

文章编号: 1000-1336(2011)06-0809-05

植物叶绿体和线粒体蛋白质转运

张玉娟^{1,2} 张燕琼¹ 文建凡¹¹中国科学院昆明动物研究所遗传资源与进化国家重点实验室, 昆明 650223²重庆师范大学生命科学学院, 重庆 401331

摘要: 组成叶绿体和线粒体的绝大多数蛋白质都是由核基因编码, 经转录翻译后需通过专门的转运到达这两种细胞器以行使功能。有关植物细胞叶绿体和线粒体蛋白质转运的研究近年来已取得一些重要进展, 包括新受体蛋白的发现, 更为普遍的双定位的发现, 甚至全新的转运途径的发现等。此外, 该领域的研究方法也有了新发展。本文将这些新的进展进行综述, 并就该研究领域的发展做了展望。

关键词: 信号肽; 双定位; 受体蛋白

中图分类号: Q55

线粒体中约含有1,000~3,000种蛋白质, 其中只有一少部分(约10来种)是由线粒体自身合成的, 而绝大多数的线粒体蛋白质是由核基因组编码^[1]。后者在细胞质中的核糖体上合成后, 经过转运进入线粒体内行使功能。线粒体覆盖有两层膜组成的包被, 胞质中合成的蛋白质就是由位于外膜上的转运复合体(translocon at the outer envelope membrane of mitochondria, Tom)和位于内膜上的转运复合体(translocon at the inner envelope membrane of mitochondria, Tim)所介导, 以“后转运”的方式运入线粒体, 定位于外膜、膜间隙、内膜或基质中。

叶绿体蛋白质约3000种, 而叶绿体基因组编码合成的蛋白质也只有大约50种, 90%以上的蛋白质由核基因编码, 在细胞质中的核糖体上合成, 之后经后转运过程进入叶绿体中^[2]。其转运过程与上述线粒体的相似, 只是叶绿体外膜和内膜的转运复合体分别为Toc(translocon at the outer envelope membrane of chloroplasts)和Tic(translocon at the inner envelope

membrane of chloroplasts)。此外, 有很多蛋白质还要进一步穿过类囊体膜进入内腔。

在这些由核基因编码的叶绿体、线粒体蛋白质中, 大多数蛋白质具有高度的胞器特异性, 需要精确的转运以定位于特定的胞器。而其它一些蛋白质, 如那些涉及修复、复制、转录和翻译细胞器基因组的蛋白质, 则可转运到这两个细胞器中的任意一个, 在其中均可发挥作用。近年来, 越来越多的研究发现线粒体与叶绿体之间的这种“双定位”是普遍存在的^[3]。这不仅对传统的信号肽决定细胞特异性定位提出了新认识, 也增加了人们对于同时具有叶绿体、线粒体这样的光合生物的蛋白质定位进化发展方式的兴趣。另外, 新的研究还发现相同细胞器上的受体蛋白在不同物种中有差异, 比如参与蛋白质转运的植物线粒体受体蛋白与酵母和动物线粒体中的受体蛋白在许多方面不同。而叶绿体、线粒体这两种不同细胞器上却发现存在相似的受体蛋白。还有, 除了传统的蛋白质翻译后通过受体识别特定氨基酸序列运入细胞器, 靠RNA的特异性介导的共翻译转运机制也已经在线粒体外膜得到证实; 除了依赖传统的膜整合的转运复合体, 叶绿体外的一些胞质因子组成了胞质引导系统引导蛋白质到达叶绿体外膜; 研究蛋白质定位的实验技术也经历了从离体间接分析到活体直观分析, 从单个分析到高通量筛选。

收稿日期: 2011-04-08

科技部973项目课题(2007CB815705); 国家自然科学基金项目(90408016; 30830018); 遗传资源与进化国家重点实验室开放课题(GREKF11-09); 重庆师范大学博士启动基金项目(11XLB001)资助

作者简介: 张玉娟(1980-), 女, 博士, 讲师, E-mail: yujuanzhang418@gmail.com; 张燕琼(1982-), 女, 博士生, E-mail: zhangyq05@post.kiz.ac.cn; 文建凡(1965-), 男, 博士, 教授, 通讯作者, E-mail: wenjf@mail.kiz.ac.cn

本文拟对植物细胞中叶绿体和线粒体蛋白质转运领域的一些最新进展进行综述，并对该领域的发发展研究做展望。

1. 受体蛋白方面研究的新进展

核基因编码翻译的蛋白质是通过线粒体或叶绿体内、外膜上的转运复合体运入相应细胞器的。近年来有关线粒体内外膜的Tim、Tom复合体和叶绿体内外膜的Tic、Toc复合体的研究又取得了一系列重要进展。

有研究显示线粒体受体蛋白在不同物种中有差异，植物、动物和真菌三者的线粒体外膜受体蛋白有很多的不同之处。如，植物基因组缺少编码酵母线粒体Tom70的基因；酵母线粒体外膜Tom22在植物中则是由一个分子量更小、缺乏胞质结构域的Tom9所代替；Tom20是目前研究的最清楚的线粒体外膜转运复合体成分，拟南芥Tom20蛋白的核磁共振(NMR)图像显示了该复合体的C端暴露在胞质中^[4]，然而动物、真菌中的Tom20却是N端暴露在胞质中。分析还表明植物Tom20并非动物、真菌Tom20的直系同源物。它们之间的序列相似性更像是趋同进化的结果^[4,5]。这说明，植物线粒体和动物、真菌线粒体外膜上相应的受体蛋白并非都有着共同的祖先来源。

令人吃惊的是发现叶绿体、线粒体这两种不同细胞器上存在相似的受体蛋白，如叶绿体蛋白质转运复合体成员的同源物也发现存在于拟南芥线粒体蛋白质组中。叶绿体外膜转运复合体成分Toc64，被命名为mtOM64。mtOM64与Toc64分子有高达67%的相似性，并呈现免疫交叉反应。但GFP融合蛋白实验显示该同源物只出现在线粒体外膜^[6]。目前关于OM64在蛋白质转运中的具体作用仍不清楚。近期的分子鉴定功能试验还证实了拟南芥线粒体和叶绿体具有相同的核酸转运蛋白，NAD⁺载体蛋白(NAD⁺ carrier protein)^[7]。两个细胞器之间相同转运受体蛋白的发现这让这两种细胞器之间通过何种机制建立特异性蛋白转运的问题变得更加复杂。极有可能的一种机制是通过一个多步骤的量控过程。在了解这种分选特异性机制之前，更好的认识植物线粒体转运受体蛋白将是重要的。

2. 双定位现象的更普遍发现

双定位是指同一个基因编码的产物定位到两个或多个细胞部位、并发挥相同功能的现象。过去认为线粒体与叶绿体间的双定位现象很少见，毕竟两

个细胞器之间功能迥异。然而，近几年来发现越来越多的蛋白质具有这种双定位现象，比如近期在西红柿中发现，细胞色素c1(cytochrome c1)既定位到线粒体又定位到叶绿体^[8]。这主要归因于研究者对于线粒体和叶绿体间双定位现象的越来越多的关注和GFP融合蛋白技术的广泛应用。

为什么蛋白质在向线粒体和叶绿体运输的过程中，既要保持专一性转运又要保持双定位转运呢？Mackenzie等^[3]认为核基因编码的线粒体或叶绿体蛋白分为两类：一类是参与两个细胞器各自特殊的生理活动的，比如在叶绿体内参与光合作用及碳水化合物合成或在线粒体内参与呼吸链电子传递及生成ATP等活动的蛋白质。这些蛋白质需要利用专一的信号肽识别专一的受体蛋白，以保证转运的正确性。另一类是参与两个细胞器所共有的功能，如：DNA复制、修复、转录、翻译和蛋白质水解等。这些蛋白质的转运则可采用更经济节约的双定位机制。基于线粒体比叶绿体起源更早。已经建立起来的用于转运蛋白进入线粒体的系统，可能被后来的叶绿体所再利用^[9]。事实也证明双定位到线粒体和叶绿体的蛋白质参与的过程通常是两个细胞器所共有的。以氨酰-tRNA合成酶的定位为例，在已发现的24个细胞器氨酰tRNA合成酶中，有17个双定位到线粒体和叶绿体^[10-12]。

实现双定位的具体机制可以从两方面来看：一方面是受体蛋白、线粒体、叶绿体外膜共同的受体蛋白(如OM64)可以识别同一个蛋白所携带的信号肽；另一方面是特殊形式的信号肽、孪生前导序列(Twin presequence)和模糊的前导序列(Ambiguous presequence)可以被两个细胞器上不同的受体所识别^[9]。

通过可变转录起点，或可变翻译起点，或可变外显子剪接，一个基因可以产生两个或多个具有不同的N端前导序列但功能相同的蛋白质产物，这样的前导序列被称为孪生前导序列^[9]。菠菜中有一种叶绿素(分布在叶绿体)和血红素(分布在叶绿体和线粒体)发生所必需的原卟啉原氧化酶II(protoporphyrinogen oxidase II)被证明是双定位的。这个蛋白质对应的mRNA在开放阅读框有两个起始密码子，可变翻译产生的长度较长的被运入叶绿体，另一条较短的则被运入线粒体^[13]。拟南芥THI1蛋白(维生素B1合成途径中的一种酶)也是采用两个可变的翻译起点实现双定

位的，同样是可变翻译产生的长度较长的被运入叶绿体，较短的被运入线粒体^[14]。

另外，通过拥有一段模糊的前导序列，同一个蛋白质也可以实现双定位。该信号既可以被线粒体又可以被叶绿体的膜外受体所识别，尽管所识别的可能并非前导序列上的同一段区域。Peeters等^[9]调查了21个双定位到叶绿体和线粒体中的蛋白质，发现其中19个蛋白质具有被两种细胞器识别的模糊的前导肽。最近，对于豌豆中谷胱甘肽还原酶前导肽的研究发现，前导肽中不同的部分分别控制着蛋白质转运进入线粒体和叶绿体的有效性^[15]。关于这些序列为什么不具备像其他定位序列那样的高度特异性而能被两种细胞器所识别目前仍未知。有两种解释：一种解释是模糊的前导序列是一种新型的信号序列，不同于过去所发现的信号肽，它能被两个细胞器上共同的受体和转运途径所识别；另一种解释是，模糊的前导序列包含了混合的信号，能被两个细胞器上不同的转运途径所识别^[9]。

双定位是个复杂的过程，双定位蛋白质的最终目的地由好几种机制中的一种决定。发展计算生物学在基因组的基础上预测蛋白质定位、识别更多的指导到达不同部位的信号肽以及活体荧光蛋白检测，将为进一步了解双定位的机制提供帮助。

3. 新转运途径的发现

线粒体和叶绿体之间如何保持定位特异性？近年来发现的一些新的转运途径有助于解释这一问题。首先，定位特异性可以通过mRNA定位到特定细胞器来决定，这样使得mRNA的产物在细胞器表面翻译表达出来。微阵列分析了423条编码产物为线粒体蛋白质的mRNA序列的定位情况，结果显示这些mRNA并非均一分布，它们中的相当一部分附着在线粒体表面的核糖体上^[16]。Oxa1蛋白是核编码的线粒体蛋白，它在线粒体内膜发挥转运酶的作用，将细胞色素氧化酶、F0F1-ATP合成酶等的亚单位插入内膜^[17-19]。RT-PCR分析酵母细胞和人HeLa细胞纯化的胞质核糖体和线粒体附着核糖体上的mRNA时，发现OXA1 mRNA富集在线粒体附着核糖体上。荧光蛋白显示，OXA1 mRNA的3'端非翻译区有特殊性质，该3'UTR能将外源RNA定位到线粒体附近^[20]。翻译后的蛋白质临近线粒体表面的受体，这些受体识别临近蛋白质的信号肽，从而便利了线粒体蛋白的有效转

入。这可以解释为什么植物细胞中线粒体蛋白能保持高效转入，而且在整个细胞背景中，线粒体表面是如此之小的情况下，一个前体蛋白质仍然能够找到线粒体表面^[21]。

其次，定位特异性还可以通过叶绿体附近的胞质引导系统(cytosolic guidance system)实现。研究认为叶绿体蛋白质运入中存在胞质引导系统(cytosolic guidance system)。有一种胞质引导系统以14-3-3蛋白为主。它能够识别胞质中N端信号肽被磷酸化的叶绿体前体蛋白质，然后与热激蛋白Hsp70或者其它仍未发现的胞质因子组成引导复合体(guidance system)，将叶绿体前体蛋白质带到叶绿体外膜的转运复合体，信号肽去磷酸化后前体蛋白质被转运。尽管磷酸化并非叶绿体蛋白质运入的必要条件^[22]，但它有助于保持特定时期蛋白质定位的特异性。通常只有那些能被线粒体识别的信号肽需要先磷酸化才被叶绿体胞质引导系统所识别。

另一种胞质引导系统由Toc159实现。Toc159本来是叶绿体外膜转运复合体Toc上的一个成分，现在发现它可以通过可溶性和膜整合两种方式交替存在，作为移动的叶绿体前体蛋白质信号肽受体发挥作用。叶绿体前体蛋白质可以通过结合可溶性的叶绿体Toc159受体，而被带到叶绿体表面，从而避免被线粒体表面转运复合体所识别^[23,24]。

4. 研究技术方法的新发展

几十年来以差式离心法和密度梯度离心法为基础的细胞器纯化方法，已经为细胞器蛋白质组学的研究奠定了基础。质谱(mass spectrometry)和微升/纳升级高效液相色谱(micro- and nano-flow liquid chromatography)领域的进展提供了直接的不依赖凝胶分离的分析质体和线粒体蛋白质组的方法。这一方法已应用于质体^[25-27]和线粒体^[28]的研究中。综合已发表的数据，大概1000多个非冗余的蛋白质已经被发现定位在叶绿体，将近550个非冗余的蛋白质则发现在线粒体。考虑到蛋白质定位是一个动态的，受环境、细胞条件影响的过程，高通量的亚细胞分离技术显然不能反映真实的蛋白质组定位情况。荧光蛋白技术为活体研究中有效的研究单个蛋白质的亚细胞定位提供可能。一系列的荧光蛋白被使用，最常用的是绿色荧光蛋白(GFP)。近年来高通量的GFP技术蛋白质定位已经在拟南芥上开展，大大提高了分析

的效率^[29]。尽管有了很大进步，每个工作于这一领域的研究者都认为目前的实验技术严重低估了细胞器中蛋白质数目。

已经发展起来的许多预测方法能够根据蛋白质N端的定位信号判断蛋白质的定位，包括早期的Target P^[30]和最新的三种软件：Predotar^[31]、LOCtree^[32]和MultiLoc^[33]，以及专门用于预测双定位模糊前导序列的软件ATP^[34]。它们对于判断蛋白质的亚定位有一定辅助作用，但所有的预测软件均有较高的假阳性和假阴性，几乎不能识别1/2到3/4的真实定位到细胞器的蛋白质^[35]。

考虑到生物信息方法的限制和现有实验技术的缺陷(有限的敏感性导致不能检测低丰度蛋白质)，研究者越来越倾向使用高级的整合的方法，整合一系列不同的数据，包括遗传数据、基因表达数据和比较基因组学的研究数据。每一个这样的单项数据是不足的，但整合的结果对于特定蛋白质的定位能做出强有力的推论。目前这些新方法在酵母线粒体上得到很好的应用^[36]。

5. 展望

蛋白质定位领域内一些曾被广泛接受的理念已经开始动摇甚至被推翻。首先就是发现一些细胞器定位的蛋白质在蛋白质序列上根本不含有信号，它们对应的mRNA序列的3'非翻译区含有特定的碱基序列，这些特定的碱基序列被胞质内的特定受体识别，进而被带到线粒体表面附着的核糖体，在线粒体表面翻译后以共转移机制转运进入线粒体。这种mRNA信号的发现大大超越了蛋白质定位信号学说的鼻祖Gunter Blobel在1975提出的信号假说概念，即蛋白在其氨基酸序列中包含有将蛋白质定位到膜上的信号肽。现在我们可以说蛋白质的定位信息不仅存在于氨基酸层次，也可能存在于mRNA水平；同时，线粒体表面存在mRNA信号介导的蛋白质转运途径，也推翻了过去认为的核编码的细胞器蛋白质只有翻译完成后才转入细胞器。因为这些附着在线粒体表面核糖体上的mRNA可以共转运进入细胞器；其次，双定位情况表明同样的定位信号可能指导蛋白质到达不同的区室，这不同于过去普遍认为的特定的信号指导蛋白质定位到达特定的部位；蛋白质的定位如何既保持特异性，又保持兼容性正是目前的研究热点；另外，蛋白质转运复合体上的成分并不

一定固定在膜上，它可以以可溶性和膜整合方式循环存在，比如Toc159分子。还有一系列额外的内部信号和外部信号贡献于蛋白质的分选，包括细胞器表面独特脂质组成以及光、发育、代谢、生理节律变化和环境压力的调控等均能够干扰一个蛋白质的最终定位。总的来说蛋白质定位不再是我们过去所认为的信号和受体识别所介导的单一过程，蛋白质定位是一个动态的，随环境变化不断调整的过程。

越来越多的新发现充实了我们对于蛋白质定位信号系统的认识，同时也使我们意识到面临的问题越来越复杂。其中有许多问题和细节迄今仍未弄清楚，或停留在推测和零星的证据上。究其原因，一个重要的因素就是大量的有关研究主要集中在高等的多细胞真核生物上，而一些低等的单细胞藻类生物的研究成果还显得很不够深入，许多问题仍需要继续探索。今后随着高通量的实验技术以及预测蛋白质定位的计算生物学的发展，整合地研究影响蛋白质定位的各个方面，将使得叶绿体和线粒体蛋白质定位的机制日趋明确，并将被广泛地应用于与蛋白质转运相关疾病的诊断、新药的设计和开发、临床治疗等多个领域。

参 考 文 献

- [1] Mokranjac D *et al.* Protein import into mitochondria. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33: 1019-1023
- [2] Keegstra K *et al.* Protein import and routing systems of chloroplasts. *Plant Cell*, 1999, 11: 557-570
- [3] Mackenzie SA. Plant organellar protein targeting: a traffic plan still under construction. *Trends Cell Biol*, 2005, 15: 548-554
- [4] Perry AJ *et al.* Convergent evolution of receptors for protein import into mitochondria. *Curr Biol*, 2006, 16: 221-229
- [5] Lister R *et al.* Mitochondrial protein import: convergent solutions for receptor structure. *Curr Biol*, 2006, 16: R197-R199
- [6] Chew O *et al.* A plant outer mitochondrial membrane protein with high amino acid sequence identity to a chloroplast protein import receptor. *FEBS Lett*, 2004, 557: 109-114
- [7] Palmieri F *et al.* Molecular identification and functional characterization of *Arabidopsis thaliana* mitochondrial and chloroplastic NAD⁺ carrier proteins. *J Biol Chem*, 2009, 284: 31249-31259
- [8] Rodiger A *et al.* Dual targeting of a mitochondrial protein: the case study of cytochrome c1. *Mol Plant*, 2011, 4: 679-687
- [9] Peeters N *et al.* Dual targeting to mitochondria and chloroplasts. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1541: 54-63
- [10] Duchene AM *et al.* Dual targeting is the rule for organellar aminoacyl-tRNA synthetases in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl*

- Acad Sci USA*, 2005, 102: 16484-16489
- [11] Brandao MM et al. Evolutionary history of *Arabidopsis thaliana* aminoacyl-tRNA synthetase dual-targeted proteins. *Mol Biol Evol*, 2011, 28: 79-85
- [12] Berglund AK et al. Dual targeting to mitochondria and chloroplasts: characterization of Thr-tRNA synthetase targeting peptide. *Mol Plant*, 2009, 2: 1298-1309
- [13] Watanabe N et al. Dual targeting of spinach protoporphyrinogen oxidase II to mitochondria and chloroplasts by alternative use of two in-frame initiation codons. *J Biol Chem*, 2001, 276: 20474-20481
- [14] Chabregas SM et al. Dual targeting properties of the N-terminal signal sequence of *Arabidopsis thaliana* THI1 protein to mitochondria and chloroplasts. *Plant Mol Biol*, 2001, 46: 639-650
- [15] Rudhe C et al. N-terminal domain of the dual-targeted pea glutathione reductase signal peptide controls organellar targeting efficiency. *J Mol Biol*, 2002, 324: 577-585
- [16] Marc P et al. Genome-wide analysis of mRNAs targeted to yeast mitochondria. *EMBO Rep*, 2002, 3: 159-164
- [17] Zhang YJ et al. The evolution of YidC/Oxa/Alb3 family in the three domains of life: a phylogenomic analysis. *BMC Evol Biol*, 2009, 9: 137
- [18] Hell K et al. Oxalp acts as a general membrane insertion machinery for proteins encoded by mitochondrial DNA. *EMBO J*, 2001, 20: 1281-1288
- [19] Facey SJ et al. The mechanosensitive channel protein MscL is targeted by the SRP to the novel YidC membrane insertion pathway of *Escherichia coli*. *J Mol Biol*, 2007, 365: 995-1004
- [20] Sylvestre J et al. The role of the 3' untranslated region in mRNA sorting to the vicinity of mitochondria is conserved from yeast to human cells. *Mol Biol Cell*, 2003, 14: 3848-3856
- [21] Chew O et al. Just read the message: a model for sorting of proteins between mitochondria and chloroplasts. *Trends Plant Sci*, 2004, 9: 318-319
- [22] Nakrieko KA et al. Fidelity of targeting to chloroplasts is not affected by removal of the phosphorylation site from the transit peptide. *Eur J Biochem*, 2004, 271: 509-516
- [23] Hiltbrunner A et al. Targeting of an abundant cytosolic form of the protein import receptor at Toc159 to the outer chloroplast membrane. *J Cell Biol*, 2001, 154: 309-316
- [24] Bedard J et al. Recognition and envelope translocation of chloroplast preproteins. *J Exp Bot*, 2005, 56: 2287-2320
- [25] Ferro M et al. Proteomics of the chloroplast envelope membranes from *Arabidopsis thaliana*. *Mol Cell Proteomics*, 2003, 2: 325-345
- [26] Peltier JB et al. New functions of the thylakoid membrane proteome of *Arabidopsis thaliana* revealed by a simple, fast, and versatile fractionation strategy. *J Biol Chem*, 2004, 279: 49367-49383
- [27] Friso G et al. In-depth analysis of the thylakoid membrane proteome of *Arabidopsis thaliana* chloroplasts: New proteins, new functions, and a plastid proteome database. *Plant Cell*, 2004, 16: 478-499
- [28] Kristensen BK et al. Identification of oxidised proteins in the matrix of rice leaf mitochondria by immunoprecipitation and two-dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Phytochemistry*, 2004, 65: 1839-1851
- [29] Koroleva OA et al. High-throughput protein localization in *Arabidopsis* using Agrobacterium-mediated transient expression of GFP-ORF fusions. *Plant J*, 2005, 41: 162-174
- [30] Emanuelsson O et al. Predicting subcellular localization of proteins based on their N-terminal amino acid sequence. *J Mol Biol*, 2000, 300: 1005-1016
- [31] Small I et al. Predotar: a tool for rapidly screening proteomes for N-terminal targeting sequences. *Proteomics*, 2004, 4: 1581-1590
- [32] Nair R et al. Mimicking cellular sorting improves prediction of subcellular localization. *J Mol Biol*, 2005, 348: 85-100
- [33] Hoglund A et al. MultiLoc: prediction of protein subcellular localization using N-terminal targeting sequences, sequence motifs and amino acid composition. *Bioinformatics*, 2006, 22: 1158-1165
- [34] Mitschke J et al. Prediction of dual protein targeting to plant organelles. *New Physiol*, 2009, 183: 224-235
- [35] Millar AH et al. Recent surprises in protein targeting to mitochondria and plastids. *Curr Opin Plant Biol*, 2006, 9: 610-615
- [36] Prokisch H et al. Integrative analysis of the mitochondrial proteome in yeast. *PLoS Biol*, 2004, 2: e160

Protein translocation into chloroplast and mitochondrion in plants

ZHANG Yujuan^{1,2}, ZHANG Yanqiong¹, WEN Jianfan¹

¹State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China

²College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China

Abstract Most proteins in chloroplast and mitochondrion are encoded by nuclear genes. They are imported into these two destination organelles through specialized import channels after translation in cytosol. Recent research of protein translocation in chloroplast and mitochondrion in plant cells have gained important progresses, including the discovery of new import receptors, frequent dual-targeting of proteins, and the discovery of novel routes of protein trafficking. Besides, progresses in the technologies in this field have also been made in recent years. This paper reviews these new progresses and prospected the future development in this area.

Keywords signal peptide; dual-targeting; import receptor