

文章编号: 1674-7054(2010)02-0193-04

植物小分子热激蛋白的进化及表达调控研究进展

李春子, 成善汉

(热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室, 海南大学 园艺园林学院, 海南 海口 570288)

摘 要: 小分子热激蛋白(sHSPs)是一类分子质量为15~30 KDa的热激蛋白,在植物耐热反应中起着重要作用。笔者详细分析了4种常见的茄科植物番茄、烟草、辣椒、马铃薯和模式植物拟南芥中各种sHSPs基因序列的系统进化关系,并综述了热激蛋白基因在不同胁迫条件下的表达和调控机理。

关键词: sHSPs; 系统发育; 胁迫表达; 基因表达调控

中图分类号: Q 945

文献标志码: A

作为对高温刺激的一种反应,生物体内大部分蛋白质和 mRNA 合成受到抑制,而有一类蛋白的表达则得到启动或大量增加,这就是热激蛋白(Heat Shock Proteins, HSPs)。它是 Ritossa 于 1962 年在果蝇中首先发现的^[1],研究表明,热激蛋白普遍存在于从细菌到高等真核生物的整个生物界,而且它们几乎在所有的活细胞中起着重要的作用^[2]。真核生物的热激蛋白根据其分子质量(KDa)的大小可分为几个家族: HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, 小分子 HSPs(15~30 KDa),它们分布于细胞的各部分^[3],但其中最重要的是小分子热激蛋白(sHSPs)。

1 植物小分子热激蛋白

植物小分子热激蛋白(small heat shock proteins, sHSPs)含量丰富、种类繁多,都有保守的 C 端,都由核基因编码。根据 DNA 序列分析、免疫交叉反应及胞内定位特征,可以把植物 sHSPs 分为六大类:其中 3 类分布于细胞质(Class I, Class II 和 Class III),其他 3 类分别定位于线粒体(Class MT)、叶绿体(Class CP)、内质网(Class ER)。此外,还有一类定位于过氧化物酶体的小热激蛋白^[4]。植物细胞质 Calss I sHSPs 和 calss II sHSPs 一般由多基因家族编码,除了定位于线粒体的 HSP22 同时也存在于果蝇体内之外,其他植物所产生的 sHSPs 都仅存在于植物体内^[5]。常温下植物体内小分子热激蛋白基因不表达,一旦热激, sHSPs 的合成量会迅速增加,可提高 200 倍以上^[6]。因此, sHSPs 很可能与植物受到热激后的存活及恢复密切相关。Forreiter 等报道,拟南芥 Hsp17.6 C I 基因导入其悬浮细胞阻止了荧光素酶 Luc 热失活,增加了 Luc 热胁迫后的复活。过表达番茄线粒体 Mt-sHsp 的转基因烟草,在高温胁迫后的恢复培养中也明显表现出更好的生长状态^[7]。

2 植物 sHSPs 氨基酸序列同源性及系统进化树分析

采用 DNAMAN 分子生物学应用软件对 4 种常见的茄科植物和模式植物拟南芥的不同种类 sHSPs [Le-HSP17.4, LeHSP17.6, LeHSP21.3, LeHSP23.8, LeHSP26.1 来自 *Lycopersicon esculentum*; LepHSP20.0 来自 *Lycopersicon peruvianum*; CfHSP18 来自 *Capsicum frutescens*; NtHSP18, NtHSP26 和 NtHSP(LCZ) (本人实验刚得到的基因 Nt-HSP17.8bp) 来自 *Nicotiana tabacum*; AtHSP17.6, AtHSP22.0 和 AtHSP25.3 来自 *Arabidopsis thaliana*; CPASHP、CPsHSP 来自 *Capsicum annuum* var. *annuum*; StHSP 来自 *Solanum tuberosum*。

收稿日期: 2010-04-16

基金项目: 海南省教育厅高校科研项目(Hjkj200722)

作者简介: 李春子(1982-),女,河南息县人,海南大学农学院 2007 级作物遗传育种专业硕士研究生。

通信作者: 成善汉,海南大学园艺园林学院副教授,博士,硕士生导师,主要从事蔬菜作物遗传育种及分子生物学研究。E-mail: chshh81@yahoo.com.cn

CP: Chloroplast sHSP; ER: Endoplasmic reticulum sHSP; MT: Mitochondria sHSP; I : Cytosolic Class I sHSP; II : Cytosolic Class II sHSP.] 进行进化分析 结果表明 ,同类的 sHSPs 在进化上表现出较近的亲缘关系。虽然细胞质的 Calss I 和 Calss II 定位于同一细胞器 ,但细胞质 Calss I 却表现出与内质网 sHSPs 有着较高的同源性 ,说明它们可能有共同的起源。同种 sHSPs 虽然具有高同源性 ,但是进化树分析的结果却表明它们的亲缘关系有很大的不同。甜椒(CfhSP18) 和烟草(NtHSP18) 具有较高的同源性 ,进化上也靠得最近;但是和拟南芥(AtHSP17.6) 进化距离相对较远 ,表现出差异性(见图 1) 。

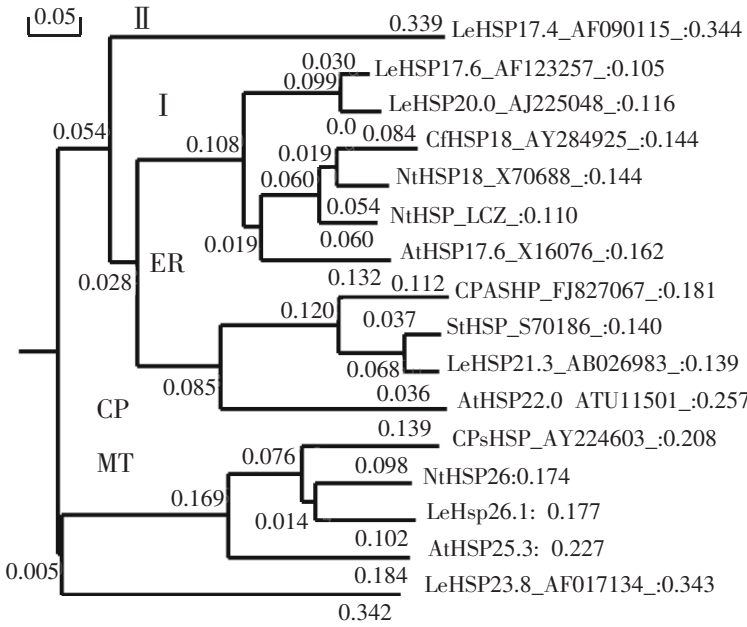


图 1 番茄、烟草、拟南芥、辣椒、马铃薯 5 种植物的 sHSPs 进化

3 植物 sHSPs 在各种胁迫环境下的表达情况

植物一生极少在完全绝对适宜的环境中生存 ,在其一生中不可避免地会遇到一些胁迫环境 ,高温、干旱及高盐是影响植物生长发育和农作物产量的限制因素。当植物受到这些非生物逆境胁迫时 ,植物本身会发生一系列的生理生化变化 ,引发特异性胞内信号通路的激活或抑制 ,以对逆境刺激做出相应的反应。

目前 ,作物在逆境环境下的生理生化反应越来越被更多的科研工作者所关注 ,各种胁迫条件下小分子热激蛋白的表达情况见表 1。

表 1 3 种植物体内 sHSPs 在各种胁迫条件下的表达情况^[8-13]

表达情况		胁迫种类					
		热害	冷害	干旱	盐害	热 + 干旱	热 + 盐害
烟草	Class I	—	—	—	—	—	—
	Class II	—	—	—	—	—	—
	Class III	—	—	—	—	—	—
	MT	—	—	—	—	—	—
	CP	—	—	—	—	—	—
	ER	—	—	—	—	—	—
拟南芥	Class I	—	—	—	—	—	—
	Class II	—	—	—	—	—	—
	Class III	—	—	—	—	—	—
	MT	—	—	—	—	—	—
	CP	—	—	—	—	—	—
	ER	—	—	—	—	—	—
番茄	Class I	—	—	—	—	—	—
	Class II	—	—	—	—	—	—
	Class III	—	—	—	—	—	—
	MT	—	—	—	—	—	—
	CP	—	×	×	×	—	—
	ER	—	—	—	—	—	—

注: 代表在各种胁迫下 sHSPs 诱导表达; × 代表在各种胁迫下 sHSPs 不诱导表达; — 代表未知

从表1可知,对植物sHSPs在单一的胁迫条件下的表达情况研究的比较透彻,而在交叉胁迫中的表达情况还有待于进一步研究;在3种常见的作物中,对拟南芥和番茄体内小分子热激蛋白研究的较多,而对烟草体内的小分子热激蛋白还需要更深入的了解。

4 植物小分子热激蛋白(sHSPs)基因表达的调控

4.1 植物sHSPs的生成诱因 高温胁迫时,植物细胞在分子水平上最突出的反应是热激蛋白的表达,其中小分子热激蛋白是主要热激表达产物。除热休克外,其他非生物因素也可诱导sHSPs基因的表达和蛋白合成,如紫外线、低氧、自由基、有毒气体和细菌等。sHSPs能对渗透压的变化产生应答,在向日葵中水压变化引起HaHSP17.6(CI)和HaHSP17.9(CII)基因的表达,其mRNA表达水平与水分丧失程度呈正相关^[14]。胞质sHSPs在复苏植物车前草(*C. plantagineum*)中组成性表达,但在其不耐干旱的愈伤组织里则没有表达。用外源脱落酸处理车前草后,其sHSPs大量增加^[15]。sHSPs CI、CII、线粒体sHSPs、叶绿体sHSPs可以受氧压诱导产生。有的sHSPs也受寒冷、重金属、臭氧、紫外线等因素诱导^[16]。但在没有环境压力的情况下,植物sHSPs的合成严格出现在某一特定阶段,这些特定的时期主要指:胚胎发生、种子萌发、花粉发育及果实成熟期。如成熟的种子能忍受大量失水与sHSPs的功能相关^[5]。黄杉胚胎从中晚期开始累积AtHSP17.4-CI、AtHSP17.6-CI和AtHSP17.7-CII,到迟晚期胚胎和干种子中累积量达到高峰。有证据表明,抑制sHSPs表达,会导致胚胎发育失败^[17]。

4.2 植物sHSPs的基因表达调控 热应激反应是细胞内一系列高度程序化的事件。研究表明,在热应激反应中,热休克转录因子(heat shock transcription factor, HSF)调控sHSPs基因的表达。它是通过高度保守的上游反应元件—热休克反应元件(heat shock-responsive element, HSE)调控sHSPs基因表达。HSE首先是在果蝇上发现^[18],是一种顺式元件,位于热激蛋白基因5'端的启动子区域,由3个临近的反向重复序列nGAAn组成,植物HSE序列为5V-aGAAG-3V。

在正常条件下HSF处于关闭状态,但在热逆境下,HSF形成三聚体并发生活化。三聚体一旦形成,便与HSE特异结合,暴露出转录活性域,促进基因转录起始。HSE的活性可能是通过与HSF结合实现的,HSE突变会降低它与HSF的结合能力,并影响随后的启动子活化^[19]。已有不少证据表明,HSE专门负责hsp基因在热诱导下进行转录表达^[20]。然而,早期胚胎发育阶段HSE突变并不影响它与HSF的结合,表明还有其他的种子特异转录活性因子参与调控过程^[5]。

5 展 望

植物sHSPs是一类重要的胁迫诱导蛋白,在逆境胁迫下的表达增强可提高植物抵御各种逆境因子胁迫的能力^[21]。近些年来,非生物胁迫越来越多影响植物的生长发育与栽培范围,选育抗逆胁迫的农作物新材料成为通过育种手段解决当前问题之急需。采用基因工程技术使宿主组成型过表达Hsps,已使多种转基因作物增强了抗逆能力^[22],说明sHSPs作为逆境生理研究有着重要意义。但目前Hsps能提高植物抗逆能力的作用机理,Hsps之间及Hsps与其他蛋白分子之间是否有协同作用仍不清楚。

目前,笔者已从烟草中提取到细胞质Calss I sHSPs,并热激+干旱组合胁迫诱导,结果表明,该基因表达量明显增加。这一结论可为研究自然环境中多种胁迫下植物的生理机理,以及为下一步了解组合胁迫信号转导路径紊乱的分子机理,通过基因工程方法提高农作物对组合胁迫抗性打下分子基础。

参考文献:

- [1] RITOSSA F A. New puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila* [J]. *Experimentia*, 1996, 18: 571 – 573.
- [2] 刘良式. 植物分子遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 534 – 540.
- [3] VIERLING E. The roles of heat shock proteins in plants [J]. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1991, 42: 579 – 620.
- [4] 邹杰, 陈信波, 刘爱玲, 等. 植物热激蛋白与作物非生物抗逆性的改良[J]. *植物生理学通讯*, 2007, 43(5): 981 – 984.
- [5] 余瑛, 夏玉先, 蔡绍哲. 植物小分子热休克蛋白[J]. *中国生物工程杂志*, 2003, 23(7): 38 – 41.
- [6] DEROCHE A E, HELM K, LAUZON L M, et al. Expression of a conserved family of cytoplasmic low molecular weight heat-

- shock proteins during heat shock stress and recovery[J]. *Plant Physiol.* ,1991 96: 1038 – 1047.
- [7] SANMIYA K ,SUZUKI K ,EGAWA Y , *et al.* Mitochondrial small heat-shock protein enhances thermotolerance in tobacco plants[J]. *FEBS Lett* ,2004 557: 265 – 268.
- [8] 郭尚敬,陈娜,郭鹏 等. 甜椒细胞质小分子量热激蛋白基因(CaHSP18) 的 cDNA 克隆与表达[J]. *植物生理与分子生物学* 2005 31(4) : 409 – 416.
- [9] 刘箭,庄野真理子. 番茄线粒体和内质网小分子热激蛋白基因的分子克隆[J]. *植物学报* 2001 43(2) : 138 – 145.
- [10] 杨传燕,王翠,张景霞 等. 过表达番茄叶绿体小分子热激蛋白提高植株的耐热性[J]. *山东师范大学学报: 自然科学版* 2008 23(4) : 106 – 108.
- [11] 陈清法,冯海霞,郭尚敬. 内质网小分子量热激蛋白的研究进展[J]. *安徽农业科学* 2009 37(1) : 83 – 84.
- [12] 朱世江,季作梁. 热激蛋白与园艺植物的耐冷性[J]. *园艺学报* 2002 29(增刊) : 607 – 612.
- [13] SHOJI T ,KATO K ,SEKINE M , *et al.* Two types of heat shock factors in cultured tobacco cells[J]. *Plant Cell Rep* 2000 , 19: 414 – 420.
- [14] COCA M A ,AIMO GUERA C ,THOMAS T L *et al.* Differential regulation of small heat-shock genes in plants: analysis of a water-stress-inducible and developmentally activated sunflower promoter[J]. *Plant Mol Biol.* ,1996 31(4) : 863 – 876.
- [15] ALAMILOI J ,ALMOGUERA C ,BARTELS D *et al.* Constitutive expression of small heat shock proteins in vegetative tissues of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* [J]. *Plant Mol Biol.* ,1995 29(5) : 1093 – 1099.
- [16] SUN W ,BERNARD C ,COTTE B *et al.* At-HSP17.6A encoding a small heat-shock protein in *Arabidopsis* can enhance osmotolerance upon overexpression[J]. *Plant J.* ,2001 27(5) : 407 – 415.
- [17] WEHMEYER N ,VIEDING E. The expression of small heat shock proteins in seeds responds to discrete developmental signals and suggests a general protective role in desiccation tolerance[J]. *Plant Physiol* ,2000 122(4) : 1099 – 1108.
- [18] PELHAM H R B. Speculations on the functions of the major heat shock and glucose regulated proteins[J]. *Cell* ,1986 46: 959.
- [19] ALMOGUERA C ,PRIETO-DAPONA P ,JORDANO J. Dual regulation of a heat shock promoter during embryogenesis: stage-dependent role of heat shock elements[J]. *Plant J.* ,1998 13(4) : 437 – 446.
- [20] 耶兴元,马锋旺. 植物热激蛋白研究进展[J]. *西北农业学报* 2004 13(2) : 109 – 114.
- [21] WANG W X ,VINOCUR B ,SHOSEYOV O , *et al.* Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response[J]. *Trends Plant Sci.* 2004 9: 244 – 252.
- [22] CHO E K ,HONG C B. Over-expression of tobacco NtHSP70-1 contributes to drought-stress tolerance in plants[J]. *Plant Cell Rep.* 2006 25: 349 – 358.

Progresses on The Evolution and Expression Regulation of Small Heat Shock Proteins in Plant

LI Chun-zi , CHENG Shan-han

(Key Laboratory of Protection and Utilization In Tropical Crop Germplasm Resources , Ministry of Education ,
Horticulture and Gardening College , Hainan University , Haikou 570288 , China)

Abstract: As a kind heat shock protein with about 15 KD–30KD molecular weight , Small Heat Shock Proteins (sHSPs) in plant plays an important role in heat-resistance. In the paper , the sequence phylogenetic relationships of various sHSPs in the four common nightshade plant , which was tomato , tobacco , pepper , potato and model plant *Arabidopsis thaliana* were analyzed in detail , and gene expression and regulatory mechanisms of it under different stress conditions were reviewed .

Key words: sHSPs; phylogeny; stress; gene expression