

禾本科植物HSP70研究进展

祁茂冬[#], 谢鑫[#], 魏凤菊^{*}

河北农业大学生命科学学院/河北省植物生理与分子病理学重点实验室, 河北保定071001

摘要: HSP70是逆境胁迫下诱导合成的一类功能型蛋白, 是在植物中高度保守且分布广泛的蛋白质家族, 通常作为分子伴侣参与蛋白折叠、转运、变性蛋白降解等多种生物学功能。研究表明, 高温、干旱、盐等多种非生物胁迫和生物胁迫均可诱导HSP70的合成, 从而参与胁迫响应与生长发育过程的调控。本文对HSP70的结构、类型、分子调控机制进行了阐述, 并主要对禾谷类作物的HSP70在响应生物胁迫、非生物胁迫及对生长发育的调控等方面的研究进展进行综述, 以期对禾本科植物的抗逆研究提供基础理论。

关键词: 禾本科; HSP70; 逆境胁迫; 生物学功能

热激蛋白(heat shock protein, HSP)是生物体在受到高温、干旱、激素、高盐、机械损伤等不利环境影响时诱导合成的一类结构保守的应激蛋白, 是植物短暂适应逆境胁迫不可或缺的成分(Jungkunz等2011)。1962年, 热激蛋白首先在黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)唾液腺中被发现, 1974年被命名为热激蛋白, 直至20世纪80年代才着手对高等植物的热激蛋白展开研究(Guy和Li 1998)。植物HSP70蛋白的生理功能研究虽然起步较晚, 但发展迅速。基于HSP70结构和功能研究的不断深入, 越来越多的报道证明HSP70与植物的非生物胁迫、抗病以及生长发育密切相关。随着测序技术的不断发展, 越来越多的植物基因组序列逐渐被破译, 不同物种的HSP70家族特性与功能得到了广泛研究。已证实植物HSP70由多个基因家族的众多成员编码。目前已知HSP70家族成员的物种有: 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中有18个编码HSP70的基因(Jungkunz等2011), 菠菜(*Spinacia oleracea*)中有22个编码HSP70的基因(Guy和Li 1998), 水稻(*Oryza sativa*)中有32个编码HSP70的基因(Jung等2013), 谷子(*Setaria italica*)中有25个编码HSP70的基因(张古文等2015), 芝麻(*Sesamum indicum*)中有21个编码HSP70的基因(徐剑文等2017), 小立碗藓(*Physcomitrella patens*)中有21个编码HSP70的基因(Tang等2016), 大豆(*Glycine max*)中有61个编码HSP70的基因(Zhang等2015), 二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*)基因组编码29个HSP70 (Wen等2017)。这些HSP70家族的鉴定极大丰富了植物HSP70网络。

禾本科是单子叶被子植物中最重要的一科, 包括水稻、小麦(*Triticum aestivum*)和玉米(*Zea mays*)等重要的农作物。随着全球气候变暖, 高温、干旱等极端气候现象频繁发生, 极大地影响了作物的产量和品质。随着对HSP70研究的深入, 禾本科植物中HSP70参与的信号途径及作用机制等问题逐渐变得明朗。本文着重对小麦、玉米、水稻、高粱(*Sorghum bicolor*)等作物HSP70响应生物胁迫和非生物胁迫以及调控生长发育等方面进行了综述, 以期对挖掘禾谷类作物抗逆相关基因并阐明其调控网络, 进而提高作物抗逆性(稳定或增加产量)提供有力信息。

1 HSP70的调控机制

热激蛋白是细胞受到不利环境刺激时被激活并表达的一类蛋白, 存在于几乎所有生物体内, 正常条件下可占细胞内蛋白总量的5%, 而在环境刺激尤其是高温诱导下大量合成, 可达到蛋白总量的15% (齐妍等2013)。按照分子质量大小可以将HSP分为5个家族: HSP100 (ClpB/A/C)、HSP90 (HtpG) (83~90 kDa)、HSP70 (DnaK) (66~78 kDa)、HSP60 (GroEL)、HSP40 (DnaJ)和小分子

收稿 2019-01-28 修定 2019-05-28

资助 河北省高等学校科学技术研究项目(QN2017082)、中国农业大学开放课题(SKLPBK1504)和西北农林科技大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室开放课题(CS-BAA2019006)。

[#] 并列第一作者。

^{*} 通讯作者(weifj98@126.com)。

HSP (small HSP, sHSP; IbpA/B)。生物体内的基因数量与HSP数量之间大致呈线性关系。每2 000个基因中大约有1个HSP70基因, 5、6个HSP40基因, 1个sHSP基因和1个HSP60基因; 每6 000个基因中大约有1个HSP90基因(Abrams 2014)。总之, HSP70是生物体内含量丰富、受应激后表达最为显著、进化上最为保守的一类热激蛋白。

1.1 HSP70的结构

HSP70家族作为分子伴侣是迄今为止已知的最保守的蛋白家族之一。比如真核生物与原核生物大肠杆菌(*Escherichia coli*) HSP70的同源性大于65%; 在结构功能特定化的细胞器中就能体现HSP70的保守性: 相同细胞器HSP70之间的同源性要比同一物种不同细胞器HSP70之间的同源性高。玉米、水稻、谷子这些禾谷作物中的细胞质HSP70与拟南芥、大豆、芝麻等细胞质HSP70氨基酸的同源性高达75%。HSP70大约由650个氨基酸组成, 其基因的5'端有100 bp左右的非翻译区, 3'端有200 bp的非翻译区, 中间大约2 000 bp的开放阅读框(open-reading frame, ORF)编码两个保守结构域: 高度保守的N-端核苷酸结合结构域(nucleotide binding domain, NBD)和C-端底物结合结构域(substrate binding domain, SBD), 两个区域之间由保守的铰链(linker)结构相连接(图1)。植物中, 有些HSP70在C-端末尾存在一段与细胞内定位和驻留有关的信号肽。

NBD含有ATP酶结构域(ATPase domain), 有结合并水解ATP的活性。ATP结合位点位于两个相似球形结构(Lobe I和Lobe II)所围成的深沟基部。Lobe I和Lobe II又被进一步划分为Lobe IA、Lobe IB、Lobe IIA、Lobe IIB四个部分。SBD由多肽结合位点(polypeptide binding site, PBS)以及C

末端亚区组成, 包括由两个 β 折叠、4个Loop环组成的“口袋”及由3个 α -螺旋组成的“盖子”结构(图2)。当ATP结合到HSP70时引起ATPase区构象发生改变, NBD和SBD由铰链牵引相互靠近, 将信息由NBD传递到PBS, 铰链则淹埋在NBD和PBS的接触面中。此时PBS区的“盖子”打开, 多肽结合进去; 当ATP水解为ADP时, 铰链呈柔性的舒展状态, 暴露出NBD和PBS的外面, SBD区影响因素改变, “盖子”重新关闭, 从而“捕捉”住结合的多肽, 使HSP70与多肽长时间结合(Murphy 2013; Swain等2007)。

1.2 HSP70的分类

HSP70家族按照表达情况可分为HSC70 (heat shock cognate protein)和HSP70两大类。第一类属于结构型HSP, 作为持家蛋白, 在植物不同的生育期内都有着相当高的表达量, 同时也受一定程度的热诱导, 其功能主要是维持植物正常生长发育; 第二类属于诱导型HSP, 在正常情况下表达很少或不表达, 在热刺激或其他胁迫下表达迅速增强。

根据在细胞中的定位情况, HSP70可分为4类: 细胞质定位的HSP70通常在C-端含有EEVD基序; 叶绿体定位的HSP70 C-端含有(D/E)V(L/I)DAD-F(T/S)(D/E)SK基序, 这类HSP70以及多种同源蛋白分布在叶绿体膜和叶绿体基质中, 参与光合系统II (Ko等1992); C-端含有PEAEY(E/G)E(V/A)KK基序的通常定位于线粒体中; C-端含有HDEL基序的通常定位于内质网中(Guy和Li 1998)。线粒体

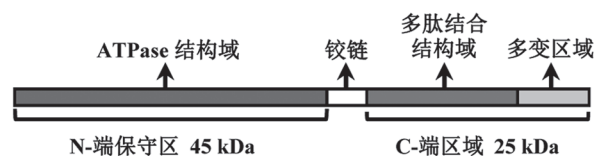


图1 HSP70的结构模型

Fig.1 Structural model of HSP70
根据齐妍等(2013)并略作修改。

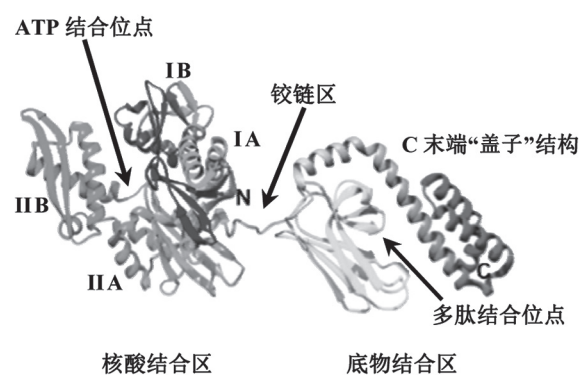


图2 HSP70三维结构

Fig.2 3D-structure of HSP70
根据Murphy (2013)并略作修改。

和内质网定位的HSP70为葡萄糖调节蛋白GRP78和GRP75。烟草(*Nicotiana tabacum*)是目前所知唯一具有核HSP70的植物(Cho和Choi 2009)。不同定位的HSP70在基因结构上不尽相同,一般细胞质定位的HSP70内含子较少,细胞器定位的HSP70内含子较多。

1.3 与HSP70互作的蛋白及互作机制

1.3.1 附属蛋白和底物蛋白

蛋白质间相互作用是驱动生物学发展的“促进剂”,尤其多蛋白复合物、信号通路和亚细胞信号转导的研究更加促进了生物学的蓬勃发展。HSP70在不同的发育阶段可能发挥显著的作用,主要是由于其在不同亚细胞器中的位置,以及其与特异性蛋白的相互作用。与HSP70相互作用的蛋白主要分为附属蛋白和底物蛋白。

细胞中最关键的部分是细胞核,保护核蛋白免受热激损害是在热应激期间生存的必要策略(Cho和Choi 2009)。在许多生物体中HSP70都以热依赖的方式转运到细胞核中,热诱导的HSP70易位需要核载体蛋白Hikeshi (Koizumi等2015), HSP70易位在热引起的损伤保护中发挥了重要的功能。最近,已从拟南芥中鉴定出了Hikeshi同源蛋白(与HSP70互作的附属蛋白HKL),并且发现两个拟南芥HSP70亚型在热休克反应中积累在细胞核中, HKL与这些HSP70相互作用并调节了HSP70的定位, HKL过表达赋予转基因拟南芥的耐热性(Koizumi等2015)。

与HSP70结合的底物蛋白主要有3种(图3-A): HSP40 (或DnaJ)家族、核苷酸交换因子(nucleotide exchange factor, NEF)和TPR (tetrapeptide repeat) (Meimaridou等2009)。HSP40家族中有一类蛋白质都含有一个大约70个氨基酸的J结构域,这类蛋白质称为J蛋白。DnaJ的J结构域可以识别未折叠的底物,并把它们运送给HSP70,同时触发其ATPase活性状态并诱导构象变化以利于稳定HSP70与底物相互作用(孔凡英等2011)。NEF可以结合HSP70,促进ADP释放,便于ATP的结合。TPR可以与SBD结合在一起,协助HSP70与底物的结合。这三种底物蛋白中, NEF-HSP70相互作用最强, TPR-HSP70蛋白相互作用最弱(Meimaridou等2009)。

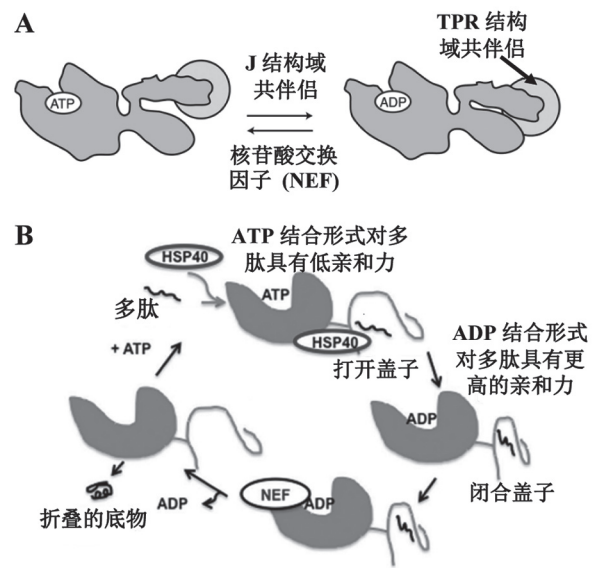


图3 HSP70分子伴侣作用机制

Fig.3 Molecular chaperone mechanism of HSP70

A: HSP70、J-结构域蛋白和NEF的关系; B: HSP70分子伴侣功能循环图。根据Murphy (2013)并略作修改。

1.3.2 蛋白互作机制

HSP70行使分子伴侣功能时需要DnaJ和NEF两种类型的共伴侣参与(图3-B)。DnaJ蛋白作为特异性因子,可以作用于不同的底物,因此,一些物种中通常有许多这类蛋白家族成员。目前已经发现4类定位于不同细胞结构的NEF蛋白家族。大肠杆菌的GrpE (GroP-like gene E)蛋白定位于叶绿体和线粒体;真核生物进化出BAG (Bcl-2-associated athanogene)结构域蛋白以及HSP110/HSP170蛋白,协助HSP70定位于细胞核和细胞质(Shaner和Morano 2007);人类HSP70结合蛋白1 (HSP70-binding protein 1, HSPBP1)最近才被发现(张景霞等2011)。HSP110作为NEF代表,其活性是受核苷酸控制的。当无核苷酸结合时, HSP110主要保持高度灵活的构象(图4-A),当与核苷酸结合时,它主要以稳定状态存在(图4-B),只有当HSP110进一步压缩成密实的构象时,它才能与HSP70结合(图4-C)。

在HSP70、DnaJ以及NEF所参与的分子伴侣循环途径中,首先底物与HSP40的底物结合结构域结合,通过J结构域与HSP70-ATP相互作用,将底物传递给HSP70的底物结合结构域,形成复合物。此

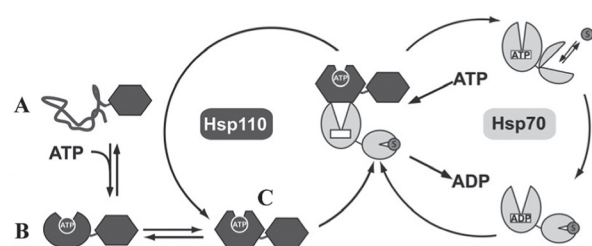


图4 核苷酸交换循环模型

Fig.4 Model of nucleotide exchange cycle

根据Andréasson等(2008)并略作修改。

时HSP70与底物结合能力较弱。HSP40能够激活HSP70的ATPase活性, 将ATP水解为ADP, HSP70蛋白的构象发生变化, “盖子”结构关闭, ADP-HSP70复合物亲和力增强。与多肽结合的HSP70底物结合区由于一系列热力学运动发生构象变化完成对多肽的折叠加工过程(图3-B)。随后, 密实结构的HSP110由于结合了ATP, 激活了自身的核苷酸交换因子活性, 与HSP70的NBD结合, 将HSP70锁定成对核苷酸具有低亲和力的构象, 从而催化ADP的释放; 当新的ATP重新结合HSP70复合物时, 触发HSP110的解离, HSP70-多肽复合物亲和力降低, 底物释放(图4)。如果底物未达到有效折叠状态就被释放; HSP40会重新结合, 再次开始循环过程。在存在过量核苷酸的情况下, HSP110将表现出与HSP70动态结合和解离的持续循环。在这个循环过程中, 不需要HSP110进行核苷酸水解, 而与HSP110结合的核苷酸对HSP70复合物的维持也没有什么影响(Andréasson等2008)。

有研究表明, Fes1A作为植物中NEF的同系物, 它的缺失导致胞质HSP70减少和热休克转录的总体增加。因此, Fes1A可能作为热休克转录的负调控因子阻止细胞质热休克蛋白70的降解。另有研究证实植物体内存在Fes1A与HSP70的互作, 且Fes1A诱导HSP70的高表达来应对高温胁迫(Zhang等2010)。

1.4 HSP70的表达调控机制

HSP70基因的表达有一系列反馈机制。热激元件(heat shock element, HSE)位于HSP70 5'端的启动子区, 热激因子(heat shock factor, HSF)可识别并且结合HSE, 对HSP70基因转录过程起调控作用。

当植物细胞未受到胁迫时, A1类HSF在细胞质中以单体形式被HSP90/70整合, 此时HSF不能和DNA上的HSE结合指导翻译(图5-A)。当细胞受到胁迫时, 胞内产生大量变性蛋白(图5-B)与HsfA1竞争结合HSP90/70 (图5-C), 大量HSFA1通过伴侣滴定模式被释放出来(图5-D)。胁迫引起的大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)直接影响HSF解聚(图5-E), H_2O_2 诱导游离的HSFA1单体发生磷酸化反应形成HSFA1三聚体(此处参考哺乳动物的HSF三聚体形式; 在植物中, 除了拟南芥HSFA1a会形成三聚体之外, 还未发现其他植物HSF会形成三聚体形式)进入细胞核内(图5-F)与HSE结合, 并启动HSP基因表达。随着胁迫消失, 大量诱导合成的HSP70、HSP90又与HSF结合导致HSF/HSE复合物分离, 并且HSF被回收成单体形式。当HSP90、HSP70积累至足够与HSF结合时, HSP的转录终止(Jacob等2017)。细胞内未折叠蛋白和HSF之间对HSP90/70的竞争调控了整个基因表达过程。因此, 一些研究者认为HSP70本身可作为感温计, 细胞可以通过它感受特定的代谢失调。小麦中陆续发现HSF家族成员具有重要的功能(Kumar等2018)。近年, 模式生物二穗短柄草中HSF和HSP70基因的鉴定和互作模式分析将有助于更好地理解这些基因家族的进化过程和功能(Wen等2017)。

2 禾谷类作物HSP70的生物学功能

2.1 分子伴侣功能

HSP70作为一类重要的分子伴侣, 以ATP依赖的方式起作用。许多蛋白质需要HSP70的协助将其正确折叠和组装转变为成熟态或自然态。HSP70以ATP依赖的方式在肽链折叠所需的所有片段集齐之前维持新合成的多肽的稳定性, 再通过有控制地释放帮助其折叠。

2.1.1 保持新合成蛋白的构型

新生肽链对于压力条件特别敏感, 由于核糖体出口直径很小, 新合成的多肽链仅限于折叠成简单的二级结构以便进出(Abrams 2014)。从核糖体释放后, 细胞质内高浓度溶质的水环境使肽链更容易包裹一些疏水性残基进行错误的卷曲折叠, 此时分子伴侣的作用就显得尤为重要。HSP70可

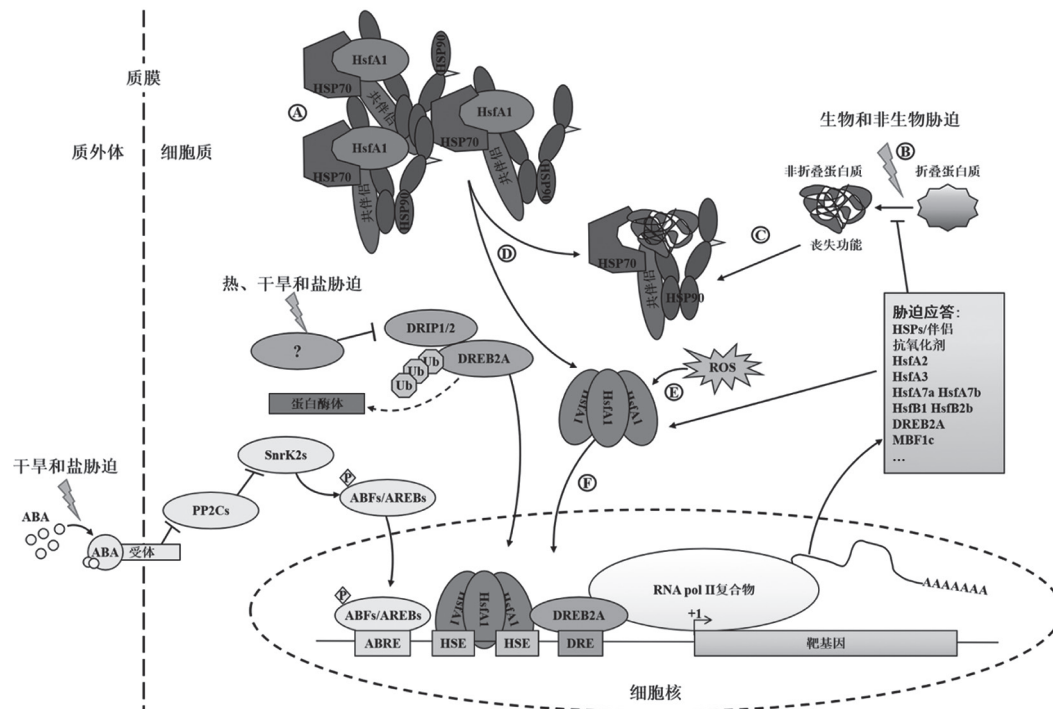


图5 HSF对HSP70基因转录的调控模型

Fig.5 Regulation model of HSF participating in the process of *HSP70* gene transcription

ABFs/AREBs: ABA-responsive element binding factors, ABA响应元件结合因子; ABRE: ABA-responsive element, ABA响应元件; DREB2A: dehydration-responsive element binding protein 2A, 脱水反应元件结合蛋白2A; DRIP1/2: DREB2A-interacting protein 1/2, DREB2A互作蛋白1/2; MBF1c: multiprotein bridging factor 1c, 多蛋白桥联因子1c; PP2Cs: protein phosphatases 2C, 蛋白磷酸酶2C; SnRK2s: sucrose non-fermenting 1 related protein kinase 2, 蔗糖非依赖1蛋白激酶2。根据Jacob等(2017)并略作修改。

以和核糖体以及新生肽链形成复合物,维持核糖体蛋白的稳定性,增加末端错误折叠蛋白质的泛素化,从而修复新生肽链可能存在的末端错误折叠(Abrams 2014)。如水稻内质网HSP70可以与仍在核糖体上翻译的醇溶谷蛋白结合,进而防止醇溶谷蛋白发生无序聚集,说明内质网HSP70直接参与蛋白的成熟过程(Li等1993)。这种现象在玉米(Marocco等1991)和小麦(Rubin等1992)中都存在。

2.1.2 协助蛋白分子的跨膜运输

细胞内多种新生蛋白质分子的定向转移与穿过亚细胞膜的过程都需要HSP70及其相关蛋白质的参与。Desheies等人认为,定位于内质网、线粒体等亚细胞器的蛋白质,在细胞质中合成后需要改变构象,变成非折叠状(或者说是还未折叠的新生蛋白质分子),然后在HSP70的“护送”下才能穿过亚细胞膜,所以,HSP70起着“伸展酶”(imfol-

dase)的作用,使新生蛋白质分子保持无活性状态,护送它们到达适当的位置(吴厚雄等2003)。

2.1.3 促进受损蛋白的恢复和降解

自然状态的蛋白会因为布朗运动而导致错误折叠,这种现象在植物遭到外界胁迫条件下更加普遍。HSP70能阻止变性蛋白聚集并帮助变性蛋白恢复成自然状态。与新生肽链折叠不同的是,对于变性蛋白的折叠是一个不同的分子伴侣网络,HSP70在行使分子伴侣功能时,搭配的共伴侣蛋白是HSP90,而不是TRiC (Albanèse等2006)。

综上所述,HSP70参与靶蛋白的活性和功能调节,却不是靶蛋白的组成部分。

2.2 清除ROS

ROS和HSP70之间的关系可以分为两个方面:其一,HSP70可作为抗氧化剂清除过剩的ROS。ROS水平的升高会导致氧胁迫,进而造成核酸、蛋

白质、碳水化合物和脂质的氧化损伤, HSP70可能通过增强葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose 6-phosphate dehydrogenase, G6PD)活性来提高谷胱甘肽(glutathione, GSH)的还原水平从而清除过剩的ROS (邹杰等2007)。另一方面, ROS可能也是热激响应过程中不可或缺的一部分, 它参与HSF活化HSP70的途径(Pucciariello等2012)。

2.3 HSP70与非生物胁迫

热激蛋白受热诱导并在响应热胁迫的过程中发挥重要作用。玉米HSP70在42°C热激诱导和4°C冷胁迫时表达量均有增加, 且在冷胁迫4 h时表达量最大(李慧聪等2010)。当对萌发的水稻种子进行42°C热激之后, HSP70诱导合成, 幼苗对寒冷的抵御能力增强, 有利于幼苗的生长(黄上志等2004)。小麦幼苗热激后TaHSP70蛋白明显积累; 对小麦的种子进行热激, 发现萌发后的幼苗中TaHSP70含量增加(Duan等2011)。高粱的SbHSP70-1在42°C高温处理时, 叶和茎中的表达量均有显著升高, 过表达SbHSP70-1后, 赋予了大肠杆菌很强的热耐受性, 说明SbHSP70-1参与了高温胁迫。不仅如此, SbHSP70-1也受低温诱导, 在4°C低温处理后, 叶片中表达量增加(Mulaudzi-Masuku等2015)。甘蔗(*Saccharum officinarum*) HSP70在皮质肌动蛋白组织形成互锁边缘齿叶的结构中起关键作用, 帮助细胞在高温失水的条件下保持形态, 提高植株耐热性(Augustine等2015)。黄祥富等(1999)研究表明, 植物细胞在高温胁迫时, HSP70与sHSP转移至细胞质膜和液泡膜上形成外周蛋白, 与细胞膜蛋白相互作用, 重建膜的流动性, 抑制膜蛋白的变性, 增强细胞膜的稳定性, 恢复膜的功能, 从而提高植物的耐热性。水稻的32个HSP70基因中, 24个受高温诱导表达, 其中14个表达量显著升高。在盐和干旱处理下OsHSP70表达量也均有显著升高(Jung等2013; Wang等2014)。

HSP70不仅受温度诱导, 也参与干旱、激素、重金属等多种非生物胁迫过程。如干旱、高温都能够诱导玉米HSP70的合成, 且干旱高温协同胁迫下玉米叶片中HSP70含量高于高温或干旱单一胁迫(胡秀丽等2010)。脱落酸(abscisic acid, ABA)在植物响应盐度、干旱、伤害和寒冷等非生物胁迫

中发挥重要作用。刘瑞侠(2009)发现ABA诱导H₂O₂的积累提高了HSP70的合成能力, 进一步上调了抗氧化防护酶活性, 从而降低了ROS水平, 增强了玉米的抗逆性。安艳秋等(2011)发现干旱和低温时HSP70基因的表达量下调, ABA处理后HSP70基因表达量亦下调, 说明TaHSP70可能通过ABA途径调控小麦对干旱和低温的敏感性。茉莉酸(jasmonic acid, JA)和茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)等茉莉酸类物质在植物的抗逆反应中发挥重要的作用。Duan等(2011)证实喷施MeJA 2 h后, TaHSC70表达量达到最大, 说明TaHSC70可能通过JA信号途径参与小麦的基础防御。

此外有研究证明水稻线粒体HSP70的过表达抑制了高温、高盐和氧化引起的细胞凋亡, 并且这种抑制作用是通过维持线粒体膜电位差的稳定和抑制ROS的扩散实现的(Qi等2011; Chen等2009)。

2.4 HSP70与生物胁迫

禾本科植物的HSP70在病理过程中也发挥了重要作用。安艳秋等发现条锈菌(*Puccinia striiformis*)非亲和小种‘CYR32’和白粉菌(*Erysiphe*)亲和小种混和菌系接种后, TaHSP70表达量增加, 说明小麦TaHSP70可能参与调控小麦防卫反应过程(安艳秋等2011)。Duan等(2011)从被条锈菌侵染的小麦叶片中分离到HSP70基因, 该基因受条锈菌诱导后的表达量明显增加, 推测TaHSC70可能是通过JA信号途径参与小麦响应条锈菌侵染的基础防御过程。Jiang等(2014)研究表明, 水稻条纹病毒(*Rice stripe virus*, RSV)诱导OsHSP70表达量增加, 当OsHSP70基因被敲除或沉默后, RSV的侵染能力降低, 说明OsHSP70是水稻抵御病原物RSV侵染时的必需成分。同时检测到热激处理后RSV的侵染能力增强, 只是OsHSP70与RSV的作用机制尚不明确, 还有待进一步探索(Jung等2013; Jiang等2014)。

2.5 HSP70与植物的生长发育调控

HSP70对禾本科植物的生长发育有直接影响。玉米在形成花粉时期HSP70的增加可以促使线粒体分裂, 为作物生长发育提供足够的能量。高粱雄性不育系在45°C热激后, HSP70大量合成, 并且转运至线粒体, 促使线粒体数量增加, 为花粉的发育提供足够的能量, 此时, 高粱雄性不育系就

转变为可育系(陈建南等1997)。水稻HSP70CP1是热胁迫和低温条件下叶绿体发育所必需的成分,它参与了胁迫条件下水稻叶绿体的构成,以及维持叶绿体形态,是光合作用正常进行的重要保证。在正常条件下,OsHSP70CP1也参与了蛋白质的折叠和转运(Kim和An 2013)。

3 展望

综上所述,近年来禾本科作物的HSP70研究取得了一定进展。利用基因工程技术把抗逆目的基因引入到作物细胞,培育出具有抗逆新性状的植株,是解决作物抗逆性问题切实可行且非常有效的方法。而HSP70作为响应多种非生物胁迫和生物胁迫的重要因子,成为我们优先选择的抗逆基因。

尽管玉米、高粱、谷子等禾本科作物以及禾本科模型物种二穗短柄草的全基因组测序已经完成,但关于这些作物中HSP70家族的研究报道尚不细致,对其功能和在细胞中的作用仍有很多空白,尤其是在逆境胁迫时HSP70是如何增强植物的耐受性的这个问题还没有得到很好的解答,还需进行大量的研究工作。鉴于HSP70进化上的高度保守性,对其他植物的研究可为了解禾本科HSP70的功能提供借鉴,因此,对其进行全基因组挖掘和分析,筛选出关键的抗逆基因,进而深入研究HSP70在干旱、盐、高温等逆境条件下的功能,对我们正确认识胁迫信号的传导、抗逆相关基因的调控,以及提高作物的抗逆性有重要的指导意义和实际应用价值。

参考文献(References)

- Abrams JL (2014). Functional analysis of cytosolic HSP70 nucleotide exchange factor networks in yeast (dissertation). Houston: The University of Texas Health Science Center at Houston and The University of Texas MD Anderson Cancer Center
- Albanèse V, Yam AYW, Baughman J, et al (2006). Systems analyses reveal two chaperone networks with distinct functions in eukaryotic cells. *Cell*, 124 (1): 75–88
- An Y, Lin R, Feng J, et al (2011). Molecular cloning of wheat heat shock protein gene *TaHSP70* and expression analysis in plant defense and stress responses. *Mol Plant Breeding*, 9 (4): 402–409 (in Chinese with English abstract) [安艳秋, 蔺瑞明, 冯晶等(2011). 小麦热激蛋白基因*TaHSP70*克隆及其在植物防卫和抗逆反应中的表达分析. 分子植物育种, 9 (4): 402–409]
- Andréasson C, Fiaux J, Rampelt H, et al (2008). Hsp110 is a nucleotide-activated exchange factor for Hsp70. *J Biol Chem*, 283 (14): 8877–8884
- Augustine SM, Cherian AV, Syamaladevi DP, et al (2015). *Erianthus arundinaceus* HSP70 (*EaHSP70*) acts as a key regulator in the formation of anisotropic interdigitation in sugarcane (*Saccharum* spp. hybrid) in response to drought stress. *Plant Cell Physiol*, 56 (12): 2368–2380
- Chen JN, Fu HY, Qin HY, et al (1997). Effect of HSP₇₀ antisense RNA on the normal formation of sorghum pollen. *Chin Sci Bull*, 42 (18): 1993–1997 (in Chinese) [陈建南, 傅鸿仪, 路子显等(1997). HSP₇₀反义RNA对高粱花粉的正常形成的影响. 科学通报, 42 (18): 1993–1997]
- Chen X, Wang Y, Li J, et al (2009). Mitochondrial proteome during salt stress-induced programmed cell death in rice. *Plant Physiol Biochem*, 47 (5): 407–415
- Cho EK, Choi YJ (2009). A nuclear-localized HSP70 confers thermoprotective activity and drought-stress tolerance on plants. *Biotechnol Lett*, 31 (4): 597–606
- Duan YH, Guo J, Ding K, et al (2011). Characterization of a wheat HSP70 gene and its expression in response to stripe rust infection and abiotic stresses. *Mol Biol Rep*, 38: 301–307
- Guy CL, Li QB (1998). The organization and evolution of the spinach stress 70 molecular chaperone gene family. *Plant Cell*, 10 (4): 539–556
- Hu XL, Li YH, Yang HR, et al (2010). Heat shock protein 70 may improve the ability of antioxidant defense induced by the combination of drought and heat in maize leaves. *Acta Agron Sin*, 36 (4): 636–644 (in Chinese with English abstract) [胡秀丽, 李艳辉, 杨海荣等(2010). HSP70可提高干旱高温复合胁迫诱导的玉米叶片抗氧化防护能力. 作物学报, 36 (4): 636–644]
- Huang SZ, Huang XF, Lin XD, et al (2004). Induction of chilling tolerance and heat shock protein synthesis in rice seedlings by heat shock. *J Plant Physiol Mol Biol*, 30 (2): 189–194 (in Chinese with English abstract) [黄上志, 黄祥富, 林晓东等(2004). 热激对水稻幼苗耐冷性及热激蛋白合成的诱导. 植物生理与分子生物学报, 30 (2): 189–194]
- Huang XF, Huang SZ, Fu JR (1999). Regulation of expression and functions of the heat shock proteins of plant. *Chin Bull Bot*, 16 (5): 530–536 (in Chinese with English abstract) [黄祥富, 黄上志, 傅家瑞(1999). 植物热激蛋白的功能及其基因表达的调控. 植物学通报, 16 (5): 530–536]

- Jacob P, Hirt H, Bendahmane A, et al (2017). The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. *Plant Biotechnol J*, 15 (4): 405–414
- Jiang S, Lu Y, Li K, et al (2014). Heat shock protein 70 is necessary for *Rice stripe virus* infection in plants. *Mol Plant Pathol*, 15 (9): 907–917
- Jung KH, Gho HJ, Nguyen MX, et al (2013). Genome-wide expression analysis of *HSP70* family genes in rice and identification of a cytosolic *HSP70* gene highly induced under heat stress. *Funct Integr Genomics*, 13 (3): 391–402
- Jungkunz I, Link K, Vogel F, et al (2011). AtHsp70-15-deficient *Arabidopsis* plants are characterized by reduced growth, a constitutive cytosolic protein response and enhanced resistance to TuMV. *Plant J*, 66 (6): 983–995
- Kim SR, An G (2013). Rice chloroplast-localized heat shock protein 70, OsHsp70CP1, is essential for chloroplast development under high-temperature conditions. *J Plant Physiol*, 170 (9): 854–863
- Ko K, Bornemisza O, Kourtz L, et al (1992). Isolation and characterization of a cDNA clone encoding a cognate 70-kDa heat shock protein of the chloroplast envelope. *J Biol Chem*, 267 (5): 2986–2993
- Koizumi S, Ohama N, Mizoi J, et al (2014). Functional analysis of the Hikeshi-like protein and its interaction with HSP70 in *Arabidopsis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 450: 396–400
- Kong FY, Deng YS, Meng QW (2011). Research advancement of J proteins in chloroplast. *Plant Physiol J*, 47 (3): 235–243 (in Chinese with English abstract) [孔凡英, 邓永胜, 孟庆伟(2011). 叶绿体J蛋白研究进展. *植物生理学报*, 47 (3): 235–243]
- Kumar RR, Goswami S, Singh K, et al (2018). Characterization of novel heat-responsive transcription factor (TaHsFA6e) gene involved in regulation of heat shock proteins (HSPs) — a key member of heat stress-tolerance network of wheat. *J Biotechnol*, 279: 1–12
- Li HC, Guo XL, Wang DM, et al (2010). Responses of *HSP70* gene expression to temperature stresses in maize (*Zea mays* L.). *J Agr Univ Hebei*, 33 (6): 12–15 (in Chinese with English abstract) [李慧聪, 郭秀林, 王冬梅等(2010). 玉米热激蛋白70基因对温度胁迫的响应. *河北农业大学学报*, 33 (6): 12–15]
- Li X, Wu Y, Zhang DZ, et al (1993). Rice prolamine protein body biogenesis: a BiP-mediated process. *Science*, 262 (5136): 1054–1056
- Liu RX (2009). Functions and cross-talks between heat shock protein 70 and H₂O₂ in abscisic acid-induced antioxidant defenses systems of maize plants (dissertation). Zhengzhou: Henan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [刘瑞侠(2009). HSP70上调了ABA诱导的干旱高温协同胁迫条件下玉米抗氧化防御酶活性(学位论文). 郑州: 河南农业大学]
- Marocco A, Santucci A, Cerioli S, et al (1991). Three high-lysine mutations control the level of ATP-binding HSP70-like proteins in the maize endosperm. *Plant Cell*, 3 (5): 507–515
- Meimaridou E, Gooljar SB, Chapple JP, et al (2009). From hatching to dispatching: the multiple cellular roles of the Hsp70 molecular chaperone machinery. *J Mol Endocrinol*, 42 (1): 1–9
- Mulaudzi-Masuku T, Mutepe RD, Mukhoru OC, et al (2015). Identification and characterization of a heat-inducible Hsp70 gene from *Sorghum bicolor* which confers tolerance to thermal stress. *Cell Stress Chaperon*, 20 (5): 793–804
- Murphy ME (2013). The HSP70 family and cancer. *Carcinogenesis*, 34 (6): 1181–1188
- Pucciariello C, Banti V, Perata P (2012). ROS signaling as common element in low oxygen and heat stresses. *Plant Physiol Biochem*, 59: 3–10
- Qi Y, Wang H, Zou Y, et al (2011). Over-expression of mitochondrial heat shock protein 70 suppresses programmed cell death in rice. *FEBS Lett*, 585: 231–239
- Qi Y, Xu ZS, Li PS, et al (2013). Research progress on molecular mechanism and application of HSP70 in plants. *J Plant Genet Resour*, 14 (3): 507–511 (in Chinese with English abstract) [齐妍, 徐兆师, 李盼松等(2013). 植物热激蛋白70的分子作用机理及其利用研究进展. *植物遗传资源学报*, 14 (3): 507–511]
- Rubin R, Levanony H, Galili G, et al (1992). Evidence for the presence of two different types of protein bodies in wheat endosperm. *Plant Physiol*, 99 (2): 718–724
- Shaner L, Morano KA (2007). All in the family: atypical Hsp70 chaperones are conserved modulators of Hsp70 activity. *Cell Stress Chaperon*, 12 (1): 1–8
- Swain JF, Dinler G, Sivendran R, et al (2007). Hsp70 chaperone ligands control domain association via an allosteric mechanism mediated by the interdomain linker. *Mol Cell*, 26 (1): 27–39
- Tang T, Yu A, Li P, et al (2016). Sequence analysis of the *Hsp70* family in moss and evaluation of their functions in abiotic stress responses. *Sci Rep*, 6: 33650
- Wang Y, Lin S, Song Q, et al (2014). Genome-wide identification of heat shock proteins (Hsps) and Hsp interactors in rice: Hsp70s as a case study. *BMC Genomics*, 15: 344
- Wen F, Wu X, Li T, et al (2017). Genome-wide survey of heat shock factors and heat shock protein 70s and their regulatory network under abiotic stresses in *Brachypodium*

- distachyon*. PLoS ONE, 12 (7): e0180352
- Wu H, Xiao H, Li B (2003). Research Development for plant heat-shock proteins. Biotechnol Bull, (4): 6–9 (in Chinese with English abstract) [吴厚雄, 肖辉海, 李必湖(2003). 植物热激蛋白的研究进展. 生物技术通报, (4): 6–9]
- Xu JW, Zhao J, Liu JG, et al (2017). Genome-wide identification and bioinformatics analysis of *Hsp70* gene family in *Sesamum indicum*. Jiangsu J Agr Sci, 33 (3): 493–502 (in Chinese with English abstract) [徐剑文, 赵君, 刘剑光等(2017). 芝麻全基因组HSP70基因的鉴定与生物信息学分析. 江苏农业学报, 33 (3): 493–502]
- Zhang GW, Liu LL, Wang XR, et al (2015). Genome-wide identification and bioinformatics analysis of *HSP70* genes in foxtail millet. Acta Agr Zhejiangensis, 27 (7): 1127–1133 (in Chinese with English abstract) [张古文, 刘莉莉, 王显瑞等(2015). 谷子HSP70基因家族的全基因组鉴定及生物信息学分析. 浙江农业学报, 27 (7): 1127–1133]
- Zhang JX, Wang C, Yang CY, et al (2010). The role of arabis dopsis *AtFes1A* in cytosolic Hsp70 stability and abiotic stress tolerance. Plant J, 62 (4): 539–548
- Zhang JX, Yang Y, Zhang Q, et al (1996). Characteristic of the nucleotide exchange factors and recent studies in plants. Plant Physiol J, 47 (3): 218–222 (in Chinese with English abstract) [张景霞, 杨颖, 张权等(2011). 核苷酸转换因子的特性及其在植物中的研究现状. 植物生理学报, 47 (3): 218–222]
- Zhang L, Zhao HK, Dong QL, et al (2015). Genome-wide analysis and expression profiling under heat and drought treatments of *HSP70* gene family in soybean (*Glycine max* L.). Front Plant Sci, 6: 773
- Zou J, Chen XB, Liu AL, et al (2007). Plant heat shock proteins and crop abiotic stress tolerance improvement. Plant Physiol Commun, 43 (5): 981–985 (in Chinese with English abstract) [邹杰, 陈信波, 刘爱玲等(2007). 植物热激蛋白与作物非生物抗逆性的改良. 植物生理学通讯, 43 (5): 981–985]

Research progress of HSP70s in Poaceae

QI Mao-Dong[#], XIE Xin[#], WEI Feng-Ju^{*}

Key Laboratory of Hebei Province for Plant Physiological and Molecular Pathology, College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071001, China

Abstract: Heat shock protein 70 (HSP70) is a class of functional proteins induced by stresses, which is highly conserved and ubiquitous in plants. As molecular chaperones, HSP70s are involved in many cellular processes, including protein folding, protein translocation across membranes, and protein degradation. Studies have shown that high temperature, drought, salt and other abiotic stresses as well as biotic stresses can induce the synthesis of HSP70. Moreover, HSP70 also plays important roles in response to various stresses and the regulation of plant fertility. In this review, we provide an overview of the structure, types and molecular regulation mechanisms of HSP70, and particularly focus on the research progress of HSP70 in response to biotic and abiotic stresses, and its role in regulation of development in grain crops. Such information would provide basic theoretical framework for the development of stress resistance in gramineous plants.

Key words: Poaceae; HSP70; stress; biological function

Received 2019-01-28 Accepted 2019-05-28

This work was supported by Hebei Province Higher Education Science and Technology Research Project (QN2017082), China Agricultural University Open Project (SKLPPBKF1504), and State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, Northwest A&F University Open Project (CSBAA2019006).

[#]Co-first authors.

^{*}Corresponding author (weifj98@126.com).