

李季东, 杨祥燕, 蔡元保, 等. 澳洲坚果蛋白磷酸酶基因 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 克隆与生物信息学分析 [J]. 福建农业学报, 2021, 36 (2): 176-181.

LI J D, YANG X Y, CAI Y B, et al. Cloning and Bioinformatics Analysis of Protein Phosphatase Genes *MiSTPP1* and *MiSTPP4* from *Macadamia integrifolia* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 36 (2): 176-181.

澳洲坚果蛋白磷酸酶基因 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 克隆与生物信息学分析

李季东, 杨祥燕, 蔡元保*, 李 穆, 曾黎明, 黄思婕,
巫辅民, 林玉虹, 郑文武, 黄锦媛

(广西壮族自治区农业科学院/广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西 南宁 530001)

摘 要:【目的】通过澳洲坚果蛋白磷酸酶基因 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 克隆与生物信息学分析, 以期阐明澳洲坚果蛋白磷酸酶基因的功能及作用机制提供参考依据。【方法】基于澳洲坚果转录组数据和 RT-PCR 方法克隆澳洲坚果蛋白磷酸酶基因, 利用生物信息学分析基因编码蛋白质的同源性、系统进化、理化性质、磷酸化位点、亚细胞定位、跨膜域和信号肽。【结果】获得 2 个新的澳洲坚果蛋白磷酸酶基因 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4*, GenBank 登录号分别为 MT374548 和 MT374551。氨基酸同源性分析表明, *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 与其他植物来源的 PP1 蛋白具有极高的序列相似度, 都包含典型结构域 MPP_PP1_PPKL。进化树分析表明, *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 与 PP1 家族蛋白的亲缘关系最近。蛋白基本理化性质分析表明, *MiSTPP1* 是一个不稳定的亲水性蛋白, 而 *MiSTPP4* 蛋白是一个稳定的亲水性蛋白。磷酸化位点分析表明, *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 都以丝氨酸和苏氨酸磷酸化为主。亚细胞定位、跨膜域和信号肽预测表明, *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 极可能定位于细胞质, 且都为非分泌蛋白和非跨膜蛋白。*MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 的二级结构和三维结构主要含有 α 螺旋和无规则卷曲。【结论】*MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 属于蛋白磷酸酶 PP1 家族基因, 推测在响应逆境胁迫、信号转导等生理生化过程中发挥作用。

关键词: 澳洲坚果; 蛋白磷酸酶 PP1; 基因克隆; 生物信息学分析

中图分类号: S 664.9

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2021) 02-0176-06

Cloning and Bioinformatics Analysis of Protein Phosphatase Genes *MiSTPP1* and *MiSTPP4* from *Macadamia integrifolia*

LI Jidong, YANG Xiangyan, CAI Yuanbao*, LI Mu, ZENG Liming, HUANG Sijie,
WU Fumin, LIN Yuhong, ZHENG Wenwu, HUANG Jinyuan

(Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530001, China)

Abstract: 【Objective】Two new protein phosphatase genes, *MiSTPP1* and *MiSTPP4*, from macadamia (*Macadamia integrifolia*) were cloned for structure and function analyses by bioinformatics. 【Method】The genes were cloned from *M. integrifolia* using transcriptome sequencing and RT-PCR technique. Homology, phylogenetic evolution, physicochemical properties, phosphorylation sites, subcellular localization, transmembrane domains, and signal peptides of the genes were analyzed. 【Result】The cloned *MiSTPP1* and *MiSTPP4* from *M. integrifolia* were assigned with the GenBank accession numbers MT374548 and MT374551, respectively. The amino acid sequences of the genes had a similarity to other plant PP1 proteins containing the same typical structural domain MPP_PP1_PPKL. The evolutionary tree analysis showed that they closely related to PP1 family proteins. The basic physicochemical properties of *MiSTPP1* indicated it be an unstable hydrophilic protein, and those of *MiSTPP4* a stable hydrophilic protein. Phosphorylation sites on the genes were principally

收稿日期: 2020-07-28 初稿; 2020-09-25 修改稿

作者简介: 李季东 (1993-), 男, 研究实习员, 研究方向: 设施园艺与栽培 (E-mail: 947439523@qq.com)

* 通信作者: 蔡元保 (1981-), 男, 硕士, 高级农艺师, 研究方向: 植物分子生物学 (E-mail: caiyuanbao205@163.com)

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31860537); 广西科技计划项目 (桂科 AB19245008); 广西农业科学院基本科研业务专项 (桂农科 2021YT154、桂农科 2020YM56)

serine and threonine. The predicted subcellular localization, transmembrane domain, and signal peptide suggested that *MiSTPP1* and *MiSTPP4*, as non-secretory and non-transmembrane proteins, were most likely located in the cytoplasm. The secondary and tertiary structures of the genes contained mainly α -helices and random coils. 【Conclusion】 *MiSTPP1* and *MiSTPP4* from macadamia belonged to the protein phosphatase PP1 gene family and might play a role in response to stress and signal transduction as well as other physiological and biochemical processes of the plant.

Key words: Macadamia (*Macadamia integrifolia*); protein phosphatase PP1; gene cloning; bioinformatics analysis

0 引言

【研究意义】低温、干旱、洪涝、盐碱等逆境胁迫是严重影响植物生长发育的环境因子，可导致植物产量和品质下降甚至死亡。植物通过细胞功能调节来抵御外界环境的逆境胁迫，尤其是蛋白质可逆磷酸化在细胞的新陈代谢、生长发育、增殖与凋亡、信号转导、基因调控等过程中发挥着重要的调控作用^[1-2]，而蛋白质可逆磷酸化主要由蛋白磷酸酶和蛋白激酶来平衡调控。因此，蛋白磷酸酶的功能研究对于了解蛋白质可逆磷酸化过程及植物耐逆机制研究具有重要意义。【前人研究进展】蛋白磷酸酶分为丝氨酸/苏氨酸磷酸酶、双特异性蛋白磷酸酶、酪氨酸磷酸酶3类，其中丝氨酸/苏氨酸磷酸酶(PP)又分为蛋白磷酸酶1(PP1)和蛋白磷酸酶2(PP2)^[3]。目前，国内外对PP2家族蛋白的生物学功能比较清楚，如番茄(*Solanum lycopersicum*) LePP2Ac、水稻(*Oryza sativa*) OsPp2a、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) AthPP2CA和玉米(*Zea mays*) ZmPP2C等^[4-5]；而对PP1家族蛋白的功能研究并不多，这个家族成员包括欧洲油菜(*Brassica napus*) BnPP1、野大豆(*Glycine soja*) GsPP1、豌豆(*Pisum sativum*) PsPP1和橙子(*Citrus sinensis*) CsPP1等^[6]。PP1家族蛋白主要作用于磷酸酶激酶的 β 亚单位，其活性主要受内源热稳定蛋白I-1和I-2的抑制^[7]。虽然从模式植物拟南芥、水稻、烟草、苜蓿、豌豆等多种植物的基因组DNA或cDNA文库中都分离到编码PP1蛋白催化亚基的基因^[6-8]，但是对于这些基因的功能及其编码蛋白的催化机制人们并不清楚。澳洲坚果又称夏威夷果，是山龙眼科(Proteaceae)澳洲坚果属(*Macadamia*)植物，原产于亚热带雨林，具有重要的营养价值和药用价值，享有“干果皇后”的美誉。虽然澳洲坚果在澳大利亚、美国夏威夷、肯尼亚和中国等地广泛种植，但是受其生长条件的限制，澳洲坚果无法进一步推广种植^[9-10]。【本研究切入点】目前，国内外仍未见澳洲坚果蛋白质磷酸酶的相关研究报道。在澳洲坚果抗寒转录组测序的基础上，采用RT-PCR克隆澳洲坚果蛋白磷酸酶基因，并利用生物信息学分析这些蛋白磷酸酶的结构和功

能。【拟解决的关键问题】基于前期的研究基础^[11]，本研究从澳洲坚果光壳种中克隆编码蛋白磷酸酶基因 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4*，并对其进行生物信息学分析，以期为深入研究澳洲坚果PP1家族蛋白的结构和功能及阐明其耐逆的分子机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为广西亚热带作物研究所澳洲坚果种质资源圃提供的澳洲坚果光壳种(*Macadamia integrifolia*)品种 Own Choice (O.C.)。对接穗为4个月苗龄的嫁接苗进行4℃低温处理0.5、1、3、6、12、24 h，采集这些低温处理后的幼嫩叶片，液氮速冻处理后-80℃保存备用。

1.2 总RNA提取及cDNA合成

参照蔡元保等^[12]的CTAB改良法提取澳洲坚果叶片总RNA，利用核酸蛋白检测仪分析所提取的总RNA纯度和浓度，用1.5%琼脂糖凝胶电泳检测提取的总RNA完整性，按照美国Invitrogen公司反转录试剂盒(Reverse Transcription System)说明书合成澳洲坚果cDNA。

1.3 澳洲坚果的 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 基因克隆

利用本课题组从澳洲坚果抗寒转录组中获得2个蛋白磷酸酶基因，利用Primer Premier 5.0软件在这2个基因开放阅读框(ORF)以外的区域设计引物 *MiSTPP1*-F 和 *MiSTPP1*-R，以及 *MiSTPP4*-F 和 *MiSTPP4*-R (表1)。所用引物全部由大连宝生物工程有限公司合成。

PCR反应体系15 μ L，包括澳洲坚果cDNA模板1.0 μ L，2 $\times$ Ex Taq PCR MasterMix 8.0 μ L，正向和反向引物各0.5 μ L，无菌ddH₂O补足至15 μ L。PCR扩增程序：95℃预变性2 min；94℃30 s，52.0℃或55.2℃(具体参考表1)30 s，72℃90 s，32个循环；72℃延伸10 min。PCR扩增产物经1.0%琼脂糖凝胶电泳检测后，采用天根琼脂糖凝胶回收试剂盒(DP209-02)进行回收与纯化，将其连接到T载体pMD18上，转化到大肠杆菌DH5 α 感受态细胞，并采用蓝白斑筛选方法挑取白色阳性克隆，送至上海生工生物工程有限公司进行序列测序。

表 1 基因 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 克隆所用引物序列

Table 1 Primer sequences used in cloning *MiSTPP1* and *MiSTPP4*

引物名称 Primer names	引物序列 (5'-3') Prime sequences	退火温度 T _m /°C
MiSTPP1-F	TTGCCATTCTCATAATAGAGC	52.0
MiSTPP1-R	TACCCAACACCTGTCATAAAC	
MiSTPP4-F	CCCTGCTGTTCTCGATGACTT	55.2
MiSTPP4-R	GCTTCTCCCTTTCTTTACACTTTT	

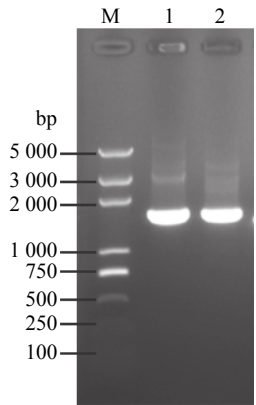
1.4 生物信息学分析

利用 NCBI 网站的 BLAST 程序 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行蛋白质序列和功能结构域的同源检索, 用 ORF Finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 进行开放阅读框 ORF 分析, 用 PROSITE (<http://prosite.expasy.org/scanprosite/>) 和 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 软件预测功能结构域, 用 ProtParam 软件 (<http://web.expasy.org/protparam/>) 分析目标蛋白质的理化性质, 用在线程序 NetPhos 3.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 预测磷酸化位点, 用 PSORT 软件 (<http://www.psort.org>) 分析蛋白质的亚细胞定位, 用 SignalP 4.1 软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测蛋白信号肽, 用 TMpred 软件 (http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html) 预测蛋白质的跨膜域, 用 SOPMA 软件 (<http://www.expasy.org>) 进行蛋白二级结构预测, 用在线程序 SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>) 预测蛋白质的三维结构。在 NCBI 网站 GenBank 中查找同源蛋白, 并用 DNAMAN 6.0 软件进行同源蛋白的系统进化树构建。

2 结果与分析

2.1 澳洲坚果 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 基因的 cDNA 全长克隆

以澳洲坚果叶片 cDNA 为模板, 采用特异性引物 *MiSTPP1*-F 和 *MiSTPP1*-R, 以及 *MiSTPP4*-F 和 *MiSTPP4*-R 分别扩增 2 个基因的开放阅读框 (ORF) (图 1)。测序结果表明, 澳洲坚果 *MiSTPP1* 基因的 cDNA 全长为 2 119 bp, ORF 长度为 1 053 bp, 编码 350 个氨基酸; *MiSTPP4* 基因的 cDNA 全长为 2 030 bp, ORF 长度为 981 bp, 编码 326 个氨基酸。利用 NCBI 网站的 BLAST 程序检索同源蛋白的结果表明, 这 2 个基因的编码蛋白和其他物种的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶 PP1 具有很高的序列相似性。因此, 将这 2 个基因分别命名为澳洲坚果的 *MiSTPP1*



注: M: Marker DL5000; 1: *MiSTPP1* 扩增产物; 2: *MiSTPP4* 扩增产物。

Note: M: Marker DL5000; 1: amplification product of *MiSTPP1*; 2: amplification product of *MiSTPP4*.

图 1 澳洲坚果 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 基因的克隆

Fig. 1 Isolations of *MiSTPP1* and *MiSTPP4* from *M. integrifolia*

和 *MiSTPP4* 基因, GenBank 登录号分别为 MT374548 和 MT374551。

2.2 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 氨基酸序列的同源性分析

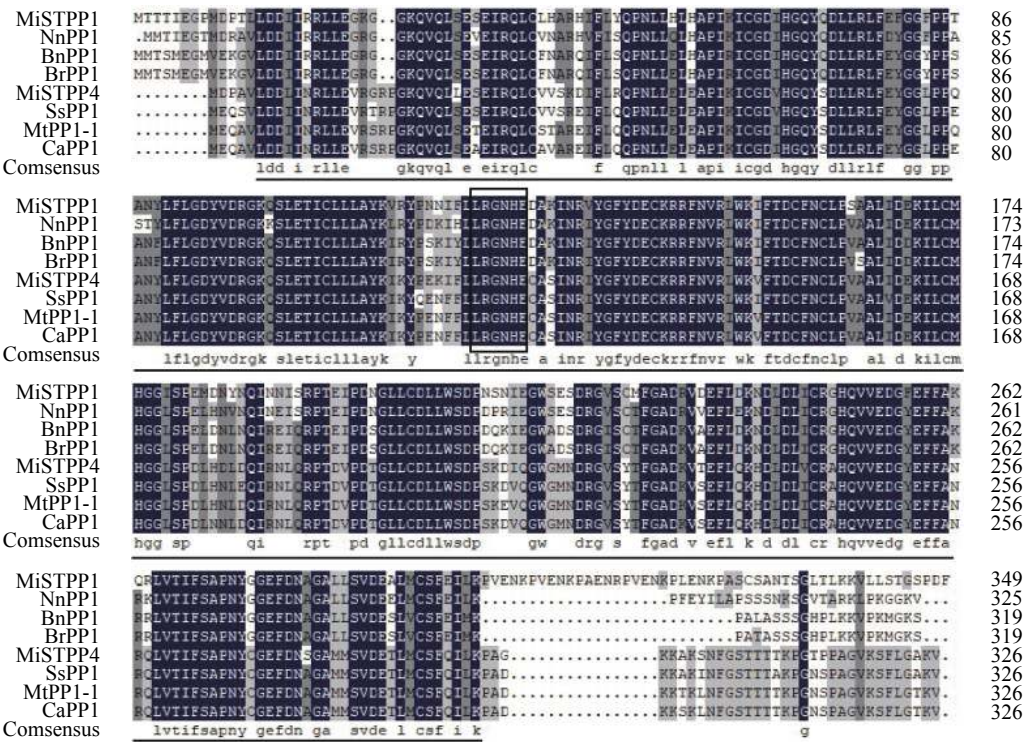
氨基酸多序列比对和功能结构域预测结果显示, 澳洲坚果 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 与其他植物来源的蛋白磷酸酶 PP1 家族成员的蛋白序列具有极高的相似度 (图 2)。其中, *MiSTPP1* 蛋白与水芙蓉 *NnPP1* (XP_010259515)、欧洲油菜 *BnPP1* (XP_013643938)、芜菁 *BrPP1* (XP_009151182) 的氨基酸序列相似度分别为 86.29%、83.72% 和 83.39%; *MiSTPP4* 蛋白与鸡血藤 *SsPP1* (TKY61334)、鹰嘴豆 *CaPP1* (XP_004495569)、蒺藜苜蓿 *MtPP1-1* (AES61198) 的氨基酸序列相似度分别为 92.02%、91.72% 和 91.41%。这些蛋白都含有 N 端的丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白磷酸酶特征序列 LRGNHE 及蛋白磷酸酶 PP1 家族的典型结构域 MPP_PP1_PPKL。

2.3 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 的系统进化树构建

丝氨酸/苏氨酸磷酸酶 (PP) 家族的系统进化树 (图 3) 显示, PP 家族分为 PP1 家族和 PP2 家族, 其中, PP1 家族成员又分成 2 个组, 澳洲坚果 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 被分在不同的组内, 其中 *MiSTPP1* 与水芙蓉 *NnPP1* (XP_010259515) 和罂粟 *PsPP1* (XP_026450203) 的亲缘关系最近; *MiSTPP4* 与橙子 *CsPP1* (XP_006487724) 和鸡血藤 *SsPP1* (TKY61334) 的亲缘关系最近, 推测这些亲缘关系近的 PP1 蛋白具有相同的进化起源及类似的结构和功能。

2.4 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 蛋白的基本理化性质分析

ProtParam 软件分析 *MiSTPP1* 蛋白的结果表明, 其相对分子质量为 39.57 kDa, 分子式 $C_{1764}H_{2747}N_{475}O_{524}S_{18}$, 等电点 (pI) 为 5.14, 负电荷残基数 (Asp+Glu) 为



注：结构域 MPP_PP1_PPKL 用下划线标出，丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白磷酸酶特征序列用方框标出。
Note: Domain MPP_PP1_PPKL is underlined, serine/threonine specific protein phosphatases signature is boxed.

图 2 MiSTPP1 和 MiSTPP4 与其他植物 PP1 蛋白的同源性比对结果
Fig. 2 Homology between MiSTPP1, MiSTPP4, and other PP1 proteins

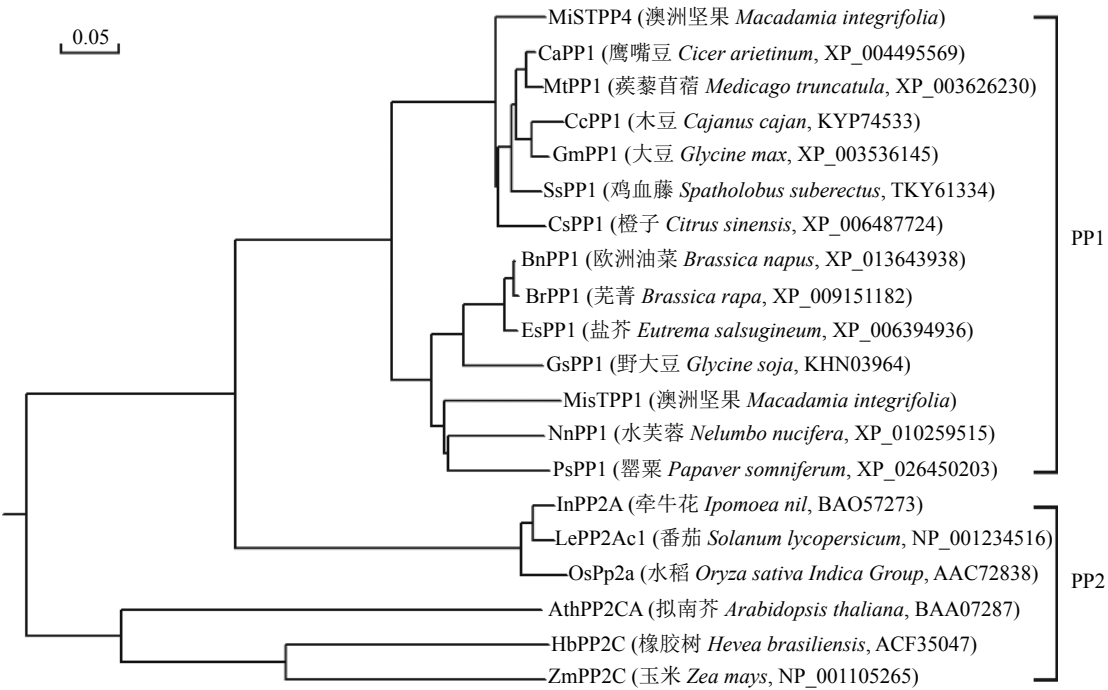


图 3 MiSTPP1 和 MiSTPP4 与其他植物 PP 蛋白的系统进化关系
Fig. 3 Relationship among phylogenetic trees of MiSTPP1, MiSTPP4, and other PP proteins

49 个，正电荷残基数（Arg+Lys）为 36 个，不稳定系数为 50.03（为不稳定蛋白），脂肪族指数为 90.54，亲水性总平均值（GRAVY）为 -0.274。因此，推测

MiSTPP1 蛋白是一个不稳定的亲水性蛋白。

ProtParam 软件分析 MiSTPP4 蛋白的结果表明，其相对分子质量为 36.74kDa，分子式为 $C_{1646}H_{2579}N_{439}O_{478}S_{18}$ ，

等电点 (pI) 为 5.75, 负电荷残基数 (Asp+Glu) 为 42 个, 正电荷残基数 (Arg+Lys) 为 37 个, 不稳定系数为 36.77 (为稳定蛋白), 脂肪族指数为 92.09, 亲水性总平均值 (GRAVY) 为-0.178。因此, 推测 MiSTPP4 蛋白是一个稳定的亲水性蛋白。

2.5 MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白的功能预测

在线程序 NetPhos 3.1 预测结果表明, MiSTPP1 蛋白有 23 个磷酸化位点, 其中丝氨酸 (Serine) 13 个, 苏氨酸 (Threonine) 7 个, 酪氨酸 (Tyrosine) 3 个; MiSTPP4 蛋白有 20 个磷酸化位点, 其中丝氨酸 (Serine) 8 个, 苏氨酸 (Threonine) 9 个, 酪氨酸 (Tyrosine) 3 个。PSORT 软件预测表明, MiSTPP1 和

MiSTPP4 蛋白定位于细胞质可能性都为 65%。SignalP 和 TMpred 软件预测显示, MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白都不存在跨膜结构和信号肽, 都为非分泌蛋白和非跨膜蛋白。

2.6 MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白的二级和三维结构预测

SOPMA 软件分析结果表明, 澳洲坚果 MiSTPP1 多肽链中主要含有无规则卷曲 (38.57%) 和 α -螺旋 (36.57%), 其次是折叠延伸链 (18.29%) 和 β -转角 (6.57%) (图 4-A); MiSTPP4 多肽链中主要含有 α -螺旋 (42.02%) 和无规则卷曲 (36.50%), 其次是折叠延伸链 (14.42%) 和 β -转角 (7.06%) (图 4-B)。

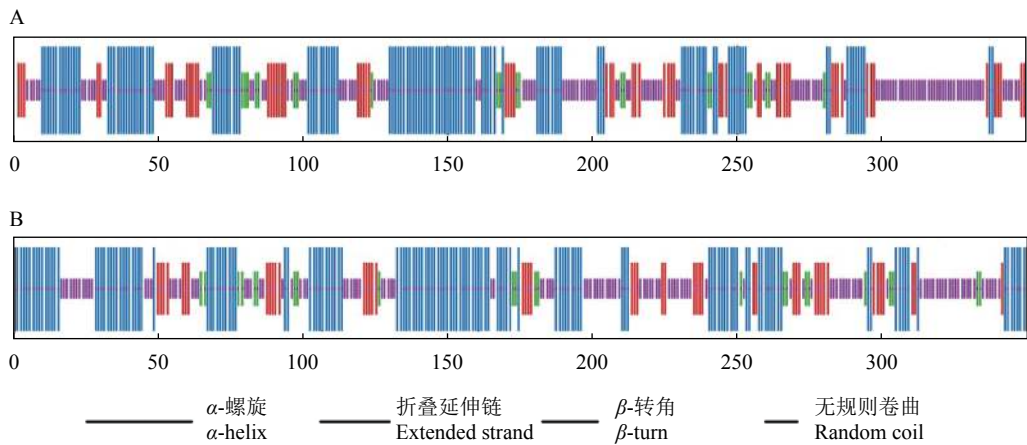


图 4 MiSTPP1 蛋白 (A) 和 MiSTPP4 蛋白 (B) 的二级结构分析
Fig. 4 Secondary structure of MiSTPP1 (A) and MiSTPP4 (B)

以丝氨酸/苏氨酸磷酸酶 PP1 的晶体结构 (PDB ID: 1s70.1.A) 为同源模板, 利用 Swiss-model 软件构建 MiSTPP1 蛋白的三维预测模型。结果表明, MiSTPP1 蛋白的氨基酸序列与模板序列一致性为 69.55%, GMQE 值为 0.78, 其核心结构主要由无规

卷曲和 α -螺旋组成 (图 5-A)。同样, 以丝氨酸/苏氨酸磷酸酶 PP1 的晶体结构 (PDB ID: 6dcx.2.A) 为同源模板, 利用 Swiss-model 软件构建 MiSTPP4 蛋白的三维预测模型。结果表明, MiSTPP4 蛋白的氨基酸序列与模板序列一致性为 76.42%, GMQE 值为 0.83,

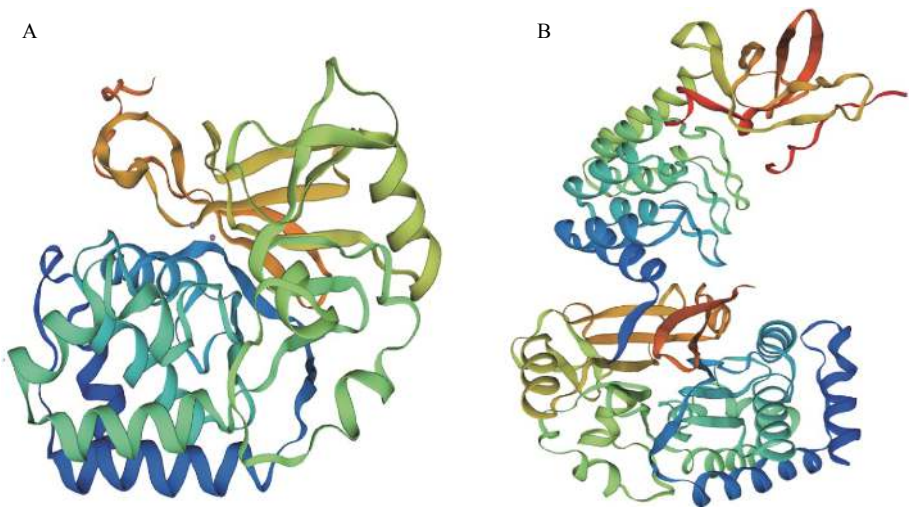


图 5 MiSTPP1 蛋白 (A) 和 MiSTPP4 蛋白 (B) 的三维结构分析
Fig. 5 3D configurations of MiSTPP1 (A) and MiSTPP4 (B)

其核心结构主要由 α -螺旋和无规卷曲组成 (图 5-B)。MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白的三维模型组分与其二级结构的预测结果相符合。

3 讨论

丝氨酸/苏氨酸磷酸酶 PP1 家族成员在细胞信号转导、新陈代谢、生长与凋亡等多种细胞生理生化过程中广泛表达, 且其蛋白序列与结构在长期进化中也高度保守^[13]。本研究利用本课题组澳洲坚果抗寒转录组数据信息, 通过 RT-PCR 技术成功获得了属于 PP1 基因家族的澳洲坚果 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 基因 cDNA 全长。蛋白序列和系统进化树分析表明, MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白与其他植物 PP1 蛋白具有极高的序列相似度, 都属于 PP1 进化分支, 都含有 PP1 家族的典型结构域 MPP_PP1_PPKL, 尤其是 N 端都含有丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白磷酸酶特征序列 LRGNHE。这些为 MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白的结构与功能研究提供氨基酸序列基础。

蛋白基本理化性质分析表明, MiSTPP1 蛋白是一个不稳定的亲水性蛋白, 而 MiSTPP4 蛋白是一个稳定的亲水性蛋白。蛋白磷酸化位点分析表明, MiSTPP1 蛋白以丝氨酸磷酸化为主, 而 MiSTPP4 蛋白以丝氨酸和苏氨酸磷酸化为主, 结合磷酸化修饰在蛋白功能中的作用^[14-15], 推测这两类氨基酸进行磷酸化修饰时在各自蛋白行使功能中发挥重要的作用。蛋白亚细胞定位、跨膜结构和信号肽预测表明, MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白极可能定位于细胞质, 推测这两个蛋白作为非分泌蛋白或非跨膜蛋白行使其生物学功能。蛋白二级结构和三级结构分析表明, MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白的二级和三级结构主要由 α -螺旋和无规卷曲组成, 并夹杂着折叠延伸链, 尤其是预测的三维结构模型与 PP1 家族已知的晶体结构具有极高的一致性 (分别达到 69.55% 和 76.42%)。说明 PP1 蛋白在长期的物种进化过程中, MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白同其他 PP1 家族成员一样, 其蛋白的空间结构高度保守, 推测其有类似的生物学功能。

鉴于 MiSTPP1 和 MiSTPP4 蛋白与其他功能已知的 PP1 家族成员具有极高的亲缘关系和空间结构相似性, 可以初步推测 *MiSTPP1* 和 *MiSTPP4* 基因在响应逆境胁迫、信号转导、生长发育等生理生化过程中发挥重要的作用。但是, 其具体的功能还需要通过亚细胞定位、酵母自激活及遗传转化等技术进行深入研究, 从而为阐明澳洲坚果 PP1 蛋白的分子调控机制提供科学依据。

参考文献:

[1] VIRSHUP D M. Protein phosphatase 2A: A panoply of enzymes [J].

Current Opinion in Cell Biology, 2000, 12 (2): 180-185.

- [2] JANSSENS V, GORIS J. Protein phosphatase 2A: A highly regulated family of serine/threonine phosphatases implicated in cell growth and signalling [J]. *Biochemical Journal*, 2001, 353 (3): 417-439.
- [3] MUMBY M C, WALTER G. Protein serine/threonine phosphatases: Structure, regulation, and functions in cell growth [J]. *Physiological Reviews*, 1993, 73 (4): 673-699.
- [4] 杜驰, 张富春. 植物蛋白磷酸酶2C在非生物胁迫信号通路中的调控作用 [J]. *生物技术通报*, 2014 (8): 16-22.
DU C, ZHANG F C. Protein Phosphatases II C in plants are involved in abiotic stress tolerance of several signaling pathways [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2014 (8): 16-22. (in Chinese)
- [5] 张继红, 陶能国. 植物 PP2C 蛋白磷酸酶 ABA 信号转导及逆境胁迫调控机制研究进展 [J]. *广西植物*, 2015, 35 (6): 935-941.
ZHANG J H, TAO N G. Research progress of plant PP2C-type protein phosphatase in ABA signal transduction and adversity stress regulation mechanism [J]. *Guthaia*, 2015, 35 (6): 935-941. (in Chinese)
- [6] SMITH R D, WALKER J C. Plant protein phosphatases [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996, 47 (1): 101-125.
- [7] FARKAS I, DOMBRÁDI V, MISKEI M, et al. *Arabidopsis* PPP family of serine/threonine phosphatases [J]. *Trends in Plant Science*, 2007, 12 (4): 169-176.
- [8] GUO Y L, ROUX S J. Partial purification and characterization of a type I protein phosphatase in purified nuclei of pea plumules [J]. *The Biochemical Journal*, 1996, 319 (Pt 3): 985-991.
- [9] DUDUZILE BUTHELEZI N M, SAMUKELO MAGWAZA L, ZERAY TESFAY S. Postharvest pre-storage processing improves antioxidants, nutritional and sensory quality of *Macadamia* nuts [J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 251: 197-208.
- [10] HERBERT S W, WALTON D A, WALLACE H M. The influence of pollen-parent and carbohydrate availability on *Macadamia* yield and nut size [J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 251: 241-246.
- [11] 蔡元保, 杨祥燕, 陈显国, 等. 澳洲坚果 SCoT 反应体系的建立及应用 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2013, 21 (3): 253-258.
CAI Y B, YANG X Y, CHEN X G, et al. Establishment and application of SCoT amplification system for *Macadamia* [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2013, 21 (3): 253-258. (in Chinese)
- [12] 蔡元保, 杨祥燕, 孙光明, 等. 菠萝花发育相关基因 AcMADS1 的克隆与组织表达特性分析 [J]. *植物学报*, 2014, 49 (6): 692-703.
CAI Y B, YANG X Y, SUN G M, et al. Cloning of flowering-related gene AcMADS1 and characterization of expression in tissues of pineapple (*Ananas comosus*) [J]. *Bulletin of Botany*, 2014, 49 (6): 692-703. (in Chinese)
- [13] KOSTICH M, ENGLISH J, MADISON V, et al. Human members of the eukaryotic protein kinase family [J]. *Genome Biology*, 2002, 3 (9): 0043.
- [14] BARRERO-GIL J, SALINAS J. Post-translational regulation of cold acclimation response [J]. *Plant Science*, 2013, 205/206: 48-54.
- [15] 阮班军, 代鹏, 王伟, 等. 蛋白质翻译后修饰研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2014, 36 (7): 1027-1037.
RUAN B J, DAI P, WANG W, et al. Progress on post-translational modification of proteins [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2014, 36 (7): 1027-1037. (in Chinese)

(责任编辑: 张梅)