

青杆*PwUSP1*基因的克隆及表达模式分析

崔晓燕¹, 李长江², 孙帆², 张世宏¹, 张凌云^{2,*}

¹吉林大学植物科学学院, 长春130062; ²北京林业大学森林培育与保护教育部重点实验室, 北京100083

摘要: 广泛逆境胁迫蛋白(universal stress protein, USP)在非生物胁迫响应中起重要作用,但在植物中其功能还大部分未知。本研究通过BLAST分析青杆EST文库,得到USP基因的EST序列,通过RACE PCR方法获取USP基因的末端序列,经过与EST序列拼接得到USP基因的cDNA全长序列,命名为*PwUSP1*。分析发现*PwUSP1*全长cDNA为1 167 bp,编码区为519 bp,编码172个氨基酸残基。生物信息学分析显示,*PwUSP1*编码的蛋白相对分子质量为19.07 kDa,理论等电点为6.38,为非跨膜的亲水性蛋白。*PwUSP1*具有USP家族典型的UspA结构域和ATP结合位点G-(2X)-G-(9X)-G(S/T)。半定量RT-PCR与RT-qPCR分析表明,*PwUSP1*在青杆的根、茎、针叶、花粉、种子中均有表达,在根和花粉中表达量较高。同时,*PwUSP1*受干旱和盐胁迫的诱导表达上调,均在处理6 h后表达量较高,推测该基因可能在青杆逆境胁迫响应中发挥作用。

关键词: 青杆; *PwUSP1*; 生物信息学分析; 组织表达; 胁迫响应

Cloning and Expression Analysis of *PwUSP1* from *Picea wilsonii*

CUI Xiao-Yan¹, LI Chang-Jiang², SUN Fan², ZHANG Shi-Hong¹, ZHANG Ling-Yun^{2,*}

¹College of Plant Sciences, Jilin University, Changchun 130062, China; ²Key Laboratory of Forest Silviculture and Conservation of the Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Abstract: Universal stress proteins (USPs) play active roles in the abiotic stress responses of living bodies, but their functions remain largely unknown in plants. The full length cDNA of *PwUSP1* was obtained by RACE PCR that spliced the terminal sequences of *PwUSP1* with the EST based on the cDNA library of *Picea wilsonii*. The full length cDNA of *PwUSP1* was 1 167 bp and the ORF was 519 bp which encoded 172 aa. Bioinformatics analysis showed that the theoretical molecular weight of *PwUSP1* was 19.07 kDa and the isoelectric point was 6.38. *PwUSP1* was a stable hydrophilic protein with non-transmembrane domain structure. *PwUSP1* had the typical UspA domain of USP family with an ATP-binding site G-(2X)-G-(9X)-G(S/T). Semi-quantitative RT-PCR and RT-qPCR analysis discovered that *PwUSP1* was expressed in the root, stem, needle, pollen and seed of *Picea wilsonii* and was highly expressed in the root and pollen. *PwUSP1* was up-regulated by drought and salt stresses and both was expressed most at 6 h after stress treatments, indicating that the *PwUSP1* gene might play an important role in responses to some stresses.

Key words: *Picea wilsonii*; universal stress protein; bioinformatic analysis; tissue expression; stress response

广泛逆境胁迫蛋白(universal stress protein, USP)是一个古老、保守的蛋白家族,参与大量胁迫应答反应(Sauter等2002)。USP最初在大肠杆菌中鉴定出来(Nystrom和Neidhardt 1992),在逆境胁迫响应中发挥重要作用(Nachin等2005)。在大肠杆菌中,USPs根据结构分析和氨基酸序列可以分为6种(UspA、UspC、UspD、UspE、UspF和UspG),其中UspE是一个融合蛋白,包含2个USP单元E1和E2。USP有两种形式,一种是只含有USP结构域,另一种是USP结构域和其他结构域融合,像蛋白激酶区域或氨基酸通透酶区域(Karolina等2013)。USP相关蛋白根据Usp域的序列相似性可分为两个亚家族:UspA、UspC和UspD属于一类,

命名为UspA亚家族;UspF和UspG属于另一类,命名为UspFG亚家族。UspE是一个串联型的USP,它的第一个结构域与UspFG亚家族相近,而第二个结构域却更接近UspA亚家族。

目前在其他物种中发现的USP蛋白大多属于UspA亚家族(邝静等2013)。基于多序列比对UspA结构域的系统发生树分析,UspA亚家族也可分为结合ATP和不结合ATP两大类。而UspFG亚家族的

收稿 2013-12-09 修定 2014-01-27
资助 国家自然科学基金面上项目(31270663)和国家转基因生物新品种培育科技重大专项(2013ZX08009-003-002)。

* 通讯作者(E-mail: lyzhang73@sohu.com)。

USP蛋白均含有ATP结合位点, ATP结合保守结构域的特征序列是G-2X-G-9X-G[S/T] (Oh等2009)。UspA结构域具有DNA结合特性, 推测其可能有保护DNA的功能。UspA是一种小的胞质蛋白, 在面对热激、饥饿和细胞被阻止生长、DNA结构被破坏等胁迫条件时, 使细胞生存能力能加强数倍。研究表明, USPs在植物的非生物胁迫中发挥重要作用。在植物中只有一少部分USP家族的同源基因被分离出来 (Chou 等2007; Maqbool等2012), 且功能还不清楚。

青杆(*Picea wilsonii*. Mast)属于松科(Pinaceae)、云杉属(*Picea*)植物, 是多年生木本针叶树种, 是中国特有的植物, 对比较恶劣的环境(干旱、阴冷等)有较强的适应能力, 是我国具有广泛用途的经济树种 (魏强等2011)。由于木本植物的生活史较长, 突变体较难获得等条件限制, 针叶植物的分子生物学水平的研究相对较少。本文以多年生青杆和三年生青杆幼苗为材料, 以其 cDNA 文库为模板, 根据其 EST 的保守序列设计引物, 通过5'-RACE与3'-RACE试验获取*PwUSP1*的末端序列, 再经过序列拼接获取其全长 cDNA 序列。并利用生物信息学的方法对其编码的氨基酸序列进行分析, 预测其理化性质、二级结构、三级结构等。同时进行半定量RT-PCR与RT-qPCR, 鉴定分析其在青杆的各个组织中及干旱和盐逆境胁迫诱导下的表达情况。

材料与方 法

1 材料与试剂

多年生青杆(*Picea wilsonii*. Mast)的花粉、针叶及种子采集于中国科学院植物研究所。组织表达试验中青杆根、茎、叶取材于三年生幼苗。八周大的青杆幼苗用于干旱和盐胁迫试验, 于温室中培养, 光周期为16 h光照, 8 h黑暗, 温度25 °C, 空气湿度50%, 每周定时浇一次水。各试验植物材料采集后用液氮处理, 置于-80 °C备用。青杆cDNA文库由Gateway技术构建, 由Invitrogen公司完成(张盾等2012)。

pDONR222为文库载体, 由Invitrogen公司提供, pEASY-T1载体购于全式金公司, PCR Teq PCR mix、DNA marker (DL2000)、荧光定量PCR试剂盒(SYBR Green SuperReal PreMix)、大肠杆菌感

受态DH5 α 、RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒等购于TIANGEN生物公司, 反转录试剂盒(RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit)购于Fermentas公司。NaCl、琼脂糖等试剂均购于AMRESCO公司。

2 方法

2.1 RACE PCR获取*PwUSP1*末端序列

依据本实验室构建的多年生青杆均一化cDNA文库中的*PwUSP1*的EST序列信息, 设计特异性引物与 pDONR222 两端的载体引物进行5'-RACE与3'-RACE 实验。5'-RACE 试验利用引物上游引物5P-L与下游引物 5P-R, 3'-RACE 试验利用上游引物3P-L与下游引物3P-R进行扩增。获得5'端和3'端序列后与*PwUSP1*的EST序列拼接得到*PwUSP1*的全长cDNA序列。试验所用引物如表1所示。

表 1 cDNA 克隆及半定量RT-PCR与 RT-qPCR 引物序列

Table 1 Primers used in the cDNA cloning and semi-quantitative RT-PCR and RT-qPCR

引物名称	序列(5'→3')
5P-L	TCTGGCAAATGATTTTATTTTGAC
5P-R	ACCTGTCTCTCTTTCTAGCTCTGGC
3P-L	TAGCTGCCCTGTAGTGATGTTCCT
3P-R	TCCTTGTTAGTGATGTCCCGTCGAT
RT-L	AGCCAGAGCTAGAAAGAGA
RT-R	GCTCAACCCATAAACACAAT
EF1- α -L	AACTGGAGAAGGAACCCAAG
EF1- α -R	AACGACCCAATGGAGGATAC

2.2 生物信息学分析

利用 DNAMAN 软件进行 *PwUSP1*的cDNA 序列编码区预测及蛋白翻译。通过 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)网站中的BLAST工具进行核酸序列与蛋白序列的同源性分析, 用ClustalX软件进行多序列比对, 用MEGA5构建系统进化树, 构建系统树计算方法为邻位相连法, bootstrap检测设置重复为1 000次; 利用 ExPASy (<http://www.expasy.org/tools/>)中的Compute pI/Mw工具(http://web.expasy.org/compute_pi/)预测其等电点和分子量, 利用ProtScale工具(<http://web.expasy.org/protscale/>)进行蛋白疏水性分析; 用TMHMM工具(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)预测蛋白是否跨膜; 利用 CFSSP (

org/tool/chou-fasman/)和GOR4工具对 *PwUSP1*的氨基酸序列进行二级结构分析; 利用SWISS-MODEL工具预测蛋白的三维结构。

2.3 组织表达试验

利用TIANGEN公司的植物 RNA 提取试剂盒提取三年生青杆的根、茎、叶与多年生青杆的种子和花粉的 RNA, 通过 Fermentas 公司的 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 合成双链 cDNA, 均一化浓度之后在ABIStepOnePlus Real Time RT-PCR仪器与S1000™ Thermal Cycler PCR仪上进行RT-qPCR与半定量RT-PCR来检测基因在不同组织的相对表达量。根据*PwUSP1*的CDS 设计特异引物 RT-L和RT-R, 以青杆*EF1-α*作为内参基因 (Yu等2011), 引物如表1所示。试验进行三次重复。

2.4 干旱和盐胁迫响应试验

胁迫试验选取生长健壮、大小一致的八周龄青杆幼苗。青杆幼苗置于温度25 °C, 湿度50%的温室中培养。干旱胁迫中, 将八周龄青杆幼苗置于吸水纸上分别放置3、6和12 h, 对照组为正常生长的植株; 盐胁迫中, 将八周龄青杆幼苗的根浸入100 mmol·L⁻¹ NaCl溶液中, 分别处理3、6和12 h后取样, 对照组为正常生长的植株, 根部浸入蒸馏水中。所有试验均重复3次, 材料取样后进行液氮冻存, 于-80 °C备用。

实验结果

1 *PwUSP1*基因的克隆

通过3'-和 5'-RACE 引物扩增获得*PwUSP1*基因的3'和5'端序列, 测序结果与*PwUSP1*的EST序列拼接得到cDNA全长(图1-A)。用DNAMAN软件对全长cDNA序列分析可知, 全长cDNA共1 167bp, 于157 bp出现起始密码子ATG, 在673 bp处发现终止密码子TAG, 1 136 bp处发现PolyA尾巴。设计引物USP-L与USP-R, PCR 扩增目的基因的编码区, 将片段连接到pEASY-T1载体上通过酶切和测序进行鉴定, 结果一致。

NCBI网站上的BLAST在线工具分析结果显示, *PwUSP1*具有UspA结构域(图1-B), 属于USP蛋白家族, 且含有典型的ATP结合位点G-2X-G-9X-G[S/T]结构序列, 位于蛋白C端 (图1-A方框中14个氨基酸序列)。

2 生物信息学分析

2.1 氨基酸组成及理化性质分析

编码区由519 bp核酸组成, 编码172个氨基酸残基(图1-A), Protpapram工具预测其分子量为19.07 kDa, 理论PI值为6.38, 蛋白的分子式为C₈₃₆H₁₃₅₆-N₂₄₄O₂₄₅S₁₀, 其中缬氨酸(Val)含量最高, 为10.5%, 其次为丙氨酸(Ala) 9.3%, 谷氨酸(Glu) 8.7%, 亮氨酸(Leu) 8.1%, 色氨酸(Trp)和酪氨酸(Tyr)含量最低, 均为1.2%。蛋白的不稳定指数为32.82, 这个系数的蛋白比较稳定。

ProtScale在线工具分析蛋白的亲水性/疏水性, 结果表明, 多肽链第30位甘氨酸(Gly)有最低分值-3.289, 亲水性最强; 第158位缬氨酸(Val)有最高分值2.011, 疏水性最强。亲水性平均值为-0.065, 亲水区域大于疏水区域, 整条多肽链表现为较弱的亲水性(图2-A)。TMHMM工具预测蛋白跨膜区域结果显示, 整条多肽链都位于细胞膜外, 不存在跨膜结构域(图略)。用FoldIndex工具对蛋白质固有无序化进行分析, 结果表明在特定条件下此蛋白为折叠蛋白(图2-B), 预测蛋白具有很强的刚性结构, 行使功能时蛋白构象不发生变化。

2.2 二级结构与三级结构预测和分析

利用CFSSP (<http://www.biogem.org/tool/chou-fasman/>)和GOR4工具预测*PwUSP1*二级结构, 结果如图3-A所示, 显示该蛋白二级结构以 α -螺旋和 β -折叠片为主, 其中 α -螺旋含量达到42.44%, 还含有一部分无规卷曲结构。用 SWISS-MODEL工具对 *PwUSP1*的蛋白序列进行分析, 得到该蛋白预测的三级结构, 如图3-B, 与二级结构预测一致, 有典型的 α -螺旋和 β -折叠片, 其呈开放、扭曲状, 4个 β -折叠片近乎平行, α -螺旋夹在其中。

2.3 多序列比对及进化树分析

通过NCBI上的 BLAST 对*PwUSP1*蛋白序列进行同源检索, 找到拟南芥(*AtUSP*, NP_850-717.1)、鹰嘴豆(*CaUSP*, XP_004500807.1)、大麦(*HvUSP*, ADB54803.1)、木本棉(*GaUSP*, ABY-84681.1)、丹参(*SmUSP*, AFS65005.1)、玉米(*ZmUSP*, ACG42306.1)、葡萄(*VvUSP*, XP_002281607.1)、番茄(*SIUSP*, XP_004243416.1)和流感嗜血杆菌(*HiUSP*, NP_439575.2) 9种同源物种, 选取前8种同源性较高的植物USP同源序列, 用

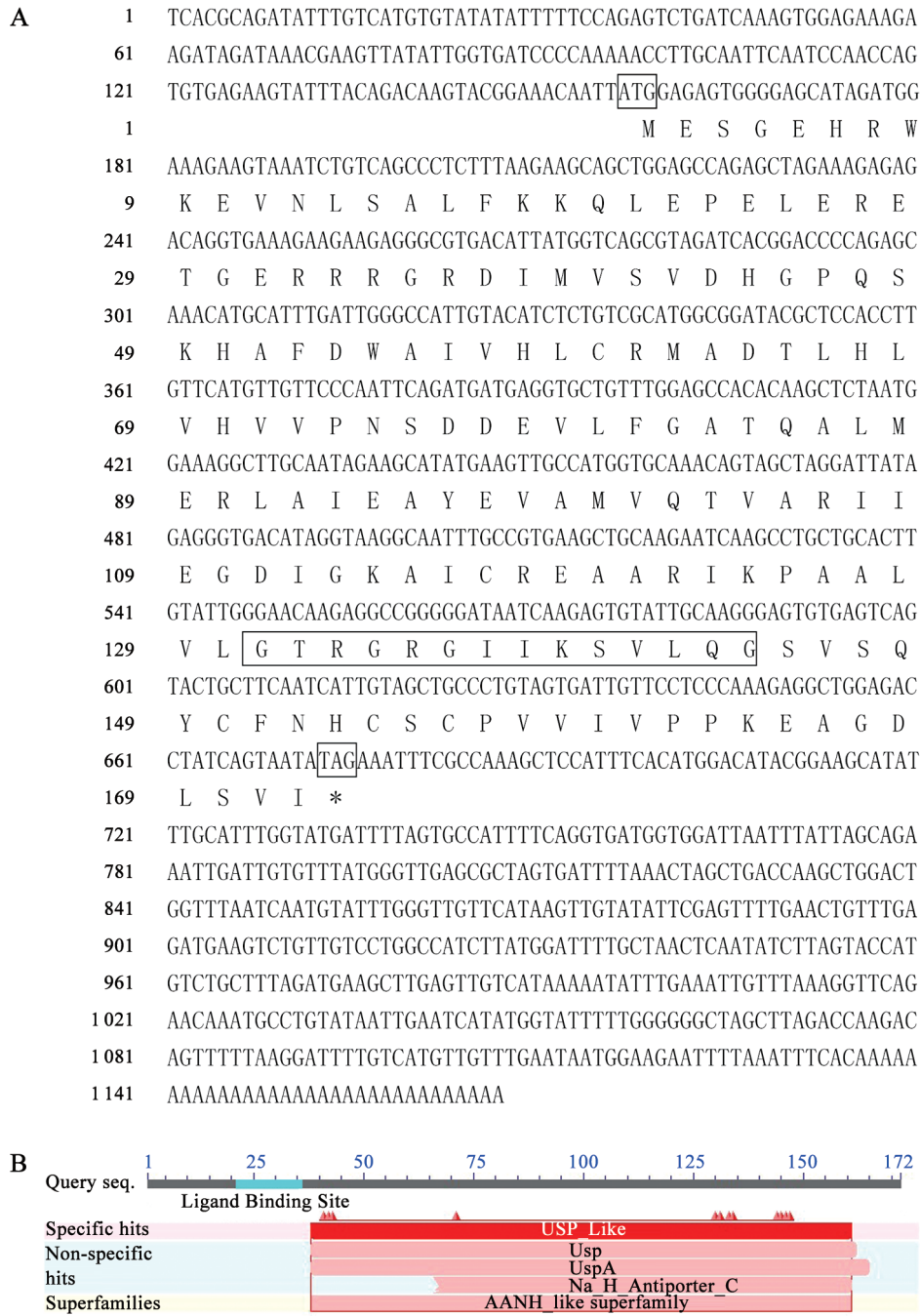


图1 *PwUSP1* 全长cDNA序列和氨基酸序列及蛋白保守结构域预测

Fig.1 Full length cDNA sequences and amino acid sequences of *PwUSP1* and the prediction of *PwUSP1* conserved domain

A: *PwUSP1* 全长cDNA序列和氨基酸序列, 长方框中为ATP结合位点G-(2X)-G-(9X)-G(S/T); B: *PwUSP1* 保守结构域预测。

ClustalX工具进行同源比对, 如图4, 结果显示不同植物的USP具有较高的同源性, ATP结合位G-2X-G-9X-G[S/T]结构序列位于蛋白的C端(第三部分起始处14个序列); 用MEGA工具对十个物种做系统进化树分析, 结果如图5所示, *PwUSP1*和流感嗜

血杆菌起源于共同的祖先, 和鹰嘴豆USP序列具有较高的同源性。

3 组织表达分析

以反转录青杆各个组织(根、茎、针叶、花粉、种子)mRNA的cDNA为模板, RT-L与RT-R为引

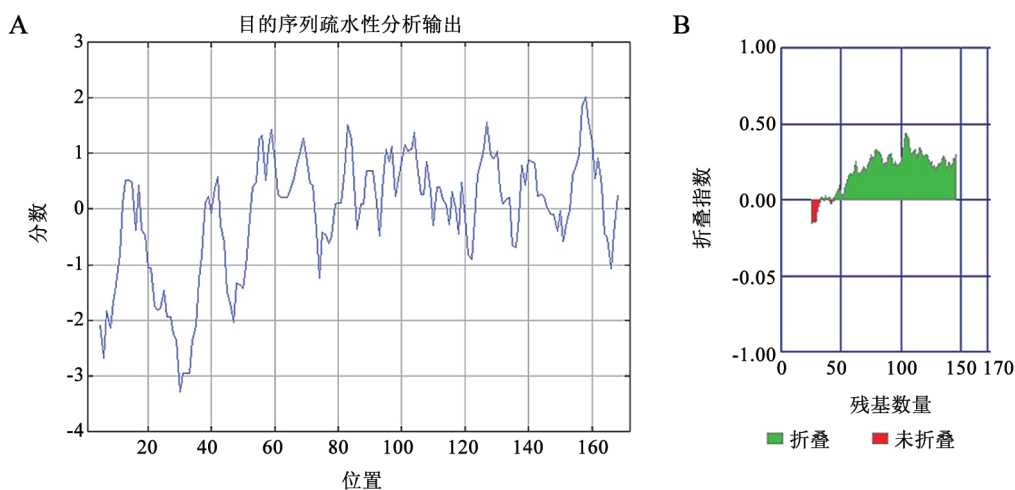


图2 蛋白亲水性分析和固有无序化特征分析

Fig.2 Hydrophilic analysis and intrinsically disordered protein analysis of PwUSP1

A: PwUSP1亲水性分析图谱; B: PwUSP1固有无序化特征分析图谱。

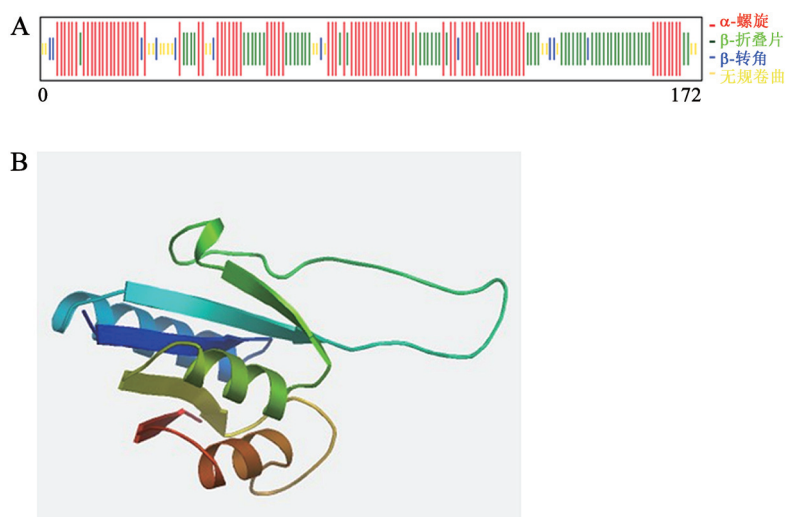


图3 PwUSP1二级结构和三级结构分析

Fig.3 Secondary structure and tertiary structure analysis of PwUSP1

A: PwUSP1二级结构分析; B: PwUSP1三级结构分析。

物, EF1- α -L与EF1- α -R为内参基因引物进行半定量RT-PCR与RT-qPCR, 三次试验结果均比较一致。结果如图6所示, *PwUSP1*在青杆各个组织均有表达, 其中在根中表达量最大, 其次为花粉中的表达量。

4 干旱和盐胁迫分析

分别在干旱和盐胁迫条件下研究*PwUSP1*基因的表达情况, 通过半定量RT-PCR与RT-qPCR方法研究其表达量的变化。*PwUSP1*基因被干旱和

盐胁迫诱导大量表达(图7)。在干旱胁迫条件下, 处理3 h后, *PwUSP1*表达量略有提高, 6 h后的表达量达到最大, 比对照组的表达量提高了接近15倍, 在12 h后又有所下降(图7-A)。在盐胁迫条件下, *PwUSP1*的表达量在3 h后显著高于对照组, 6 h后达到最大值, 比对照组提高近10倍, 12 h后表达量有所下降, 同干旱处理条件下该基因表达量变化趋势一致(图7-B)。

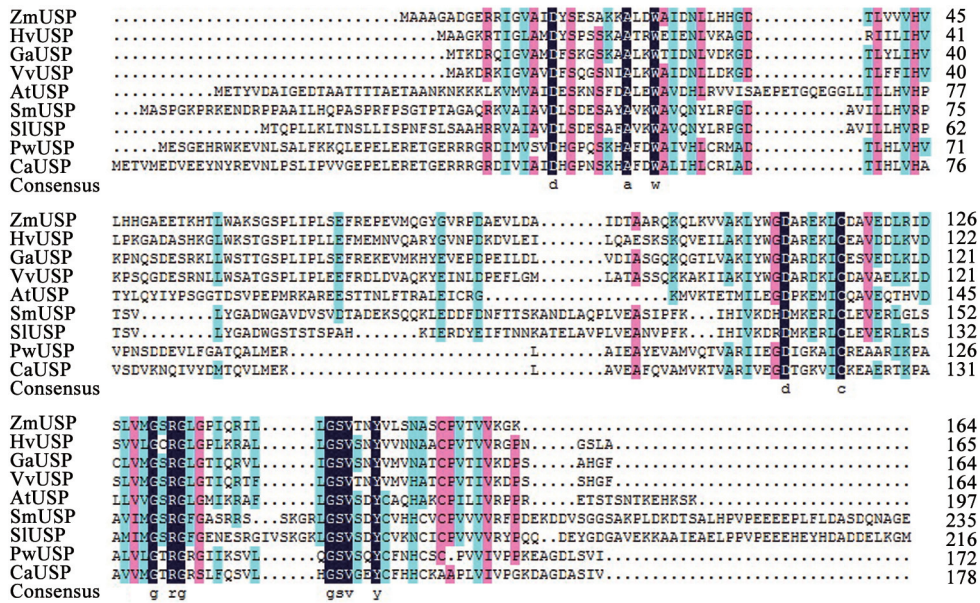


图4 PwUSP1与其他植物同源USP蛋白多序列比对和ATP结合位点G-(2X)-G-(9X)-G(S/T)

Fig.4 Multiple sequence alignment of PwUSP1 with that of other homologous USPs and ATP-binding site G-(2X)-G-(9X)-G(S/T)

相似性: 深蓝色=100%; 粉红色≥75%; 浅绿色≥50%。

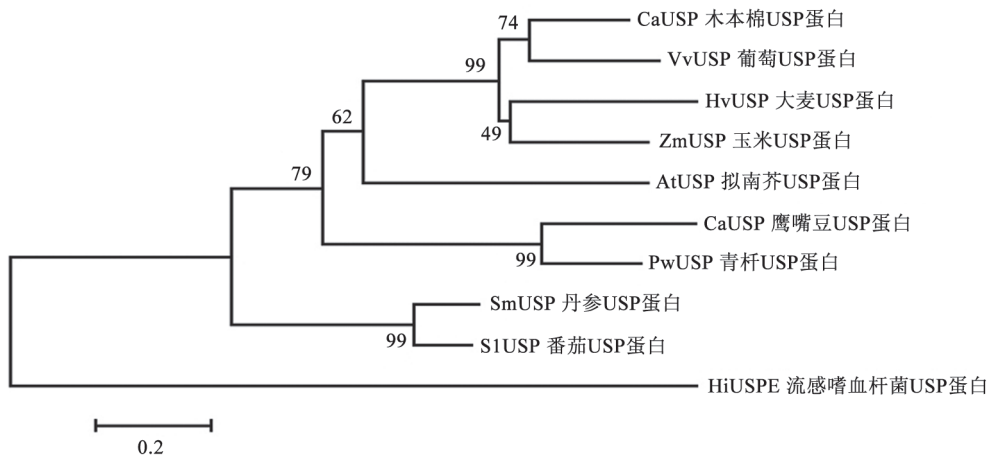


图5 系统进化树分析结果

Fig.5 The phylogenetic tree of PwUSP1

讨论

本研究通过RACE PCR方法成功克隆到了 *PwUSP1* 的cDNA全长序列。以青杆cDNA文库为模板的RACE实验是基于EST保守序列和 pDO-NR222载体上特异的引物进行的, cDNA全长是由 USP的末端序列和 EST 序列进行拼接而来, 进而完成基因的克隆, 相比之下, 要比传统的通过同源植物保守序列设计兼并引物的方法更加便捷(李长

江等2012)。 *PwUSP1* 全长cDNA为1 167 bp, 编码区为519 bp, *PwUSP1* 是一个含172个氨基酸的亲水蛋白, 含有UspA结构域, 该结构域位于蛋白的C端, 含有典型的ATP结合位点序列结构G-(2X)-G-(9X)-G(S/T) (图1)。 *PwUSP1* 二级结构预测显示其含有大量的 α -螺旋和 β -折叠片结构域(图3-A)。 USPs三级结构通常呈开放、扭曲状, ATP的结合位点包含在其中(Tkaczuk等2013), 本研究预测的 *PwUSP1* 三级结构中4个 β -折叠片近乎平行, α -螺旋夹在其中

(图3-B), 同之前报道的USPs三级结构一致。同源多序列比对表明*PwUSP1*和流感嗜血杆菌USP有共同的起源, 和鹰嘴豆USP有很高的同源性, 高达60.67%, 具有典型的UspA结构域, 而和其他物种USP同源性较低(图5)。USPs有不同的种类, 分为两个亚家族; 又有两种不同的存在形式, 一种是只含有USP结构域, 另一种是USP结构域和其他结构域融合, 像蛋白激酶区域或氨基酸通透酶区域, 这种结构可能致使*PwUSP1*与其他物种的差异性较大。

以往的研究证实UspA亚家族在许多微生物中都有发现, 包括细菌、古生菌和真菌, 还有高等生物的某些器官(Kvint等2003)。在长时间胁迫条件下, UspA能提高细胞的存活率, 缺乏UspA的突变体细胞, 生长缓慢, 在生长停滞时过早死亡(Jenkins等2011)。最新研究发现, 番茄USP(*SpUSP*)在叶的气孔中大量积累, 表达量随昼夜节律而改变, 能被干旱、盐胁迫、氧化胁迫和ABA诱导, *SpUSP*定位在细胞核和细胞质中, 过表达该基因的番茄植株有明显的抗旱表型(Loukehaich等2012)。在干旱条件下, 过表达植株中许多叶绿素a/b结合蛋白基因和与光合作用有关的基因被显著上调, 且加强了气孔对ABA的敏感性, 保持光合作用的功能。此外, 研究发现丹参普遍胁迫蛋白基因(*SmUSP*)表达受茉莉酸甲酯(MeJA)、水杨酸(SA)、脱落酸(ABA)以及脱水胁迫的上调诱导, 该基因可能在丹参非生物胁迫防御反应中发挥作用(邝静等2013)。本试验中, *PwUSP1*组织表达分析结果显示, 其在青杆各个组织中均有表达(图6), 表明其在青杆生

命活动中具有重要功能, 而尤其在根和花粉中表达量较高, 提示可能在花粉发育和萌发阶段具有重要的调控作用。我们进一步检测了在干旱和盐胁迫处理下*PwUSP1*的表达量变化情况。研究发现, *PwUSP1*在一定胁迫处理时间范围内表达量都有显著提高, 在盐胁迫条件下, *PwUSP1*的表达量在3 h后显著高于对照组, 6 h后达到最大值, 比对照组提高近10倍, 12 h后表达量有所下降, 同干旱处理条件下该基因表达量变化趋势一致(图7), 显示了*PwUSP1*可能在响应干旱和盐等逆境胁迫时发挥重要作用。我们的研究结果证实青杆中*USP1*基因能够响应植物在应对干旱和盐胁迫造成的逆境, 同时也进一步揭示了UspA无论在微生物亦或植物

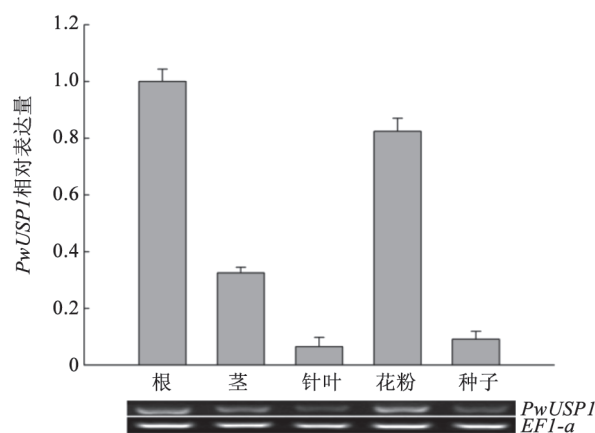


图6 *PwUSP1* 在青杆各个组织中的表达

Fig.6 Expression levels of *PwUSP1* in different tissues of *Picea wilsonii*
试验结果为3次试验数据的平均值。

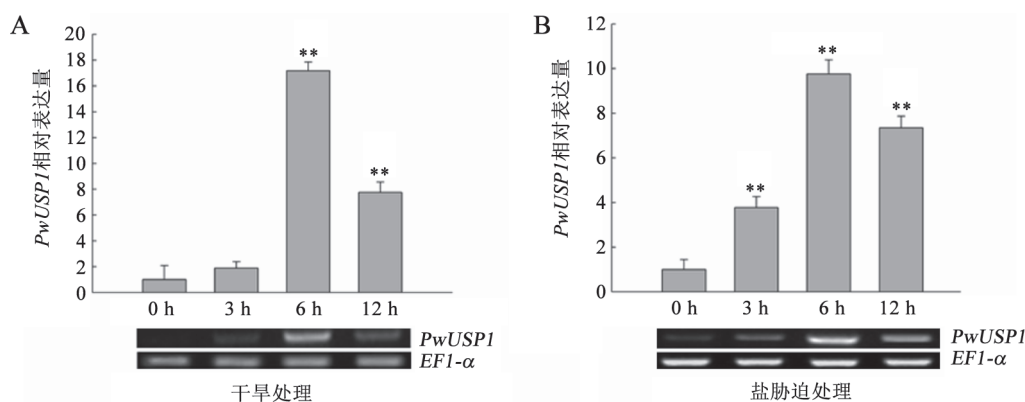


图7 *PwUSP1*在干旱和盐胁迫下的表达

Fig.7 Expression patterns of *PwUSP1* under drought and salt treatments

A: *PwUSP1*在干旱胁迫下的表达模式; B: *PwUSP1*在盐胁迫下的表达模式。*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$ 。试验结果为3次试验数据的平均值。

体内参与了生物体响应外界逆境胁迫的过程。

环境中的逆境胁迫能够影响农作物的产量和质量。作为一种应对策略,植物基因组能够编码产生耐受和响应逆境胁迫的功能蛋白。尽管植物响应生物和非生物胁迫的研究一直在进行,但是在逆境胁迫响应相关的基因和蛋白功能调控的分子机理研究方面仍有一定的空白(Isokpehi等2011)。原始的USP区域有核苷酸结合和信号传导功能(Becker等2011)。尽管对细菌的USP有一定的研究,然而USPs基因在其他物种中的功能多样性,包括在不同植物中的功能需要进一步研究(Hohnjec等2000; Maqbool等2009)。

参考文献

- 李长江, 曹一博, 张凌云(2012). 青杆PSAK的克隆及生物信息学分析. 生物技术, 22 (3): 4~9
- 邝静, 生华, 武玉翠, 葛茜, 张媛, 王喆之(2013). 丹参普遍胁迫蛋白基因(*SmUSP*)的克隆及表达模式分析. 植物生理学报, 49 (4): 362~368
- 魏强, 凌雷, 张广忠, 闫沛斌, 陶继新, 柴春山, 薛睿(2011). 甘肃兴隆山主要森林类型凋落物累积量及持水特性. 应用生态学报, 22 (10): 2589~2598
- 张盾, 刘亚静, 李长江, 张凌云(2012). 青杆均一化cDNA文库构建及EST序列分析. 生物技术通报, 6: 71~76
- Becker JD, Moreira LM, Kapp D, Frosch SC, Pühler A, Perlic AM (2011). The nodulin vfENOD18 is an ATP-binding protein in infected cells of *Vicia faba* L. nodules. *Plant Mol Biol*, 47 (6): 749~759
- Chou MX, Wei XY, Chen DS, Zhou JC (2007). A novel nodule-enhanced gene encoding a putative universal stress protein from *Astragalus sinicus*. *J Plant Physiol*, 164 (6): 764~772
- Hohnjec N, Kuster H, Albus U, Frosch SC, Becker JD, Pühler A, Perlick AM, Frühling M (2000). The broad bean nodulin VfENOD18 is a member of a novel family of plant proteins with homologies to the bacterial MJ0577 superfamily. *Mol Gen Genet*, 264 (3): 241~250
- Isokpehi RD, Simmons SS, Cohly HHP, Ekunwe SIN, Begonia JB, Ayensu WK (2011). Identification of drought-responsive universal stress proteins in viridiplantae. *Bioinf Biol Insights*, 5: 41~58
- Jenkins R, Burton N, Cooper R (2011). Effect of manuka honey on the expression of universal stress protein A in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents*, 37 (4): 373~376
- Kvint K, Nachin L, Diez A, Nyström T (2003). The bacterial universal stress protein: function and regulation. *Curr Opin Microb*, 6 (2): 140~145
- Loukehaich R, Wang TT, OuYang B, Ziaf K, Li HX, Zhang JH, Lu YE, Ye ZB (2012). SpUSP, an annexin-interacting universal stress protein, enhances drought tolerance in tomato. *J Exp Bot*, 63 (15): 5593~5606
- Maqbool A, Zahur M, Husnain T, Riazuddin S (2012). *GUSP1* and *GUSP2*, two drought-responsive genes in *Gossypium arboreum* have homology to universal stress proteins. *Plant Mol Biol Rep*, 27 (1): 109~114
- Nachin L, Nannmark U, Nystrom T (2005). Differential roles of the universal stress proteins of *Escherichia coli* in oxidative stress resistance, adhesion, and motility. *J Bacteriol*, 187 (18): 6265~6272
- Nystrom T, Neidhardt FC (1992). Cloning, mapping and nucleotide sequencing of a gene encoding a universal stress protein in *Escherichia coli*. *Mol Microb*, 6 (21): 3187~3198
- Oh MM, Trick HN, Rajashekar CB (2009). Secondary metabolism and antioxidants are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. *Plant Physiol*, 166 (2): 180~191
- Sauter M, Rzewuski G, Marwedel T, Lorbiecke R (2002). The novel ethylene-regulated gene *OsUsp1* from rice encodes a member of a plant protein family related to prokaryotic universal stress proteins. *J Exp Bot*, 53 (379): 2325~2331
- Tkaczuk KL, Shumilin LA, Chruszcz M, Evdokimova E, Savchenko A, Minor W (2013). Structural and functional insight into the universal stress protein family. *Evol Appl*, 6 (3): 434~449
- Yu Y, Li Y, Huang G, Meng Z, Zhang D, Wei J, Yan K, Zhang C, Zhang L (2011). PwHAP5, a CCAAT-binding transcription factor, interacts with PwFKBP12 and plays a role in pollen tube growth orientation in *Picea wilsonii*. *J Exp Bot*, 62 (14): 4805~4817