

低温胁迫下钙处理对茄子幼苗蛋白质含量及特异蛋白表达的影响

王凤华¹, 高伟娜², 林德清³

(1. 河南科技大学林学院, 河南 洛阳 471003; 2. 河南科技大学医学技术与工程学院, 河南 洛阳 471003;

3. 西南大学园艺学院, 重庆 400716)

摘要: 试验表明, 4℃低温胁迫下, 墨茄和紫星茄的可溶性蛋白质和热稳定蛋白质含量随胁迫时间的延长呈下降趋势, 钙处理可减缓下降幅度。SDS—PAGE 电泳结果显示, 低温胁迫下, 钙可诱导特异性蛋白的表达, 其中, 墨茄出现分子量为 25kD、111kD、118kD 的 3 种特异蛋白, 紫星茄出现分子量为 118kD 和 111kD 的 2 种特异蛋白。

关键词: 茄子; 钙; 低温胁迫; 蛋白质; 特异蛋白

中图分类号: S641.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004—3268(2006)06—0086—03

Effects of Ca^{2+} on Protein Content and Specific Protein of Eggplant Seedling under Chilling Stress

WANG Feng-hua¹, GAO Wei-na², LIN De-qing³

(1. College of Forestry, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China;

2. School of Medical Technology and Engineering, Henan University of Science and Technology,

Luoyang 471003, China; 3. College of Horticulture, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: Effects of Ca^{2+} concentration on protein content and specific proteins of eggplant (“Zixingqie” and “Moqie”) under 4℃ chilling stress were studied. The results showed as the follows: the contents of soluble protein and heat-stable protein declined with increased stress duration; calcium could postpone the decline. SDS—PAGE electrophoresis indicated that calcium could induce specific proteins expression. Totally there were 3 specific proteins expressed in “Moqie”, the molecular weights were 118kD, 111kD and 25kD, respectively; 2 specific proteins expressed in “Zixingqie” and the molecular weights were 111kD and 118kD respectively.

Key words: Eggplant; Calcium; Chilling stress; Protein; Specific protein

CaM (钙调素)是目前已知的胞内 Ca^{2+} 信号受体中最重要的一种, 它参与多种生理活动的调节。在热激研究领域, 有人提出 Ca^{2+} ·CaM 系统可能参与转录水平和蛋白水平的调节^[1~3]。在冷激研究中, 认为 Ca 能提高作物的抗冷性^[4~6]。另外 Liut 等^[7]还发现, NPCaM—1 表达受核内 Ca^{2+} 信号通路调控, 而冷激诱导的 NPCaM—1 表达由胞质中 Ca^{2+} 信号通路控制。但有关温度、 Ca^{2+} 、基因、蛋白质表达之间关系的报道仍然不多见。笔者以茄子幼

苗为材料, 探讨低温胁迫下 Ca^{2+} 对蛋白质含量及特异蛋白表达的影响, 以及低温胁迫下 Ca^{2+} 与蛋白质的作用机制, 以期能为低温、 Ca^{2+} 、基因表达之间的关系研究提供参考。

1 材料与方法

采用四叶一心期茄子 (*Solanum melongena* L.) 幼苗 (品种为紫星茄和墨茄) 为试材 (Hoagland 营养液培养), 分别添加不同浓度的 CaCl_2 (0, 5, 10, 15,

收稿日期: 2005—12—01

基金项目: 河南科技大学人才科学研究基金资助

作者简介: 王凤华 (1972—), 女, 四川邛崃人, 副教授, 在读博士研究生, 主要从事园艺植物生物技术研究。

20 mmol/L)的营养液,置于4℃低温下,分别在处理12 h、24 h、48 h、72 h时,取样测定可溶性蛋白质含量,以48 h取的样品进行SDS—PAGE电泳。试验采用随机区组设计,重复3次。可溶性蛋白质及热稳定蛋白质含量的测定采用考马斯亮兰法^[8];蛋白质SDS—PAGE电泳按常规方法^[9]。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下钙对茄子可溶性蛋白质含量的影响
低温胁迫下,品种、胁迫时间以及外源钙都对茄子幼苗可溶性蛋白质含量有影响,随着胁迫时间延

长,可溶性蛋白质含量呈下降趋势,不同胁迫时间下可溶性蛋白质含量表现为12h>24h>48h>72h,而一定浓度的钙可以减缓其下降幅度。在整个胁迫期,0 mmol/L CaCl₂处理的可溶性蛋白质含量最低,墨茄以10 mmol/L CaCl₂处理时的可溶性蛋白质含量最高,紫星茄则以15 mmol/L CaCl₂处理的最高(表1)。
2.2 低温胁迫下钙对茄子幼苗热稳定蛋白质含量的影响

对各处理取样测定其热稳定蛋白质含量,结果如表2。由表2可以看出,低温胁迫下,墨茄的热稳定蛋白质含量低于紫星茄,他们之间的差异达到极

表1 低温胁迫下钙对茄子幼苗可溶性蛋白质含量的影响 (mg/g)

钙浓度 (mmol/L)	低温胁迫时间									
	12h		24h		48h		72h		显著水平	
	墨茄	紫星茄	墨茄	紫星茄	墨茄	紫星茄	墨茄	紫星茄	墨茄	紫星茄
0	35.3	47.77	35.67	44.00	34.80	38.00	25.90	32.07	0.0011 ^{**}	0.0002 ^{**}
5	43.57	48.77	40.00	44.77	35.53	39.33	30.00	32.90	0.0499 [*]	0.001 ^{**}
10	50.17	48.43	47.20	46.73	37.33	39.67	30.57	38.17		0.0241 [*]
15	41.43	50.63	38.43	50.00	34.10	42.03	27.30	39.50	0.0091 ^{**}	
20	42.43	48.17	33.00	46.57	29.43	37.67	26.80	35.83	0.0013 ^{**}	0.0027 ^{**}

注: *代表0.05水平, **代表0.01水平

显著水平。随着胁迫时间延长,热稳定蛋白质含量下降,2个品种热稳定蛋白质含量随着胁迫时间变化的趋势一致,都为12h>24h>48h>72h,与可溶性蛋白质含量的变化趋势相同。统计分析表明,20 mmol/L CaCl₂处理与0 mmol/L CaCl₂处理之间的差异都达显

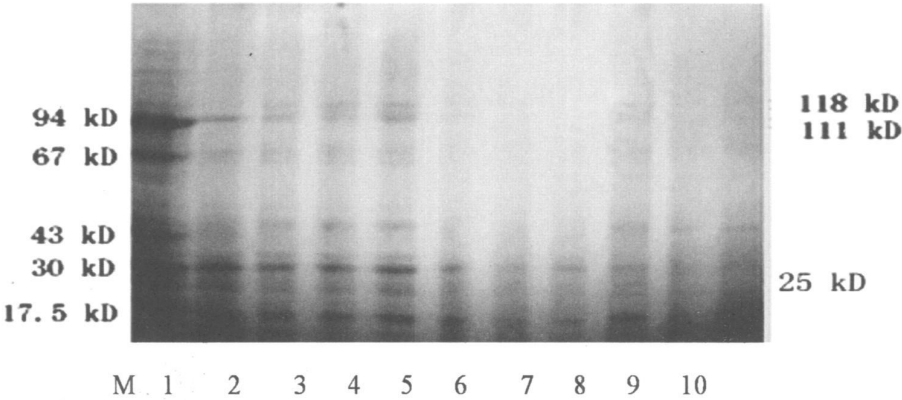
著水平。这些表明,钙能在一定程度上减轻低温胁迫引起的茄子幼苗热稳定蛋白质含量的下降。

2.3 低温胁迫下钙对茄子幼苗特异蛋白表达的影响
于胁迫48 h时取样,提取蛋白质进行SDS—PAGE电泳,结果如图1。由图1可以看出,低温胁

表2 低温胁迫下钙对茄子幼苗热稳定蛋白质含量的影响 (mg/g)

钙浓度 (mmol/L)	低温胁迫时间									
	12h		24h		48h		72h		显著水平	
	墨茄	紫星茄	墨茄	紫星茄	墨茄	紫星茄	墨茄	紫星茄	墨茄	紫星茄
0	6.06	10.63	5.21	9.33	4.47	8.03	3.30	4.41	0.0073 **	0.0002 **
5	6.53	11.97	5.65	10.08	4.51	8.72	3.46	4.99	0.2689	0.0247 *
10	6.84	12.50	5.75	10.87	4.54	8.85	3.61	5.08		0.1952
15	6.85	12.52	5.33	11.60	4.53	9.26	3.45	5.45	0.2542	
20	6.62	11.07	5.39	11.06	4.48	9.08	3.11	4.90	0.049 *	0.0379 *

注: *代表0.05水平, **代表0.01水平



M: marker; 1~5: 紫星茄 0, 5, 10, 15, 20 mmol/L CaCl₂; 6~10: 墨茄 0, 5, 10, 15, 20 mmol/L CaCl₂

图1 低温胁迫下钙处理对茄子幼苗特异蛋白表达电泳图谱

胁迫下不同浓度的钙处理之间的蛋白质谱带有明显不同。其中,墨茄以 10 mmol/L 处理的蛋白质谱带最多,0 mmol/L、15 mmol/L 和 20 mmol/L CaCl_2 处理的蛋白质谱带较少,其中 10 mmol/L 处理较其他处理出现了 3 种特异蛋白,分子量分别为:118kD、111kD 和 25kD。紫星茄以 0 mmol/L 处理和 20 mmol/L CaCl_2 处理的蛋白质谱带最少,5 mmol/L、10 mmol/L 和 15 mmol/L CaCl_2 处理时较多。与 0 mmol/L 处理相比,5 mmol/L、10 mmol/L 和 15 mmol/L CaCl_2 处理的都出现了分子量为 111kD 和 118kD 的特异蛋白。以上说明低温胁迫下钙处理诱导了茄子幼苗特异蛋白的表达。

3 讨论

热稳定蛋白质具有抗低温的作用,这部分蛋白质经 100 °C 煮沸 10 min,仍能在溶液中保持稳定,他们具有特异序列,高度的亲水性和调节渗透压的作用^[10]。我们的研究表明,低温胁迫引起可溶性蛋白质含量和热稳定蛋白质含量下降,而钙处理能在一定程度上减缓其下降,从而使茄子幼苗能保持相对较高的可溶性蛋白质含量和热稳定蛋白质含量,减轻伤害,这与李美茹等在水稻上的结果一致。现已初步证明, Ca^{2+} 调控作用主要是与 CaM 形成 Ca^+CaM 复合体,进而激活它所调节的酶^[11]。低温胁迫下 Ca^{2+} 之所以引起可溶性蛋白质和热稳定蛋白质含量的变化,可能是 Ca^+CaM 激活了蛋白质合成酶和抑制了水解酶的部分活性,也可能是 2 种酶都依赖 Ca^+CaM 的调控,即钙处理诱导植物体内基因调控系统改变的结果。王荣富和 Thibaut 等^[12] 指出,在一定温度范围内,随着降温幅度的加大,植物能诱导与温度相关的基因功能活性的改组,即 1 个基因位点的切断和其他位点的打开,在这些过程中能接受温度信号受体而起中间桥梁作用。这种受体可能是蛋白质(膜蛋白)或激素类物质。从试验结果来看,这种受体可能包括 Ca^{2+} 。还有人认为,热稳定蛋白质分子富含二硫键,在低温下能避免分子间的聚合,保持相对稳定。

Bramm 和 Dawis 用 Northern Blot 曾发现胁迫与否拟南芥表现出 5 种基因的差别,即胁迫可打开生物体内 5 个基因(*TCH1*、*TCH2*、*TCH3*、*TCH4*、*TCH5*)^[13],现已证明,只有 *TCH2*、*TCH3*、*TCH4* 基因依赖于外源钙,风、伤害、水涝、干旱等都能诱导这些基因的表达^[14 15]。本研究中钙诱导产生 3 种

特异蛋白,说明钙可诱导特异基因的表达,这些特异蛋白是否同 *TCH2*、*TCH3*、*TCH4* 具有相同或相似的作用机制,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘宏涛,赵和,李冰,等. 钙—钙调素对小麦 *hsp26* 基因表达的影响[J]. 植物学报, 2001, 43(7): 766—768.
- [2] 刘宏涛,李冰,李国良,等. 钙—钙调素调节拟南芥热激基因的表达[J]. 河北农业科学, 2004, 8(2): 3—8.
- [3] 樊志和,周人纲,李晓芝,等. 钙—钙素与小麦苗中热激蛋白的诱导[J]. 植物生理学报, 2000, 26(4): 331—336.
- [4] Lin S Z, Zhang Z Y, Lin Y Z, *et al.* The role of calcium and calmodulin in freezing—induced freezing resistance of populus tomentosa cuttings[J]. Jour Plant Physiol Mole Biol, 2004, 30(1): 59—68.
- [5] 李美茹,刘鸿先,王以柔,等. 水稻幼苗冷锻炼过程中钙的效应[J]. 植物学报, 1996, 38(2): 735—742.
- [6] 李卫,孙中海,章文才. 钙和钙调素对柑橘原生质体抗冻性的影响[J]. 植物生理学报, 1997, 23(3): 262—266.
- [7] Liut Vander A H, Olivar C, Haley A, *et al.* Distinct calcium signaling pathways regulate calmodulin gene expression in tobacco[J]. Plant Physiol, 1999, 121(3): 705—714.
- [8] 白宝璋,汤学军. 植物生理学测试技术[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993.
- [9] 郭堯君. 蛋白质电泳实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [10] 张德颐,朱治平. 植物分子生物学与生物工程进展[M]. 北京: 科学出版社, 1992. 197—211.
- [11] 谭桂茹,白宝璋,赵景阳,等. 植物 Ca^{2+} —CaM 复合物的结构、性质与功能[J]. 吉林农业大学学报, 1994, 16(增): 217—221.
- [12] 王荣富. 植物抗寒指标的种类及其应用[J]. 植物生理学通讯, 1987(3): 49—50.
- [13] Brann J, Davis RW. Rain, Wind and touch—induced expression of calmodulin and calmodulin—related genes in Arabidopsis[J]. Cell, 1990, 60(3): 357—364.
- [14] Brann J. Regulated expression of the calmodulin—related TCH genes in cultured Arabidopsis cells: induction by calcium and heat—shock[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89(8): 3213—3216.
- [15] Brann J, Sistrunk M L, Polisensky D H, *et al.* Life in a changing world: TCH gene regulation of expression and response to environmental signals[J]. Physiol Plachunt, 1996, 98(4): 909—916.