

中国南瓜 *CmHSP90* 基因的克隆及其在逆境胁迫下的表达分析

王彬 陈敏敏 林琿 朱海生* 温庆放*

(福建省农业科学院作物研究所, 福建省农业科学院蔬菜研究中心, 福建省蔬菜工程技术研究中心, 福州 350013)

摘要 热激蛋白 90(heat shock protein 90, HSP90)广泛介导胁迫信号的传递, 在植物逆境应答反应中起重要作用。为探究 *HSP90* 基因的功能, 该研究采用 RT-PCR 方法从中国南瓜 (*Cucurbita moschata*) 幼苗中分离到 2 个 *HSP90* 基因的开放阅读框 (ORF) 全长, 分别命名为 *CmHSP90-5* 和 *CmHSP90-6*。二者的序列长度分别为 2 357 和 2 472 bp, 编码 793 和 824 个氨基酸。蛋白序列分析显示, 2 个 *CmHSP90* 蛋白均属于亲水性蛋白, 含信号肽, 无跨膜区, 结构上都含有典型的 ATPase 保守结构域, 亚细胞分别定位于叶绿体和线粒体。同源比对和进化分析发现, 2 个 *CmHSP90* 蛋白与苦瓜 (*Momordica charantia*)、甜瓜 (*Cucumis melo*) 和黄瓜 (*Cucumis sativus*) *HSP90* 蛋白的相似性最高且遗传距离最近。qRT-PCR 分析显示, 2 个 *CmHSP90* 基因对高温、低温、ABA、高盐、 H_2O_2 、干旱和水杨酸 (SA) 等多种胁迫均具有明显的应答反应, 但响应的速度和强度并不相同, 其中对高温和水杨酸处理均表现出短时间强烈响应, 推测 *CmHSP90* 基因可能在中国南瓜热胁迫和水杨酸信号途径中发挥调节作用。该研究结果为深入了解 *HSP90* 基因功能以及阐明中国南瓜的抗逆机制提供理论依据。

关键词 中国南瓜; *CmHSP90* 基因; 逆境胁迫; 表达分析

Cloning of *CmHSP90* Gene in *Cucurbita moschata* and Its Expression Analysis under Several Adversity Stresses

WANG Bin, CHEN Mindong, LIN Hui, ZHU Haisheng*, WEN Qingfang*

(Crops Research Institute, Vegetable Research Center, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fujian Engineering Research Center for Vegetables, Fuzhou 350013, China)

Abstract HSP90 (Heat shock protein 90) widely mediates stress signal transduction and plays an important role in plant stress response. In order to investigate the function of *HSP90* gene in *Cucurbita moschata*, we isolated the ORFs (open reading frames) of two *HSP90* gene from *Cucurbita moschata* seedling using RT-PCR method and named *CmHSP90-5* and *CmHSP90-6*. Their sequence length were 2 357 and 2 472 bp, encoding 793 and 824 amino acids, respectively. Protein sequence analysis showed that both *CmHSP90* were hydrophilic proteins with

收稿日期: 2019-7-31 接受日期: 2019-9-10

福建省属公益类科研院所基本科研专项(批准号: 2019R1031-3)、福建省农业科学院科技创新团队建设项目(批准号: STIT2017-1-2)、国家大宗蔬菜产业技术体系福州综合实验站(批准号: CARS-23-G-53)和国家特色蔬菜产业技术体系福州综合实验站(批准号: GARS-24-G-07)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0591-87572110, E-mail: zhs0246@163.com; E-mail: fjvrc@163.com

Received: July 31, 2019 Accepted: September 10, 2019

This work was supported by Fujian Provincial Public Research Institute of Fundamental Research (Grant No.2019R1031-3), Fujian Academy of Agricultural Sciences Project of Vegetable Science and Technology Innovation Team (Grant No.STIT2017-1-2), The Experimental Station of Fuzhou of China Commodity Vegetable Industry System (Grant No.CARS-23-G-53) and the Experimental Station of Fuzhou of China Specialty Vegetable Industry System (Grant No.GARS-24-G-07)

*Corresponding authors. Tel: +86-591-87572110, E-mail: zhs0246@163.com; E-mail: fjvrc@163.com

网络出版时间: 2020-01-07 13:34:32 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20200107.1334.018.html>

signal peptide and no transmembrane region. They all contain typical conserved domains of ATPase and subcells were located in chloroplasts and mitochondria, respectively. Homologous comparison and evolutionary analysis revealed that two *CmHSP90* had the highest consistency with the HSP90 of *Momordica charantia*, *Cucumis melo* and *Cucumis sativus*, and the genetic distance was the closest. The qRT-PCR analysis showed that both *CmHSP90* genes were induced by hot, cold, ABA, high-salt, H₂O₂, drought and SA (salicylic acid) treatments, but the response speed and intensity were not the same. Specifically, two genes responded strongly to hot and salicylic acid treatments for a short time. It is speculated that *CmHSP90* gene may play a regulatory role in heat stress and salicylic acid signal pathway of *Cucurbita moschata*. The results provided a theoretical basis for further understanding the function of HSP90 and elucidating the stress resistance mechanism of *Cucurbita moschata*.

Keywords *Cucurbita moschata*; *CmHSP90*; adversity stress; expression analysis

南瓜(*Cucurbita moschata*)属葫芦科一年生蔓生草本植物,是世界重要的蔬菜作物。据联合国粮农组织最新的数据统计,2017年南瓜的总收获面积超过 2.07×10^4 km²,中国是南瓜的世界领先生产国。近年来,随着环境的日益恶化,极端天气频现,由此产生的高温、低温、干旱、盐渍等多种逆境严重限制了南瓜的品质及产量。热激蛋白(heat shock proteins, HSPs)是一类高度保守的抗性蛋白,其表达有利于增强植物对多种非生物胁迫的耐受性^[1]。因此,研究南瓜热激蛋白基因及其表达,对于揭示其分子功能,提高植株本身的抗性以及培育抗逆性强的南瓜品系都具有重要意义。

热激蛋白是指细胞和机体受到高温等恶劣环境胁迫时,合成量迅速增加的一类保护性蛋白,又称应激蛋白或热休克蛋白。按照蛋白分子量的大小,HSPs可分为5类,分别为HSP110、HSP90、HSP70、HSP60以及小分子热激蛋白sHSPs。HSP90是真核细胞必需的分子伴侣,在分子进化上高度保守,包含3个结构域,N-端高度保守的ATPase结构域、中间结构域和介导HSP90二聚化的C-端结构域^[2]。HSP90在植物中主要定位于细胞质和多种细胞器,参与蛋白折叠、蛋白复合体的装配和降解、底物激活等生物过程^[3]。众多研究表明,HSP90的转录表达受高温、低温、干旱、高盐等多种逆境胁迫的诱导^[4-7]。当植物受到胁迫时,应激性HSP90表达量增加,并与非蛋白类物质相互作用,保护蛋白稳态及修复变性蛋白。在烟草中过量表达水稻*rHSP90*基因明显提高了转基因植株在盐胁迫下的生长势^[8]。大肠杆菌表达狼尾草*PgHSP90*后,增强了对热、盐和脱水胁迫的耐受性^[9]。然而并不是所有转HSP90基因的植物都能提高对胁迫的抗性。Song等^[10]研究发现,过量

表达*AtHSP90-2/-5/-7*反而会降低植株抵抗高盐、干旱胁迫的能力,认为HSP90在植物体内的动态平衡可能才是植物抵抗非生物逆境的关键。除了非生物胁迫,HSP90在植物疾病抗性方面也发挥着重要作用,尤其是在R蛋白介导的抵抗病毒入侵过程^[11]。研究发现,在植物抗病信号传导途径中,HSP90主要是与SGT1(suppressor of G2 allele of *skp1*)和RAR1(required for Ml12 resistance 1)互作来保持R蛋白的活性稳定,从而介导植物免疫^[12-14]。此外,HSP90还与植物的生长发育密切相关,其功能残缺会引起植物形态畸形和生理特性的改变^[15-16]。相比于动物和酵母细胞,植物HSP90的研究起步较晚,因此,人们对它的功能和作用机制的了解非常有限。目前,已从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[5]、叶用莴苣(*Lactuca sativa*)^[17]、番茄(*Solanum lycopersicum*)^[18]等多种植物中分离获得HSP90基因并进行分析研究,然而在南瓜上尚未见HSP90基因克隆或分析的相关报道。本研究以中国南瓜幼苗为材料,利用RT-PCR方法克隆获得2个HSP90基因,并分析了HSP90基因在高温、低温、高盐、脱落酸(abscisic acid, ABA)、过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)、干旱、水杨酸(salicylic acid, SA)等逆境条件下的表达特征,为了解HSP90基因的功能以及中国南瓜的抗逆分子育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

实验于2018年6月至2019年1月在福建省农科院作物研究所进行。供试中国南瓜品种为“密本南瓜”。选择饱满无病虫害的种子,用湿纱布包裹放入30 °C的恒温箱中催芽,待种子发芽后,播种于直径10 cm的营养钵,常规水肥管理。待幼苗长出3~4片

真叶,选择健壮且长势相同的幼苗,将其分组,每组3株,进行7种胁迫处理。(1)高温和低温处理:将幼苗直接放置在42 °C和4 °C培养箱中,处理0、0.5、1、2、4和8 h。(2)NaCl、ABA、H₂O₂和SA处理:用200 mmol/L NaCl、200 μmol/L ABA、100 μmol/L H₂O₂和100 μmol/L SA分别喷洒幼苗,处理0、0.5、1、2、4和8 h。(3)干旱处理:取出幼苗洗净根部并置于干燥滤纸上自然脱水,处理0、0.5、1、2、4和8 h。摘取处理后的幼苗叶片立即用液氮速冻,置于-80 °C超低温冰箱,实验均进行3次重复。

1.2 主要试剂与仪器

通用植物RNA提取试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司;反转录试剂盒(PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit)、pMD19-T载体、Taq DNA聚合酶、dNTPs、DNA Marker DL2000、荧光定量PCR试剂盒(SYBR® Premix Ex Taq™)、胶回收试剂盒(Agarose Gel DNA Purification Kit Ver. 2.0)等均购自大连宝生物工程有限公司;其他试剂均为进口或者国产的分析纯药品;ABI7500实时定量PCR仪购自美国ABI公司;凝胶成像仪购自香港基因有限公司。

1.3 中国南瓜HSP90基因克隆

采用Primer Premier 5.0软件设计基因的开放阅读框(open reading frame, ORF)引物(表1),以中国南瓜幼苗总RNA反转录第1链cDNA为模板进行RT-PCR扩增。扩增体系为:100 ng模板cDNA 1 μL, 0.4 μmol/L正反引物各1 μL, 0.15 mmol/L dNTP 0.5 μL, 1 U Taq DNA聚合酶0.2 μL, 1.5 mmol/L 10× PCR缓冲液2.5 μL, 加入灭菌的超纯水至25 μL。扩增条件为:94 °C预变性3 min; 94 °C变性30 s, 58 °C退火30 s, 72 °C延伸60 s, 35个循环; 72 °C延伸10 min。PCR产物用1%的琼脂糖电泳进行检测,经过回收纯化并连接pMD19-T载体,转化大肠杆菌DH5α, PCR检测后送至测序。测序结果进行拼接,分别获得2个HSP90基因的ORF全长。

1.4 中国南瓜HSP90基因的生物信息学分析

用NCBI的ORF Finder软件寻找基因的开放阅读框;用Blast工具(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>)进行氨基酸同源性分析;应用ProtParam(<http://web.expasy.org/protparam/>)分析氨基酸基本理化特性;用MEGA6.0软件构建进化树;用TMHMM(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)和SignalP

4.1 Server(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)预测蛋白质跨膜区结构和信号肽;利用NCBI的CDD(conserved domain database)数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)进行保守结构域分析;蛋白质的二三级结构分别采用GOR IV(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_gor4.html)和SWISS-MODEL(<https://swissmodel.expasy.org/interactive>)进行预测。Wolf Psort在线软件(<https://www.genscript.com/wolf-psort.html>)进行亚细胞定位预测。

1.5 中国南瓜HSP90基因的qRT-PCR分析

提取1.1中全部处理样品的RNA,并反转录为cDNA第一链作为模板。设计2个HSP90基因相应的荧光定量引物,以中国南瓜18S rRNA为内参基因(表1)。利用ABI7500实时定量PCR仪,按照SYBR® Premix Ex Taq™试剂盒进行PCR扩增,反应体系为:2× SYBR® Premix Ex Taq 10 μL, 100 ng cDNA模板2 μL, 10 μmol/L正反引物0.4 μL, ROX Reference Dye II 0.4 μL, 补蒸馏水至20 μL。反应程序为:95 °C预变性30 s; 95 °C变性5 s, 60 °C退火34 s, 40个循环。反应结束后采用ABI7500分析软件分析实验结果,每个样品3个重复。

1.6 数据处理

采用SPSS 17.0软件的单因素方差分析方法(One-Way ANOVA)进行基因表达量的显著性水平分析,并利用Excel 2010软件作基因表达量的柱状图。

2 结果与分析

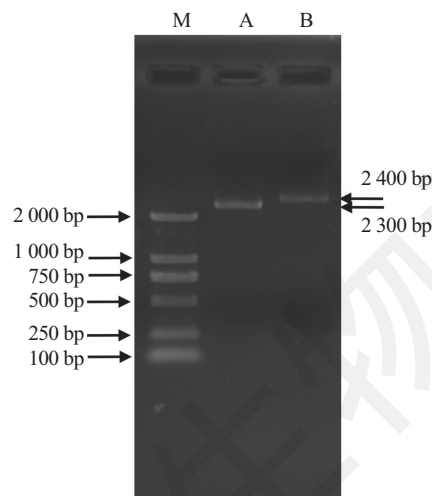
2.1 中国南瓜HSP90基因的获得

在中国南瓜果实的转录组数据中搜索到2个HSP90基因序列,BLAST比对显示,它们均具有HSP90完整的ORF。设计相应的ORF引物,以幼苗cDNA第一链为模板,扩增中国南瓜幼苗HSP90基因。PCR结果显示,扩增出的2个条带大小与预期目的片段大小基本一致,分别约2 300 bp和2 400 bp(图1)。经BLAST比对发现,这2个HSP90基因与黄瓜、苦瓜、甜瓜HSP90-5和HSP90-6基因的同源性均达到85%以上,证实在中国南瓜幼苗中获得2个HSP90基因,分别命名为CmHSP90-5(登录号:AZJ17864.1)和CmHSP90-6(登入号:AXM43902.1)。CmHSP90-5基因的ORF为2 379 bp(图2A), CmHSP90-6基因的ORF为2 472 bp(图2B)。

表1 用于基因克隆与表达分析的特异性引物

Table 1 Specific primers for gene cloning and expression analysis

实验	基因	引物(5'→3')	
		正向 Forward	反向 Reverse
ORF Amplification	<i>CmHSP90-5</i>	TTT CAC AGC GCT TCA TGG CT	GCC CGC CAT ACA ACC TAT TT
	<i>CmHSP90-6</i>	TGT GTG TGT TCA ATG GCG GA	CTT AGT CGA CCT CCT CCA TT
qRT-PCR	<i>CmHSP90-5</i>	CGC CTC CTG GAT TTG ATT GTT C	ACC ACT GTC GGC ATC AGG TTT G
	<i>CmHSP90-6</i>	TCT ATT CGG CTT ACC TTG TGG C	CTC ATC GTC GCT GAT CTC CTT C
	18S rRNA	AAA CCT TAC CAG CCC TTG AC	CGC TCG TTA TAG GAC TTG ACC



M: DL 2000; A: *CmHSP90-5*; B: *CmHSP90-6*.

图1 中国南瓜*CmHSP90-5*和*CmHSP90-6*基因扩增产物电泳图Fig.1 Electrophoresis of PCR product for *CmHSP90-5* and *CmHSP90-6* gene from *Cucurbita moschata*

2.2 中国南瓜HSP90基因编码蛋白质序列分析

*CmHSP90-5*基因ORF编码793个氨基酸, 预测相对分子量为89.94 kDa, 等电点为4.91。CmHSP90-5蛋白的总平均疏水性为-0.519, 预测为亲水性蛋白。SignalP和TMHMM分析显示, CmHSP90-5蛋白含信号肽、无跨膜结构域。Wolf Psort预测表明, CmHSP90-5蛋白亚细胞主要定位于叶绿体。CDD分析显示, CmHSP90-5蛋白质结构中含有N-端高度保守的ATPase结构域109~225 aa(图2A划线部分), 具有ATPase活性。CmHSP90-5蛋白的二级结构分析可得, α -螺旋属于该蛋白的主要结构元件, 占43.38%, 三级结构如图3A所示。

*CmHSP90-6*基因ORF编码824个氨基酸, 预测相对分子量为93.25 kDa, 等电点为5.57, CmHSP90-6蛋白的总平均疏水性为-0.480, 预测为亲水性蛋白。SignalP和TMHMM分析显示, CmHSP90-6蛋白含信号肽、无跨膜结构域。Wolf Psort预测表明, CmH-

SP90-6蛋白亚细胞主要定位于线粒体。CDD分析显示, CmHSP90-6蛋白质结构中含有N-端高度保守的ATPase结构域118~230 aa(图2B划线部分), 具有ATPase活性。CmHSP90-5蛋白的二级结构分析可得, 无规则卷曲属于该蛋白的主要结构元件, 占44.78%, 三级结构如图3B所示。

2.3 CmHSP90蛋白的同源比对和进化分析

同源比对结果显示, CmHSP90-5蛋白与苦瓜(*Momordica charantia*, XP_022146433.1)、黄瓜(*Cucumis sativus*, XP_011654561.1)、甜瓜(*Cucumis melo*, XP_008466112.1)和番木瓜(*Carica papaya*, XP_021897609.1) HSP90-5蛋白的一致性分别为94.58%、91.80%、91.68%和85.88%。CmHSP90-6蛋白与苦瓜(*Momordica charantia*, XP_022140457.1)、黄瓜(*Cucumis sativus*, XP_004140007.1)、甜瓜(*Cucumis melo*, XP_008464175.1)和可可(*Theobroma cacao*, XP_007049300.2) HSP90-6蛋白的一致性分别

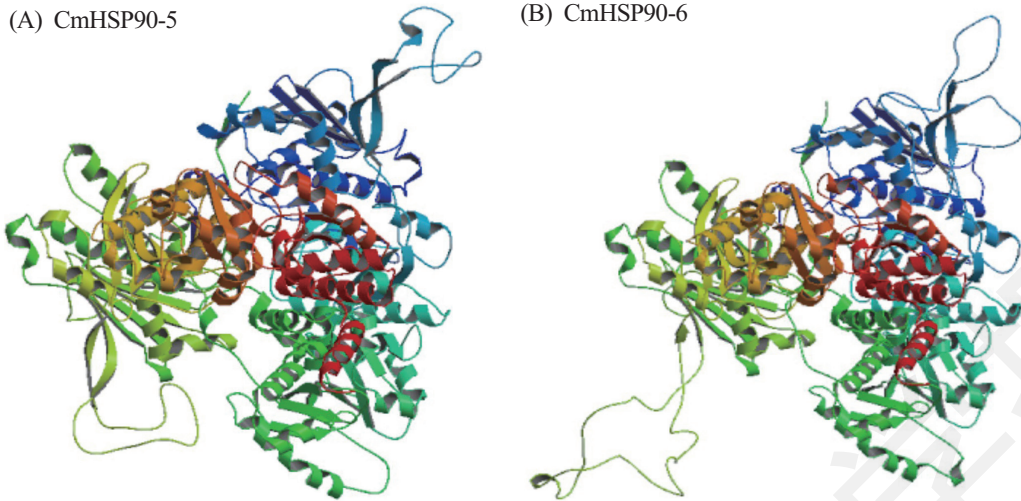
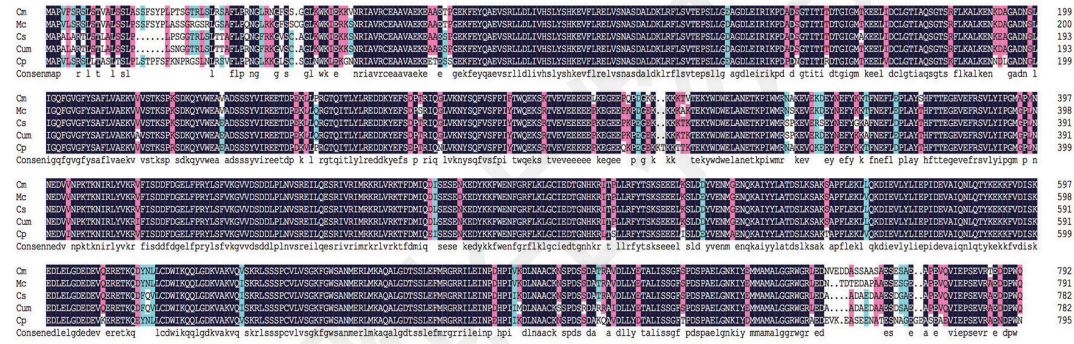


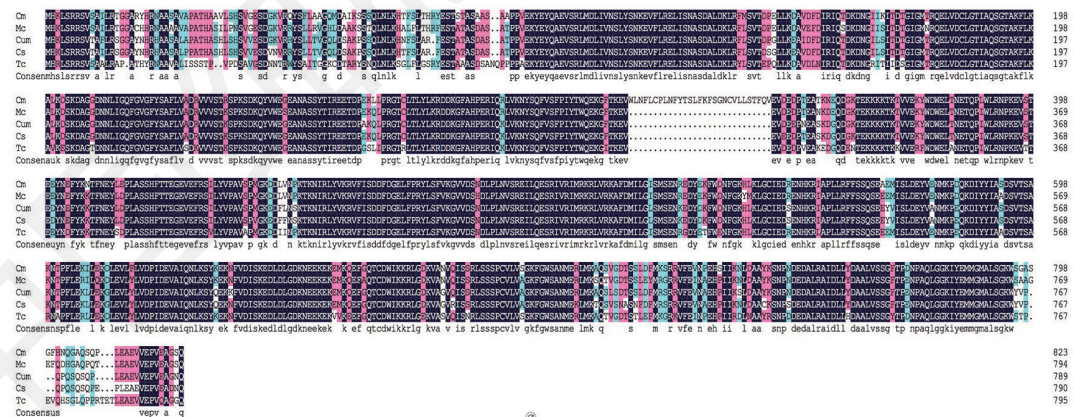
图3 中国南瓜CmHSP90三级结构预测结果

Fig.3 Prediction results of the tertiary structure of CmHSP90 in Cucurbita moschata

(A) CmHSP90-5



(B) CmHSP90-6



Cm: 中国南瓜; Mc: 苦瓜; Cs: 黄瓜; Cum: 甜瓜; Cp: 番木瓜; Tc: 可可。

Cm: *Cucurbita moschata*; Mc: *Momordica charantia*; Cs: *Cucumis sativus*; Cum: *Cucumis melo*; Cp: *Carica papaya*; Tc: *Theobroma cacao*.

图4 中国南瓜CmHSP90氨基酸同源性分析结果

Fig.4 Homology analysis results of CmHSP90 in Cucurbita moschata

和SA的响应比较强烈, CmHSP90-6基因的表达量在高温、ABA和SA处理0.5 h后出现较为剧烈的变化(图7)。

上述结果表明, 2个CmHSP90基因的表达均受高温、低温、ABA、高盐、H₂O₂、干旱和SA等多种胁迫的诱导, 但对这些胁迫的响应速度和响应强

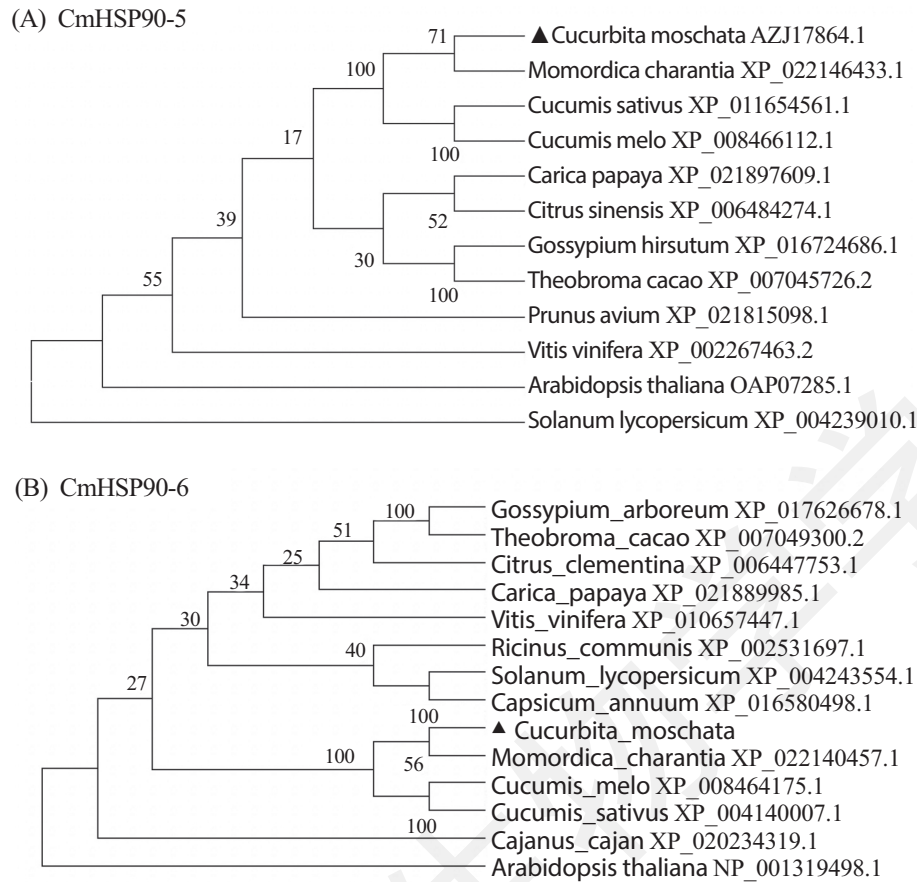
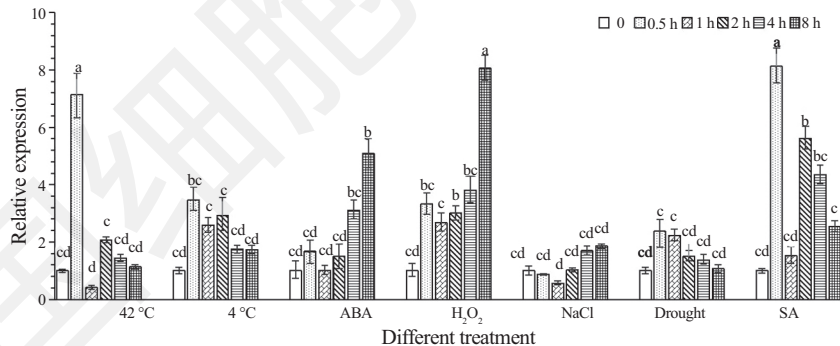


图5 中国南瓜与其他植物HSP90蛋白的进化分析结果

Fig.5 Phylogenetic analysis results of HSP90 in *Cucurbita moschata* and other plants



不同小写字母表示差异显著($\alpha=0.05$)。

Different lowercase letters show significant difference ($\alpha=0.05$).

图6 不同胁迫条件下CmHSP90-5基因的表达情况

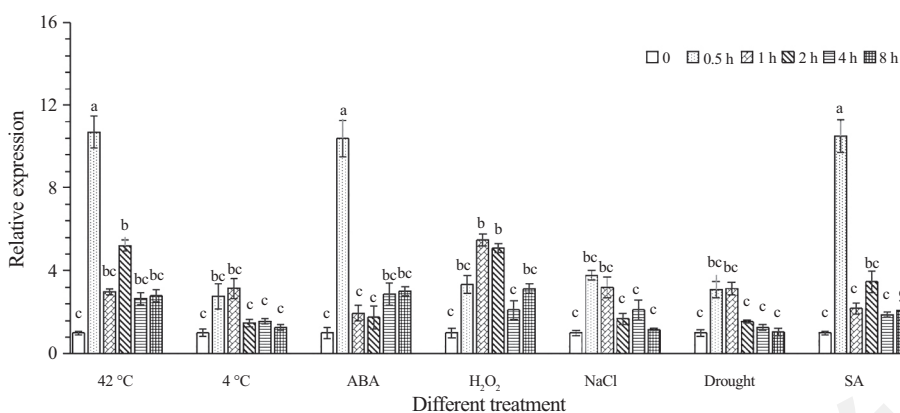
Fig.6 Expression of *CmHSP90-5* gene under different stress conditions

度并不相同。其中,对高温和SA胁迫2个基因均表现出短时间强烈响应。

3 讨论

本研究采用RT-PCR方法从中国南瓜幼苗中分离得到2个HSP90基因,经BLAST比对发现,这2个基因编码的蛋白分别为叶绿体HSP90蛋白和线粒

体HSP90蛋白^[19],与葫芦科作物的同源蛋白相似性较高,均在85%以上。蛋白序列分析表明,2个CmHSP90蛋白均为亲水性蛋白、含信号肽、无跨膜区、结构上都含有典型的ATPase保守结构域。据文献报道,ATPase结构域是ATP/ADP和HSP90抑制剂的结合位点,具有内源ATPase活性,在ATP存在的情况下会发生构象变化,进而参与信号转导、蛋白折叠



不同小写字母表示差异显著($\alpha=0.05$)。

Different lowercase letters show significant difference ($\alpha=0.05$).

图7 不同胁迫条件下*CmHSP90-6*基因的表达情况

Fig.7 Expression of *CmHSP90-6* gene under different stress conditions

以及形态进化等^[20]。同源比对和进化分析显示, 2个*CmHSP90*蛋白与不同作物HSP90蛋白之间具有较高的同源性, 并且与同为葫芦科的苦瓜、甜瓜和黄瓜HSP90蛋白的亲缘关系较近, 聚为一类。以上特点均与前人对HSP90基因的描述相符^[21-22]。可见, 本研究获得的2个HSP90基因为典型的HSP90家族基因。

目前已有大量研究报道, HSP90基因广泛参与各类生物或非生物胁迫的响应过程, 在稳定和激活各种关键信号蛋白方面发挥着重要作用^[23-24]。为了解中国南瓜*CmHSP90*基因的功能, 本研究设置7种非生物胁迫, 分析了2个*CmHSP90*基因在不同逆境条件下的表达特征。结果表明, 2个*CmHSP90*基因对高温、低温、ABA、高盐、H₂O₂、干旱和SA等多种胁迫均具有明显的应答反应, 然而响应速度和响应强度并不相同。其中, 对高温和SA胁迫2个基因均表现出短时间强烈响应。因此, 我们有理由推测, 2个*CmHSP90*基因可能参与中国南瓜对逆境的应答, 在热胁迫和水杨酸信号途径中发挥调节作用。袁洁等^[25]研究发现, 热处理或水杨酸处理杏果实都可以诱导出分子量约为66.2~98.0 kDa的热激蛋白, 推测热激和水杨酸增强果实抗性与它刺激新增热激蛋白有关。Ding等^[26]也报道了水杨酸处理能诱导番茄果实许多HSPs基因mRNA水平的上升, 从而提高植物的抗逆性。研究显示, HSPs在非生物胁迫下的表达与其定位以及执行的功能有一定关系。本研究中, 2个*CmHSP90*蛋白分别属于叶绿体HSP90和线粒体HSP90。叶绿体HSP90通常会受到光和热激的诱导, 并且可能在胁迫管理和熟化特异的客户蛋白中具有

功能, 是信号转导的组成部分^[27]。Xu等^[28]在对其过表达拟南芥的研究中发现, 叶绿体HSP90能够通过降低质膜过氧化程度和防止叶绿体损失来提高逆境胁迫下转基因拟南芥的耐受能力。线粒体HSP90的功能与其他细胞器中的HSP90不同。有报道显示, 线粒体HSP90能够保护细胞免受氧化胁迫诱导的细胞程序死亡^[29]。Neckers等^[29]过表达线粒体HSP90基因发现, 它能够缓冲线粒体蛋白使其免受长时间暴露于氧化胁迫导致的直接伤害。Zhang等^[30]认为, HSP90响应非生物胁迫是个复杂的过程。HSP90基因在发挥其功能时, 结合的客户蛋白会不同, 而不同功能的客户蛋白会导致不同的效果。若HSP90基因结合并激活正向调节的逆境反应蛋白可能会增强植株对逆境的耐受性。目前, 植物HSP90响应非生物胁迫过程的具体机制仍无法明确。在酵母中, HSP90可通过HOG和MAPK途径分别参与酵母高渗和细胞壁胁迫过程^[31]。植物中也存在MAPK胁迫信号途径, 但是HSP90是否通过这条途径参与非生物逆境过程有待于进一步研究。此外, 研究显示, 包括HSP90在内的很多HSP基因的表达受热激因子HSF的调控, 它在传递逆境信号尤其是热胁迫以及在提高植物抗逆性中起重要调节作用^[32]。因此, 在后续的研究中可以探索HSF基因的功能及其对逆境胁迫响应的信号途径。以上研究结果为了解HSP90基因的功能以及中国南瓜的抗逆分子育种奠定了基础。

参考文献 (References)

- 1 邹杰, 陈信波, 刘爱玲, 高国赋, 朱木兰. 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(Zou Jie, Chen Xinbo, Liu Ailing, Gao Guofu, Zhu Mulan. Plant heat shock proteins and crop abiotic stress tolerance improvement. Plant Physiology Communications) 2007; 43(5): 981-5.
- 2 Terasawa K, Minami M, Minami Y. Constantly updated knowledge of Hsp90. J Biochem 2005; 137(4): 443-7.
 - 3 Jackson SE, Queistch C, Toft D. Hsp90: from structure to phenotype. Nat Struct Mol Biol 2004; 11(12): 1152-5.
 - 4 Liu D, Zhang X, Cheng Y, Tetsuo T. rHsp90 gene expression in response to several environmental stresses in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Physiol Biochem 2006; 44(5/6): 380-6.
 - 5 Milooni D, Hatzopoulos P. Genomic organization of hsp90 gene family in *Arabidopsis*. Plant Mol Biol 1997; 35(6): 955-61.
 - 6 王利彬, 董爽爽, 王灿国, 程敦公, 李豪圣, 刘爱峰, 等. 黑麦热激蛋白ScHsp90-1基因的克隆及表达分析. 山东农业科学 (Wang Libin, Dong Shuangshuang, Wang Canguo, Cheng Dugong, Li Haosheng, Liu Aifeng, et al. Cloning and expression analysis of heat shock protein gene ScHsp90-1 in rye. Shandong Agricultural Sciences) 2018; 50(3): 1-5.
 - 7 刘玲玲, 柳思思, 翁建峰, 王昌涛, 李新海, 张世煌, 等. 玉米热激蛋白基因ZmHsp90-1的克隆及表达分析. 作物学报(Liu Lingling, Liu Sisi, Weng Jianfeng, Wang Changtao, Li Xinhai, Zhang Shihuang, et al. Cloning and expression analysis of heat shock protein gene zmhsp90-1 in maize. Acta Agronomica Sinica) 2012; 38(10): 1836-46.
 - 8 刘大丽, 张欣欣, 程玉祥, 高野哲夫, 柳参奎. 逆境下水稻 (*Oryza sativa* L.) rHsp90基因的克隆及功能分析. 分子植物育种(Liu Dali, Zhang Xinxin, Cheng Yuxiang, Tetsuo Takano, Liu Shenkui. Cloning and characterization of the rHsp90 gene in rice (*Oryza sativa* L.) under environmental stress. Molecular Plant Breeding) 2006; 4(3): 317-22.
 - 9 Reddy PS, Thirulogachandar V, Vaishnavi CS, Aakrati A, Sopory SK, Reddy MK. Molecular characterization and expression of a gene encoding cytosolic HSP90 from *Pennisetum glaucum* and its role in abiotic stress adaptation. Gene 2011; 474(1-2): 29-38.
 - 10 Song H, Fan P, Li Y. Overexpression of organellar and cytosolic AtHSP90 in *Arabidopsis thaliana* impairs plant tolerance to oxidative stress. Plant Mol Biol Rep 2009; 27(3): 342-9.
 - 11 孙秀玲, 孙同虎, 薄鹏飞, 张维静, 杜希华. 热激蛋白90在植物发育和疾病抗性中的作用. 生命科学(Sun Xiuling, Sun Tonghu, Bo Pengfei, Zhang Weijing, Du Xihua. Heat shock protein 90 in development and disease resistance of plants. Chinese Bulletin of Life Sciences) 2008; 20(1): 142-6.
 - 12 Takahashi A, Casais C, Ichimura K, Shirasu K. HSP90 interacts with RAR1 and SGT1, and is essential for RPS2-mediated disease resistance in *Arabidopsis*. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100(20): 11777-82.
 - 13 Liu Y, Burch-Smith T, Schiff M, Feng SH. Molecular chaperone Hsp90 associates with resistance protein N and its signaling proteins SGT1 and Rar1 to modulate an innate immune response in plants. J Biol Chem 2004; 279(3): 2101-8.
 - 14 Lu R, Malcuit I, Moffett P, Ruiz MT, Peart J, Wu AJ, et al. High throughput virus-induced gene silencing implicates heat shock protein 90 in plant disease resistance. EMBO J 2003; 22(21): 5690-9.
 - 15 Queistch C, Sangster TA, Lindquist S. Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. Nature 2002; 417(6889): 598-9.
 - 16 Sangster TA, Bahrami A, Wilczek A, Watanabe E, Schellenberg K, Mclellan C, et al. Phenotypic diversity and altered environmental plasticity in *Arabidopsis thaliana* with reduced Hsp90 levels. PLoS One 2007; 2(7): e648.
 - 17 任月, 韩莹琰, 李婷, 郝敬虹, 范双喜. 叶用莴苣热激蛋白90(LsHsp90)基因的克隆及其在热激下的表达. 中国农业科学 (Ren Yue, Han Yingyan, Li Ting, Hao Jinghong, Fan Shuangxi. Molecular cloning and expression analysis of heat-shock-protein90(LsHsp90) gene from leaf Lettuce (*Lactuca sativa* L.) under heat shock. Scientia Agricultura Sinica) 2013; 46(16): 3514-22.
 - 18 刘云飞, 万红建, 杨悦俭, 韦艳萍, 李志邈, 叶青静, 等. 番茄热激蛋白90的全基因组鉴定及分析. 遗传(Liu Yunfei, Wan Hongjian, Yang Yuejian, Wei Yanping, Li Zhimiao, Ye Qingjing, et al. Genome-wide identification and analysis of heat shock protein 90 in tomato. Hereditas) 2014; 36(10): 1043-52.
 - 19 Krishna P, Gloor G. The Hsp90 family of proteins in *Arabidopsis thaliana*. Cell Stress Chaperones 2001; 6(3): 238-46.
 - 20 Prodromou C, Panaretou B, Chohan S, Siligardi G, O'Brien R, Ladbury JE, et al. The ATPase cycle of HSP90 drives a molecular 'clamp' via transient dimerization of the N-terminal domains. EMBO J 2000; 19(16): 4383-92.
 - 21 宋红苗, 陈显扬, 李银心. 植物热激蛋白90的结构和功能. 植物生理学通讯. (Song Hongmiao, Chen Xianyang, Li Yinxin. Structure and function of heat shock protein 90 in plants. Plant Physiology Communications) 2007; 43(6): 1002-8.
 - 22 陈二龙, 苏家恩, 范志勇, 朱凯, 王德勋, 孙军伟, 等. Bright Yellow 2烤烟热激蛋白90生物信息学分析. 南方农业学报(Chen Erlong, Su Jiaen, Fan Zhiyong, Zhu Kai, Wang Dexun, Sun Junwei, et al. Bioinformatics analysis for heat shock protein 90 in flue cured tobacco variety Bright Yellow 2. Journal of Southern Agriculture) 2017; 48(10): 1734-40.
 - 23 Wang Q, Wang JN, Wang GL, Wu CD, Li JL. Molecular cloning, sequencing, and expression profiles of heat shock protein 90 (HSP90) in *Hyriopsis cumingii* exposed to different stresses: Temperature, cadmium and *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture and Fisheries 2017; 2(2): 59-66.
 - 24 裴丽丽, 徐兆师, 尹丽娟, 李连城, 陈明, 郭玉华, 等. 植物热激蛋白90的分子作用机理及其利用研究进展. 植物遗传资源学报(Pei Lili, Xu Zhaoshi, Yin Lijuan, Li Liancheng, Chen Ming, Guo Yuhua, et al. Molecular mechanism and application progress of HSP90 in plants. Journal of Plant Genetic Resources) 2013; 14(1): 109-14.
 - 25 袁洁, 朱璇, 逢焕明, 郭湾湾. 外源水杨酸处理对采后杏果实抗冷性的影响. 食品工业科技(Yuan Jie, Zhu Xuan, Pang Huanming, Guo Wanwan. Effect of exogenous salicylic acid on anti-chilling-injury of postharvest apricot fruit. Science and Technology of Food Industry) 2013; 34(24): 339-43.
 - 26 Ding CK, Wang CY, Gross KC, Smith DL. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. Plant Sci 2001; 161(6): 1153-9.
 - 27 Willmund F, Schroda M. Heat shock protein 90C is a bona fide Hsp90 that interacts with plastidic HSP70B in *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Physiol 2005; 138(4): 2310-22.
 - 28 Xu JY, Xue CC, Xue D, Zhao JM, Gai JY, Guo N, et al. Overexpression of GmHsp90s, a heat shock protein 90 (Hsp90) gene

- family cloning from soybean; decrease damage of abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. PLoS One 2013; 8(7): e69810.
- 29 Neckers L, Kern A, Tsutsumi S. Hsp90 inhibitors disrupt mitochondrial homeostasis in cancer cells. Chem Biol 2007; 14(11): 1204-6.
- 30 Zhang H, Li LH, Ye TZ, Chen RJ, Gao XL, Xu ZJ. Molecular characterization, expression pattern and function analysis of the OsHSP90 family in rice. Biotechnol Biotech Eq 2016; 30(4): 669-76.
- 31 Hawle P, Horst D, Bebelman JP, Yang XX, Siderius M, Van der Vies SM. Cdc37p is required for stress-induced high-osmolarity glycerol and protein kinase C mitogen-activated protein kinase pathway functionality by interaction with Hog1p and Slt2p (Mpk1p). Eukaryot Cell 2007; 6(3): 521-32.
- 32 段硕楠, 李国良, 张园园, 郭秀林. 植物热激转录因子家族的多样性和复杂性研究进展. 中国农学通报(Duan Shuonan, Li Guoliang, Zhang Yuan-yuan, Guo Xiulin. Diversity and complexity of plant heat shock transcription factor family: research progress. Chinese Agricultural Science Bulletin) 2013; 34(35): 36-43.

中国细胞生物学学报