

网络出版时间: 2016-8-10 11:04:48 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160810.1104.001.html>

◇ 基础医学研究 ◇

FK506 结合蛋白 25 及其突变体 与 CLIC1 蛋白在真核细胞内共定位的研究

何薇¹ 耿慧武¹ 左恒² 阮操² 潘林鑫¹ 范礼斌¹ 刘晓颖¹

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2016.10.001

摘要 目的 研究 FK506 结合蛋白 25(FKBP25) 野生型及其突变体在真核细胞内的表达、定位及与胞内氯离子通道蛋白 1(CLIC1) 的共定位情况。方法 以 pcDNA3.1-FKBP25-FLAG 为模板, 分别构建以 pCDGFP 为载体的 FKBP25 野生型及其缺失突变体 FKBP25(1~42 aa)、FKBP25(1~110 aa)、FKBP25(43~224 aa)、FKBP25(43~110 aa)、FKBP25(111~224 aa) 的真核表达质粒, 并分别转染至 HEK 293T 细胞中, Western blot 法检测重组蛋白表达情况; 将上述质粒分别与带 FLAG 标签的 CLIC1 质粒共转染至 COS7 细胞, 激光共聚焦扫描显微镜下观察、分析荧光共定位情况。结果 成功构建了 pCDGFP-FKBP25 基因的一系列真核表达质粒; Western blot 显示: pCDGFP-FKBP25 及其突变体 pCDGFP-FKBP25(1~42 aa)、pCDGFP-FKBP25(1~110 aa)、pCDGFP-FKBP25(43~110 aa)、pCDGFP-FKBP25(43~224 aa)、pCDGFP-FKBP25(111~224 aa) 均能在 HEK 293T 细胞中有效表达; GFP-FKBP25 野生型在 COS7 细胞中主要分布在细胞质中, 细胞核中表达较少, 而突变体在细胞质、细胞核均有表达, 而且细胞核中的表达多于野生型。共定位实验结果表明: 野生型 FKBP25 蛋白与 CLIC1 蛋白在细胞质内存在明显的共定位现象。其 3 个缺失突变体与 CLIC1 蛋白的共定位明显减少, 而且共定位也存在区别: FKBP25-N 与 CLIC1 共定位主要于细胞核中, 部分分布于细胞质; FKBP25-PC 和 FKBP25-C 与 CLIC1 只共定位于细胞质中。结论 荧光共定位实验观察到 FKBP25 野生型及其 3 种突变体 FKBP25(1~42 aa)、FKBP25(43~224 aa)、FKBP25(111~224 aa) 与 CLIC1 蛋白存在不同程度的共定位现象, 为进一步揭示 FKBP25 的生物学功能提供了基础。

关键词 FKBP25; 转染; 基因表达; 共定位

中图分类号 Q 28; R 392.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)10-1391-05

2016-05-30 接收

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(编号: 81201368)

作者单位: 安徽医科大学生命科学院¹ 生物教研室; ² 生物技术, 合肥 230032

作者简介: 何薇, 女, 硕士研究生;

范礼斌, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: lfan@ahmu.edu.cn;

刘晓颖, 女, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: liuxi-aoying@ahmu.edu.cn

FK506 结合蛋白(FK506 binding proteins, FKBP) 是高度保守的分子伴侣蛋白家族, 能与 FK506 和雷帕霉素(RAPA) 结合^[1]。该家族广泛存在于真核生物中, 不同生物之间 FKBP 的同源性很高, 在生物进化过程中具有高度的保守性。研究^[2]表明该家族成员都具有肽基脯氨酸异构酶(PPIase) 活性, 且该部分的氨基酸序列具有高度的保守性。FKBP25(又称为 FKBP3) 蛋白分子量约为 25 ku, 首次纯化于牛脑中, 是 FKBP 家族中唯一的核 DNA 结合蛋白, 可以与免疫抑制剂很好地结合, 发挥免疫抑制的作用^[3]。前期实验通过酵母双杂交技术以 CLIC1 蛋白作为诱饵, 筛选人胎盘 cDNA 基因文库, 筛选出其中之一的 FKBP25 蛋白可以和 CLIC1 蛋白相互作用。该研究通过构建 FKBP25 野生型与突变体表达质粒并分别转染到哺乳动物细胞中, 检测其表达及定位情况, 并了解其在哺乳动物细胞内与 CLIC1 的共定位情况, 对 FKBP25 与 CLIC1 的相互作用进行初步的研究。

1 材料与方法

1.1 材料 所用细胞、感受态、载体及模板质粒均由安徽医科大学生物实验室保存, 引物均由安徽通用生物系统有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 质粒构建^[4] 设计构建 pCDGFP 载体的 FKBP25 野生型及突变体质粒, 根据目的基因序列和引物设计原则设计特异性 PCR 引物, 具体序列见表 1。运用 PCR 法以 pcDNA3.1-FKBP25-FLAG(安徽医科大学生物实验室保存) 质粒为模板, 以 50 μl PCR 体系分别进行扩增, 模板 DNA 1 μl, 上下游引物(10 μmol/L) 各 1 μl, PrimeSTAR 酶 22 μl, 加高纯水至 50 μl, 30 个循环, 根据说明书中 PCR 反应程序进行反应。扩增的野生型及突变体片段 FKBP25(1~42 aa)、FKBP25(1~110 aa)、FKBP25(43~224

表1 引物序列

引物名称	引物序列(5'-3')
pCDGFP-FKBP25	F: CGCGGATCCGCGAATGGCGGCGGCCGTTTC R: CCGGAATTCGTCATCAATATCCACT
pCDGFP-FKBP25-N(1~42 aa)	F: CGCGGATCCGCGA ATGGCGGCGGCCGTT R: CCGGAATTCGG TTTATGTTCTGCAAGAAAC
pCDGFP-FKBP25-NP(1~110 aa)	F: CGCGGATCCGCGA ATGGCGGCGGCCGTT R: CCGGAATTCGG TTTTGGTGGACCCCTCA
pCDGFP-FKBP25-PC(43~224 aa)	F: CGCGGATCCGCGAATGTTAGGAAACATTAATAAATG R: CCGGAATTCGGATCAATATCCACTAATTCC
pCDGFP-FKBP25(43~110 aa)	F: CGCGGATCCGCGAATGTTATTAGGAAACATTA R: CCGGAATTCGGATCATTTTGGTGGACCCCT
pCDGFP-FKBP25(111~224 aa)	F: CGCGGATCCGCGAATGTATACTAAATCTGTT R: CCGGAATTCGGATCAATATCCACTAATTCC

aa)、FKBP25(43~110 aa)、FKBP25(111~224 aa)经琼脂糖凝胶电泳和凝胶回收试剂盒回收。用相应的限制性内切酶对 pCDGFP 载体和 PCR 产物分别进行双酶切: BamH I、EcoR I。1.2% 的琼脂糖凝胶电泳分离,凝胶回收试剂盒回收,用 T4 DNA 连接酶 16 °C 连接过夜,次日将连接产物转化于 TG1 感受态细胞,均匀涂布于含氨苄抗性的固体 LB 培养基上,37 °C 培养箱倒置培养(10~12 h),待长出克隆后挑取单克隆至含有氨苄抗性的液体 LB 培养基中 37 °C 振荡培养过夜。碱裂解法抽提质粒,双酶切鉴定,选择鉴定正确的质粒送安徽通用生物系统有限公司测序。

1.2.2 细胞培养、转染 在转染前 24 h,对 HEK 293T 细胞(本实验室保存)进行正常传代,以较高的密度将细胞接种至无双抗培养基培养皿中。实验中根据所使用细胞量选择不同规格培养皿。在蛋白表达实验,以 $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^5$ 细胞/cm² 的密度将细胞接种至无双抗培养基 35 mm 培养皿中,细胞汇合度达到 80%~90% 时转染。在荧光定位实验中,对 COS7 细胞进行正常传代,在 35 mm 培养皿中放入 1 张无菌盖玻片,并用多聚赖氨酸进行包被,充分晾干,以 $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^4$ /cm² 的密度接种于含有盖玻片的无双抗培养基的培养皿中,细胞汇合度达到 30%~40% 时转染。37 °C、5% CO₂ 培养过夜。按照脂质体试剂盒提供的方法进行质粒转染实验,置培养皿于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 4~6 h 后,换新鲜的无双抗 DMEM 培养基,继续培养。

1.2.3 Western blot 法检测^[5] 转染后约 48 h,弃培养液,胰酶消化法收集细胞,裂解细胞后离心,保留上清液并进行蛋白定量。取 30 μg 总蛋白与等体积 2 × SDS 上样缓冲液混合,沸水浴 5 min,冰浴 2 min。进行 SDS-PAGE 电泳约 2 h,电泳分离的蛋白

用 100 V 恒压湿转 1 h 至 PVDF 膜上,用含 5% 脱脂奶粉的 1 × TBST 溶液封闭 2 h, TBST 洗涤后加 FLAG 一抗(1:500,用一抗稀释液稀释)4 °C 过夜孵育,用 TBST 洗膜后与辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG(1:5000,用 1 × TBST 溶液稀释)室温孵育 2 h, 1 × TBST 洗膜后用 ECL 试剂盒显色,在暗室中用 X 线片曝光并显影和定影, X 线片晾干后扫描。

1.2.4 免疫荧光观察^[6] 转染后约 24 h,取出 COS7 细胞(本实验室保存)爬片, PBS 清洗 3 次以洗去残留的培养基; -20 °C 预冷的甲醇固定 3 min, 70% 的乙醇固定 5 min, PBS 清洗 3 次,每次 5 min; 含 1% 脱脂奶粉的 1 × TBST 溶液封闭 30 min; FLAG 一抗(1:100,用封闭液配制)室温孵育 2 h; 封闭液清洗 3 次,每次 5 min; TRITC 标记的山羊抗小鼠 IgG 二抗(1:100,用 1 × TBST 配制或用封闭液配制)室温孵育 1 h; 1 × PBS 清洗 4 次,每次 5 min; 0.15 g/L DAPI 溶液染核,室温 3 min; 1 × PBS 清洗 4 次,每次 5 min; 用吸水纸尽可能吸去盖玻片上的溶液(切勿过于干燥),荧光封片胶(Dako)封片。4 °C 储存过夜后用激光共聚焦扫描显微镜(德国 Leica 公司)观察并扫描拍照。

2 结果

2.1 pCDGFP-FKBP25 及其突变体真核表达质粒的构建 根据 FKBP25 蛋白的结构分析(图 1), N 端有一个特殊的且带有正电荷的环状结构 HLH (helix-loop-helix), C 端拥有一段保守核苷酸序列即 FK506/雷帕霉素结合结构域,故将 FKBP25 划分不同区域,并构建 GFP 标签的突变体表达质粒。对抽提的 pCDGFP-FKBP25 及各突变体质粒分别进行 BamH I、EcoR I 双酶切鉴定,结果见图 2,以上质

粒都被切出 2 条亮带 经过与 Marker 和 PCR 产物比对,显示泳道 1 条带大小约为 6 100 bp,与载体 pCDGFP 的大小基本一致 2~7 泳道都有较亮的 PCR 产物条带,分别与各目的片段大小一致 [FKBP25(1~224 aa) 为 672 bp,FKBP25(1~42 aa) 为 129 bp,FKBP25(1~110 aa) 为 330 bp,FKBP25(43~224 aa) 为 543 bp,FKBP25(43~110 aa) 为 201 bp,FKBP25(111~224 aa) 为 339 bp],表明载体与各目的片段连接成功,通用公司测序结果进一步证实了质粒构建正确。



图 1 FKBP25 蛋白结构示意图

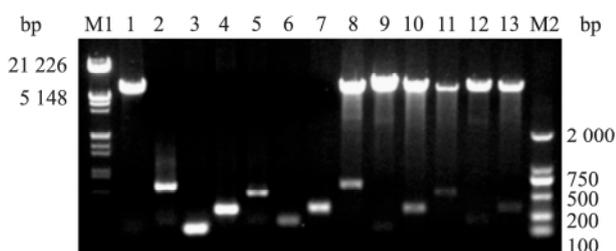


图 2 重组质粒 pCDGFP 载体

FKBP25 野生型及突变体的酶切鉴定

M1: Lambda DNA/EcoR I + Hind III Marker; M2: TaKaRa DL 2000 Marker; 1: 酶切后的 pCDGFP 载体; 2,8: FKBP25(1~224 aa) 的 PCR 产物和酶切鉴定结果; 3,9: FKBP25(1~42 aa) 的 PCR 产物和酶切鉴定结果; 4,10: FKBP25(1~110 aa) 的 PCR 产物和酶切鉴定结果; 5,11: FKBP25(43~224 aa) 的 PCR 产物和酶切鉴定结果; 6,12: FKBP25(43~110 aa) 的 PCR 产物和酶切鉴定结果; 7,13: FKBP25(111~224 aa) 的 PCR 产物和酶切鉴定结果

2.2 GFP-FKBP25 及其突变体在 HEK 293T 细胞中的表达

转染 48 h 后收集细胞,Western blot 法检测蛋白表达,结果显示 GFP-FKBP25 及其突变体在 HEK 293T 细胞中均能够表达,见图 3。所显影条带均符合目的蛋白大小,pCDGFP-FKBP25、pCDGFP-FKBP25(1~42 aa)、pCDGFP-FKBP25(43~224 aa)、pCDGFP-FKBP25(111~224 aa)、pCDGFP-FKBP25(1~110 aa)、pCDGFP-FKBP25(43~110 aa) 的分子量分别为 50、30、45、37、37、32 ku。图 3A 中 3、4 泳道显影出条带随后重新上样于曝光机显影,见图 3B,所显影条带符合 pCDGFP-FKBP25(1~110 aa)、pCDGFP-FKBP25(43~110 aa) 蛋白大小。

2.3 GFP-FKBP25 及其突变体在 COS7 细胞中的定位

激光共聚焦扫描显微镜拍摄 pCDGFP-FK-

BP25 及其各突变体单转至 COS7 细胞中的定位情况,FKBP25-GFP 及其突变体分别与带 FLAG 标签的 CLIC1 在 COS7 细胞中的共定位情况。

2.3.1 GFP-FKBP25 及其 3 种突变体在哺乳动物细胞内的定位 结果表明:FKBP25 的 GFP 融合蛋白主要分布在细胞质,细胞核中也有少量分布;其突变体在细胞质、细胞核均有分布。但与野生型不同的是,突变体在细胞核中的分布明显增多;GFP-FKBP25(1~110 aa)、GFP-FKBP25(43~110 aa) 的荧光并未观察到。见图 4。

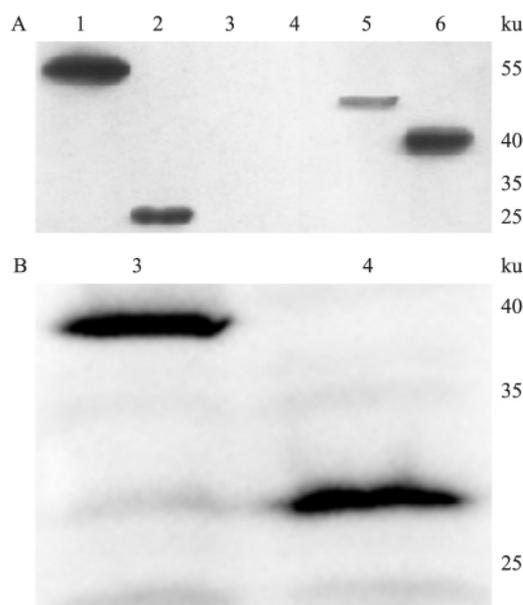


图 3 Western blot 法检测 pCDGFP-FKBP25 及其各突变体在 HEK 293T 中的表达

A: Western blot 法检测 pCDGFP-FKBP25 及其各突变体在 HEK 293T 中的表达; 1: 转染 pCDGFP-FKBP25 的细胞裂解液; 2: 转染 pCDGFP-FKBP25(1~42 aa) 的细胞裂解液; 3: 转染 pCDGFP-FKBP25(43~224 aa) 的细胞裂解液; 4: 转染 pCDGFP-FKBP25(111~224 aa) 的细胞裂解液; 5: 转染 pCDGFP-FKBP25(43~110 aa) 的细胞裂解液; 6: 转染 pCDGFP-FKBP25(1~110 aa) 的细胞裂解液; B: 对应图 A 中的图 3,4; 3: 转染 pCDGFP-FKBP25(1~110 aa) 的细胞裂解液; 4: 转染 pCDGFP-FKBP25(43~110 aa) 的细胞裂解液

2.3.2 GFP-FKBP25 及其突变体与 CLIC1 蛋白在细胞内的共定位

共定位实验观察到 GFP-FKBP25 及其 3 种突变体都与 CLIC1 蛋白存在共定位的现象。野生型 FKBP25 蛋白与 CLIC1 蛋白在细胞质内存在非常明显的共定位现象。其 3 个缺失突变体与 CLIC1 蛋白的共定位明显减少,而且共定位有两种不同情况:一种主要共定位于细胞核,部分于细胞质中;FKBP25-N 与 CLIC1 蛋白;另一种主要共定位在细胞质中:FKBP25-PC 与 CLIC1 蛋白、FKBP25-C 与 CLIC1 蛋白。见图 5。

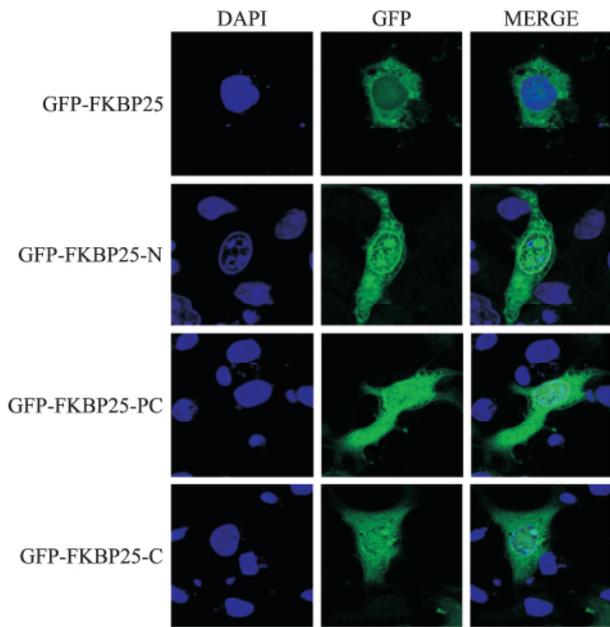


图4 GFP-FKBP25 及其突变体

GFP-FKBP25-N(1~42 aa)、GFP-FKBP25-PC(43~224 aa)、GFP-FKBP25-C(111~224 aa) 在 COS7 细胞中的定位图 ×600

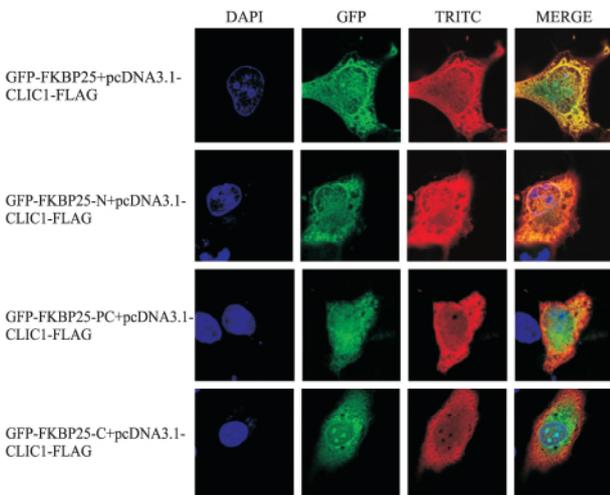


图5 GFP-FKBP25 及其突变体

FKBP25-N(1~42 aa)、FKBP25-PC(43~224 aa)、FKBP25-C(111~224 aa) 与 CLIC1 蛋白在 COS7 细胞中的共定位 ×600

3 讨论

通过埃德曼降解分析 FKBP25 蛋白序列,得出该基因由两个重要结构域组成,分别位于其 N、C 端。通过进一步分析显示该蛋白 N 端有一个特殊的且带有正电荷的环状结构 HLH (helix-loop-helix), C 端拥有一段保守核苷酸序列即 FK506/雷帕霉素结合结构域^[7-8]。据此,本实验将 FKBP25 蛋白人为分为几部分,分别构建缺失突变体的表达质

粒并转染至细胞中观察各截短体在细胞中的表达及定位情况。

CLIC1 是细胞核内的通道蛋白,CLIC1 参与调节细胞周期及细胞增殖分化,并且参与造血细胞胰岛素信号转到通路过程中^[9-11]。CLIC1 和许多肿瘤的发生发展及侵袭、转移有关。CLIC1 在鼻咽癌^[12]、胃癌^[13]、胆囊癌^[14]、肝癌^[15] 中表达量升高,提示 CLIC1 可能作为一种肿瘤标志物。本实验室此前的酵母双杂交实验证实了 FKBP25 与 CLIC1 蛋白在酵母细胞中存在相互作用,因此,本实验也将这些突变体表达质粒与 CLIC1 表达质粒共转染至细胞中,观察两种蛋白在细胞中的共定位情况,为进一步了解两种蛋白的相互作用及其机制提供依据。

Western blot 结果表明 GFP 标签的 FKBP25 野生型蛋白及其突变体蛋白 FKBP25-N(1~42 aa)、FKBP25-PC(43~224 aa)、FKBP25-C(111~224 aa)、FKBP25(1~110 aa)、FKBP25(43~110 aa) 均检测到蛋白的表达。

激光共聚焦扫描显微镜结果显示: GFP 标签的 FKBP25 野生型蛋白及其突变体 FKBP25-N(1~42 aa)、FKBP25-PC(43~224 aa)、FKBP25-C(111~224 aa) 的荧光蛋白均能正常表达,GFP-FKBP25 主要定位于细胞质中,细胞核中仅有少量表达; GFP 标签的突变体 FKBP25-N(1~42 aa)、FKBP25-PC(43~224 aa)、FKBP25-C(111~224 aa) 的绿色荧光在细胞核和细胞质中均有分布,但 GFP 标签的突变体 FKBP25(1~110 aa)、FKBP25(43~110 aa) 荧光蛋白表达未被检测到;与 FLAG 标签的 CLIC1 的共转染实验表明,野生型 GFP-FKBP25 与 FLAG-CLIC1 存在共定位,并主要共定位于细胞质中;突变体 FKBP25-N(1~42 aa)、FKBP25-PC(43~224 aa)、FKBP25-C(111~224 aa) 与 CLIC1 有部分共定位,胞质、胞核均有共定位,而且相对于 FKBP25 野生型蛋白,各突变体与 CLIC1 的共定位明显减少。

两种蛋白在细胞中的共定位提示了两者在细胞内可能存在相互作用。鉴于 CLIC1 蛋白在哺乳动物细胞内发挥着重要的生理功能,本研究为进一步探索 FKBP25 蛋白的生物学功能提供了重要线索。FKBP25 与 CLIC1 结合的确切亚细胞定位,FKBP25 蛋白中一部分氨基酸残基的缺失对蛋白折叠及蛋白功能的影响,以及两种蛋白的互作结构域对蛋白功能的影响等,都尚需进一步研究揭示。

参考文献

[1] Siekera J J, Hung S H, Poe M, et al. A cytosolic binding protein

- for the immunosuppressant FK506 has peptidyl-prolyl isomerase activity but is distinct from cyclophilin [J]. *Nature*, 1989, 341 (6244): 755–7.
- [2] Kay J E. Structure-function relationships in the FK506-binding protein (FKBP) family of peptidylprolyl cis-trans isomerases [J]. *Biochem*, 1996, 314 (Pt 2): 361–85.
- [3] Galat A, Lane W S, Standaert R F, et al. A rapamycin-selective 25-kDa immunophilin [J]. *Biochemistry*, 1992, 31(8): 2427–34.
- [4] 潘林鑫, 李新颖, 徐南, 等. 人 RB1 及其突变体的表达与定位 [J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(8): 853–8.
- [5] 乔正, 赵健, 潘林鑫, 等. 人 RACK1 蛋白在 HEK 293T 和 BL21 细胞中的表达及 COS7 细胞的定位 [J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 49(9): 1189–92.
- [6] 李春雨, 潘林鑫, 刘晓颖, 等. 人类胞内氯离子通道蛋白 3 在原核细胞及真核细胞内的表达等 [J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 49(9): 1202–5.
- [7] Yao Y L, Liang Y C, Huang H H, et al. FKBP25 in chromatin modification and cancer [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2011, 11(4): 301–7.
- [8] Riviere S, Menez A, Galat A. On the localization of FKBP25 in T-lymphocytes [J]. *FEBS Lett*, 1993, 315(3): 247–51.
- [9] Menon S G, Goswami P C. A redox cycle within the cycle: ring in the old with the new [J]. *Oncogene*, 2007, 26(8): 1101–9.
- [10] Valenzuela S M, Mazzanti M, Tonini R, et al. The nuclear chloride ion channel NCC27 is involved in regulation of the cell cycle [J]. *J Physiol*, 2000, 529 Pt 3: 541–52.
- [11] Sun H J, Bahk Y Y, Choi Y R, et al. A proteomic analysis during serial subculture and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cell [J]. *J Orthop Res*, 2006, 24(11): 2059–71.
- [12] Chang Y H, Wu C C, Chang K P, et al. Cell secretome analysis using hollow fiber culture system leads to the discovery of CLIC1 protein as a novel plasma marker for nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(12): 5465–74.
- [13] Wulfkuhle J D, Sgroi D C, Krutzsch H, et al. Proteomics of human breast ductal carcinoma in situ [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(22): 6740–9.
- [14] Wang J W, Peng S Y, Li J T, et al. Identification of metastasis-associated proteins involved in gallbladder carcinoma metastasis by proteomic analysis and functional exploration of chloride intracellular channel 1 [J]. *Cancer Lett*, 2009, 281(1): 71–81.
- [15] 李荣宽, 唐建武, 张军, 等. 胞内氯离子通道蛋白 1 基因沉默对小鼠肝癌细胞株增殖及侵袭能力的影响 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2010, 18(2): 131–5.

The co-localization of FKBP25 and its deletion mutants with CLIC1

He Wei¹, Geng Huiwu¹, Zuo Heng², et al

(¹Dept of Biology, ²Dept of Biotechnology, Anhui Medical University Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the expression and localization of FKBP25 including its deletion mutants FKBP25(1~42 aa), FKBP25(1~110 aa), FKBP25(43~224 aa), FKBP25(43~110 aa), FKBP25(111~224 aa) in eukaryotic cells, and the colocalization of FKBP25 and its mutants with CLIC1 in mammalian cells. **Methods**

To construct some eukaryotic expression plasmids of pCDGFP-FKBP25, pCDGFP-FKBP25(1~42 aa), pCDGFP-FKBP25(1~110 aa), pCDGFP-FKBP25(43~224 aa), pCDGFP-FKBP25(43~110 aa), pCDGFP-FKBP25(111~224 aa). These plasmids were transfected into HEK 293T cells respectively and the expression was checked by Western blot. Their localization and colocalization with FLAG-CLIC1 in COS7 cells were detected by fluorescence microscopy. **Results** The expression plasmids of pCDGFP-FKBP25 and a series of its deletion mutants were constructed successfully, which could effectively express in HEK 293T and COS7 cells. The localization of GFP-FKBP25 was mainly in cytoplasm and its mutants were in both nucleus and cytoplasm. The co-localization of its mutants with FLAG-CLIC1 were much less than that of GFP-FKBP25 itself, and there were some differences in distribution. **Conclusion** FKBP25 and its deletion mutants can express efficiently in HEK 293T and COS7 cells. GFP-FKBP25 is mainly distributed in the cytoplasm, but the mutants are in both nucleus and cytoplasm. FKBP25 protein and its mutants appear to colocalize with CLIC1 to different degrees respectively, which implies that FKBP25 and its mutants may interact with CLIC1 respectively in mammalian cells. It provides cellular basis to further study on biological functions of FKBP25 gene.

Key words FKBP25; transfection; gene expression; co-localization