

• 基础实验研究论著 •

AHA1 蛋白与 A 型核纤层蛋白在细胞中的共定位*

蒋智文^{1,2}, 陈维春^{1,2,3}, 郑慧玲^{1,2}, 周 静^{1,3}, 刘新光^{1,2,3△}

(1. 广东医学院衰老研究所, 广东东莞 523808; 2. 广东省医学分子诊断重点实验室, 广东东莞 523808; 3. 广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 广东湛江 524023)

摘 要:目的 构建 AHA1 与荧光蛋白 GFP 融合的真核表达载体,并在 HEK293 细胞中进行表达,然后检测 AHA1 重组蛋白在细胞中的表达,以及与 A 型核纤层蛋白在细胞中的共定位。方法 提取 HEK293 细胞中总 RNA,随之逆转录成 cDNA,然后设计引物扩增 AHA1 的编码序列后构建到 pEGFP-N1 载体中,转染 HEK293 细胞后,通过免疫印迹检测重组 AHA1 蛋白在细胞中的表达,采用激光共聚焦显微镜观察重组 AHA1 蛋白与 A 型核纤层蛋白在细胞中的共定位。结果 经 PCR 和 DNA 限制性内切酶鉴定,最后通过 DNA 测序并进行序列相似性分析比对,确定 pEGFP-N1-AHA1 重组质粒构建成功;在 HEK293 细胞中转染 pEGFP-N1-AHA1 重组质粒后,检测发现,重组 AHA1 蛋白在细胞中已经成功表达,并且部分 AHA1 蛋白与核纤层蛋白 A 共定位于细胞的核膜上,但是 AHA1 蛋白与核纤层蛋白 C 在细胞中不能共定位。结论 成功构建了 AHA1 与 GFP 荧光蛋白的重组质粒,并且 AHA1 蛋白与核纤层蛋白 A 在细胞中能够共定位,而不与核纤层蛋白 C 共定位。

关键词: AHA1 蛋白; A 型核纤层蛋白; 载体; 免疫印迹

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.11.001

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)11-1345-03

AHA1 protein colocalizes with A-type lamins in cells*

Jiang Zhiwen^{1,2}, Chen Weichun^{1,2,3}, Zheng Huiling^{1,2}, Zhou Jing^{1,3}, Liu Xinguang^{1,2,3△}

(1. Institute of Aging Research, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China;

2. Guangdong Province Key Laboratory for Medical Molecular Diagnosis, Dongguan, Guangdong 523808, China;

3. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524023, China)

Abstract: **Objective** To study the function of AHA1 in cells, we constructed a recombinant plasmid pEGFP-N1-AHA1 and observed AHA1 fusion protein expression and co-localization with A-type lamin proteins in the HEK293 cells after transfection. **Methods** HEK293 cells' total RNA was extracted and reversed transcribed to cDNA, and applied AHA1 gene primer constructed pEGFP-N1-AHA1 recombinant plasmid. Finally, AHA1 fusing with GFP fluorescence protein expression detected by Western Blotting, and AHA1 protein co-localized with A-type lamin proteins were observed by confocal laser microscope. **Results** pEGFP-N1-AHA1 recombinant plasmid was identified by PCR and DNA digestion, and confirmed by DNA sequencing and BLAST compared. AHA1 fusion protein had been over-expressed in HEK293 cells, and compared to lamin C, some of AHA1 fusion protein co-localized with laminA on the nuclear membrane. **Conclusion** The pEGFP-N1-AHA1 recombinant plasmid has been successfully constructed, over-expressed AHA1 fusion in HEK293 cells, AHA1 fusion protein co-localized with laminA on the nuclear membrane has been found.

Key words: AHA1 protein; A-type lamin proteins; vector; Western blot

核纤层蛋白属于 V 型中间丝蛋白,由核纤层蛋白构成的核层位于细胞核的内层核膜上,为核膜和染色质提供结构支架^[1-2]。细胞中的 A 型核纤层蛋白是由 LMNA 基因编码形成的,LMNA 基因首先编码形成 A 型核纤层蛋白前体 (prelamin A),经过加工成熟而形成 4 种 A 型核纤层蛋白 lamin A、lamin A_{△10}、lamin C 和 lamin C₂^[2]。而 LMNA 基因 11 号外显子的 GGC>GGT(G608G)单碱基替换能导致儿童早老综合征,又称郝-吉二氏早老综合征(HGPS)的出现^[3-4]。这类早老症患者细胞的核形态严重异常,并且染色质和核膜出现损伤,进而引起适应性和保护性基因的转录激活^[2,5-6]。

研究表明热激蛋白 Hsp90 与衰老密切相关,在衰老的人类成纤维细胞中,抑制 Hsp90 的活性导致 p53 迅速降解^[7],并

且抑制 Hsp90 蛋白则能促进细胞损伤进而介导细胞衰老^[7]。而在小细胞肺癌细胞中,抑制 Hsp90 的活性主要是导致早老而不是细胞死亡^[8]。而 Hsp90 的相互作用蛋白 AHA1 则是 Hsp90/Hsp70 分子伴侣机制中普遍存在的协同分子伴侣^[9]。对于酵母和人类细胞中的下游蛋白,过表达的 AHA1 不仅能够帮助修复 Hsp90 行使分子伴侣的功能接近至野生型的水平^[10],甚至还能够直接代偿 Hsp90 的部分功能^[11]。

本课题组通过酵母双杂交系统筛选到 AHA1 蛋白与核纤层蛋白 A 相互作用,为进一步研究 AHA1 蛋白与 A 型核纤层蛋白在细胞中的共定位,本课题组将 AHA1 构建到 GFP 荧光蛋白表达载体上,在 HEK293 细胞中表达后,进而通过激光共聚焦显微镜进行观察。现报道如下。

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30672205、30871440、30971620、81170327);广东省自然科学基金资助项目(8452402301001450);广东省高等学校自然科学研究重点项目(06Z015);广东医学院科技创新基金资助项目(STIF201102);广东医学院青年基金资助项目(Q2010009)。

作者简介:蒋智文,男,研究实习员,主要从事细胞衰老相关机制研究。△ 通讯作者,E-mail: xgliu64@126.com。

1 材料与方法

1.1 材料 HEK293 细胞株购自中国科学院细胞库; pDsRed1-N1-LA 和 pDsRed1-N1-LC 重组质粒及大肠杆菌 *E. coli* DH5 α 为本室保存; TRIZOL 和 LipofectamineTM 2000 试剂购自 Invitrogen 公司; 反转录试剂盒 PrimeScript II cDNA 首链合成试剂盒, EcoR I 和 Kpn I DNA 限制性内切酶以及 T4 DNA 连接酶均购自于 TakaRa 公司; PCR 清洁试剂盒, DNA 凝胶回收试剂盒与质粒 DNA 小量提取试剂盒购自 Axygen 公司; 质粒提取试剂盒购自 Roche 公司; GFP 抗体购自 Santa Cruz 公司, GAPDH 抗体购自西格玛奥德里奇公司(Sigma-aldrich)。

1.2 方法

1.2.1 引物设计 使用 Primer5.0 软件设计扩增 AHA1 基因编码序列的特异性引物如下: 5'-CGG AAT TCT GAT GGC CAA GTG GGG TGA GGA G-3'; 5'-GGG GTA CCG TAA ATA AGC GTG CGC CAT AGC C-3' (下划线部分分别为相应的酶切位点 *EcoR*I 和 *Kpn*I, 引物由上海生工合成)。

1.2.2 扩增目的基因 细胞总 RNA 提取按 TRIZOL 试剂说明书进行, 提取总 RNA 后, 按照反转录试剂盒的说明书的步骤反转录合成 cDNA, 然后使用合成的 AHA1 特异性引物进行 PCR, 扩增条件为: 94 ℃ 5 min, (94 ℃ 45 s, 64 ℃ 1 min, 72 ℃ 80 s) 30 个循环, 72 ℃ 10 min, 4 ℃ 保存; PCR 结束后, 使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳, 然后回收目的基因 AHA1 的 DNA 片段。

1.2.3 重组质粒 pEGFP-N1-AHA1 的构建 使用 *EcoR*I 和 *Kpn*I 两种 DNA 限制性内切酶在 37 ℃ 水浴条件下分别酶切 AHA 基因片段和 pEGFP-N1 质粒, 回收酶切的 DNA 片段后使用 T4 DNA 连接酶于 16 ℃ 水浴锅中连接过夜, 然后使用热激法转化氯化钙处理的 *E. coli* DH5 α 的感受态细菌, 倒置培养于 37 ℃ 温箱过夜后, 挑取单菌落扩大培养后, 分别使用 PCR 与 *EcoR*I 和 *Kpn*I 两种 DNA 限制性内切酶酶切的方式进行初步鉴定, 最后送样品至上海生工测序并进行序列相似性分析比对, 进而确定重组质粒构建成功。

1.2.4 提取质粒 使用质粒提取试剂盒大量提取构建成功的 pEGFP-N1-AHA1 重组质粒, 然后测量其 260 nm 和 280 nm 处的吸光度(A), 计算 A₂₆₀/A₂₈₀ 的比值, 于 -20 ℃ 保存备用。

1.2.5 免疫印迹 使用 Inviteogen 公司的 LipofectamineTM 2000 试剂分别在 HEK293 细胞中转染 pEGFP-N1 质粒和 pEGFP-N1-AHA1 重组质粒 48 h 后, 提取转染的 HEK293 细胞总蛋白, 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 低温快速湿转 1 h, 将蛋白转印至聚偏氟乙烯膜上, 室温 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 添加抗体于 4 ℃ 孵育过夜, 然后取出在室温条件下用含有 0.2% 吐温-20 的三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液清洗 3 次, 每次 10 min, 之后添加二抗于室温孵育 1 h, 最后用含有 0.2% 吐温-20 的三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液清洗 4 次, 三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液浸泡数分钟后, 最后添加辣根过氧化物酶显色液于暗室进行显影和定影。

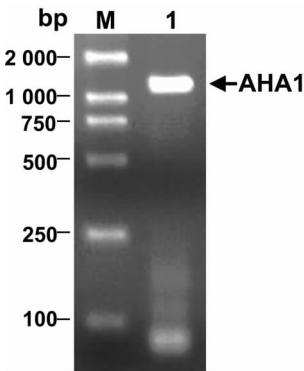
1.2.6 激光共聚焦显微镜观察 消化培养的 HEK293 细胞, 然后接种至预先放置了盖玻片的 24 孔板中; 继续培养过夜后, 使用 Inviteogen 公司的 LipofectamineTM 2000 分别在 HEK293 细胞中同时转染 pEGFP-N1-AHA1、pDsRed1-N1-LA 和 pEGFP-N1-AHA1、pDsRed1-N1-LC 两组重组质粒; 转染 48 h 后, 小心从 24 孔板夹取盖玻片, 反向扣在滴加有抗荧光淬灭剂的

干净载玻片的表面, 使细胞夹在盖玻片和载玻片之间, 然后在盖玻片周围再小心滴加中性树脂以封片, 然后采用莱卡 TCS SP5 激光共聚焦显微镜扫描, 采集相关图片。而后使用 Photoshop CS2 进行图片处理。

2 结果

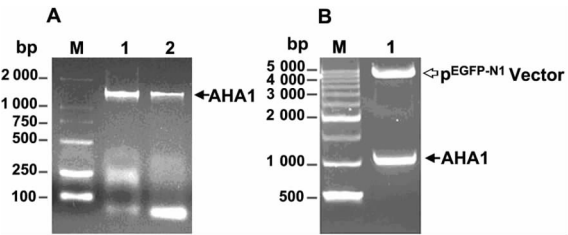
2.1 AHA1 基因编码序列的扩增 提取 HKE293 细胞总 RNA, 经反转录, 成功扩增出 AHA1 的基因片段, 如图 1 黑色箭头所示 AHA1 基因大小为 1 016 bp, 与预期结果相符。

2.2 重组质粒 pEGFP-N1-AHA1 的构建和鉴定 提取阳性克隆的质粒进行 PCR 鉴定, 结果如图 2A 所示, 以所挑的质粒为模板都能扩增出 AHA1 基因编码序列, 表明 AHA1 的基因编码序列可能已经插入到 pEGFP-N1 载体中。质粒的 *EcoR*I 和 *Kpn*I 两种 DNA 限制性内切酶的酶切结果如图 2B 所示, 图中箭头所指示的是 AHA1 基因的编码序列, 在其上方具有 pEGFP-N1 空载体的片段, 由此可以判定 AHA1 已经成功构建到 pEGFP-N1 载体中。将菌液送上海生工公司进行 DNA 测序, 并通过 DNA 序列相似性分析比对, 发现重组质粒中的 AHA1 序列与 AHA1 基因的编码序列相符, 与预期结果相符, 表明 pEGFP-N1-AHA1 重组质粒构建成功。



M: DNA 标记物 DL2000; 1: 扩增的 AHA1 基因。

图 1 HEK293 细胞中扩增的 AHA1 基因 (RT-PCR)



M: DNA 标记物; 1~2: 单克隆 1 和 2。

图 2 pEGFP-N1-AHA1 重组质粒的 PCR 和 DNA 双酶切鉴定

2.3 AHA1 重组蛋白在 HEK293 细胞中的表达 由于 GFP 蛋白的相对分子质量为 27×10^3 , 而 AHA1 蛋白的相对分子质量为 38×10^3 , 所以 AHA1 与 GFP 的重组蛋白大小应该约为 65×10^3 。分别在 HEK293 细胞中转染 pEGFP-N1 和 pEGFP-N1-AHA1 重组质粒 48 h 后, 提取细胞中的总蛋白进行免疫印迹检测, 结果如图 3 所示, 其中一条相对分子质量为 65×10^3 的条带与 GFP 蛋白加上 AHA1 蛋白总长度基本一致, 表明 AHA1 与 GFP 的重组蛋白已经在 HEK293 细胞中成功表达。

2.4 AHA1 蛋白与 A 型核纤层蛋白在 HEK293 细胞中的定位 由于核纤层蛋白在细胞中主要定位于细胞核的内层核膜

上,为核膜和染色质提供结构支架^[1-2],因此核层蛋白的定位能够指征细胞核的位置和形态。采用 Lipofectamine™ 2000 试剂分别在 HEK293 细胞中同时转染 pEGFP-N1-AHA1 与带有红色荧光蛋白标签的 pDsRed1-N1-LA 和 pEGFP-N1-AHA1 与 pDsRed1-N1-LC 重组质粒,48 h 后采用激光共聚焦显微镜进行观察,结果如图 4 所示: AHA1 蛋白在细胞分布广泛,并且部分 AHA1 蛋白与核纤层蛋白 A 在细胞中共定位于 HEK293 细胞的核膜上,而与核纤层蛋白 C 在 HEK293 细胞中不能共定位。

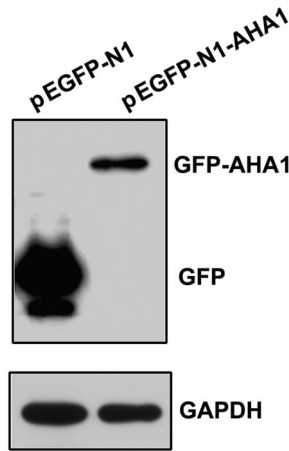


图 3 AHA1 重组蛋白在 HEK293 细胞中的表达

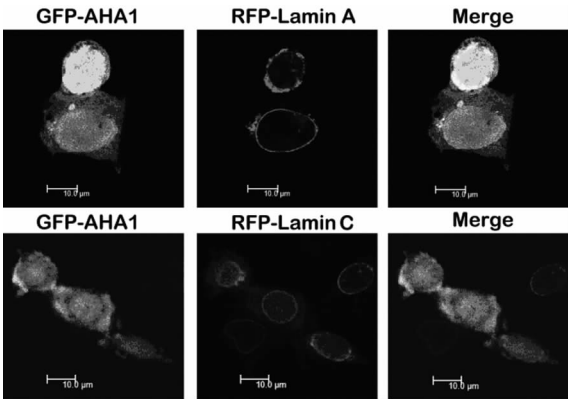


图 4 AHA1 蛋白与 A 型核纤层蛋白在 HEK293 细胞中的定位

3 讨 论

由于人类 LMNA 基因的突变进而导致了核层蛋白前体 Prelamin A 不能被正常加工,造成永久法尼基化的早老蛋白 (Progerin) 无法从核膜上脱离,而其他核纤层相关蛋白由于与 Progerin 结合,形成复合体也无法脱离核膜,最终使细胞核结构和功能受损,最终导致儿童早老综合征,即 HGPS 的出现^[12-13]。而 Hsp90 与衰老密切相关,衰老和饮食限制能够改变小鼠脑和肝中的 Hsp90 与 20S 蛋白酶体复合体的相互作用^[14],而在年老的沙鼠海马中 Hsp90 的蛋白水平显著高于成年的沙鼠海马^[15]。并且在衰老的人类成纤维细胞中,抑制 Hsp90 的活性导致 p53 迅速降解^[7],而在小细胞肺癌细胞中,抑制 Hsp90 的活性主要是导致早老而不是细胞死亡^[8]。而 Hsp90 蛋白的抑制剂 17AAG 则能促进细胞损伤,进而介导细胞衰老^[7]。

Hsp90 除了分布在细胞质、内质网和线粒体外,在核基质

中也存在^[16-18]。而 AHA1 蛋白在酵母到人类细胞中,都高度保守,并且主要定位于细胞的胞质中^[19-20]。研究显示 AHA1 蛋白与 Hsp90 能够相互作用^[21],并且 AHA1 结合于 Hsp90 的中部区域进而激发 ATPase 的活性^[9]。鉴于 Hsp90 和 AHA1 蛋白之间能够相互作用,并且 Hsp90 蛋白在核基质中也存在,本课题组推测 AHA1 可能在核基质中也有分布。由于核纤层蛋白在细胞中主要定位于细胞核的内层核膜上^[1-2],而本课题组通过酵母双杂交系统筛选到 AHA1 蛋白与核纤层蛋白 A (lamin A) 具有相互作用,因而本课题组预测 AHA1 可能与 A 型核纤层蛋白在细胞中具有共定位的现象。另外 A 型核纤层蛋白又分为核纤层蛋白 A, A_{Δ10}, C 和 C₂ 4 种^[10]。而核纤层蛋白 A 和 C 是主要的 A 型核纤层蛋白,所以本课题组选取了核纤层蛋白 A 和核纤层蛋白 C 与 AHA1 蛋白进行共定位的研究。确定上述蛋白在 HEK293 细胞中过表达后,通过激光共聚焦显微镜观察到部分 AHA1 重组蛋白与核纤层蛋白 A 在 HEK293 中有共定位的现象,但是与核纤层蛋白 C 不存在共定位的情形。表明 AHA1 蛋白在细胞中可能与核纤层蛋白 A 具有相互作用,与核纤层蛋白 C 可能不相互作用。而核纤层蛋白 C 仅仅是在 C 末端比核纤层蛋白 A 少 72 个氨基酸残基,并且在 C 末端有 6 个特异的氨基酸残基^[4,10],这表明核纤层蛋白 A 的 C 末端 72 个氨基酸残基决定了核纤层蛋白 A 与 AHA1 蛋白在细胞中的共定位。

进一步通过免疫共沉淀的实验,将有助于确定 AHA1 蛋白在细胞中与核纤层蛋白 A 之间的相互作用,这不仅将有助于揭示一个核纤层蛋白 A 新的相互作用蛋白,以及 AHA1 蛋白更多的细胞功能,而且对阐明细胞衰老的机制将大有裨益。

参考文献

[1] Vaughan A, Alvarez-Reyes M, Bridger JM, et al. Both emerin and lamin C depend on lamin A for localization at the nuclear envelope [J]. J Cell Sci, 2001, 114(Pt 14): 2577-2590.

[2] Liu B, Zhou Z. Lamin A/C, laminopathies and premature ageing [J]. Histol Histopathol, 2008, 23(6): 747-763.

[3] Mounkes LC, Kozlov S, Hernandez L, et al. A progeroid syndrome in mice is caused by defects in A-type lamins [J]. Nature, 2003, 423(6937): 298-301.

[4] Pollex RL, Hegele RA. Hutchinson-Gilford progeria syndrome [J]. Clin Genet, 2004, 66(5): 375-381.

[5] Lammerding J, Schulze PC, Takahashi T, et al. Lamin A/C deficiency causes defective nuclear mechanics and mechanotransduction [J]. J Clin Invest, 2004, 113(3): 370-378.

[6] Liu B, Wang J, Chan KM, et al. Genomic instability in laminopathy-based premature aging [J]. Nat Med, 2005, 11(7): 780-785.

[7] Sisoula C, Trachana V, Patterson C, et al. CHIP-dependent p53 regulation occurs specifically during cellular senescence [J]. Free Radic Biol Med, 2011, 50(1): 157-165.

[8] Restall IJ, Lorimer IA. Induction of premature senescence by hsp90 inhibition in small cell lung cancer [J]. PLoS One, 2010, 5(6): e11076.

[9] Ran F, Gadura N, Michels CA. Hsp90 cochaperone Aha1 is a negative regulator of the Saccharomyces MAL activator and acts early in the chaperone activation pathway [J]. J Biol Chem, 2010, 285(18): 13850-13862.

[10] Mollapour M, Tsutsumi S, Truman AW, et al. (下转第 1350 页)

惟一能将数千种蛋白质同时分离与展示的分选技术,具有检测方法简便、快速,分辨率高和重复性好等优点。

在本实验中,笔者利用 2-DE 及其相应的 PDQuest 软件,将对照组 HL-60 细胞和 100 $\mu\text{mol/L}$ RSV 处理 12 h 后的 HL-60 细胞提取磷酸化蛋白点进行比对,得到对照组和白藜芦醇处理组蛋白点数分别为 243 个和 197 个,差异表达的蛋白质点数为 13 个。选取部分分辨清楚的差异点经过酶切,质谱鉴定了部分蛋白质,从 NCBI 蛋白质数据库中搜索其主要功能。一为核磷蛋白(nucleophosmin),是一种广泛表达的核蛋白,它穿梭于胞浆和细胞核之间,具有多种生物学功能,如核糖体蛋白的组装和运输,中心体折叠的操控,还有一个很重要的功能,肿瘤抑制因子 ARF 的调节。ER-60 蛋白酶是来自内质网降解了的内质网保守蛋白,具有半胱氨酸蛋白酶活性;带负电荷的磷脂类、磷脂酰肌醇等能够抑制 ER-60 蛋白酶对 ER-60 蛋白的降解。研究发现,ER-60 与蛋白质的折叠有关;CCT2 为伴侣蛋白含 TCP1,亚基 2,分布在细胞质,能够与核苷酸、ATP、未折叠蛋白等结合,具有调控细胞周期,参与蛋白折叠等功能;从这些蛋白质的功能可以看到,它们有一个共同点,就是都与蛋白质的折叠有关。在 ER 上,伴侣分子辅助的多肽折叠与修饰使蛋白获得成熟的转变。ER 内环境的稳定和有条不紊的信号调控是蛋白质正确折叠的关键,当有刺激使 ER 正确折叠蛋白的能力被削弱时,应激信号能通过 ER 膜传递到细胞核中,继而引起一系列特定的靶基因转录上调和蛋白质翻译水平下调,一种高度保守的未折叠蛋白反应(UPR)信号传导通路被激活^[6]。UPR 通过阻止普通蛋白的合成,同时上调 ER 残存伴侣蛋白或其他通路的调节成分,确保 ER 蛋白高效率地折叠。但是如果刺激得不到缓解,UPR 最终激发凋亡。另外,UPR 信号途径被激活后可以活化 UPR 受体,可以导致 Chop/GADD153 的活化,当其高表达能影响 ER 蛋白的折叠功能,并引起细胞周期停滞及 DNA 损伤,使细胞发生凋亡^[7]。

内质网蛋白质复杂的功能和折叠信号途径为本研究白藜芦醇诱导肿瘤细胞凋亡的机制提供了一个新的思路。同时通过双向电泳我们也发现了另外一些差异蛋白,如抑制素、磷脂酶 C- α 等蛋白有明显的表达差异,这些蛋白均与凋亡诱导相关,这为后续研究白藜芦醇诱导肿瘤细胞凋亡的机制提供了重要线索。

参考文献

- [1] Su JL, Lin MT, Hong CC, et al. Resveratrol induces FasL-related apoptosis through Cdc42 activation of ASK1/JNK-dependent signaling pathway in human leukemia HL-60 cells[J]. *Carcinogenesis* vol, 2005, 26(1): 1-10.
- [2] Stervbo U, Vang O, Bonnesen C, et al. Time- and concentration-dependent effects of resveratrol in HL-60 and HepG2 cells[J]. *Cell Prolif*, 2006, 39(6): 479-493.
- [3] Low IC, Chen ZX, Pervaiz S. Bcl-2 Modulates resveratrol-induced ROS production by regulating mitochondrial respiration in tumor cells[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 13(6): 1-14.
- [4] 常丽君, 何顺华, 吴睿, 等. 超氧阴离子参与白藜芦醇诱导的人急性早幼粒白血病 HL-60 细胞凋亡[J]. *汕头大学医学院学报*, 2011, 24(3): 129-134.
- [5] Petricoin EF, Zoon KC, Kohn EC, et al. Clinical proteomics: translating benchside promise into bedside reality[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 9(1): 683-695.
- [6] Szegezdi E, Fitzgerald U, Samali A. Caspase-12 and ER-stress-mediated apoptosis: the story so far[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2003, 1010: 186-194.
- [7] Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress[J]. *Cell Death Differ*, 2004, 11(4): 381-389.

(收稿日期: 2013-04-10)

(上接第 1347 页)

- Threonine 22 phosphorylation attenuates Hsp90 interaction with cochaperones and affects its chaperone activity[J]. *Mol Cell*, 2011, 41(6): 672-681.
- [11] Schmid S, Hugel T. Regulatory posttranslational modifications in hsp90 can be compensated by cochaperone aha1[J]. *Mol Cell*, 2011, 41(6): 619-620.
 - [12] Arimura T, Helbling-Leclerc A, Massart C, et al. Mouse model carrying H222P-Lmna mutation develops muscular dystrophy and dilated cardiomyopathy similar to human striated muscle laminopathies[J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(1): 155-169.
 - [13] Liu Y, Rusinol A, Sinensky M, et al. DNA damage responses in progeroid syndromes arise from defective maturation of prelamin A[J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt 22): 4644-4649.
 - [14] Dasuri K, Zhang L, Ebenezer P, et al. Aging and dietary restriction alter proteasome biogenesis and composition in the brain and liver[J]. *Mech Ageing Dev*, 2009, 130(11/12): 777-783.
 - [15] Lee CH, Park JH, Choi JH, et al. Heat shock protein 90 and its cochaperone, p23, are markedly increased in the aged gerbil hippocampus[J]. *Exp Gerontol*, 2011, 46(9): 768-772.
 - [16] Bostock CV, Soiza RL, Whalley LJ. Genetic determinants of age-

ing processes and diseases in later life[J]. *Maturitas*, 2009, 62(3): 225-229.

- [17] Melcer S, Hezroni H, Rand E, et al. Histone modifications and lamin A regulate chromatin protein dynamics in early embryonic stem cell differentiation[J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 910.
- [18] Krishna P, Gloor G. The Hsp90 family of proteins in Arabidopsis thaliana[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2001, 6(3): 238-246.
- [19] Lotz GP, Lin H, Harst A, et al. Aha1 binds to the middle domain of Hsp90, contributes to client protein activation, and stimulates the ATPase activity of the molecular chaperone[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(19): 17228-17235.
- [20] Haruta M, Sussman MR. The effect of a genetically reduced plasma membrane proton motive force on vegetative growth of Arabidopsis[J]. *Plant Physiol*, 2012, 158(3): 1158-1171.
- [21] Chua CS, Low H, Lehming N, et al. Molecular analysis of Plasmodium falciparum co-chaperone Aha1 supports its interaction with and regulation of Hsp90 in the malaria parasite[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(1): 233-245.

(收稿日期: 2013-04-08)