

# 拟南芥JAC1蛋白与其相互作用蛋白的分子功能研究

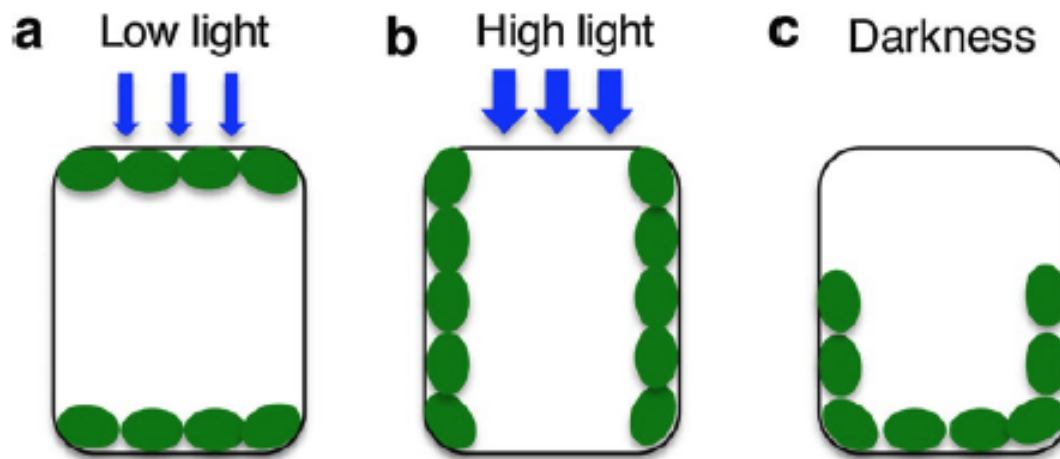
答辩人：朱焱

指导老师：苏伟 副教授

- 研究背景
- 研究问题
- 研究结果
- 讨论与展望
- 致谢

# 研究背景

- 叶绿体运动与植物的光适应
- 叶绿体受光调控的三种运动模式



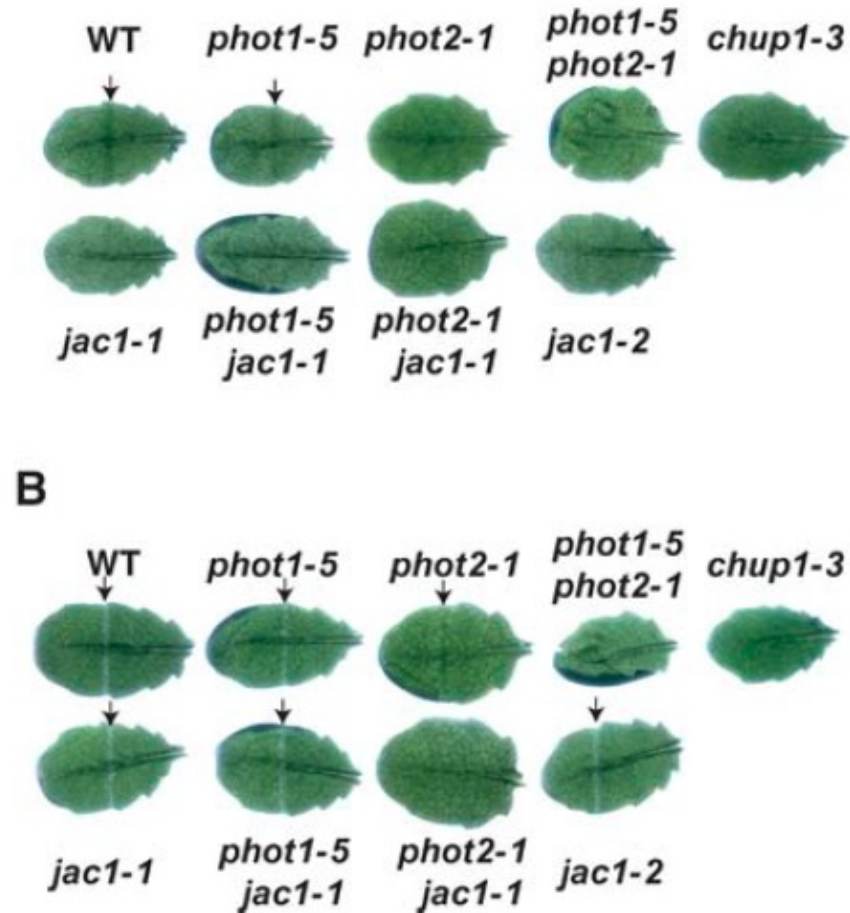
**Fig. 1** Light-dependent chloroplast positioning in Arabidopsis. **a** Chloroplast positioning in low-light-adapted cells. **b** Chloroplast positioning in high-light-adapted cells. **c** Chloroplast positioning in dark-adapted cells

Sam-Geun Kong & Masamitsu Wada, 2016

- A、弱光下聚集反应
- B、强光下躲避反应
- C、暗适应

# 研究背景

- *JAC1*参与调控叶绿体运动

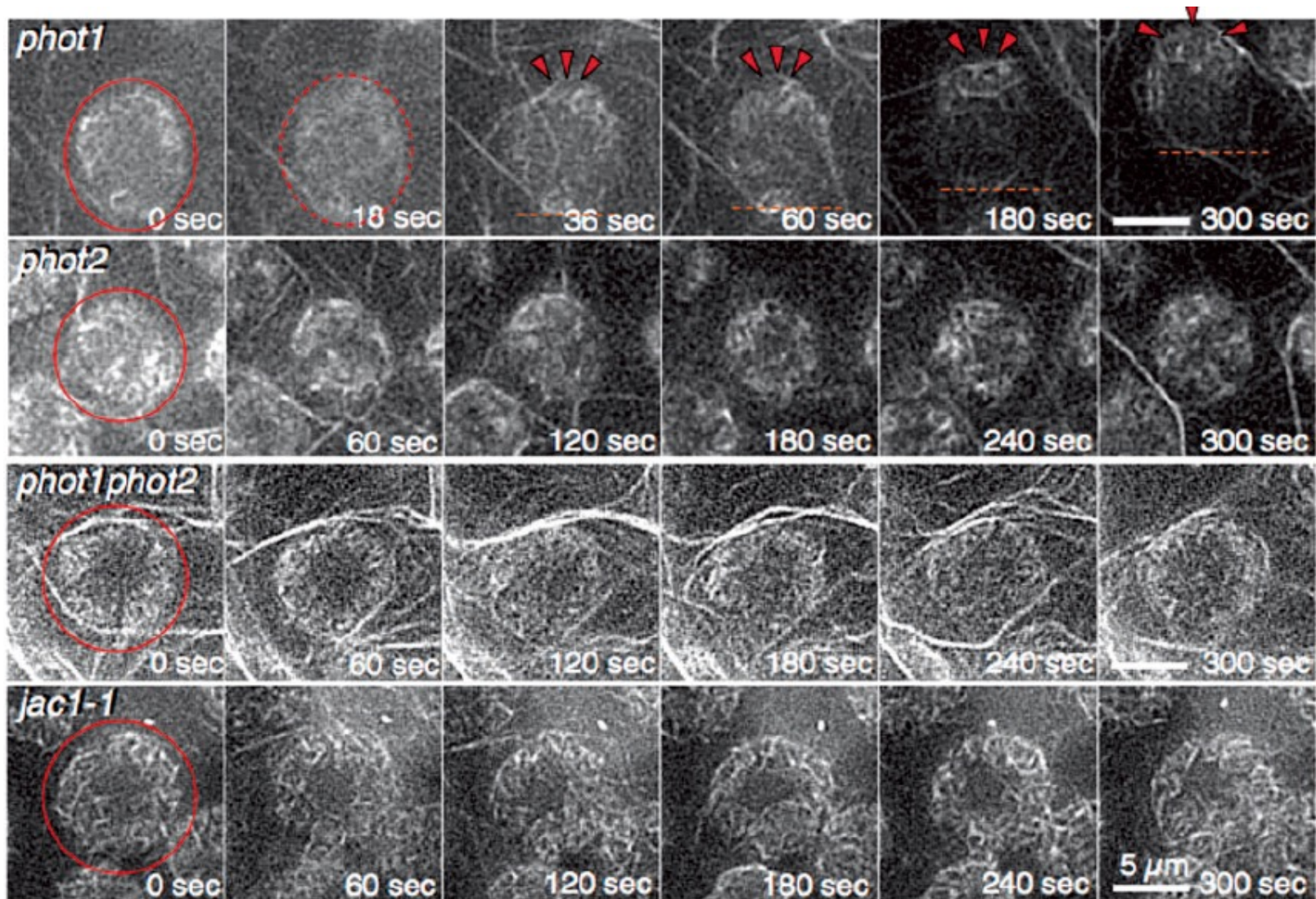


Noriyuki Suetsugu, et al, 2005

JAC1与PHOT一起参与叶绿体的聚集反应

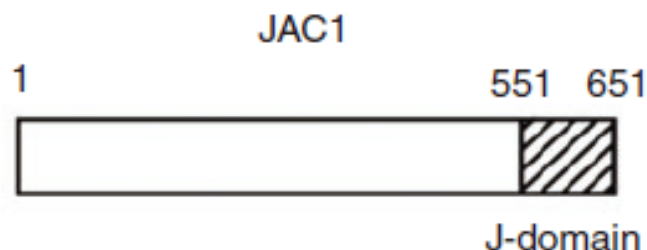
# 研究背景

- *jac1*突变体中叶绿体肌动蛋白微丝在光下的重分布受到破坏



# 研究背景

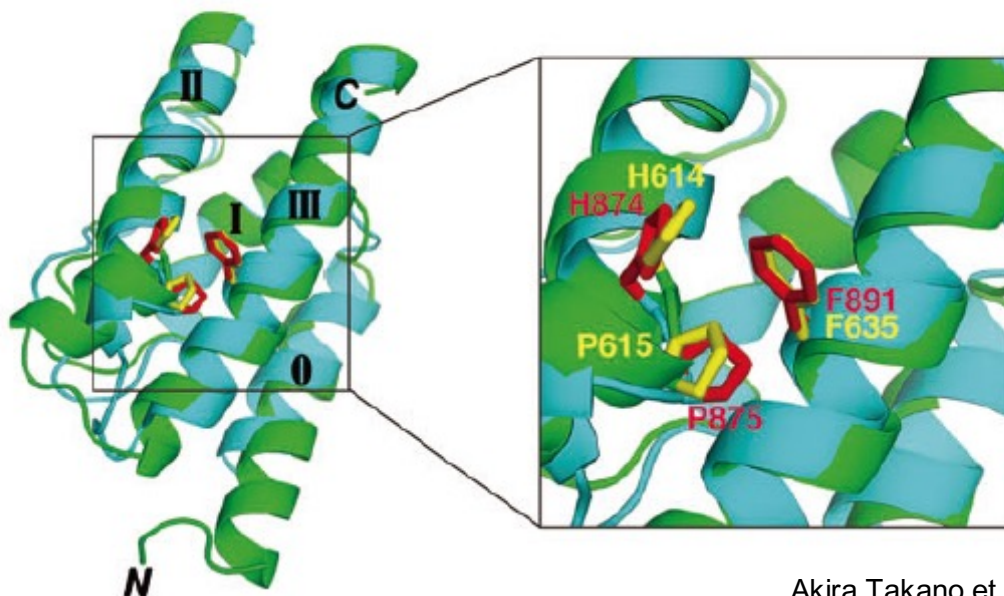
- JAC1的结构



JAC1蛋白全长651氨基酸，其C末端具有保守的J结构域，已有晶体研究表明其与动物细胞中的Auxilin的J结构域高度相似。

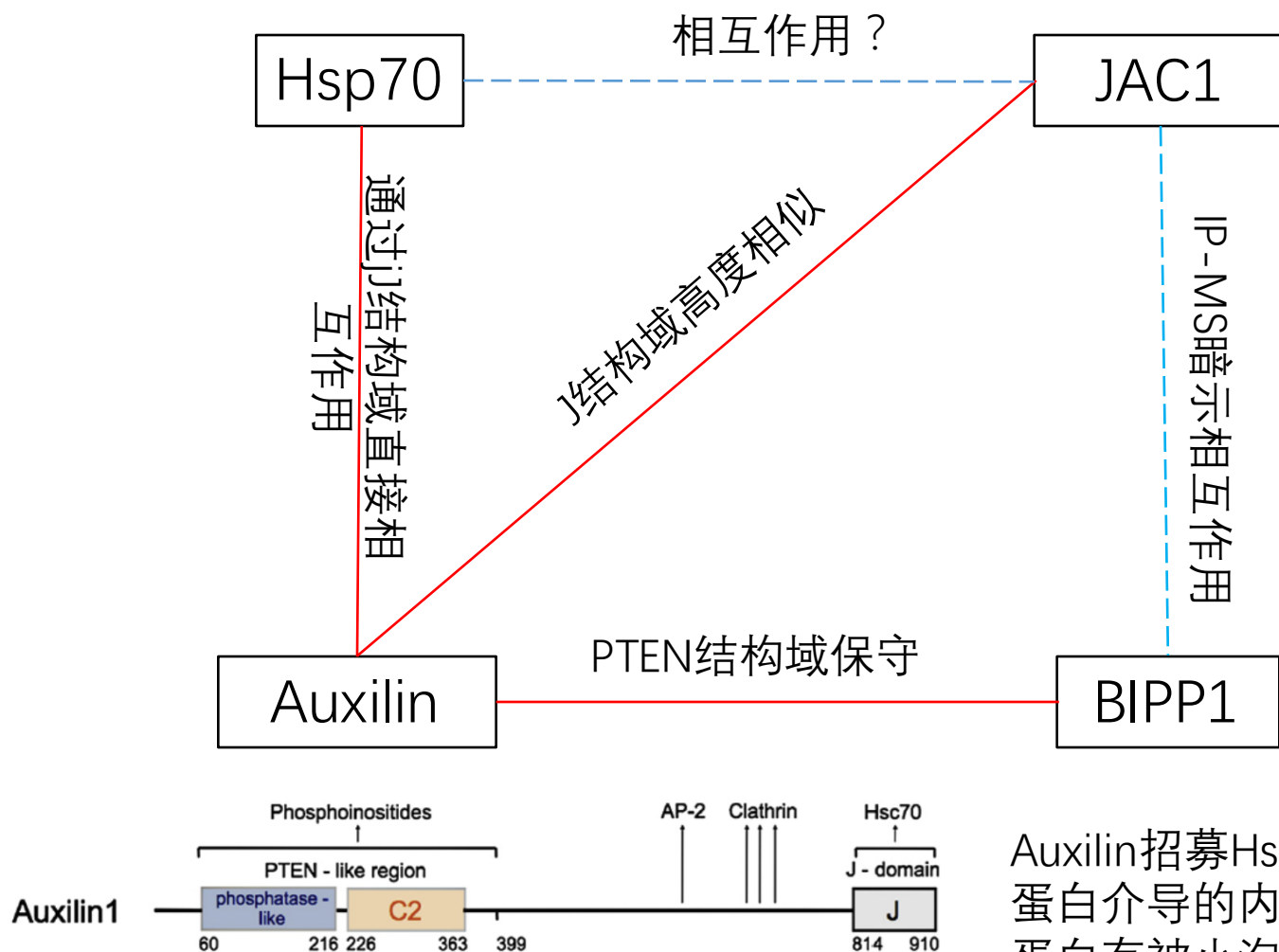
|                 |     |                                      |      |                       |                               |
|-----------------|-----|--------------------------------------|------|-----------------------|-------------------------------|
| JAC1_Jdomain    | 551 | EEIKNIDAKIRKWSSGKSGNIRSLSTLQYILWS-   | GS   | GWKPVPLMDM            | IEGNAVRKSYQRA                 |
| auxilin_Jdomain | 813 | --DPEKLKILEWIEGKERNIRALLSTMHTVLWAGET | KW   | KPVGMADLYTPEQVKKVYRKA |                               |
| JAC1_Jdomain    | 610 | LLIL                                 | HPDK | LQQKGA                | SANQKY--MAEKVFELLQEAWDHFNTLGP |
| auxilin_Jdomain | 870 | VLVV                                 | HPDK | -----                 | ATGQPYEQYAKMIFMELNDAWSEFENQ-- |

HPDKLQQKGA



# 研究背景

- JAC1可能的相互作用蛋白及功能



Ramiro H. Massol et al, 2006

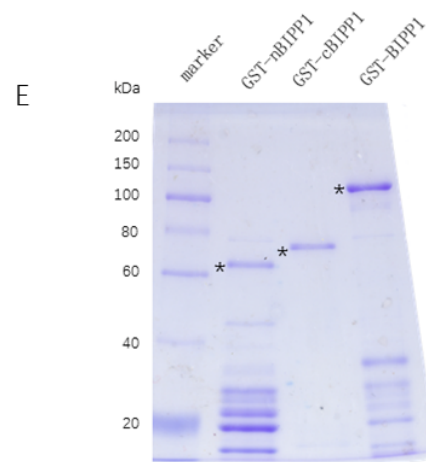
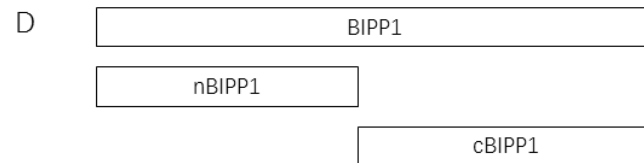
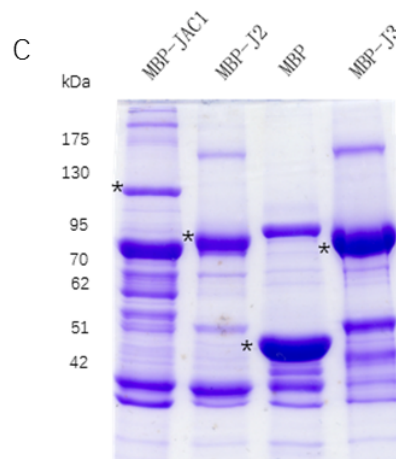
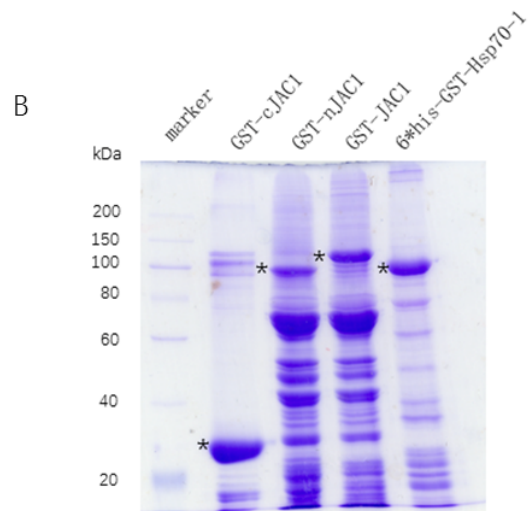
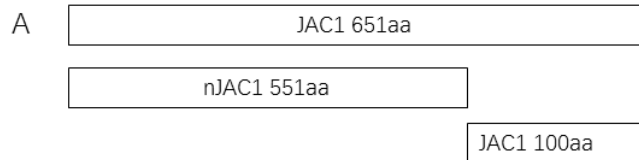
Auxilin招募Hsp70，参与网格蛋白介导的内吞过程中，网格蛋白有被小泡的去包被。

# 研究问题

- JAC1, Hsp70以及BIPP1在拟南芥中是否通过相互作用调控叶绿体运动, 并取代哺乳动物中Auxilin参与内吞过程?

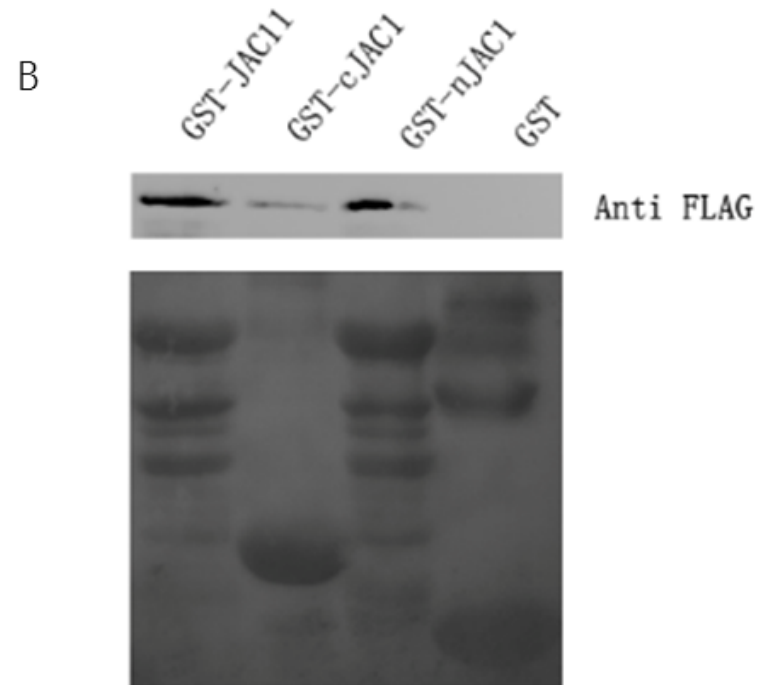
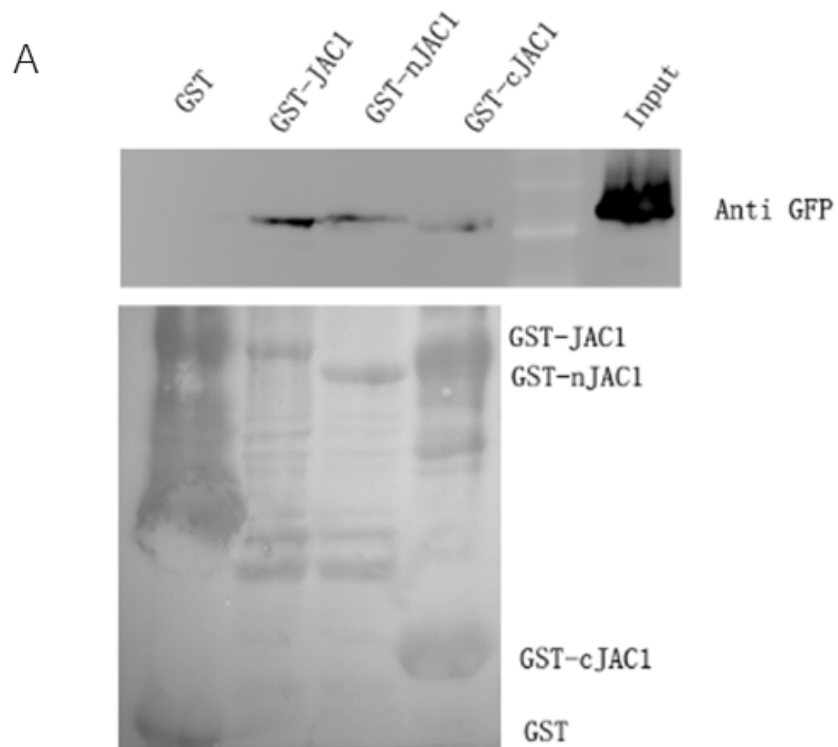
# 研究结果

## • JAC1与BIPP1融合蛋白的表达与纯化



# 研究结果

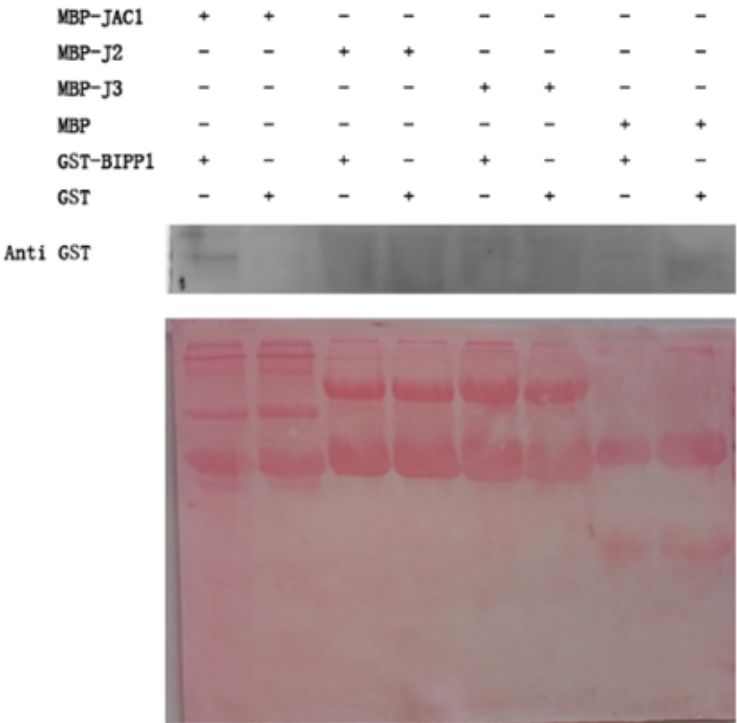
- JAC1分别与Hsp70-1, BIPP1相互作用



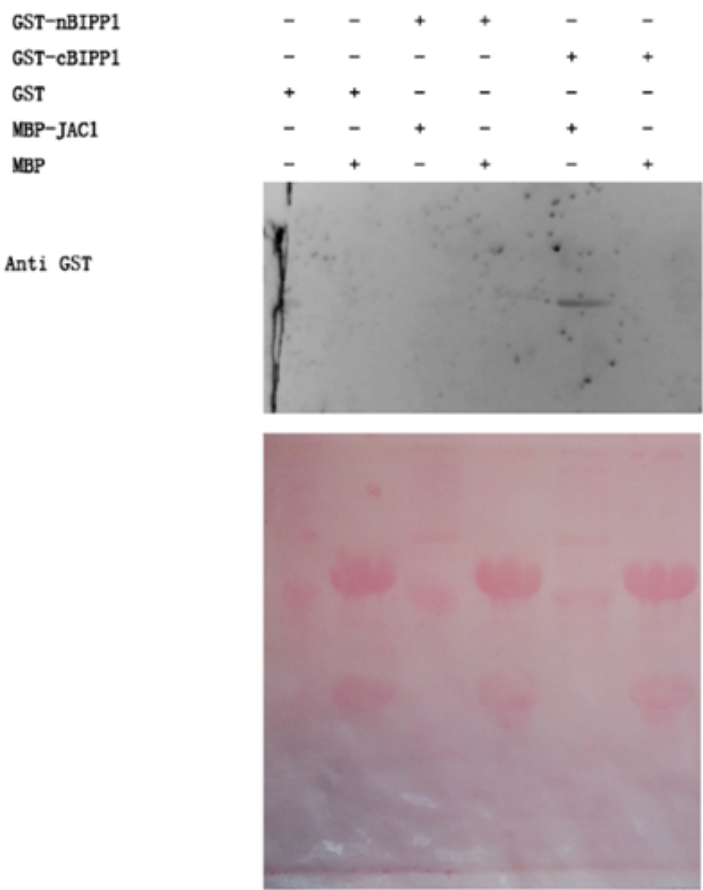
# 研究结果

- JAC1与BIPP1直接相互作用

A

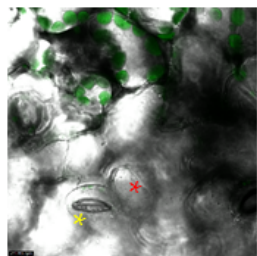


B

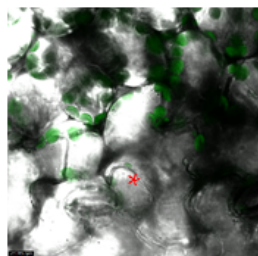


# 研究结果

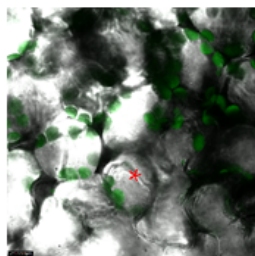
- *hsp70* 突变体中叶绿体运动受到损伤



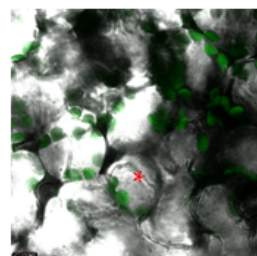
Col-0 0



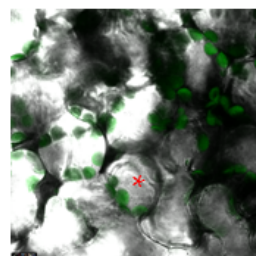
4.866



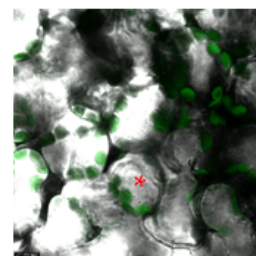
9.732



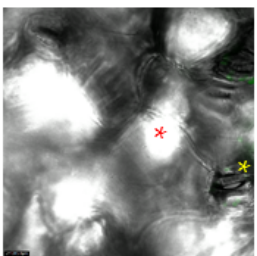
14.598



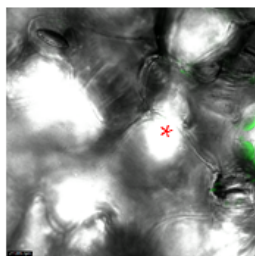
19.464



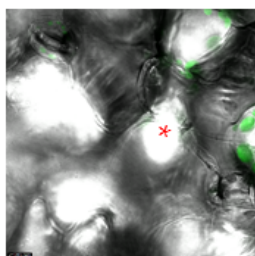
24.33 ( $\mu\text{m}$ )



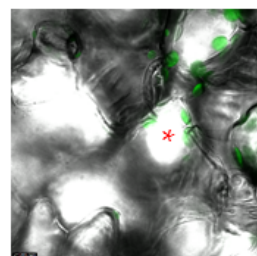
*jac1* 0



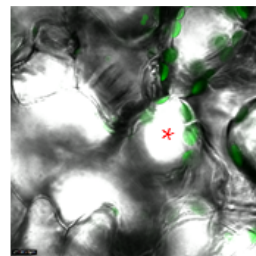
4.956



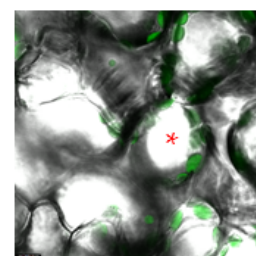
9.912



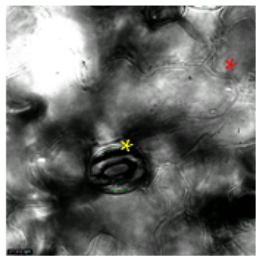
14.868



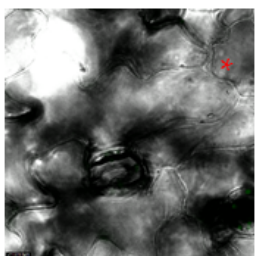
19.824



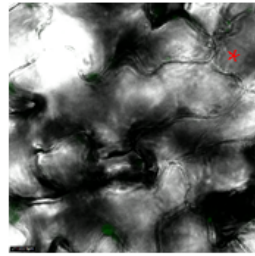
24.780 ( $\mu\text{m}$ )



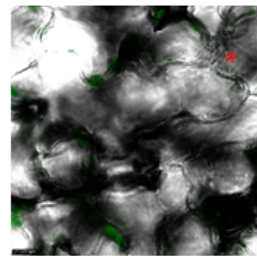
*hsp70-1 hsp70-4*  
0



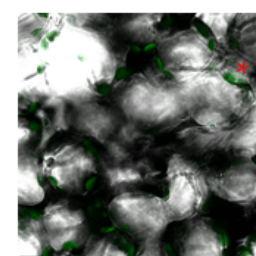
5.670



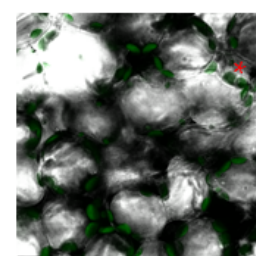
9.450



15.120



18.90



24.570 ( $\mu\text{m}$ )

# 讨论与展望

- *JAC1*的表达

A



B



- 1、*JAC1*可能具有可变剪接
- 2、*JAC1*的表达可能具有时空特异性

# 讨论与展望

- JAC1与Hsp70, BIPP1的相互作用

在我们的实验条件下, JAC1不能与Hsp70-1直接相互作用, 但是能与体内表达的Hsp70-1-GFP相互作用。

- 1、JAC1通过其他蛋白的介导与Hsp70-1相互作用；
- 2、JAC1与Hsp70-1的相互作用需要特定的翻译后修饰；

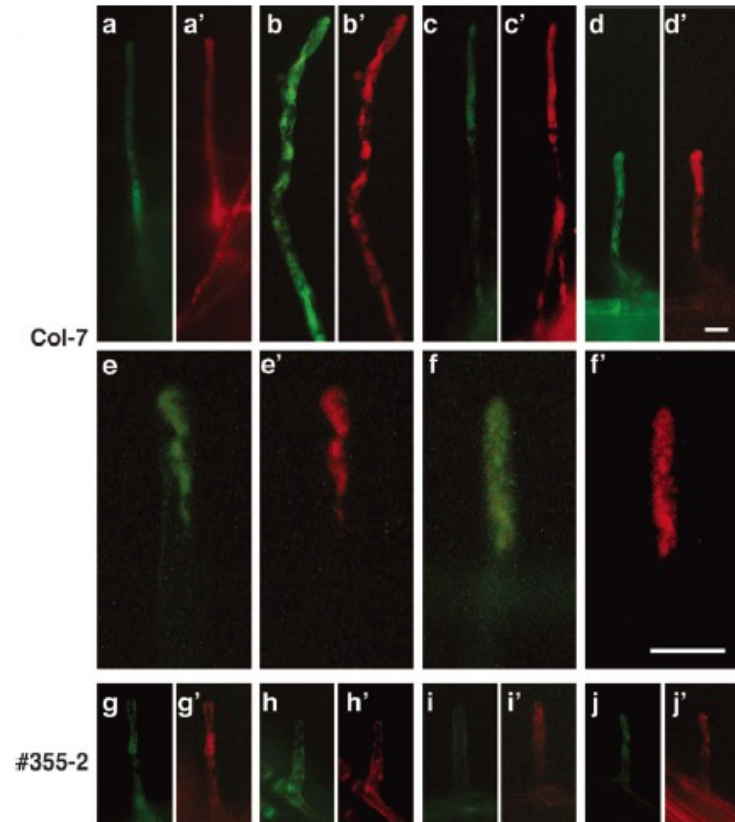
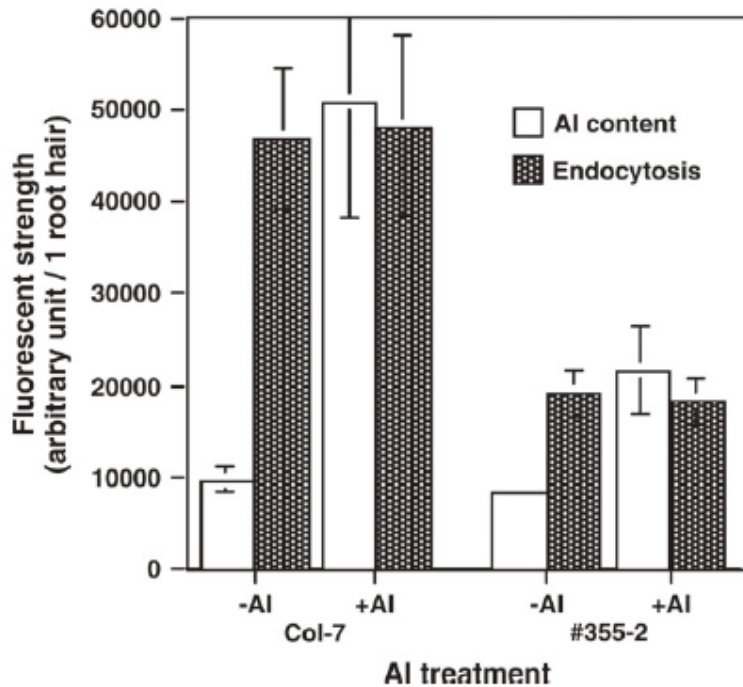
我们证实了JAC1能够直接与BIPP1相互作用, 但是BIPP1不能介导JAC1与Hsp70-1的相互作用。

- 1、JAC1 Ser45存在受光调控的磷酸化；
- 2、BIPP1可能具有蛋白磷酸酶活性, 调控JAC1磷酸化；
- 3、JAC1与BIPP1的发生相互作用的亚细胞定位。

# 讨论与展望

- JAC1在内吞过程中的可能功能

过表达JAC1增强了拟南芥的铝离子抗性，破坏了根部细胞的内吞



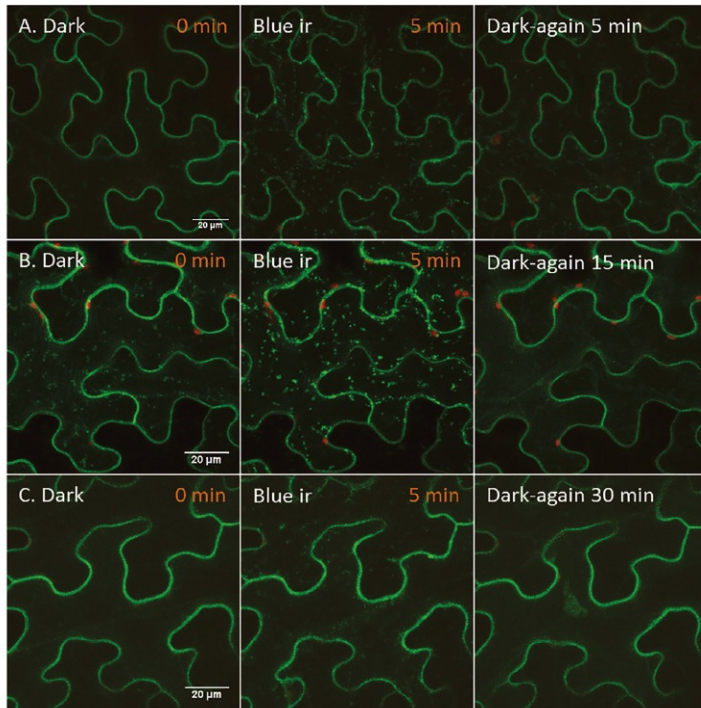
Bunichi Ezaki et al, 2007

*jac1*突变体植株是否存在内吞缺陷？  
JAC1是否取代了Auxilin的功能？

# 讨论与展望

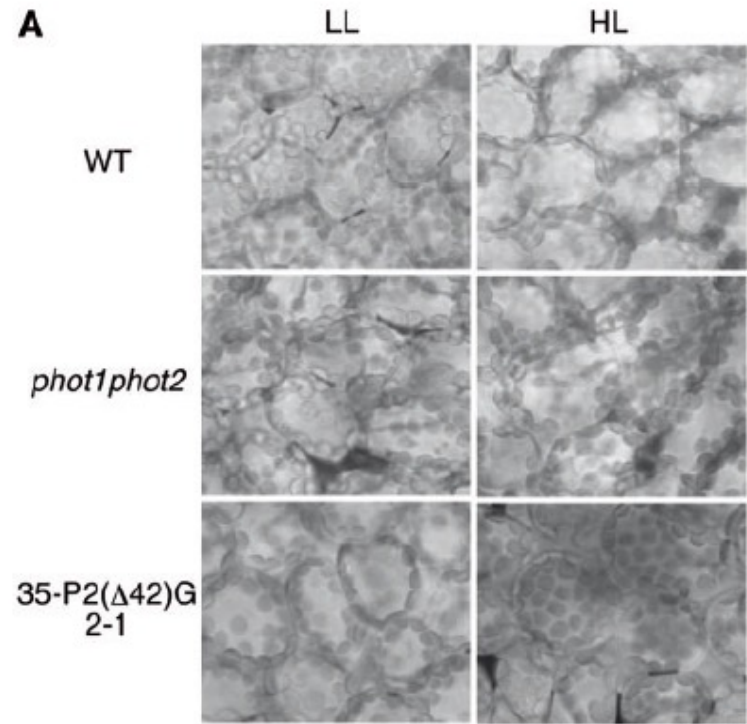
- 内吞与叶绿体运动

PHOT2在蓝光下通过内吞从细胞膜进入细胞内部。



Chhavi Aggarwal et al, 2014

失去高尔基体定位相关基序的PHOT2蛋白不能挽救*phot2*叶绿体运动缺陷的表型



Sam-Geun Kong et al, 2012

*jac1*中，PHOT2的在蓝光下亚细胞定位的变化是否受损？

# 致谢

苏伟 副教授

王学路 教授

冷琳娜 师姐

郑丙莲 研究员

实验室其他师兄师姐