

植物热激蛋白与作物非生物抗逆性的改良

邹杰^{1,2}, 陈信波^{1,*}, 刘爱玲², 高国赋^{1,2}, 朱木兰³

湖南农业大学¹作物基因工程湖南省重点实验室, ²生物科学技术学院, 长沙410128; ³中国科学院上海生命科学研究
院植物生理生态研究所, 上海200032

Plant Heat Shock Proteins and Crop Abiotic Stress Tolerance Improvement

ZOU Jie^{1,2}, CHEN Xin-Bo^{1,*}, LIU Ai-Ling², GAO Guo-Fu^{1,2}, ZHU Mu-Lan³

¹Crop Gene Engineering Key Laboratory of Hunan Province, ²College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; ³Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China

摘要: 文章就植物热激蛋白(Hsps)的种类、产生、生物学功能及其在作物抗逆性改良中的研究进展作介绍。

关键词: 热激蛋白; 非生物胁迫; 生理功能和作用机制

非生物胁迫诸如干旱胁迫、盐分胁迫、温度胁迫、重金属污染和氧化胁迫影响着植物的生长发育, 是导致作物减产的首要因素, 全球作物每年因此减产过半(Wang等2003)。在长期的进化过程中, 植物形成一系列独特的生理机制, 能够对不同类型的环境胁迫做出应答, 以避免或减少胁迫对自身的伤害。热激蛋白(heat shock proteins, Hsps)是植物对逆境胁迫的防卫机制成员中的一员, 其在逆境胁迫下的表达增强可提高植物抗御各种逆境因子胁迫的能力(Vierling 1991; Sun等2002; Wang等2004)。人们很早就把Hsps的这种性质运用于作物的抗逆性改良研究, 并取得了可喜的进展。本文就植物Hsps及作物抗逆改良中Hsps的研究进展作介绍。

1 植物 Hsps 的种类

热激蛋白首先发现于果蝇, 后来证明在整个生物界普遍存在。根据分子量大小可将植物Hsps分为: Hsp100s、Hsp90s、Hsp70s、Hsp60s和sHsps (small Hsps)五大家族(Trent 1996)。植物Hsp100/Clp (caseinolytic protease)蛋白是AAA+蛋白家族(ATPase associated with a variety of cellular activities)的一员。根据分子结构特征, Hsp100/Clp可以分为两大类: Class I亚家族和Class II亚家族。Class I亚家族包括ClpA、ClpB、ClpC和ClpD 4类蛋白。Class II亚家族包括ClpM、ClpN、ClpX和ClpY 4类蛋白(杨金莹等2006)。sHsps蛋白家族是一类分子量为12~40 kDa的Hsps, 在高

等植物中极为丰富, 均为核基因编码, 分属于7个多基因家族(Sun等2002; Ma等2006)。其中3类sHsps存在于细胞溶质和细胞核中(CI、CII和CIII), 其余4类分别存在于叶绿体(chloroplast, Cp)、内质网(endoplasmic reticulum, ER)、线粒体(mitochondria, Mt)和过氧化物酶体(peroxisomes, Px)中。

2 植物 Hsps 的诱导表达

热胁迫是诱导Hsps表达的最常见因素。在正常环境条件下, 大多数Hsps特别是sHsps是不表达的, 但受热刺激迅速诱导表达。大豆中的研究表明, 热激处理7~10 min就可检测到Hsps积累, 2~3 h内Hsps表达量持续增加, 随后开始下降, 6 h后则检测不到(Kimpel等1990)。

热胁迫并非诱导Hsps表达的唯一因素, 诸如干燥/水分胁迫、寒冷、重金属离子、紫外线等也是Hsps表达的诱因(Sun等2002)。向日葵(*Helianthus annuus*) HaHsp17.6 (CI)和HaHsp17.9 (CII)受水分胁迫诱导表达(Almoguera等1993)。水稻(*Oryza sativa*) OsHsp26除受热诱导表达外还受氧化胁迫诱导表达(Lee等2000a)。小麦(*Triticum aestivum*) Hsp101 mRNA的合成受到热激、脱水、和ABA处理的诱导, 但不受寒冷和外伤的诱导

收稿 2007-04-20 修定 2007-07-30

资助 湖南省自然科学基金(05JJ3035)。

* 通讯作者(E-mail: chenxinbo@hotmail.com; Tel: 0731-4635290)。

(Campbell 等 2001)。最近, Chang 等(2007)在水稻中克隆出一个 CII-sHsp 全长 cDNA: *Oshsp18.0-CII*。该基因表达受热激、机械损伤和水杨酸诱导。水稻 *rHsp90* mRNA 受多种胁迫(如高盐、高 pH 值、干燥和高温)诱导表达, 但不受低温和低 pH 值诱导表达(Liu 等 2006)。Hsps 在逆境下诱导表达表明其可能在作物应对各种非生物胁迫反应中起某种程度的作用。

3 逆境胁迫下 Hsps 的生物学功能

3.1 维持天然蛋白结构的稳定 逆境胁迫对细胞的一个直接伤害就是使蛋白质变性而失去正常功能。因此, 逆境胁迫下维护蛋白的功能结构、阻止非天然蛋白的集聚、重新折叠变性蛋白以恢复其功能结构以及清除有潜在危害的变性蛋白是非常必要的。Hsps 分子伴侣系统在此过程中起着重要作用(Wang 等 2004)。植物细胞中各类 Hsps 相互协作, 形成一个交织的网络系统。植物中 sHsps 以寡聚物形式存在, 并在胁迫时与部分变性的蛋白结合, 阻止蛋白不可逆集聚(Basha 等 2004; Friedrich 等 2004; Miroshnichenko 等 2005; Wagner 等 2005)。部分变性的蛋白与 sHsps 结合从而处于可折叠的中间态, 随后在其他 Hsps/ 分子伴侣的作用下恢复折叠状态(Lee 和 Vierling 2000; Low 等 2000; Mogk 等 2003)。Hsp100/Clp 蛋白家族起着蛋白聚集体瓦解机器的作用(Adam 等 2006; Sakamoto 2006; Lee 等 2007)。变性蛋白或错误折叠蛋白质形成的聚集体会为 Hsp100/Clp 蛋白家族瓦解, 随后为其他 Hsps/ 分子伴侣重新折叠(Mogk 等 2003)。那些存在潜在危害的变性蛋白则为 Hsp100/Clp 降解为游离氨基酸(Sakamoto 2006)。各种类 Hsps 各尽其能又相互协作, 共同维护着蛋白的功能结构。

3.2 维护生物膜结构稳定 温度胁迫(包括高温胁迫和低温胁迫)的另一个危害是通过影响细胞生物膜的流动性从而影响生物膜功能。植物的光合作用和呼吸作用都是以膜为基础的过程, 对植物细胞而言, 维护膜的稳定性显得尤其重要。除了保护蛋白之外, Hsps 还有稳定膜结构的功能。Török 等(2001)认为 sHsps 作为“膜稳定因子”, 稳定膜结构。热胁迫下蓝藻(*Synechocystis* sp. PCC6803)中的 Hsp17 与类囊体膜脂相互作用后, 膜脂的有

序性增加、流动性降低; 而 hsp17 基因缺失突变体的蓝藻在热胁迫下其类囊体膜呈现出高流动性, 对热更为敏感(Lee 等 2000b)。Tsvetkova 等(2002)的研究进一步指出, sHsps 可以调节膜脂的多态性, 稳定膜的液晶相, 增加液体相分子排列的有序性。在高温下, sHsps 和膜脂的相互作用可降低膜的流动性; 在低温下, sHsps 与膜脂的相互作用可提高膜的流动性。sHsps 与膜的缔合作用可以维护膜的完整性, 可能是植物在极端温度胁迫下的保护机制之一。有研究表明, 转胡萝卜 Hsp17.7 基因的马铃薯(*Solanum tuberosum*)的耐热性的提高和过表达 Cp-sHsp 的番茄(*Solanum tuberosum*)植株抗寒性的提高, 都与 sHsps 维护膜完整性有关(Ahn 和 Zimmerman 2006; Wang 等 2005)。

3.3 作为抗氧化剂清除过剩的 ROS 活性氧(reactive oxygen species, ROS)包括超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)、羟基($HO\cdot$)和纯态氧(1O_2)等, 是需氧代谢过程中不可避免的产物(Apel 和 Hirt 2004)。适度水平的 ROS 对细胞是有益的。ROS 作为信号分子在细胞凋亡、抵抗病原菌的入侵和对逆境胁迫的感知与适应过程中起作用(Neill 等 2002; Apel 和 Hirt 2004; Volkov 等 2006)。但是, 当植物体遭遇逆境胁迫时, 细胞中 ROS 水平会大大增加而形成氧化胁迫, 造成细胞组分如核酸、蛋白质、碳水化合物和脂质的氧化损伤(Apel 和 Hirt 2004; Møller 等 2007)。植物中叶绿体和线粒体是产生 ROS 的主要部位, 叶绿体和线粒体中 ROS 水平的平衡尤为重要。Harndahl 等(1999)证实, 过表达 Cp-sHsp 的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)其抗氧化胁迫能力增强。叶绿体中 Cp-sHsp 可能通过自身的蛋氨酸残基的氧化和还原反应, 中和过剩的 ROS, 有效降低 ROS 对其他敏感蛋白的损伤(Gustavsson 等 2002)。Cp-sHsp 肽链的 N 端存在一个富含蛋氨酸残基的能形成两性 α 螺旋形的保守结构域(Harndahl 等 2001)。蛋氨酸残基极易为 ROS 氧化成蛋氨酸亚砷, 嗣后为叶绿体内丰富的蛋氨酸亚砷还原酶还原(Hoshi 和 Heinemann 2001)。植物线粒体 sHsps 在氧化胁迫下合成量增加并对线粒体起保护作用, 但其中机制尚不清楚(Banzet 等 1998; Downs 和 Heckathorn 1998)。谷

胱甘肽(GSH)是生物体中的抗氧化物质。在哺乳动物体内, sHsps 通过增强葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)活性而提升还原态GSH的水平, 清除过剩的ROS, 从而保护线粒体免于氧化损伤(Préville等1999)。在植物细胞中 sHsps 可能也是以相同机制清除过剩的ROS的。

4 Hsps与作物抗温度和水分胁迫能力的改良

人们很早就进行了Hsps与作物抗逆性关系的研究, 并取得了可喜的进展。

4.1 Hsps与作物耐热性的改良 高温胁迫是造成植物伤害的重要原因之一。高温胁迫对植物的直接伤害是致使蛋白质变性, 生物膜结构破损, 进而导致体内生理生化代谢紊乱。人们很早就认识到作物耐热性的获得与Hsps的表达积累的关系。Lin等(1984)发现大豆幼苗经40、2 h或45、10 min热激预处理诱导合成Hsps后, 大豆幼苗对高温的耐受力增强。Keeler等(2000)认为, 利马大豆(*Phaseolus lunatus*)耐热抗性的获得与HSP100/ClpB基因的表达相关联。Katiyar-Agarwal等(2003)采用农杆菌介导法将玉米泛素(ubiquitin-1)启动子驱动的拟南芥*AtHsp101*基因导入水稻, 获得了首例转Hsps基因的耐热水稻。在3个不同水平的高温胁迫试验中, 过表达Hsp101的转基因水稻T₂代植株的恢复生长状态明显好于非转基因水稻植株。杨金莹等(2006)将CaMV35S启动子驱动的反向*LeHsp110/ClpB* cDNA片段导入番茄以后, Northern技术分析表明, 高温下转基因株系中*LeHsp110/ClpB* mRNA水平明显低于野生型, 热适应后转基因番茄PSII的获得耐热性也明显低于野生型。过表达sHsp17.7的转基因水稻和野生型水稻的研究显示, 转基因株系在经高温胁迫(50、2 h)处理后的恢复培养(25、7 d)中有更高的存活率(Murakami等2004)。过表达番茄线粒体Mt-sHsp的转基因烟草(*Nicotiana tabacum*)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(Sanmiya等2004)。

4.2 Hsps与作物耐冷性的改良 冷害严重地威胁着许多国家和地区的农作物的生长发育, 常常造成严重减产。冷害最明显的症状是植株光合效率下降、感病率增加、细胞活力下降、失水、离子和可溶性物质渗漏率增加等。Hsps的诱导表达可

提高植物组织的低温耐受能力。Collins等(1995)的研究指出, 热激(40、3 h)可诱导绿豆下胚轴合成Hsp79和Hsp70, 减轻嗣后的冷胁迫(2.5)对膜的损伤, 以及有效降低电解质的渗漏。但热激处理时加入50 μmol·L⁻¹的环己亚胺(蛋白质合成抑制剂)可抵消热处理的效应。最近, Wang等(2005)将*Cp-sHsp* cDNA置于CaMV 35S启动子的调控之下, 并采用农杆菌介导法转化番茄子叶, 得到组成型表达*Cp-sHsp*的转基因番茄植株。低温胁迫下转基因番茄比未转基因番茄表现出较少的电解质泄漏、叶绿素损伤、花青素和丙二醛积累以及较高的光合作用速率。秦佳等(2007)也得到类似的结果。他们将组成型表达*C1pB*的转基因番茄与未转基因番茄在4低温下处理21 d后移入25下恢复培养, 未转基因的番茄快速呈现严重的冷害症状, 叶片逐渐萎蔫, 7 d后全部死亡; 而转基因的番茄在恢复期间仅出现轻微的冷害症状, 呈现较强的耐冷表型。最大光化学效率(F_v/F_m)也显示, 非转基因植株的PSII比转基因植株的PSII更易受低温胁迫的伤害, 且难以修复。

4.3 Hsps与作物耐旱性的改良 干旱是使植物产生水分亏缺的环境因子, 是各种植物最具威胁性的逆境之一。Hsp70似乎在提高植物耐旱性中起关键作用。Alvim等(2001)认为, 组成型过表达BiP(一种位于内质网的Hsp70蛋白)的烟草更能抵抗水分胁迫。Cho和Hong(2006)也证实Hsp70与植物的耐旱性密切相关。他们将3周龄的转基因烟草进行2周渐进的缺水处理后, 唯有NtHsp70-1过表达株系的烟草生长良好, 而NtHsp70-1反义表达株系和只含空载体pBKS1-1的株系的烟草叶片萎蔫, 有些甚至出现黑褐斑。他们比较缺水18 d干旱处理的烟草和正常条件下生长的烟草鲜叶重量的结果表明, NtHsp70-1过表达株系烟草的鲜叶重量前后差异最小, NtHsp70-1反义表达株系烟草的鲜叶重量前后差异最大。检测叶水势的结果也显示过表达NtHsp70-1的烟草株系具有更好的耐旱能力。

5 结语

Hsps是一类重要的胁迫诱导蛋白。逆境胁迫下植物Hsps行使多种生物学功能, 但其机制尚未研究透彻。植物的应激反应涉及复杂的网络系

统, 深入研究 Hsps 之间及 Hsps 与其他蛋白分子之间的作用关系, 将有助于弄清 Hsps 提高植物抗逆能力的作用机制。

近年来, 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 (Katiyar-Agarwal 等 2003; Murakami 等 2004; Sanmiya 等 2004; Wang 等 2005; Alvim 等 2001; Cho 和 Hong 2006)。这让人们看到了采用基因工程技术进行作物抗逆性改良的前景。然而目前的研究大都是在室内条件下胁迫因子作用下进行的, 而大田环境十分复杂, 往往是多种胁迫因子同时出现, 所以室内的试验结论能否得到大田试验的验证, 应该得到重视和深入研究。相信今后随着人们对 Hsps 的功能及其作用机制认识的不断加深, 培育转 Hsps 基因的作物抗逆新品种并能在恶劣环境地域种植的潜在应用前景是可以期待的。

参考文献

- 秦佳, 杨金莹, 伊淑莹, 赵春梅, 李明辉, 刘箭 (2007). 组成型表达的 ClpB 基因提高番茄植株的耐冷性. 植物生理学通讯, 43 (1): 16~20
- 杨金莹, 孙爱清, 刘箭 (2006). 热激蛋白 ClpB 的结构和功能. 植物生理学通讯, 42 (2): 326~330
- Adam Z, Rudella A, van Wijk KJ (2006). Recent advances in the study of Clp, FtsH and other proteases located in chloroplasts. *Curr Opin Plant Biol*, 9: 234~240
- Ahn YJ, Zimmerman JL (2006). Introduction of the carrot HSP17.7 into potato (*Solanum tuberosum* L.) enhances cellular membrane stability and tuberization *in vitro*. *Plant Cell Environ*, 29: 95~104
- Almoguera C, Coca MA, Jordano J (1993). Tissue-specific expression of sunflower heat shock proteins in response to water stress. *Plant J*, 4: 947~958
- Alvim FC, Carolino SMB, Cascardo JCM, Nunes CC, Martinez CA, Otoni WC, Fontes EPB (2001). Enhanced accumulation of BiP in transgenic plants confers tolerance to water stress. *Plant Physiol*, 126: 1042~1054
- Apel K, Hirt H (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 55: 373~99
- Banzet N, Richaud C, Deveaux Y, Kazmaier M, Gagnon J, Triantaphylides C (1998). Accumulation of small heat shock proteins, including mitochondrial Hsp22, induced by oxidative stress and adaptive response in tomato cells. *Plant J*, 13: 519~527
- Basha E, Lee GJ, Demeler B, Vierling E (2004). Chaperone activity of cytosolic small heat shock proteins from wheat. *Eur J Biochem*, 271: 1426~1436
- Campbell JL, Klueva NY, Zheng HG, Nieto-Sotelo J, Ho TD, Nguyen HT (2001). Cloning of new members of heat shock protein HSP101 gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.) Moench) inducible by heat, dehydration, and ABA. *Biochim Biophys Acta*, 1517 (2): 270~277
- Chang PFL, Jinn TL, Huang WK, Chen Y, Chang HM, Wang CW (2007). Induction of a cDNA clone from rice encoding a class II small heat shock protein by heat stress, mechanical injury, and salicylic acid. *Plant Sci*, 172 (1): 64~75
- Cho EK, Hong CB (2006). Over-expression of tobacco NtHSP70-1 contributes to drought-stress tolerance in plants. *Plant Cell Rep*, 25: 349~358
- Collins GG, Nie XL, Saltveit ME (1995). Heat shock proteins and chilling sensitivity of mung bean hypocotyls. *J Exp Bot*, 46 (288): 795~802
- Downs CA, Heckathorn SA (1998). The mitochondrial small heat-shock protein protects NADH: ubiquinone oxidoreductase of the electron transport chain during heat stress in plants. *FEBS Lett*, 430 (3): 246~250
- Friedrich KL, Giese KC, Buan NR, Vierling E (2004). Interactions between small heat shock protein subunits and substrate in small heat shock protein-substrate complexes. *J Biol Chem*, 279: 1080~1089
- Gustavsson N, Kokke BP, Harndahl U, Silow M, Bechtold U, Poghosyan Z, Murphy D, Boelens WC, Sundby C (2002). A peptide methionine sulfoxide reductase highly expressed in photosynthetic tissue in *Arabidopsis thaliana* can protect the chaperone-like activity of a chloroplast-localized small heat shock protein. *Plant J*, 29 (5): 543~553
- Harndahl U, Buffoni-Hall R, Osteryoung KW, Vierling E, Bornman JF, Sundby C (1999). The chloroplast heat shock protein undergoes oxidation-dependent conformational changes and may protect plants against oxidative stress. *Cell Stress Chaperon*, 4: 129~138
- Harndahl U, Kokke BP, Gustavsson N, Linse S, Berggren K, Tjerneld F, Boelens WC, Sundby C (2001). The chaperone-like activity of a small heat shock protein is lost after sulfoxidation of conserved methionines in a surface-exposed amphipathic alpha-helix. *Biochim Biophys Acta*, 1545: 227~237
- Hoshi T, Heinemann SH (2001). Regulation of cell function by methionine oxidation and reduction. *J Physiol*, 531 (1): 1~11
- Katiyar-Agarwal S, Agarwal M, Grover A (2003). Heat-tolerant basmati rice engineered by over-expression of *hsp101*. *Plant Mol Biol*, 51: 677~686
- Keeler SJ, Boettger CM, Haynes JG, Kuches KA, Johnson MM, Thureen DL, Keeler CL, Kitto SL (2000). Acquired thermotolerance and expression of the HSP100/ClpB genes of lima bean. *Plant Physiol*, 123: 1121~1132
- Kimpel JA, Nagao RT, Goekjian V, Key JL (1990). Regulation of the heat shock response in soybean seedlings. *Plant Physiol*, 94: 988~995
- Lee BH, Won SH, Lee HS, Miyao M, Chung WI, Kim IJ, Jo J (2000a). Expression of the chloroplast-localized small heat shock protein by oxidative stress in rice. *Gene*, 245: 283~290
- Lee GJ, Vierling E (2000). A small heat shock protein cooperates

- with heat shock protein 70 to reactivate a heat-denatured protein. *Plant Physiol*, 122: 189~197
- Lee S, Owen HA, Prochaska DJ, Barnum SR (2000b). HSP16.6 is involved in the development of thermotolerance and thylakoid stability in the unicellular cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC6803. *Curr Microbiol*, 40: 283~287
- Lee U, Rioflorida I, Hong SW, Larkindale J, Waters ER, Vierling E (2007). The *Arabidopsis* ClpB/Hsp100 family of proteins: chaperones for stress and chloroplast development. *Plant J*, 49: 115~127
- Lin CY, Roberts JK, Key JL (1984). Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings: synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localization. *Plant Physiol*, 74: 152~160
- Liu D, Zhang X, Cheng Y, Takano T, Liu S (2006). *rHsp90* gene expression in response to several environmental stresses in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiol Biochem*, 44 (5): 380~386
- Low D, Brandle K, Nover L, Forreiter C (2000). Cytosolic heat-stress proteins Hsp17.7 class I and Hsp17.3 class II of tomato act as molecular chaperones *in vivo*. *Planta*, 211: 575~582
- Ma C, Haslbeck M, Babujee L, Jahn O, Reumann S (2006). Identification and characterization of a stress-inducible and a constitutive small heat-shock protein targeted to the matrix of plant peroxisomes. *Plant Physiol*, 141: 47~60
- Miroshnichenko S, Tripp J, Nieden UZ, Neumann D, Conrad U, Manteuffel R (2005). Immunomodulation of function of small heat shock proteins prevents their assembly into heat stress granules and results in cell death at sublethal temperatures. *Plant J*, 41: 269~281
- Mogk A, Deurling E, Vorderfulbecke S, Vierling E, Bukau B (2003). Small heat shock proteins, ClpB and the DnaK system form a functional triade in reversing protein aggregation. *Mol Microbiol*, 50 (2): 585~595
- Møller IM, Jensen PE, Hansson A (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 58: 459~481
- Murakami T, Matsuba S, Funatsuki H, Kawaguchi K, Saruyama H, Tanida M, Sato Y (2004). Over-expression of a small heat shock protein, sHSP17.7, confers both heat tolerance and UV-B resistance to rice plants. *Mol Breed*, 13: 165~175
- Neill SJ, Desikan R, Clarke A, Hurst RD, Hancock JT (2002). Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. *J Exp Bot*, 53: 1237~1247
- Prévaille X, Salvemini F, Giraud S, Chaufour S, Paul C, Stepien G, Ursini MV, Arrigo AP (1999). Mammalian small stress proteins protect against oxidative stress through their ability to increase glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and by maintaining optimal cellular detoxifying machinery. *Exp Cell Res*, 247: 61~78
- Sakamoto W (2006). Protein degradation machineries in plastids. *Annu Rev Plant Biol*, 57: 599~621
- Sanmiya K, Suzuki K, Egawa Y, Shono M (2004). Mitochondrial small heat-shock protein enhances thermotolerance in tobacco plants. *FEBS Lett*, 557: 265~268
- Sun W, van Montagu M, Verbruggen N (2002). Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1577 (1): 1~9
- Török Z, Goloubinoff P, Horvath I, Tsvetkova NM, Glatz A, Balogh G, Varvasovzki V, Los D, Vierling E, Crowe JH, Vigh L (2001). *Synechocystis* HSP17 is an amphitropic protein that stabilizes heat-stressed membranes and binds denatured proteins for subsequent chaperone-mediated refolding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 3098~3103
- Trent JD (1996). A review of acquired thermotolerance, heat-shock proteins, and molecular chaperones in archaea. *FEMS Microbiol Rev*, 18: 249~258
- Tsvetkova NM, Horvath I, Török Z, Wolkers WF, Balogi Z, Shigapova N, Crowe LM, Tabin F, Vierling E, Crowe JH, Vigh L (2002). Small heat-shock proteins regulate membrane lipid polymorphism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 13504~13509
- Vierling E (1991). The roles of heat shock proteins in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 42: 579~620
- Volkov RA, Panchuk II, Mullineaux PM, Schöffl F (2006). Heat stress-induced H₂O₂ is required for effective expression of heat shock genes in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 61: 733~746
- Wagner D, Schneider-Mergener J, Forreiter C (2005). Analysis of chaperone function and formation of hetero-oligomeric complexes of Hsp18.1 and Hsp17.7, representing two different cytoplasmic sHSP classes in *Pisum sativum*. *J Plant Growth Regul*, 24: 226~237
- Wang L, Zhao CM, Wang YJ, Liu J (2005). Overexpression of chloroplast-localized small molecular heat-shock protein enhances chilling tolerance in tomato plant. *J Plant Physiol Mol Biol*, 31 (2): 167~174
- Wang WX, Vinocur B, Altman A (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218: 1~14
- Wang WX, Vinocur B, Shoseyov O, Altman A (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends Plant Sci*, 9: 244~252