

百合热激转录因子基因 *LlHSF1* 的克隆与表达分析

易 瑾, 罗 弦, 曹 兴, 陈 莉, 辛海波, 李晓昕, 陈 进, 义鸣放*

(中国农业大学观赏园艺与园林系, 北京 100193)

摘 要: 以铁炮百合 (*Lilium longiflorum*) ‘白天堂’ 的组培苗叶片为试材, 通过 RACE 方法得到了一个热激转录因子 (heat shock transcription factor, HSF) 基因 *LlHSF1* 的 cDNA 全长序列。该序列全长 1 068 bp, 推断其含有一个 780 bp 的开放阅读框 (ORF), 编码 260 个氨基酸, 推导的蛋白质分子量为 30.123 kD。对推定的氨基酸序列与其它已知物种 HSF 进行比对发现, 该基因有热激转录因子所具备的典型结构域和调控元件, 据此推断, 克隆到的基因是一个新的热激转录因子成员, 命名为 *LlHSF1*。荧光定量 PCR 分析结果表明: 常温下该基因在百合根、鳞茎、叶中都有表达, 但在叶片中表达量较高; 实时荧光定量 PCR 分析结果表明, 42 °C 处理 1 ~ 12 h, 叶中该基因表达量增加。

关键词: 百合; 铁炮百合; 热激转录因子; 克隆; 表达; 荧光定量 RT-PCR

中图分类号: S 682.2

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 11-2199-07

Cloning and Expression Analysis of *LlHSF1* from *Lilium longiflorum*

YI Jin, LUO Xian, CAO Xing, CHEN Li, XIN Hai-bo, LI Xiao-xin, CHEN Jin, and YI Ming-fang*

(Department of Ornamental Horticulture and Landscape Architecture, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: A full length cDNA named *LlHSF1*, belonging to Heat shock transcription factor (HSF), was cloned from *Lilium longiflorum* ‘White Heaven’ by RT-PCR and RACE (rapid amplification of cDNA ends). The gene consisted of 1 068 bp and open reading frame encompassed 780 bp encoding a polypeptide of 260 amino acids with calculated protein molecular mass of 30.123 kD. Cluster analysis showed that this gene was highly homologous to known HSF from other organisms. RT-PCR analysis showed that expression of *LlHSF1* could be detected in leaf, root and bulb at 22 °C, and it was expressed highly in the leaf. The results with SYBR GREEN real-time quantitative PCR showed that the gene expression level increased in leaves during 1 – 12 hours at 42 °C.

Key words: *Lilium longiflorum*; heat shock transcription factor (HSF); cloning; real-time quantitative PCR

高温会对植物的生长发育和产量造成严重影响。百合喜冷凉湿润气候, 而我国北方大部分地区

收稿日期: 2012-05-30; 修回日期: 2012-10-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30972024); 国家教委博士点基金项目 (200800190014)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: ymfang@cau.edu.cn)

夏季炎热, 高温下百合出现生长迟缓, 植株瘦弱, 败育, 病虫害严重等现象, 严重影响百合切花质量和产量, 并导致种球退化。故夏季高温已经成为限制国内百合切花周年生产的重要因素之一。

植物遭受高温胁迫时, 热激基因的表达迅速增加, 导致热激蛋白快速积累。热激蛋白作为分子伴侣帮助相关蛋白重新折叠、组装、胞内分配和降解, 对受损蛋白的修复和细胞的存活起着重要的作用 (Wang et al., 2004; Sangster & Queitsch, 2005)。热激蛋白的表达受到热激转录因子 (heat shock transcription factor, HSF) 的调控。在高温胁迫和过氧化逆境下, 热激转录因子结合在热激蛋白基因的热激元件 (HSE) 上, 诱使其他转录因子结合在热激蛋白基因上而形成转录复合体, 导致热激蛋白基因的转录和热激蛋白的累积 (Nover et al., 1996)。最早的 HSF 基因在酵母中克隆得到 (Wiederrecht et al., 1988), 植物 HSF 首先在番茄中克隆到 (Scharf et al., 1990), 番茄中 *HSFA1* 可以调节热激蛋白和其它热激转录因子的表达, 是 HSF 在热激反应过程中的主要因子 (Mishra et al., 2002)。热胁迫下, 拟南芥中的 HSF 可调节 *hsp101*、*hsp70* 和 *shsp* 的表达, 其突变体热敏感性提高, 过表达 HSF 的植株则表现出了较强的耐热能力 (Li et al., 2005; Charng et al., 2007; Ogawa et al., 2007)。

目前, 热胁迫下百合抗氧化酶系统的响应机制研究已有报道 (Yin et al., 2008; Chen et al., 2010), 而对百合热激蛋白和热激转录因子的研究较少。模式植物拟南芥和番茄的研究表明, 热激转录因子在提高植株耐热性方面具有重要的调节作用。本实验室前期进行的热激转录因子的研究也表明, *LIHSFA2* 的过表达可以提高植物的耐热性和耐盐性 (Xin et al., 2010)。

本研究中克隆百合 *HSF1* 基因, 并初步检测其表达情况, 验证其与百合耐热的相关性, 为进一步通过转基因育种来提高百合的耐热性的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用材料为中国农业大学本实验室保存的铁炮百合 (*Lilium longiflorum*) 品种 ‘白天堂’ 的组培苗。试验时间为 2009 年 12 至 2010 年 12 月。

1.2 RNA 的提取与逆转录反应

RNA 的提取按照 Invitrogen 公司的 Trizol 说明书进行。DEPC 水溶解 RNA, 用分光光度计测定 OD₂₆₀ 和 OD₂₈₀ 数值, 根据 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值判断 RNA 的质量, 用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性。

cDNA 合成及 PCR 反应所用引物见表 1。

表 1 逆转录和 PCR 引物
Table 1 Primers applied in the reverse transcription and PCR

引物 Primer	序列 Sequence	引物 Primer	序列 Sequence
PF1	TTCAARCA YARCAATTCTC	PR3	GCTGGAGAAATTGCTGTGCTTG
PF2	TGGGARTTYGCKAAYGARGS	PR4	AAAGTCGACCTAGAAGAATCCCTCGCCGAGTA
PF3	TTCAAGCACAGCAATTCTC	AP1	GCTGTCAACGATACGCTACGTAACG
PF4	TGGGAGTTCGCGAACGAAGGATT	AP2	CGCTACGTAACGGCATGACAGTG
PF5	AATCCCGGGATGGAAGGGAGCAACAGTCACA	AP	GCTGTCAACGATACGCTACGTAACGGCATGACAGTGT(18)
PR1	GAAWGARABCAWYTGCTTCTG	I8S For	AGTTGGTGGAGCGATTGTCT
PR2	GCGAATCCCATCTGTCAGAATC	I8S Rev	CCTGTTATTGCCTCAAACCTTCC

cDNA 反转录按照 Promega 的 M-MLV Reverse Transcriptase 说明书进行。*HSF1* 的 5'端 cDNA 的合成按照 TaKaRa 公司的 5'-Full RACE Kit 试剂盒说明书进行。

1.3 百合 *HSF1* 的克隆及序列测定

根据 GenBank 核酸数据库中报道的拟南芥 (NM_120453)、番茄 (GU120360.1)、玉米 (EU974154.1)、水稻 (AY344485.1) 等的 HSF 基因的 mRNA 序列, 通过 DNAMAN 软件进行同源比对并设计保守区兼并引物, 并根据已获得的片段序列设计特异引物, 引物序列见表 1。片段 A 由引物 PF1、PF2 和 PR1 扩增得到。反应程序为: 94 °C 5 min, 94 °C 45 s, 45 °C 45 s, 72 °C 90 s, 5 个循环; 94 °C 45 s, 48 °C 45 s, 72 °C 60 s, 33 个循环; 72 °C 10 min。

对于基因 3'序列克隆, 根据已克隆的百合 *HSF1* 保守片段设计两条 3' RACE 上游引物 PF3 和 PF4, 逆转录引物用 AP, 然后以反转录的 cDNA 为模板进行巢式 PCR 扩增。第一轮 PCR 反应引物用 PF3 和接头引物 AP1, 反应条件: 94 °C 4 min, 94 °C 45 s, 56 °C 45 s, 72 °C 90 s, 36 个循环; 72 °C 10 min。取第一轮产物 1 μL 进行第二轮反应, 引物为 PF4 和接头引物 AP2。94 °C 4 min, 94 °C 45 s, 58 °C 45 s, 72 °C 1 min, 36 个循环; 72 °C 10 min。

对于基因 5'序列的克隆 (具体按照 TaKaRa 公司的 5'-Full RACE Kit 试剂盒说明书进行), 采用 Random 9 mers 引物进行反转录, 然后以反转录的 cDNA 为模板进行巢式 PCR 扩增。第一轮 PCR 反应引物用 5'RACE Outer primer 和特异引物 PR2。反应条件: 94 °C 3 min, 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 60 s, 25 个循环; 72 °C 10 min。取第一轮产物 1 μL 进行第二轮反应, 引物为 5' RACE Inner primer 和特异引物 PR3。反应条件: 94 °C 3 min, 94 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 60 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。

应用 DNAMAN 对 *LHSHF1* 基因的克隆片段、3'端和 5'端序列进行拼接, 并在 NCBI 网站上预测其 ORF。根据 ORF 两端序列设计特异引物 PF5 和 PR4 扩增该基因的编码区序列 (CDS), 并在上游引物 5'端和下游引物 3'端分别设计 *Sma* I 和 *Sal* I 限制性内切酶酶切位点。PCR 反应程序为: 94 °C 4 min, 94 °C 45 s, 55 °C 45 s, 72 °C 3 min, 35 个循环; 72 °C 10 min。

将所有 PCR 产物凝胶电泳后回收目的片段, 与 PUM-T 载体连接并转化 DH5α, 重组质粒鉴定后送北京奥科基因公司进行测序。

用 DNAMAN 和 MEGA 5.0 进行核苷酸和蛋白质多序列比对和聚类分析。

1.4 百合 *LHSHF1* 在不同组织中的表达

常温下取叶片 0.1 g, 采用 invitrogen 公司 Trizol 提取 RNA, 用 TaKaRa 公司 Dnase I 消化, 去除基因组 DNA 的污染, 按 promega 公司 M-MLV 试剂盒说明书合成 cDNA。在已克隆 *HSF1* 基因的编码序列中设计两条特异引物。HSF For: 5'-CTCCCTCCCATCTTCCTC-3'和 HSF Rev: 5'-TCTGCTGC TCCTGCCTTAC-3', 目的片段为 147 bp。对 PCR 扩增产物进行凝胶检测和测序, 进一步验证引物设计的特异性。

以 18S 基因作为内参, 参照 TaKaRa 公司荧光定量试剂盒 SYBR PrimeScript™ Kit 说明书, 采用 Applied Biosystems 7300 Real-time PCR System 荧光定量 PCR 仪, 研究 *HSF1* 在根、鳞茎、叶等不同组织器官的表达模式。每个样品设 3 次重复。

荧光定量 PCR 扩增反应体系: cDNA 模板 2 μL, 2 × SYBR Premix Ex Taq™ 10 μL, 特异引物 (10 μmol · L⁻¹) 0.4 μL, 50 × ROX Reference Dye 0.4 μL, ddH₂O 6.8 μL。采用两步法标准程序: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 31 s, 40 个循环。使用 Microsoft Excel 2007 软件进行数据处理。

1.5 不同热激处理时间的荧光定量 PCR 分析

42 ℃热激处理‘白天堂’组培苗,在1、3、6和12 h各取叶片0.1 g, RNA提取、cDNA合成和荧光定量PCR方法同上,对 *LIHSF1* 在42 ℃热激处理1~12 h的表达进行相对定量分析,以常温为参照。每个处理设3次重复。

2 结果与分析

2.1 百合 *HSF1* 的克隆

根据已知的拟南芥、番茄、水稻等的 HSF 序列,设计兼并引物,采用 RACE 方法分别得到了基因的中间片段(369 bp)、基因3'端(864 bp)和5'端(228 bp),经过拼接得到1 068 bp全长基因序列。该基因3'utr和5'utr长度分别为270 bp和18 bp, CDS长780 bp,包含一个编码260个氨基酸的开放阅读框(图1)。

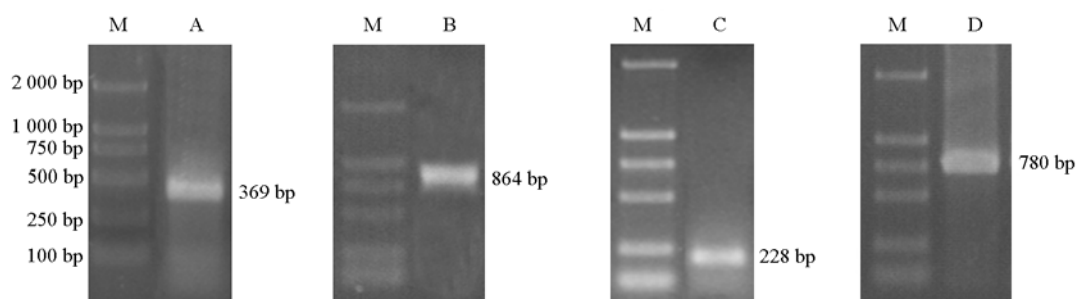


图1 PCR产物检测

M: DL2000 marker; A: 中间片段; B: 3' RACE产物; C: 5' RACE产物; D: CDS产物。

Fig. 1 The PCR amplification results of *LIHSF1*

M: DL2000 marker; A: PCR fragment; B: 3' PCR product; C: 5' PCR product; D: CDS product.

2.2 百合 *HSF1* 聚类分析

用 DNAMAN 将核酸序列翻译成蛋白质序列,提交 NCBI(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进行在线比对,将同源性较高的其它物种的 HSF 序列下载,用 MEGA5.0 进行比对和聚类分析。与几类物种已知的 HSF 蛋白序列聚类分析(图2)表明,推定的百合 *HSF1* 与毛果杨同源性最高,达到52%,与高粱和水稻的同源性分别为44%和43%。

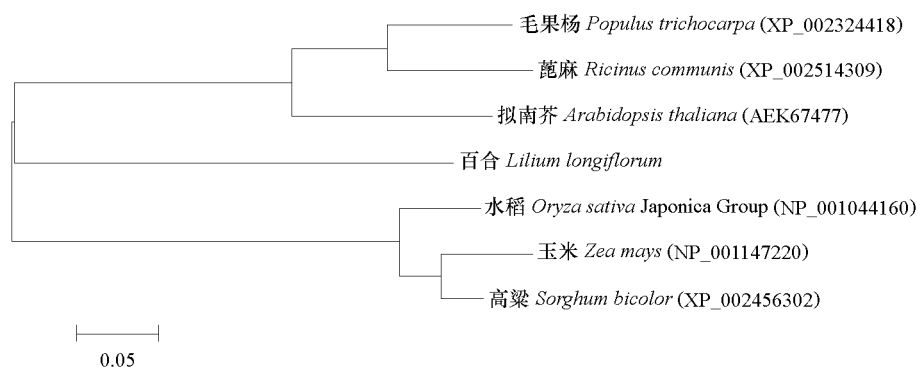


图2 *LIHSF1* 与已知几种植物的热激转录因子氨基酸同源序列的聚类分析

Fig. 2 Clustering of *LIHSF1* deduced amino acid sequence and several other plants HSF proteins

通过 NCBI 网站 Conserved Domains 预测结果可知, 所得百合 *HSF1* 含有 HSF DNA-bind superfamily, 符合 HSF1 家族特征。结合核酸序列比对结果, 将本试验中克隆到的百合 *HSF* 初步确定为 HSF1 成员, 命名为 *LIHSF1* (JN792932)。

2.3 蛋白质序列比对

根据 NCBI 推定的百合 *HSF1* 分子量为 30.123 kD, 等电点为 9.61。与毛果杨、水稻、玉米、高粱、拟南芥和蓖麻的 *HSF* 序列比对 (图 3) 表明, *LIHSF1* 具有典型的热激转录因子结构域, DNA 结合域比较保守。

OsHSFMMGGECKVHQLQAAGDGGPGAVAPFVAKTFHNVSDHSTNAVVRWGGAGNTLVLDEAFSDFLPSYFK	69
PtHSFVAPFVIRIKYQVSDHSTISLISWGRANNSFIIVDELDLFSQRILPVYFK	48
RcHSFMESTNSS.....NLHAPFVVKTYQVNDHSTITLITWGRANNSFIIVDELDLFSQRILPVYFK	57
SbHSFMGSECKDHLQLHA.....GAPFVAKTFHNVSDHSTNAVVRWGGAGNTLVLDEAFSDFLPSYFK	63
AtHSFMEDDNSNNNNNN.....NVIAPFVVKTYQVNDHSTITLITWGRANNSFIIVDELDLFSQRILPVYFK	62
ZmHSF	MGSECKGYGVGVATSPQCEHEQAGA.....AVAPFVAKTFHNVSDHSTNAVVRWGGAGNTLVLDEAFSDFLPSYFK	74
LIHSFMEGSNSHSCSTHQI.....QVAPFVAKTYQVNDHSTITLIRWGSTNNSEFIIVLYSRFSHVLLPSYFK	64
Consensus	apf k v dp t wg n f v d fs lp yfk	
OsHSF	HNFFSFFVRQLNTYGFRRVLEDFWEFAHESFLRGCAQLIPRIV.RKKKKGGGAAPGCRELCEEGE.EVRGTIE.AVQRIRRE	146
PtHSF	HNFFSFFVRQLNTYGFRRVLEDFWEFAHESFLRGCKQLIKNIVRRKHSSNNKGSSYMQVNIKGEDFDDEDIIMEIARLQ	128
RcHSF	HNFFSFFVRQLNTYGFRRVLEDFWEFAHESFLRGCKQLIKNIVRRKHSSKSSC.....KIEDFDNEELVMEIARLQ	128
SbHSF	HNFFSFFVRQLNTYGFRRVLEDFWEFAHESFLRGCAHLIPLVV.RKKKKKKAAGGCREQLCEEGE.EEVRGTIRAVQRIRRD	141
AtHSF	HNFFSFFVRQLNTYGFRRVLEDFWEFAHESFLRGCKHLINNIARRKHARGMYGQ.....DLEDGEIVREIERLKE	132
ZmHSF	HNFFSFFVRQLNTYGFRRVLEDFWEFAHESFLRGCAHLIPLVV.RKRKTAGAGGGRE.LCEAG.EEVRGTIRAVQRIRRE	151
LIHSF	HNFFSFFVRQLNTYGFRRVLEDFWEFAHESFLRGCAHLIPLII.RHMSKKEGID.....KEEDMKLLQEVGRIRR	133
Consensus	h nf sf rqlntygfrk d d wefa e flrgq l r	rl
OsHSF	ECRGMEELIQAMDQRIRAAESRFGCMMAFLAKLADEFGVVLRAMLAK.....KEELAAAGNNG.SD..PCKRRRIGADTG	218
PtHSF	ECKALECELEGNKRLEATERRPQCMMAFLYKVVEDFDLLPMMILEKE.....	176
RcHSF	ECRVLEDELEGNKRLEATERRPQCMMAFLYKVVEDFDLLPMMILQEQTKQLN..SDKKRRLMISSSSSSSGGAUVSS	206
SbHSF	ECRGMEELIQAMDQRIRAAESRFGCMMAFLAKLADEFGVVLRAMLAK.....KEELALAGKGS.TTPAPGKRRRIGAE..	213
AtHSF	ECRELEAEIQRMNRLEATERRPQCMMAFLYKVVEDFDLLPMMILEKERTKQQQVSDKKRRRVIMSTVKSE.....	204
ZmHSF	ECRGVEDEIRAMDQRIRAAESRFGCMMAFLAKLADDFGLVLRAMLAK.....EEELALIDKGS.EAQ.PAKRRRIGAE..	222
LIHSF	ECQQVEFVKLQPMKRRIRDTERKEQCMSEFLFLAKDEDFLEFISSK.....QQQLTVYKRRR.....	191
Consensus	sq m r e p q m f p r k	
OsHSF	RGGVATGGDAA.....	229
PtHSF	176
RcHSF	VKSEEEEGNIGAISSESGFGIDNNNNNNLYQSSPSPETNFIWLGDNYGCAEVAPAPITGGIGNSVKLAVSPPPM	286
SbHSF	...AGVGDA.....	220
AtHSF	...EEEVEDEGRVFRVMSSSTPSPSSTENLYRNHSPDGWIVPMTQGGFGSYETGLVAKSMLS...NSTSSTSSSLTST	277
ZmHSF	AV.....	224
LIHSFLL...VLPHQTWQNYPT	206
Consensus		
OsHSFEMAQSRGTVPFFFSVLGQVFY.....	250
PtHSF	176
RcHSF	PVNGIICYGGSGGNGGDRGSQTSYFGE LATAVEAKPPP.PPYFPSLLGGDF	337
SbHSFDMAQSRGAVPFFFSVLGQVFY.....	241
AtHSF	FSLPESVNGGGGGCGSIQGERRYKETATFGGVVESNPPTTPPYFPSLFRGGF	329
ZmHSFDLAHSRGGGAVPFFFSVLGQVFY.....	247
LIHSF	NSLRDDGAAGVGPATPFDQSRKRPVVSSELNISEQSPVPMAGPFFFSILGEGF	258
Consensus		

图 3 百合与几种植物 HSF 蛋白氨基酸序列的同源性比较

Ll: 百合; Os: 水稻; Sb: 高粱; Zm: 玉米; Pt: 毛果杨; Rc: 蓖麻; At: 拟南芥。

Fig. 3 Homology comparison of amino acid sequences alignment of *LIHSF* with other plants

Ll: *Lilium longiflorum*; Os: *Oryza sativa* Japonica Group (NP_001044160); Sb: *Sorghum bicolor* (XP_002456302);

Zm: *Zea mays* (NP_001147220); Pt: *Populus trichocarpa* (XP_002324418); Rc: *Ricinus*

communis (XP_002514309); At: *Arabidopsis thaliana* (AEK67477) .

2.4 百合 *HSF1* 组织特异性表达

采用荧光定量 RT-PCR 法, 对百合 *HSF1* 基因常温下在根、鳞茎、叶各器官的表达进行相对定量分析。从图 4 可以看出, *HSF1* 在根、鳞茎、叶组织里都有表达, 但在叶中的表达量较高。

2.5 百合 *HSF1* 在热胁迫下的表达分析

将从叶片组织中分离的 mRNA 反转成 cDNA 为模板, 对 *HSF1* 在不同热激时间的表达情况进行了分析。结果显示, 与对照相比, 热激处理后 *HSF1* 表达量上升, 42 °C 处理 1 ~ 12 h 均可以检测到其有明显的表达, 随着热激时间的增长, 基因表达量增加 (图 5)。

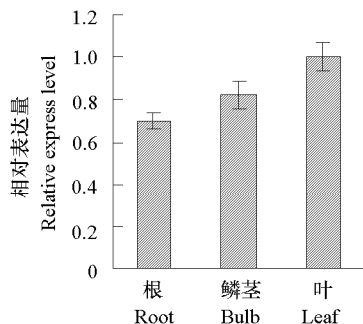


图 4 *LIHSF* 在不同组织中的基因表达
Fig. 4 *LIHSF* expression in various tissue

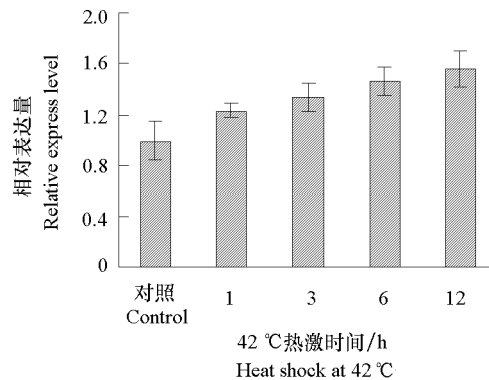


图 5 百合叶片不同热激时间 *HSF1* 的表达分析
Fig. 5 *LIHSF1* expression in the leaves at different time point at 42 °C

3 讨论

植物经常面临复杂的逆境胁迫, 因此植物的热激转录因子家族拥有众多的成员, 形成了一个具有多层次、多方位的网状调控体系。目前研究表明, 不同的物种含有不同数量、不同种类的 HSF, 拟南芥至少有 21 个, 番茄至少含有 18 个, 大豆中至少有 34 个, 水稻中至少有 33 个 (Miller & Mittler, 2006; Guo et al., 2008)。对模式植物拟南芥和番茄的研究表明, 热激转录因子家族功能复杂, 对高温、干旱、过氧化等多种逆境胁迫起调节作用 (Storozhenko et al., 1998; Panchuk et al., 2002; Panikulangara et al., 2004)。百合基因组较大, 预计有 30 个以上的 HSF, 且其基因功能复杂, 对百合热激转录因子在非生物逆境的调节功能的多样性和复杂性仍需要进一步探索。目前对百合 HSF 基因功能的研究较少。本实验室前期的研究 (Xin et al., 2010) 表明, *LIHSFA2* 的表达受高温和过氧化胁迫诱导。本试验中克隆的 *LIHSF1* 与 *LIHSFA2* 属于两种不同类型的热激转录因子, 通过 DNAMAN 分析结果表明, 二者的同源性只有 45.3%, *LIHSF1* 属于组成型表达, 受到热激时表达量升高, 而 *LIHSFA2* 属于特异性表达, 常温下基本不表达, 受到热激或其他胁迫时表达量升高。

通过 DNAMAN 软件分析结果表明, 与百合 *LIHSF1* 同源性较高的植物分别是毛果杨、高粱和水稻, 除模式植物拟南芥外, 这些基因的功能和蛋白质分析还未见报道。通过 NCBI 网站 Conserved Domains 预测, 结果显示 *LIHSF1* 具有典型的 HSF DNA-bind 和 HSF1 结构域, 符合 HSF 的特征, 初步确定本研究中在百合中克隆到的基因是 HSF1 类成员。

有研究表明, 番茄的 *HSFA1* 组成型表达并在热激反应中起主导作用, 常温下分别于细胞核和细胞质中, 在热激反应中调节 *HSFA2* 的转录 (Scharf et al., 1998; Nover et al., 2001; Mishra et al.,

2002)。拟南芥的 *AtHSF1* 起基础调节作用, 可增强植物耐热性 (Nover et al., 1996)。本试验中检测到百合叶片 *HSF1* 表达量在 42 °C 处理 1 ~ 12 h 呈上升趋势, 表明 *HSF1* 是一个受热诱导且在热激反应中起基础调节作用的热激转录因子, 热激后百合 *HSF1* 表达量上升, 这与其蛋白功能是密切相关的。百合 *HSF1* 呈组成型表达, 并且受热激诱导后表达增强, 这与拟南芥和番茄的 *HSF1* 表达模式相似, 说明百合 *HSF1* 可能参与了百合热信号转导途径。

References

- Chang Y Y, Liu H C, Liu N Y, Chi W T, Wang C N, Chang S H, Wang T T. 2007. A heat-inducible transcription factor, HsfA2, is required for extension of acquired thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 143: 251 – 262.
- Chen L, Xin H B, Li X Y, Li X X, Yi M F. 2010. Cloning and expression analysis of MDHAR from *Lilium longiflorum*. *Scientia Silvae Sinicae*, 46 (9): 178 – 181.
- Guo J K, Wu J, Ji Q, Wang C, Luo L, Yuan Y, Wang Y H, Wang J. 2008. Genome-wide analysis of heat shock transcription factor families in rice and *Arabidopsis*. *J Genet Genomics*, 35: 105 – 118.
- Li C, Chen Q, Gao X, Qi B, Chen N, Xu S, Chen J, Wang X. 2005. AtHsfA2 modulates expression of stress responsive genes and enhances tolerance to heat and oxidative stress in *Arabidopsis*. *Sci China C Life Sci*, 48: 540 – 550.
- Miller G, Mittler R. 2006. Could heat shock transcription factors function as hydrogen peroxide sensors in plant. *Annals of Botany*, 98: 279 – 288.
- Mishra S K, Tripp J, Winkelhaus S, Tschiersch B, Theres K, Nover L, Scharf K D. 2002. In the complex family of heat stress transcriptiop factors, HsfA1 has a unique role as master regulator of thermotolerance in tomato. *Genes Dev*, 16: 1555 – 1567.
- Nover L, Bharti K, Doring P, Mishra S K, Ganguli A, Scharf K D. 2001. *Arabidopsis* and the heat stress transcription factor world: How many heat stress transcription factors do we need? *Cell Stress Chaperones*, 6: 177 – 189.
- Nover L, Scharf K D, Gagliardi D, Vergne P, Czarnecka-Verner E, Gurley W B. 1996. The Hsf world: Classification and properties of plant heat stress transcription factors. *Cell Stress Chaperones*, 1: 215 – 223.
- Ogawa D, Yamaguchi K, Nishiuchi T. 2007. High-level overexpression of the *Arabidopsis* HSFA2 gene confers not only increased themotolerance but also salt/osmotic stress tolerance and enhanced callus growth. *J Exp Bot*, 12: 3373 – 3383.
- Panchuk I I, Volkov R A, Schöffl F. 2002. Heat stress-and heat shock transcription factor-dependent expression and activity of ascorbate peroxidase in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 129 (2): 838 – 853.
- Panikulangara T J, Eggers-Schumacher G, Wunderlich M, Stransky H, Schoffl F. 2004. Galactinol synthase1. A novel heat shock factor target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 136: 3148 – 3158.
- Sangster T, Queitsch C. 2005. The HSP90 chaperone complex, an emerging force in plant development and phenotypic plasticity. *Curr Opin Plant Biol*, 8: 86 – 92.
- Scharf K D, Rose S, Zott W, Schöffl F, Nover L. 1990. Three tomato genes code for heat stress transcription factors with a region of remarkable homology to the DNA-binding domain of the yeast HSF. *EMBO J*, 9: 4495 – 4501.
- Scharf K D, Heider H, Hohfeld I, Lyck R, Schmidt E, Nover L. 1998. The tomato Hsf system: HsfA2 needs interaction with HsfA1 for efficient nuclear import and may be localized in cytoplasmic heat stress granules. *Mol Cell Biol*, 18 (4): 2240 – 2251.
- Storozhenko S, Pauw D P, Montague V M, Inzè D, Kushnir S. 1998. The heat-shock element is a functional component of the *Arabidopsis* APX1 gene promoter. *Plant Physiol*, 118: 1005 – 1014.
- Wang W, 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.
- Wiederrecht G, Seto D, Parker C S. 1988. Isolation of the gene encoding the *S. cerevisiae* heat stress transcription factor. *Cell*, 54: 841 – 853.
- Xin H B, Zhang H, Chen L, Li X X, Lian Q L, Yuan X, Hu X Y, Cao L, He X L, Yi M F. 2010. Cloning and characterization of HsfA2 from lily. *Plant Cell Rep*, 29: 875 – 885.
- Yin H, Chen Q M, Yi M F. 2008. Effect of short-term heat stress on oxidative damage and responses of antioxidant system in *Lilium longiflorum*. *Plant Growth Regulation*, 54 (1): 45 – 53.