高该区域的J蛋白浓度,而此区域一般也是底物蛋白富集的区域。高浓度的J蛋白对Hsp70有“征募”的作用,从而使Hsp70集中到该区域与底物蛋白作用,而不需要J蛋白与底物蛋白直接作用。目前已经发现很多J蛋白都以这种方式作用。例如:位于内质网膜上的scHlj1可以“征募”细胞质内的HSP70帮助内质网内蛋白质降解(Nakatsukasa等2008)。位于线粒体内膜上的scPam18可以“征募”线粒体Hsp70帮助细胞质中的多肽进入线粒体基质(Otto等2005)。

值得关注的是许多J蛋白既没有底物结合区,也没有固定的定位区间,同样能在细胞内起到非常重要的作用。比如scYdj1是酵母细胞质中最为丰富的I类型J蛋白,该蛋白缺失后可被J结构域部分回补(Higurashi等2008)。为什么单独的J结构域就能恢复完整蛋白缺失后的表型呢?有人认为可能是在胞质Hsp70促进蛋白质折叠过程中,只需要J蛋白的J结构域促进Hsp70的ATPase活性,而不需要J蛋白与底物蛋白直接作用。

4 研究J蛋白的常用技术

随着 χ 射线晶体衍射、核磁共振、电子晶体衍射等技术的发展,J蛋白空间结构的研究取得了很大的进展;人们常用过表达、RNAi、基因突变、反义抑制等功能基因组学研究手段研究J蛋白的生理功能。如利用基因敲除技术可以建立J蛋白基因缺失的生物模型,从而进行相关研究。利用基因芯片、半定量PCR、荧光定量PCR、Northern杂交等技术可以研究J蛋白在转录水平上表达的差异。蛋白质芯片、二维凝胶电泳、Western杂交等技术则可用于J蛋白在翻译水平上表达差异的检测。生物体内的过程通常是多种蛋白质以复合体的形式共同作用的过程,采用温和凝胶电泳系统

(BN-PAGE)可以有效地分离蛋白质复合物,利用免疫印记对蛋白质复合物进行初步鉴定,从而研究J蛋白在调节蛋白复合体的聚合和解聚等方面的作用。生物过程还是一个多酶促反应过程,通过对相关酶活性的检测有助于我们了解J蛋白对于这些酶活性的影响。蛋白质互作研究方法(如免疫共沉淀、酵母双杂交)的发展为我们研究与J蛋白互作的蛋白质提供了便利。J蛋白除了与Hsp70作用外,还与哪些蛋白质存在互作?具有怎样结构的J蛋白能够结合底物?它们与底物结合时又具有怎样的特异性等都是值得我们思考的问题。另外,体外分子伴侣活性检测也是研究J蛋白功能的常见方法。在体外,通过控制温度、pH、ATP含量等条件研究其对酶活性或蛋白复合体的影响。

5 J蛋白在叶绿体中的作用

叶绿体是绿色植物光合作用的主要场所,其内的许多生命过程都可能需要J蛋白及Hsp70的参与。例如叶绿体的分裂,核编码的叶绿体蛋白向叶绿体内转运,叶绿体基因编码蛋白质新生肽的正确折叠,叶绿体内的蛋白复合体如PSI、PSII的聚合和解聚,氧化胁迫后损伤蛋白的修复和降解等。目前叶绿体中功能已知的J蛋白主要集中在拟南芥、衣藻等模式生物中(表1)。J蛋白在叶绿体发育、光合作用、蛋白转运、逆境响应4个方面作用的研究取得了一定的进展。

5.1 叶绿体发育

叶绿体的正常发育是高等植物进行光合作用的前提条件。叶绿体的发育过程需要核基因组和叶绿体基因组编码的蛋白质的共同参与,其中包括种类繁多的J蛋白。迄今,已经从多种植物如拟南芥、衣藻和豌豆中分离出叶绿体发育不同阶段受阻的J蛋白突变体。在拟南芥中,ARC6是定位于叶绿体膜上的III型J蛋白,参与质体分裂过程(Vitha等2003)。该基因突变导致叶绿体不能正常分裂,每个细胞中只有一个或两个很大的叶绿体。另外,正常植株叶绿体的质体分裂蛋白(FtsZ)微丝结构是环状,而突变体则不存在环状结构,只有遍布整个细胞的FtsZ微丝碎片,由此推测ARC6可能对FtsZ环的组装和稳定起作用。CYO1和SCO2都是拟南芥定位于叶绿体的含有锌指结构域的J蛋白,它们都专一地影响子叶的叶绿体发育。不同的是,

表1 叶绿体中功能已知的J蛋白
Table 1 The function-known J proteins in chloroplast

来源	名称	类型	作用	作用结构域	参考文献
拟南芥	ARC6	III	FtsZ复合体聚合	J结构域	Vitha等2003
拟南芥	CYO1	I	子叶叶绿体发育	锌指结构域	Shimada等2007
拟南芥	SCO2	I	子叶叶绿体发育	锌指结构域	Albrecht等2008
拟南芥	J8/11/20	III	光合, 逆境	J结构域	Chen等2010
衣藻	CDJ2	I	类囊体膜生物合成	J结构域	Liu等2007
衣藻	CDJ3/4/5	I	氧化还原开关	铁氧还原结构域	Dorn等2010
烟草	TsiP	I	与Tsi互作, 胁迫响应	锌指结构域	Ham等2006
花椰菜	OR	I	β胡萝卜素积累	锌指结构域	Lu等2006

前者突变体在光下生长时子叶白化, 叶绿体小且形状不正常, 但白色体在黑暗中生长正常; 后者突变体在光下生长正常, 但在黑暗处生长时子叶白化, 且连续5 d以上的黑暗对于突变体是致死的(Shimada等2007; Albrecht等2008)。拟南芥基质Hsp70也是叶绿体发育所必须的。其T-DNA插入突变体具有杂色子叶、畸形成叶、生长迟等性状。RNAi获得的植株白化, 矮小, 其叶绿体形态也不正常, 只含有极少或根本不含有类囊体膜(Lati-jhouwers等2010)。

叶绿体类囊体膜是植物光合作用的主要场所。研究表明, J蛋白参与类囊体膜的生物合成。VIPP1 (vesicle-inducing protein in plastids 1)是质体内的囊泡诱导蛋白, 参与类囊体膜的生物合成。它在低浓度的膜、类囊体和基质中都有发现。2005年, Liu等发现衣藻叶绿体定位的III型J蛋白CDJ2与Hsp70B和VIPP1存在相互作用。2007年, 他们又通过体外分子伴侣试验和电镜观察等方法证明HSP70B-CDJ2-CGE1复合体可以调节VIPP1寡聚物的聚合和解聚(Liu等2007)。

5.2 光合作用

早在1999年德国的Schroda等发现衣藻叶绿体定位的Hsp70参与光保护及光抑制后PSII的修复。衣藻细胞经16 h黑暗处理后, 如果经过1.5 h弱光适应再置于强光下要比直接置于强光下的生长状态好得多, 并且1.5 h弱光适应过程中Hsp70大量积累。同时, 过表达Hsp70的衣藻在强光下的光抑制程度明显低于野生型, 随后也能更快恢复。2010年Chen等发现拟南芥叶绿体定位的III型J蛋白J8、J11、J20可以促进光合作用。它们的突变体光合作用下降, Rubisco酶活性下降, PSII复合体的稳定

性也下降, 说明J蛋白参与Rubisco酶活性及PSII复合体的聚合和解聚的调节。

5.3 蛋白转运

大部分叶绿体蛋白都是由核基因编码, 在细胞质内合成含有N端信号肽的前体, 然后经过叶绿体膜上的转运复合体跨膜转运至叶绿体的。迄今, 多种转运复合体的组分被鉴定出来, 如Toc159 (translocon of the outer envelope membrane of chloroplast 159 kDa)和Toc34是蛋白质前体的最初受体; Toc75是位于叶绿体外膜上的蛋白通道, Tic110 (translocon of the inner envelope membrane of chloroplast 110 kDa)是叶绿体内膜上的蛋白通道, 也是基质端的蛋白受体, 并可以集合基质中的其他转运蛋白(Balsera等2009)。Toc12是在豌豆中发现的只含有J结构域的J蛋白, 与拟南芥中J8同源(Chiu等2010)。Toc12可以和imsHsp70 (intermembrane space heat shock protein70)相互作用, 并最终与Toc12-imsHsp70-Toc64-Tic22复合体的形式介导蛋白质跨膜(Becker等2004; Qbadou等2007; Chiu等2010)。通过体外结合试验, Ivey等(2000)发现RuBP小亚基转运肽可以和cpHsc70 (chloroplast heat shock cognate protein 70 kDa)相互作用。cpHsc70位于叶绿体基质中, 被认为参与蛋白质前体向叶绿体中的转运(Shi和Theg 2009)。2010年, 通过突变体试验也证明了这一结论(Su和Li等2010)。cpHsc70-1和cpHsc70-1这2个基因的突变影响了早期蛋白质向膜内转运的过程, 蛋白质前体不能正确跨膜。而且, 在溶解的膜中发现了cpHsc70-蛋白质前体-Hsp93-Tic110复合体。他们提出了cpHsc70、Hsp93/Tic40两系统在蛋白质向叶绿体转运过程中可能的两种关系: 一种是二者作为一个复

合体共同起作用, cpHsc70系统负责帮助Hsp93/Tic40系统正确装配; 第二种是两系统的作用是平行的, 可单独或同时与蛋白前体作用。

5.4 逆境响应

逆境胁迫是目前农业生产面临的严峻问题之一, 影响作物生长发育, 导致产量和品质降低。植物即使生长在适宜条件下, 在进行呼吸和光合电子传递时也会产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)。盐渍、干旱、极端温度、臭氧等非生物胁迫均可以导致ROS大量产生, 若未及时清除, ROS便会攻击蛋白质、核酸、脂类等生物大分子引起氧化损伤, 进而导致细胞及组织死亡。植物叶绿体是ROS产生的主要部位之一, 环境胁迫下叶绿体内产生的ROS的快速清除有助于保护光合机构, 维持植物光合功能。植物在长期进化过程中产生了各种适应环境的机制, 其中包括Hsp70-J蛋白分子伴侣系统。J蛋白作为一种分子伴侣, 能协助Hsp70促进逆境条件下失活蛋白质的再折叠, 或维持多肽链的稳定, 防止其聚沉, 或维持蛋白复合体的稳定(Wang等2004)。拟南芥叶绿体定位的小DnaJ蛋白可以促进光合作用, 提高抗氧化胁迫能力。J蛋白基因的突变使叶绿体内抗ROS基因表达上调, 且叶片总蛋白的氧化水平降低(Chen等2010)。Rajan和D'Silva (2009)认为J蛋白是细胞内胁迫的感应者。在逆境如MV、H₂O₂、强光、低温等条件下, J蛋白会大量表达(Piippo等2006; Scarpeci等2008)。我们从番茄在冷诱导条件下的差异表达cDNA消减文库中克隆到了3个在低温条件下表达上调的J蛋白基因, 它们都含有典型的J结构域。

6 展望

J蛋白的结构与功能关系的研究取得了很大的进展, 但还有许多问题值得进一步探讨。光合作用是叶绿体内最主要的生物过程, 但关于J蛋白对于光合作用影响的报道并不多, 还存在一系列的问题尚待阐明, 如J蛋白对光合相关蛋白复合体稳定性的影响, J蛋白对于维持胁迫条件下蛋白质构象稳定的作用, 以及J蛋白对于光合过程所需的酶(如Rubisco)的活性的影响等。开展叶绿体J蛋白在光合、逆境等方面的作用及其互作蛋白的研究无疑具有重要的意义。

参考文献

- Albrecht V, Ingenfekl A, Apel K (2008). *Snowy cotyledon 2*: the identification of a zinc finger domain protein essential for chloroplast development in cotyledons but not in true leaves. *Plant Mol Biol*, 66: 599~608
- Balsera M, Goetze TA, Kovacs-Bogdan E, Schurmann P, Wagner R, Buchanan BB, Soll J, Bolter B (2009). Characterization of Tic110, a channel-forming protein at the inner envelope membrane of chloroplasts, unveils a response to Ca²⁺ and a stromal regulatory disulfide bridge. *J Biol Chem*, 284: 2603~2616
- Becker T, Hritz J, Vogel M, Caliebe A, Bukau B, Soll J, Schleiff E (2004). Toc12, a novel subunit of the intermembrane space pre-protein translocon of chloroplasts. *Mol Biol Cell*, 15: 5130~5144
- Cheetham ME, Caplan AJ (1998). Structure, function and evolution of DnaJ: conservation and adaptation of chaperone function. *Cell Stress Chaperones*, 3: 28~36
- Chen KN, Holmstrom M, Raksajit W, Suorsa M, Piippo M, Aro EM (2010). Small chloroplast-targeted DnaJ proteins are involved in optimization of photosynthetic reactions in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol*, 10: 43
- Chiu CC, Chen LJ, Li HM (2010). Pea chloroplast DnaJ-J8 and Toc12 are encoded by the same gene and localized in the stroma. *Plant Physiol*, 12: 123~139
- Corsi AK, Schekman R (1997). The luminal domain of Sec63p stimulates the ATPase activity of BiP and mediates BiP recruitment to the translocon in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol*, 137: 1483~1493
- Craig EA, Huang P, Aron R, Andrew A (2006). The diverse roles of J-proteins, the obligate Hsp70 co-chaperone. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 156: 1~21
- Cunnea PM, Miranda-Vizuete A, Bertoli G, Simmen T, Damdimopoulos AE, Hermann S, Leinonen S, Huikko MP, Gustafsson JA, Sittia R, Spyrou G (2003). ERdj5, an endoplasmic reticulum (ER)-resident protein containing DnaJ and thioredoxin domains, is expressed in secretory cells or following ER stress. *J Biol Chem*, 278: 1059~1066
- Dorn KV, Willmund F, Schwarz C, Henselmann C, Pohl T, Hess B, Veyel D, Usadel B, Friedrich T, Nickelsen J, Schroda M (2010). Chloroplast DnaJ-like proteins 3 and 4 (CDJ3/4) from *Chlamydomonas reinhardtii* contain redox-active Fe-S clusters and interact with stromal HSP70B. *Biochem J*, 427: 205~215
- Frugis G, Mele G, Giannino D, Mariotti D (1999). MsJ1, an alfalfa DnaJ-like gene, is tissue-specific and transcriptionally regulated during cell cycle. *Plant Mol Biol*, 40: 397~408
- Georgopoulos CP, Lundquist-Heil A, Yochem J, Feiss M (1980). Identification of the *E. coli* DnaJ gene product. *Mol Gen Genet*, 178: 583~588
- Goffin L, Georgopoulos C (1998). Genetic and biochemical characterization of mutations affecting the carboxy-terminal domain of the *Escherichia coli* molecular chaperone DnaJ. *Mol Microbiol*, 30: 329~340
- Hageman J, Ruano MA, Van Waarde MA, Kakkar V, Dirks RP, Govorukhina N, Oosterveld HM, Lubsen NH, Kampinga HH (2010).

- A DNAJB chaperone subfamily with HDAC-dependent activities suppresses toxic protein aggregation. *Mol Cell*, 37: 355~369
- Ham BK, Park JM, Lee SB, Kim MJ, Lee IJ, Kim KJ, Kwon CS, Paek KH (2006). Tobacco Tsip1, a DnaJ-type Zn finger protein, is recruited to and potentiates Tsi1-mediated transcriptional activation. *Plant Cell*, 18: 2005~2020
- Hartl FU, Martin J (1996). Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nat Rev*, 381: 571~579
- Hennessy F, Nicoll WS, Zimmermann R, Cheetham ME, Blatch GL (2005). Not all J domains are created equal: implications for the specificity of Hsp40-Hsp70 interactions. *Protein Sci*, 14: 1697~1709
- Higurashi T, Hines JK, Sahi C, Aron R, Craig EA (2008). Specificity of the J-protein Sis1 in the propagation of 3 yeast prions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 16596~16601
- Hosoda A, Kimata Y, Tsuru A, Kohno K (2003). JPDI, a novel endoplasmic reticulum resident protein containing both a BiP-interacting J domain and thioredoxin-like motifs. *J Biol Chem*, 278: 2669~2676
- Ivey III RA, Subramanian C, Bruce BD (2000). Identification of a Hsp70 recognition domain within the Rubisco small subunit transit peptide. *Plant Physiol*, 122: 1289~1299
- Kampinga HH, Craig EA (2010). The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity. *Nat Rev*, 11: 579~592
- Kluck CJ, Patzelt H, Genevaux P, Brehmer D, Rist W, Schneider-Mergener J, Bukau B, Mayer MP (2002). Structure-function analysis of HscC, the *Escherichia coli* member of a novel subfamily of specialized Hsp70 chaperones. *J Biol Chem*, 277: 41060~41069
- Latijhouwers M, Xu XM, Moller SG (2010). *Arabidopsis* stromal 70-kDa heat shock proteins are essential for chloroplast development. *Planta*, 232: 567~578
- Laufen T, Mayer MP, Beisel C, Klosterweier D, Mogk A, Reinstein J, Bukau B (1999). Mechanism of regulation of Hsp70 chaperones by DnaJ cochaperones. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 5452~5457
- Li JZ, Qian XG, Sha BD (2003). The crystal structure of the yeast Hsp40 Ydj1 complexed with its peptide substrate. *Structure*, 11: 1475~1483
- Liu CM, Willmund F, Golecki JR, Cacace S, Hess B, Markert C, Schroda M (2007). The chloroplast HSP70B-CDJ2-CGE1 chaperones catalyze assembly and disassembly of VIPP1 oligomers in *Chlamydomonas*. *Plant J*, 50: 265~277
- Liu CM, Willmund F, Whitelegge JP, Hawat S, Knapp B, Lodha M, Schroda M (2005). J-Domain protein CDJ2 and HSP70B are a plastidic chaperone pair that interacts with vesicle-inducing protein in plastids 1. *Mol Biol Cell*, 16: 1165~1177
- Lu S, Eck JV, Zhou XJ, Lopez AB, O'Halloran DM, Cosman KM, Conlin BJ, Paolillo DJ, Garvin DF, Vrebalov J et al (2006). The cauliflower *Or* gene encodes a DnaJ cysteine-rich-domain-containing protein that mediates high levels of β -carotene accumulation. *Plant Cell*, 18: 3594~3605
- Lu Z, Cyr DM (1998). The conserved carboxyl terminus and zinc finger-like domain of the co-chaperone Ydj1 assist Hsp70 in protein folding. *J Biol Chem*, 273: 5970~5978
- Martinez-Yamout M, Legge GB, Zhang OW, Wright PE, Dyson HJ (2000). Solution structure of the cysteine-rich domain of the *Escherichia coli* chaperone protein DnaJ. *J Mol Biol*, 300: 805~818
- Mayer MP, Bukau B (2005). Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell Mol Life Sci*, 62: 670~684
- Miernyk JA (2001). The J-domain proteins of *Arabidopsis thaliana*: an unexpectedly large and diverse family of chaperones. *Cell Stress Chaperones*, 6: 209~218
- Nakatsukasa K, Huyer G, Michaelis S, Brodsky JL (2008). Dissecting the ER-associated degradation of a misfolded polytopic membrane protein. *Cell*, 132: 101~112
- Orme W, Walker AR, Gupta R, Gray JC (2001). A novel plastid-targeted J-domain protein in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 148: 357~396
- Otto H, Conz C, Maier P, Wolfle T, Suzuki C, Jenö P, Rucknagel P, Stahl J, Rospert S (2005). The chaperones MPP11 and Hsp70L1 form the mammalian ribosome associated complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 10064~10069
- Peng JB, Huang CH, Short MK, Jubinsky PT (2005). Magmas gene structure and evolution. *In Silico Biol*, 5: 251~263
- Piippo M, Allahverdiyeva Y, Paakkari V, Suoranta UM, Batchikova N, Aro EM (2006). Chloroplast-mediated regulation of nuclear genes in *Arabidopsis thaliana* in the absence of light stress. *Physiol Genomics*, 25: 142~152
- Qbadou S, Becker T, Bionda T, Reger K, Ruprecht M, Soll J, Schleiff E (2007). Toc64—a preprotein receptor at the outer membrane with a bipartite function. *J Mol Biol*, 367: 1330~1346
- Qian YQ, Patel D, Hartl FU, McColl DJ (1996). Nucleic magnetic resonance solution structure of the human Hsp40 (HDJ-1) J domain. *J Mol Biol*, 260: 224~235
- Qiu XB, Shao YM, Miao S, Wang L (2006). The diversity of the DnaJ/Hsp40 family, the crucial partners for Hsp70 chaperones. *Cell Mol Life Sci*, 63: 2560~2570
- Rajan VB, D'Silva P (2009). *Arabidopsis thaliana* J-class heat shock proteins: cellular stress sensors. *Funct Integr Genomics*, 9: 433~446
- Ratnayake RMU, Inoue H, Nonami H, Akita M (2008). Alternative processing of *Arabidopsis* Hsp70 precursors during protein import into chloroplasts. *Biosci Biotechnol Biochem*, 72: 2926~2935
- Rudiger S, Germeroth L, Schneider-Mergener J, Bukau B (1997). Substrate specificity of the DnaK chaperone determined by screening cellulose-bound peptide libraries. *EMBO J*, 16: 1501~1507
- Sahi C, Craig EA (2007). Network of general and specialty J protein chaperones of the yeast cytosol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 7163~7168
- Scarpeci TE, Zanol MI, Carrillo N, Mueller-Roeber B, Valle EM (2008). Generation of superoxide anion in chloroplasts of *Arabidopsis thaliana* during active photosynthesis: a focus on rapidly induced genes. *Plant Mol Biol*, 66: 361~378
- Schroda M, Vallon O, Wollman FA, Beck CF (1999). A chloroplast-targeted heat shock protein 70 (HSP70) contributes to the photo-protection and repair of photosystem II during and after photoin-

- hibition. *Plant Cell*, 11: 1165~1178
- Shen Y, Hendershot LM (2005). ERdj3, a stress-inducible endoplasmic reticulum DnaJ homologue, serves as a cofactor for BiP's interactions with unfolded substrates. *Mol Biol Cell*, 16: 40~50
- Shi LX, Theg SM (2009). A stromal heat shock protein 70 system functions in protein import into chloroplasts in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell*, 21: 205~220
- Shi YY, Hong XG, Wang CC (2005). The C-terminal (331~376) sequence of *Escherichia coli* DnaJ is essential for dimerization and chaperone activity: a small angle X-ray scattering study in solution. *J Biol Chem*, 280: 22761~22768
- Shimada H, Mochizuki M, Ogura K, Froehlich JE, Osteryoung KW, Shirano Y, Shibata D, Masuda S, Mori K, Takamiya KI (2007). *Arabidopsis* cotyledon-specific chloroplast biogenesis factor CYO1 is a protein disulfide isomerase. *Plant Cell*, 19: 3157~3169
- Su PH, Li HM (2008). *Arabidopsis* stromal 70-kD heat shock proteins are essential for plant development and important for thermotolerance of germinating seeds. *Plant Physiol*, 146: 1231~1241
- Su PH, Li HM (2010). Stromal Hsp70 is important for protein translocation into pea and *Arabidopsis* chloroplasts. *Plant Cell*, 22: 1516~1531
- Szyperski T, Pellicchia M, Wall D, Georgopoulos C, Wuthrich K (1996). NMR structure of the J-domain and the Gly/Phe-rich region of the *Escherichia coli* DnaJ chaperone. *J Mol Biol*, 260: 236~250
- Tsai J, Douglas MG (1996). A conserved HPD sequence of the J-domain is necessary for YDJ1 stimulation of Hsp70 ATPase activity at a site distinct from substrate binding. *J Biol Chem*, 271: 9347~9354
- Vitha S, Froehlich JE, Koksharova O, Pyke KA, Erp HV, Osteryoung KW (2003). ARC6 is a J-domain plastid division protein and an evolutionary descendant of the cyanobacterial cell division protein Ftn2. *Plant Cell*, 15: 1918~1933
- Walsh P, Bursac D, Law YC, Cyr D, Lithgow T (2004). The J-protein family: modulating protein assembly, disassembly and translocation. *EMBO Rep*, 5: 567~571
- Wang WX, Vinocur B, Shoseyov O, Altman A (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends Plant Sci*, 9: 244~252
- Yang KZ, Xia C, Liu XL, Dou XY, Wang W, Chen LQ, Zhang XQ, Xie LF, He L, Ma X, Ye D (2009). A mutation in THERMOSENSITIVE MALE STERILE 1, encoding a heat shock protein with DnaJ and PDI domains, leads to thermosensitive gametophytic male sterility in *Arabidopsis*. *Plant J*, 57: 870~882
- Yang YQ, Qin YX, Xie CG, Zhao FY, Zhao JF, Liu DF, Chen SY, Fuglsang AT, Palmegren MG, Schumaker KS, Deng XW, Guo Y (2010). The *Arabidopsis* chaperone J3 regulates the plasma membrane H⁺-ATPase through interaction with the PKS5 kinase. *Plant Cell*, 22: 1313~1332
- Zybailov B, Rutschow H, Friso G, Rudella A, Emanuelsson O, Sun Q, van Wijk KJ (2008). Sorting signals, N-terminal modifications and abundance of the chloroplast proteome. *PLoS ONE*, 3: e1994