

## 茶树中两个HSF转录因子基因分离与温度胁迫响应的比较分析

熊洋洋<sup>2</sup>, 顾雅琦<sup>2</sup>, 刘志薇<sup>1</sup>, 李彤<sup>1</sup>, 吴致君<sup>1</sup>, 庄静<sup>1\*</sup>

南京农业大学<sup>1</sup>园艺学院, 茶叶科学研究所, <sup>2</sup>生命科学学院, 南京210095

**摘要:** 以茶树品种‘迎霜’为实验材料, 从中分离获得2个编码HSF转录因子的基因。进化分析显示, 这2个转录因子分别属于HSF转录因子家族的A5和A4亚族, 分别命名为CsHsfA5和CsHsfA4。序列分析显示, CsHsfA5和CsHsfA4的开放阅读框分别为1 440和1 224 bp, 分别编码479和407个氨基酸, 均含有HSF转录因子保守结合域。CsHsfA5和CsHsfA4均属于亲水性蛋白, 具有3个 $\alpha$ -螺旋和4个 $\beta$ -折叠的三级结构。实时定量PCR表明, CsHsfA5和CsHsfA4基因在不同温度胁迫下均能在3个不同茶树品种‘迎霜’、‘安吉白茶’和‘云南十里香’中诱导表达, 且表达量呈现差异。

**关键词:** 茶树; HSF转录因子; 进化分析; 温度胁迫; 基因表达分析

## Isolation and Expression Profiles Analysis of Two HSF Transcription Factor Genes under Temperature Stress in *Camellia sinensis*

XIONG Yang-Yang<sup>2</sup>, GU Ya-Qi<sup>2</sup>, LIU Zhi-Wei<sup>1</sup>, LI Tong<sup>1</sup>, WU Zhi-Jun<sup>1</sup>, ZHUANG Jing<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Tea Research Institute, College of Horticulture, <sup>2</sup>College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

**Abstract:** In this study, two genes, encoding heat shock factor (HSF), were cloned from tea plant cultivar ‘Yingshuang’. Phylogenetic analysis showed that the two HSFs respectively belong to A5 and A4 subfamily of HSF transcription factor family, and then named them as CsHsfA5 and CsHsfA4, respectively. The full-length of the open reading frame of CsHsfA5 was 1 440 bp, which encoded 479 amino acids. The full-length of the open reading frame of CsHsfA4 was 1 224 bp, which encoded 407 amino acids. The CsHsfA5 and CsHsfA4 were hydrophilic proteins. The three-dimensional structures of CsHsfA5 and CsHsfA4 were identical in the DNA binding domain, which had 3  $\alpha$ -helix and 4  $\beta$ -strands. Quantitative real-time PCR analysis of the expression profiles showed that the CsHsfA5 and CsHsfA4 genes could be induced by low or high temperature treatments. The expression levels of CsHsfA5 and CsHsfA4 genes exhibited difference among three tea plant cultivars ‘Yingshuang’, ‘Anjibaicha’, and ‘Yunnanshilixiang’.

**Key words:** *Camellia sinensis*; HSF transcription factor; phylogenetic analysis; temperature stress; gene expression profiles

在生长、发育、进化的过程中, 植物会形成复杂交错的信号转导网络。转录因子是一种具有特殊结构、行使调控基因表达功能的蛋白质分子, 也称为反式作用因子。转录因子在参与植物体内与生长发育相关的信号转导途径的同时, 还能由外界胁迫刺激而被激活, 从而在信号转导途径中发挥巨大的作用(Baniwal等2004; Zhuang等2014)。在调控逆境胁迫过程中, 转录因子具有多重作用, 可以作为调控基因表达的分子开关, 也可以作为逆境信号传递的节点, 从而实现调节逆境应答基因的时序性(Licausi等2013)。热激转录因子(heat shock factor, HSF)可以与热激元件(heat shock element, HSE)的反向重复序列区域结合, 从而诱导热激蛋白(heat shock proteins, HSPs)发生转录, 是植物遇到

高低温胁迫时产生调节作用的重要转录因子之一。热激蛋白可以作为分子伴侣, 从而与其他相关蛋白共同作用, 减少温度胁迫对植物造成的伤害(Wang等2004; Sangster和Queitsch 2005; Huang等2015)。根据结构域的不同, HSF可以分为A、B、C三个族, A和B族又分别分为9个(A1~A9)和4个(B1~B4)亚族。其中在拟南芥的HsfA4和HsfA5中, 均含有DBD (DNA-binding domain)、OD/HR-A/B (oligomerization domain/heptads repeat of hydro-

收稿 2015-10-08 修定 2015-11-05

资助 国家自然科学基金(31200520和31570691)和国家大学生创新创业训练计划(201410307030)。

\* 通讯作者(E-mail: zhuangjing@njau.edu.cn; Tel: 025-84395182)。

phobic amino acid residues)、NLS (nuclear localization signal)、AHA (activator motif)等保守结构单元(Nover等2001; Scharf等2012)。

茶是一种重要的非酒精类饮品, 具有非常高的经济价值(陆建良2008)。我国是茶树的起源地, 但是茶树在我国的种植区域主要以南方为主, 其中温度是一个重要的限制环境因素(蒋跃林和李倬2000; 王德芳和郑志勇2011)。另外, 茶产区的温度条件对茶树生长和茶叶生产也有非常大的影响, 例如夏季的高温和春季的‘倒春寒’, 经常给茶叶生产造成巨大的损失(刘志薇等2014)。在分子生物学不断发展的大背景下, 对于茶树对高低温等非生物胁迫的研究目前正由生理生化角度向功能基因方向发展。因此, 开展茶树中对非生物胁迫有着重要调控作用的转录因子相关研究有重要的意义。

茶树主要分布在热带和亚热带, 喜欢温暖湿润气候, 平均气温10 °C以上时芽开始萌动, 生长最适温度为20~25 °C, 不同品种的茶树对非生物胁迫的抗性有较大差异(林金科等2000)。*‘云南十里香’*作为云南的地方优良品种, 抗寒抗旱;*‘安吉白茶’*产于浙江安吉, 对低温敏感, 是一个突变品种;*‘迎霜’*春季发芽较早, 秋冬季休眠较迟, 即使遇到霜降也能抽发, 具有较好的抗低温能力(刘志薇等2014)。

本实验首先利用本课题组茶树*‘迎霜’*转录组相关信息(Wu等2014), 检索获得2个编码茶树HSF转录因子的基因序列, 然后通过RT-PCR的方法克隆获得茶树中HSF转录因子基因*CsHsfA5*和*CsHsfA4*, 并对其进行了较为全面的生物信息学分析。为了进一步研究上述2个茶树*CsHsfA5*和*CsHsfA4*基因对温度响应的差异, 我们选取了3种不同的茶树材料*‘云南十里香’*、*‘迎春’*和*‘安吉白茶’*, 开展了高温、低温胁迫处理下表达量的检测和分析。上述结果为进一步研究茶树HSF家族转录因子在温度胁迫下的响应机制提供了基础。

## 材料与amp;方法

### 1 茶树试材和温度胁迫处理

以本实验室种植的茶树[*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]品种*‘迎霜’* (*‘Yingshuang’*)二年生扦插幼苗为试验材料, 种植于南京农业大学茶叶科学研

究所实验用地。选茶树*‘迎霜’*健康植株, 取幼嫩叶片, 提取总RNA并合成cDNA, 用于茶树中2个HSF类转录因子基因*CsHsfA5*和*CsHsfA4*克隆。

选取茶树材料*‘迎霜’*、*‘安吉白茶’* (*‘Anjibaicha’*)、*‘云南十里香’* (*‘Yunnanshilixiang’*)的二年生健康植株分别进行低温和高温胁迫处理。处理在光照培养箱里进行, 温度分别设置为38和4 °C, 湿度为75%, 处理时间分别为1、4、8和24 h, 以未处理的茶树植株作为对照。取3种未处理或处理过的茶树幼嫩叶片组织提取RNA并反转录成cDNA, 用于实时荧光定量PCR。

### 2 茶树叶片总RNA提取及cDNA合成

本实验中茶树的RNA使用北京华越洋公司的Quick RNA Isolation Kit完成, 提取的茶树RNA样品浓度使用微量紫外检测仪NanoDrop进行测定。茶树材料提取的RNA质量使用1.2%琼脂糖凝胶电泳检测。利用大连TaKaRa公司的Prime Script RT Reagent Kit试剂盒将RNA反转录成cDNA。

### 3 茶树*CsHsfA5*和*CsHsfA4*基因的克隆

根据本实验室*‘迎霜’*转录组数据(Wu等2014), 通过序列检索获得2个编码茶树HSF转录因子的基因, 结合序列设计2对引物用于基因克隆。克隆引物分别为ZJR290: 5'-ATGGACGTAGCTTCCG-GAGGA-3'、ZJR291: 5'-AAGAGTAAGATGATC-CATGTT-3'和ZJR292: 5'-ATGATGGATGAAACT-CAATGC-3'、ZJR293: 5'-AGTTCTCTCTGCTGGAGTAAG-3'。以茶树*‘迎霜’*叶片的cDNA为模板进行*CsHsfA5*和*CsHsfA4*基因的PCR扩增。扩增体系为: ddH<sub>2</sub>O 7 μL、*Ex Taq* Mixture 10 μL、Primer1 1 μL、Primer2 1 μL、Template cDNA 1 μL。反应条件为: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 30个循环; 72 °C 10 min。将PCR产物电泳分离、凝胶回收后, 连接到大连TaKaRa公司的pMD18-T载体上, 转化至大肠杆菌DH5α, 进行质粒酶切、鉴定、测序。序列测定由南京金斯瑞生物科技有限公司完成。

### 4 序列分析

本文涉及的相关核苷酸和氨基酸序列分析比使用NCBI网站相关程序完成。使用软件DNAMAN 6.0完成氨基酸序列多重比对和蛋白质亲疏水性的分析。本文相关序列的氨基酸组成和

理化性质由序列处理在线工具包(SMS) (<http://www.bio-soft.net/sms>)和ExPASy ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam>)等相关网站程序分析。茶树HSF转录因子分子系统发育进化树的构建及其报告图形的生成均使用MEGA 5软件完成。利用SWISS-MODEL软件建立了茶树HSF转录因子的蛋白质空间结构模型,并在MSViewer软件上编辑生成分析图形。茶树中HSF转录因子基因荧光定量PCR数据的分析和图表的绘制由Origin 6.0软件完成。

### 5 茶树CsHsfA5和CsHsfA4基因对温度胁迫响应的表达

使用TaKaRa公司的SYBR Premix *Ex Taq*试剂盒,利用iQ<sup>TM</sup>5 software和iQ<sup>TM</sup>5 Real-time PCR System完成茶树CsHsfA5和CsHsfA4基因的荧光定量PCR。茶树actin基因作为内参基因,与目标基因CsHsfA5和CsHsfA4同时进行扩增。扩增程序为95 °C 5 min; 95 °C 5 s, 55 °C 30 s, 65 °C 10 s, 40个循环。荧光定量PCR使用的引物分别为CsHsfA5F1: 5'-CACTGGCATCTTCGCTGT-3'、CsHsfA5R1: 5'-ATTGGTGCTTCTTGTGAGGA-3'; CsHsfA4F1: 5'-CAACTGGGGTCAACGATGTG-3'、CsHsfA4R1: 5'-GTAATTCACACTCCTCGCATCC-3'; CSactinF1: 5'-CCATCACCAGAATCCAAGAC-3'、CSactinR1: 5'-GAACCCGAAGGCGAATAGG-3'。各C<sub>T</sub>值相对定量参照基因的 $\Delta\Delta C_T$ 法,表达水平等于 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ ,  $\Delta C_T = C_{T,目标基因} - C_{T,actin}$  (Livak和Schmittgen 2001)。

## 实验结果

### 1 茶树CsHsfA5和CsHsfA4基因的克隆

以‘迎霜’叶片的cDNA为模板,分别以ZJR-290、ZJR291和ZJR292、ZJR293引物进行PCR片段扩增,分别获得2条特异的扩增片段。经过克隆、序列测定与分析,结果表明,CsHsfA5基因含有1 440 bp的开放阅读框,编码479个氨基酸;CsHsfA4基因含有1 224 bp的开放阅读框,编码407个氨基酸。此外,CsHsfA5和CsHsfA4推导的氨基酸序列均含有DBD、OD/HR-A/B、NLS和AHA等HSF转录因子A亚族的保守结构单元(图1)。

### 2 茶树转录因子CsHsfA5和CsHsfA4序列比对和进化树分析

利用BLAST-Conserved Domains Search对茶

树CsHsfA5和CsHsfA4转录因子进行保守域预测。结果显示,茶树CsHsfA5和CsHsfA4转录因子分别在11~104和14~106个氨基酸位点之间含有HSF保守结合域,表明该2个转录因子属于HSF家族(图2-A)。此外,CsHsfA5和CsHsfA4的结合域与其他植物HsFA5、HsFA4亚族转录因子的结合域高度相似(图2-B)。

为了进一步分析茶树CsHsfA5、CsHsfA4转录因子和植物中HSF家族相关转录因子之间的进化关系,将茶树的CsHsfA5、CsHsfA4转录因子与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、毛果杨(*Populus trichocarpa*)、可可(*Theobroma cacao*)的HSF家族转录因子构建进化树。结果表明:茶树CsHsfA5转录因子在进化关系上属于HSF家族转录因子中A5亚族;茶树CsHsfA4转录因子在进化关系上属于HSF家族转录因子中A4亚族(图3)。

### 3 茶树CsHsfA5和CsHsfA4转录因子氨基酸的组成及理化性质分析

选取拟南芥、毛果杨、可可和水稻的HsfA4和HsfA5亚族的转录因子,与茶树CsHsfA5和CsHsfA4转录因子的氨基酸组成及理化性质进行了比较分析(表1)。由表1可见,各植物HsfA5的氨基酸残基数和相对分子量大于HsfA4。理论等电点(pI)差异较小,变化范围为4.98~6.16。碱性氨基酸和酸性氨基酸的含量差异不大,分别为13%~15%和13%~16%。芳香族氨基酸和脂肪族氨基酸的平均含量分别为7%和17%,后者明显大于前者。蛋白质可溶性预测中总平均疏水特性在-0.645~-1.007之间。

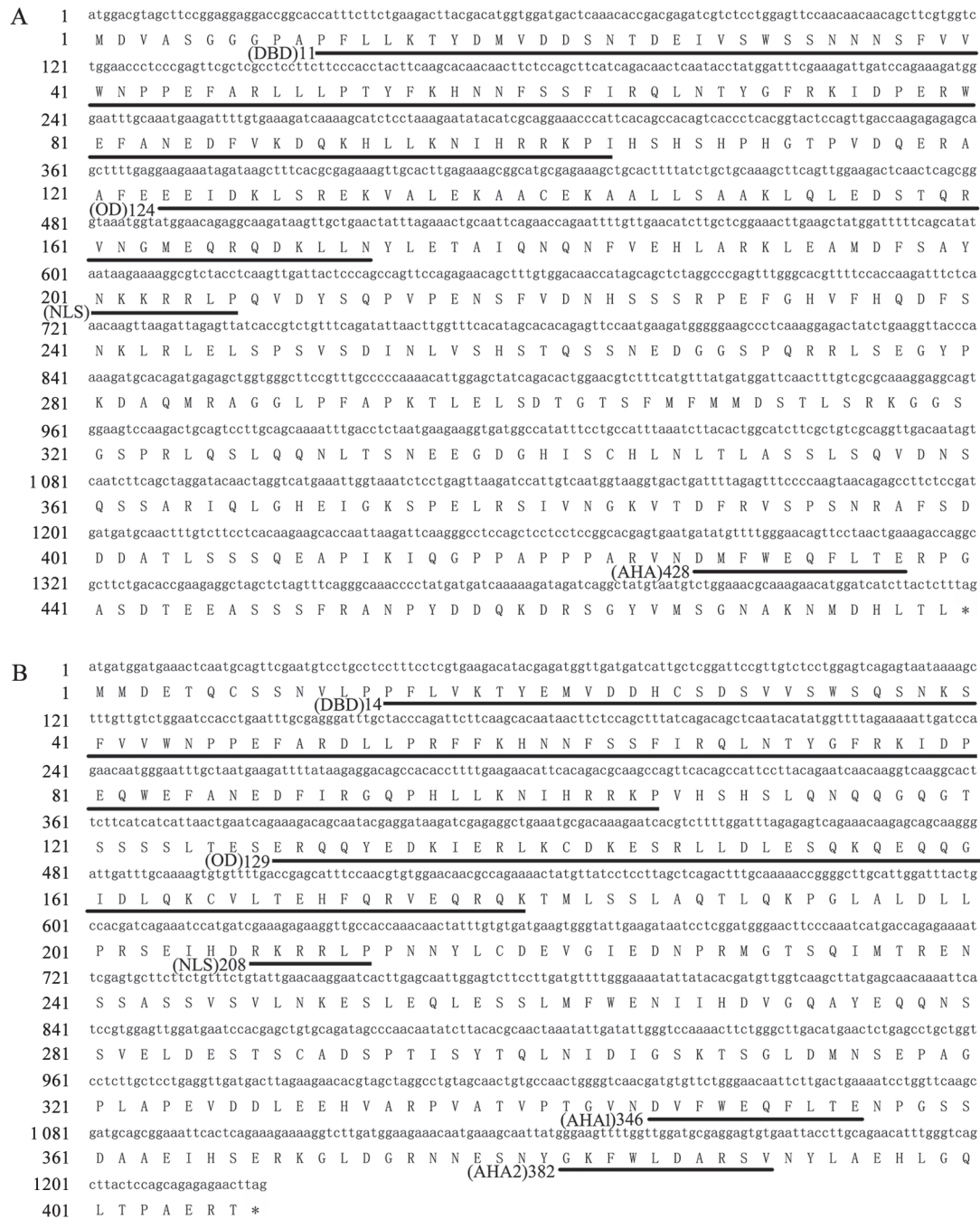
### 4 茶树CsHsfA5和CsHsfA4转录因子氨基酸序列疏水/亲水性分析

对茶树中CsHsfA5和CsHsfA4转录因子进行疏、亲水性分析,结果如图4显示。在CsHsfA5中,疏水性最强的位点是479位的亮氨酸(Leu),亲水性最强的是459位的谷氨酰胺(Gln)。在CsHsfA4中,疏水性最强的是197位的亮氨酸(Leu),亲水性最强的是208位的精氨酸(Arg)。总的看来,大部分氨基酸属于亲水性氨基酸,茶树CsHsfA5和CsHsfA4转录因子属于亲水性蛋白。

### 5 茶树CsHsfA5和CsHsfA4转录因子三级结构的预测与分析

利用SWISS-MODEL在线软件,以人(*Homo*



图1 茶树*CsHsfA5* (A)和*CsHsfA4* (B)基因的核苷酸序列及其编码的氨基酸序列Fig.1 The sequences of *CsHsfA5* (A) and *CsHsfA4* (B) cDNA and deduced amino acid sequences from *C. sinensis*

*sapiens*)的热激转录因子1 (HSF1)的A链(PDB ID: 2LDU)为模板,对茶树*CsHsfA5*和*CsHsfA4*转录因子的三级结构进行了分析。结果发现,*CsHsfA5*和*CsHsfA4*的三级结构模型相似,均包含3个 $\alpha$ 螺旋和4个 $\beta$ 折叠的典型HSF蛋白结构,在 $\alpha$ 螺旋有2个氨基酸差异位点(图5)。

## 6 茶树*CsHsfA5*和*CsHsfA4*基因在不同茶树品种、不同温度胁迫下的表达分析

通过实时定量PCR方法分别检测本文克隆的茶树HSF家族转录因子基因*CsHsfA5*和*CsHsfA4*在‘云南十里香’、‘安吉白茶’和‘迎霜’中不同温度处理下的表达情况。在茶树材料‘云南十里香’中,

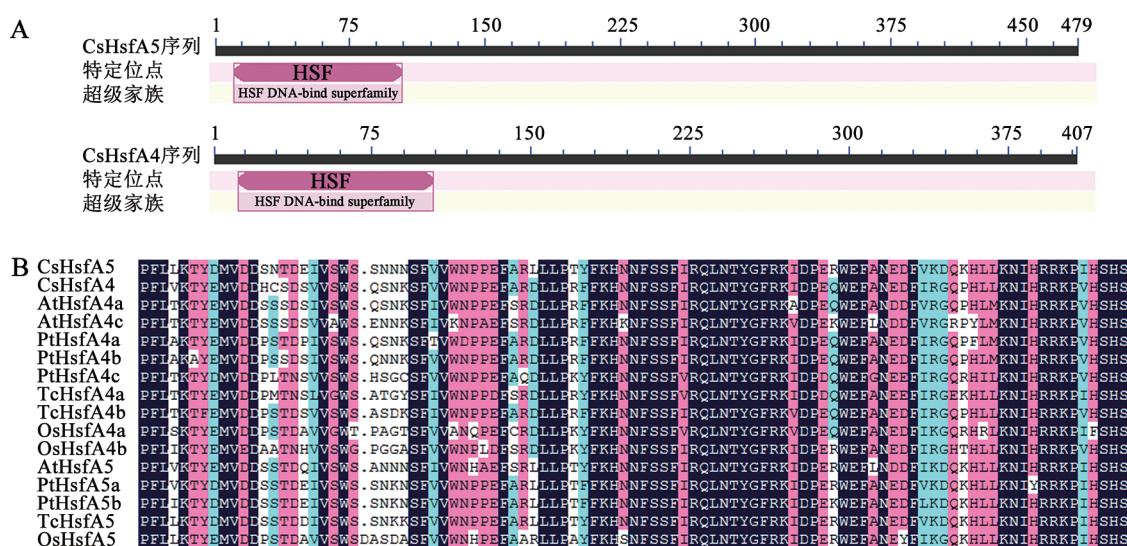


图2 茶树CsHsfA5和CsHsfA4转录因子保守域(A)及与其他物种氨基酸序列(B)的多重比对

Fig.2 The conserved domain of CsHsfA5 and CsHsfA4 transcription factors (A) and alignment of amino acid sequences (B) from

*C. sinensis* and other different plants

Cs: 茶树; At: 拟南芥; Pt: 毛果杨; Os: 水稻; Tc: 可可。

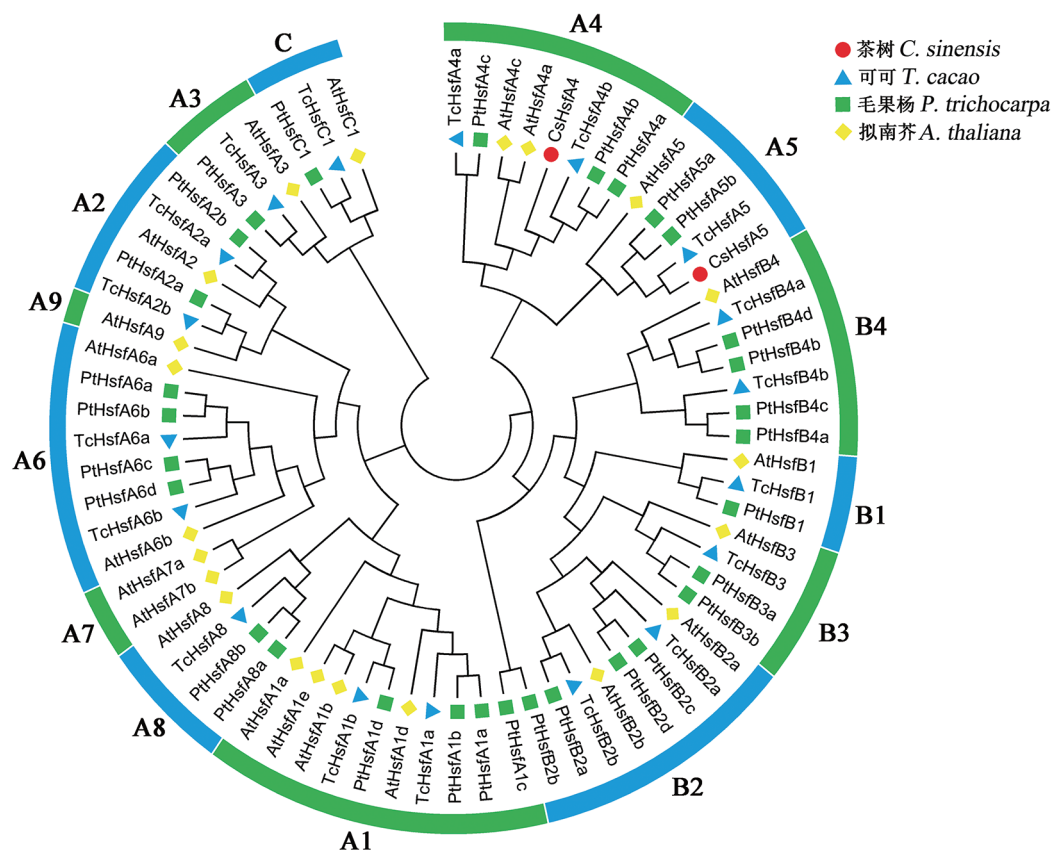


图3 茶树CsHsfA5和CsHsfA4转录因子的进化分析

Fig.3 Phylogenetic analysis of the CsHsfA5 and CsHsfA4 transcription factors from *C. sinensis*

表1 不同植物中HSF家族转录因子氨基酸组成成分及理化性质分析

Table 1 Composition and physical and chemical characterization of amino acid sequences of HSF transcription factors among different plants

来源植物	转录因子	登录号	氨基酸 残基数目	相对 分子量	理论 等电点	碱性氨基 酸比例/%	酸性氨基 酸比例/%	芳香族氨基 酸比例/%	脂肪族氨基 酸比例/%	总平均 疏水性
茶树	CsHsfA5		479	53676.4	5.76	14	14	8	16	-0.756
茶树	CsHsfA4		407	46420.4	4.98	13	15	7	19	-0.774
拟南芥	AtHsfA4a	At4g18880	401	46244.6	5.33	15	16	7	17	-0.876
拟南芥	AtHsfA4c	At5g45710	345	39647.7	5.61	15	15	7	17	-1.007
毛果杨	PtHsfA4a	Pt004G062300.1	407	46642.0	5.14	14	15	7	16	-0.843
毛果杨	PtHsfA4b	Pt011G071700.1	406	46266.6	5.23	13	14	8	17	-0.793
毛果杨	PtHsfA4c	Pt014G027100.1	443	50781.7	5.82	15	14	8	17	-0.806
可可	TcHsfA4a	Thecc1EG001784t1	447	51145.0	5.96	15	13	9	17	-0.748
可可	TcHsfA4b	Thecc1EG029630t1	405	45729.7	5.07	13	15	7	16	-0.760
水稻	OsHsfA4a	Os01g54550.1	440	49387.3	5.26	15	16	7	15	-0.901
水稻	OsHsfA4b	Os05g45410.1	459	51163.8	5.14	13	15	7	17	-0.645
拟南芥	AtHsfA5	At4g13980	466	52355.1	6.16	15	14	7	16	-0.835
毛果杨	PtHsfA5a	Pt001G320900.1	490	54702.6	5.77	14	13	7	18	-0.770
毛果杨	PtHsfA5b	Pt017G059600.1	485	54386.3	5.68	13	13	7	17	-0.752
可可	TcHsfA5	Thecc1EG020222t1	490	55349.0	5.40	14	15	7	16	-0.888
水稻	OsHsfA5	Os02g29340.1	475	52884.6	5.30	14	15	7	14	-0.739

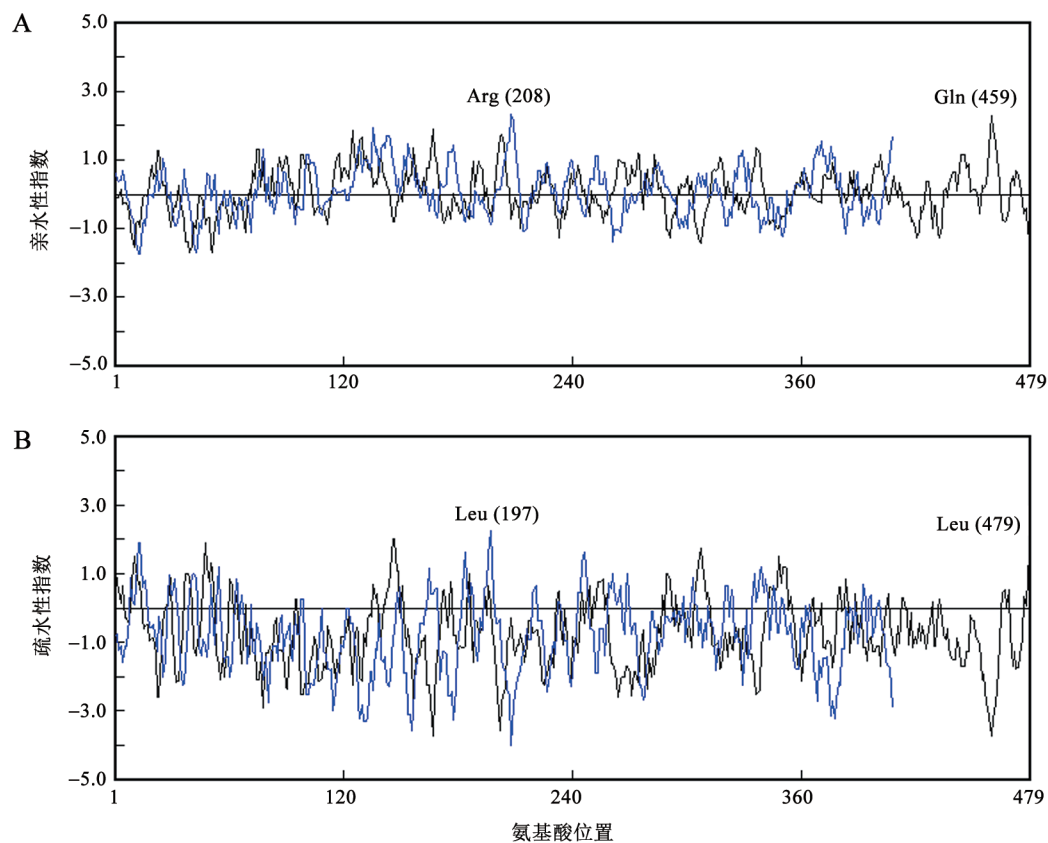


图4 茶树CsHsfA5和CsHsfA4氨基酸序列亲水(A)和疏水(B)性质分析

Fig.4 Analysis of hydrophobicity (A) and hydrophilicity (B) of CsHsfA5 and CsHsfA4

黑线代表CsHsfA5; 蓝线代表CsHsfA4。

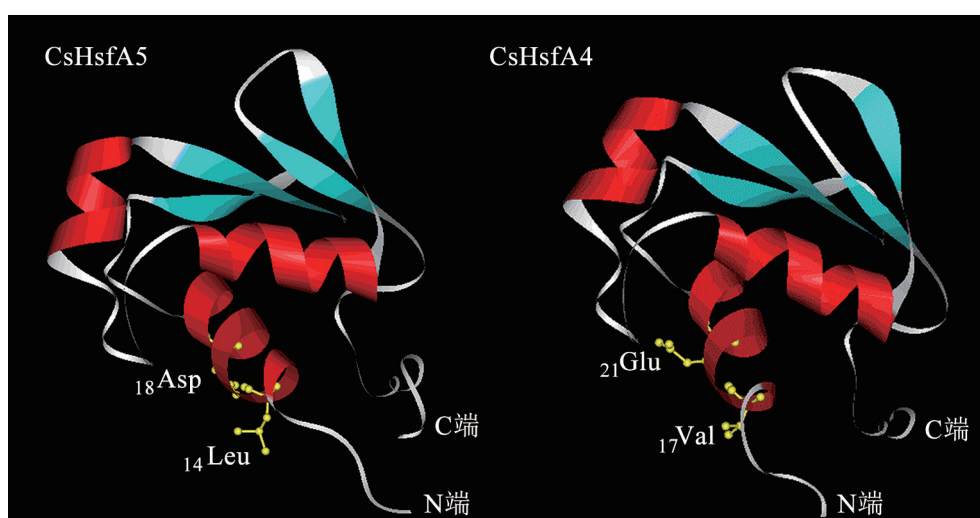


图5 茶树CsHsfA5和CsHsfA4蛋白的三维结构预测

Fig.5 The three-dimension structures of CsHsfA5 and CsHsfA4 transcription factors from *C. sinensis*

*CsHsfA5*和*CsHsfA4*基因的表达水平在高温和低温处理后,均表现为升高,其中*CsHsfA4*基因的升高达100倍以上。茶树材料‘安吉白茶’中,*CsHsfA5*基因在高温处理后的表达会产生波动,在低温处理后的表达呈现逐渐减少;*CsHsfA4*基因在高温处理后的表达量会明显升高,最高达到200倍,在低温处理下表达量增加的幅度相对要小。茶树材料‘迎霜’中,*CsHsfA5*基因在高温和低温处理下,其表达量在前期变化很小,处理24 h时表达量增加明显;*CsHsfA4*基因在高温下和低温处理下,其表达量均呈现先减少后升高的趋势。上述结果表明,同属于HSF转录因子家族的*CsHsfA5*和*CsHsfA4*基因在高温和低温胁迫下的表达量呈现不同的变化,在不同茶树材料间的表达量也不一样。

## 讨 论

我国绝大多数的茶树生存于户外开放环境,直接面临气候变化,季节交替或地域差别产生的高温或低温胁迫给茶树造成较大的伤害,最终对茶叶的产量和质量造成较大的影响(王守生1995; 杨亚军等2005; Li等2010; 朱政等2011; Das等2012)。高等植物中热激转录因子HSF参与植物对热激响应的调控。HSF转录因子通过对热激蛋白HSP调控,在信号转导途径下游可以传递热胁迫信号(Baniwal等2004; Scharf等2012)。热激转录因子在植物温度胁迫中的响应一直是植物非生物胁迫

研究的重要方面之一。

本文通过RT-PCR的方法,从茶树‘迎霜’中克隆获得2个编码HSF转录因子的基因*CsHsfA5*和*CsHsfA4*,都含有HSF保守域。通过对氨基酸序列的分析,得到这二者的三级结构、无序化程度,以及该蛋白的疏水性等理化性质。这些氨基酸位点和空间结构的差异可能是造成这2个同属于HSF家族的转录因子在不同茶树和不同温度胁迫下响应不同的原因之一(Liu等2006; Jin等2010; Xiong等2013; 黄蔚等2014)。

高等植物中,HSF家族转录因子对温度胁迫的调控研究较多。Ma等(2014)研究发现不同大白菜品种中,对高温和低温的胁迫响应表现不同。同样,Huang等(2015)研究也证实,胡萝卜中属于同一亚族的HSF家族转录因子成员,对高温和低温的胁迫也表现出较大的差异。为进一步明确*CsHsfA5*和*CsHsfA4*基因在高温和低温胁迫下的表达情况,本文对地域来源、特性差异较大的3个茶树品种‘迎霜’、‘安吉白茶’、‘云南十里香’的温度胁迫响应进行了分析。结果表明,*CsHsfA5*和*CsHsfA4*基因对高温和低温胁迫都有响应,而且响应呈现的差异趋势较大。本文揭示了茶树中HSF转录因子的结构和功能,以及HSF转录因子对温度胁迫的不同响应,研究结果对进一步阐述茶树在温度逆境下的调控机制提供借鉴,也为进一步综合改良茶树的抗温度胁迫能力提供了一定的理论依据。



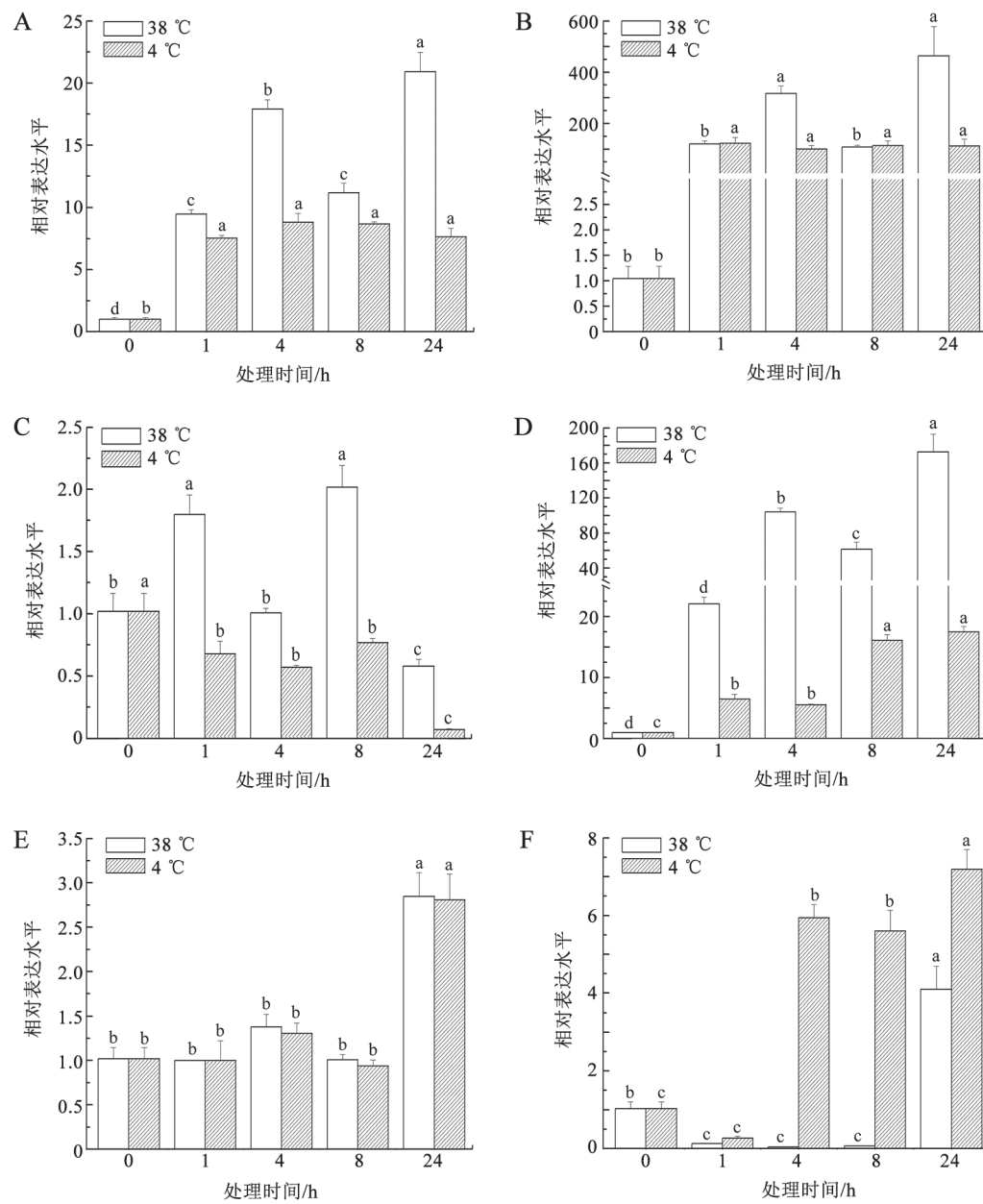


图6 不同品种茶树*CsHsfA5*和*CsHsfA4*基因在高低温处理下的表达情况

Fig.6 Expression profiles analysis of the *CsHsfA5* and *CsHsfA4* genes under high and low temperature treatments in different *C. sinensis* cultivars

A和B: '云南十里香', C和D: '安吉白茶', E和F: '迎霜'; A、C和E为*CsHsfA5*基因, B、D和F为*CsHsfA4*基因; 同一温度柱形上不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。

### 参考文献

- 黄蔚, 王枫, 谭国飞, 徐志胜, 李梦瑶, 熊爱生(2014). 胡萝卜AP2/ERF-B1亚族两个转录因子基因的克隆及其非生物胁迫响应分析. 植物生理学报, 50 (8): 1184~1194
- 蒋跃林, 李倬(2000). 我国茶树栽培界限的气候划分. 生态农业研究, 8 (1): 87~90
- 林金科, 赖明志, 詹梓金(2000). 茶树叶片净光合速率对生态因子的

- 响应. 生态学报, 20 (3): 404~408
- 刘志薇, 熊洋洋, 李彤, 严雅君, 韩洪润, 吴致君, 庄静(2014). 茶树中两个ERF类转录因子的分离及不同茶树中温度胁迫的响应分析. 植物生理学报, 50 (12): 1821~1832
- 陆建良(2008). 茶汤蛋白对茶饮料冷后浑形成的影响[博士论文]. 杭州: 浙江大学
- 王德芳, 郑志勇(2011). 北京地区温室茶树引种栽培生态因子调控研究. 中国农学通报, 27 (4): 66~71



- 王守生(1995). 茶树游离脯氨酸含量及水分胁迫对其影响. 茶叶, 21 (1): 22~25
- 杨亚军, 郑雷英, 王新超(2005). 低温对茶树叶片膜脂肪酸和蛋白质的影响. 亚热带植物科学, 34 (1): 5~9
- 朱政, 蒋家月, 江昌俊, 李雯(2011). 低温胁迫对茶树叶片SOD, 可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响. 安徽农业大学学报, 38 (1): 24~26
- Baniwal SK, Bharti K, Chan KY, Fauth M, Ganguli A, Kotak S, Mishra SK, Nover L, Port M, Scharf KD et al (2004). Heat stress response in plants: a complex game with chaperones and more than twenty heat stress transcription factors. J Biosci, 29 (4): 471~487
- Das A, Das S, Mondal TK (2012). Identification of differentially expressed gene profiles in young roots of tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] subjected to drought stress using suppression subtractive hybridization. Plant Mol Biol Rep, 30 (5): 1088~1101
- Huang Y, Li MY, Wang F, Xu ZS, Huang W, Wang GL, Ma J, Xiong AS (2015). Heat shock factors in carrot: genome-wide identification, classification, and expression profiles response to abiotic stress. Mol Biol Rep, 42 (5): 893~905
- Jin XF, Zhu B, Peng RH, Jiang HH, Chen JM, Zhuang J, Zhang J, Yao QH, Xiong AS (2010). Optimizing the binding activity of the AP2/ERF transcription factor with the GCC box element from *Brassica napus* by directed evolution. BMB Rep, 43 (8): 567~572
- Li XW, Feng ZG, Yang HM, Zhu XP, Liu J, Yuan HY (2010). A novel cold-regulated gene from *Camellia sinensis*, *CsCOR1*, enhances salt- and dehydration-tolerance in tobacco. Biochem Biophys Res Commun, 394 (2): 354~359
- Licausi F, Ohme-Takagi M, Perata P (2013). APETALA/Ethylene Responsive Factor (AP2/ERF) transcription factors: mediators of stress responses and developmental programs. New Phytol, 199 (3): 639~649
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. Methods, 25 (4): 402~408
- Liu Y, Zhao TJ, Liu JM, Liu WQ, Liu Q, Yan YB, Zhou HM (2006). The conserved Ala37 in the ERF/AP2 domain is essential for binding with the DRE element and the GCC box. FEBS Lett, 580 (5): 1303~1308
- Ma J, Xu ZS, Wang F, Tan GF, Li MY, Xiong AS (2014). Genome-wide analysis of HSF family transcription factors and their responses to abiotic stresses in two Chinese cabbage varieties. Acta Physiol Plant, 36 (2): 513~523
- Nover L, Bharti K, Doring P, Mishra SK, Ganguli A, Scharf KD (2001). *Arabidopsis* and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need? Cell Stress Chaperon, 6 (3): 177~189
- Sangster TA, Queitsch C (2005). The HSP90 chaperone complex, an emerging force in plant development and phenotypic plasticity. Curr Opin Plant Biol, 8 (1): 86~92
- Scharf KD, Berberich T, Ebersberger I, Nover L (2012). The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: structure, function and evolution. Biochim Biophys Acta, 1819 (2): 104~119
- 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 (5): 244~252
- Wu ZJ, Li X-H, Liu ZW, Xu ZS, Zhuang J (2014). *De novo* assembly and transcriptome characterization: novel insights into catechins biosynthesis in *Camellia sinensis*. BMC Plant Biol, 14: 277
- Xiong AS, Jiang HH, Zhuang J, Peng RH, Jin XF, Zhu B, Wang F, Zhang J, Yao QH (2013). Expression and function of a modified AP2/ERF transcription factor from *Brassica napus* enhances cold tolerance in transgenic *Arabidopsis*. Mol Biotechnol, 53 (2): 198~206
- Zhuang J, Zhang J, Hou XL, Wang F, Xiong AS (2014). Transcriptomic, proteomic, metabolomic and functional genomic approaches for the study of abiotic stress in vegetable crops. Crit Rev Plant Sci, 33 (2-3): 225~237