

# 热激蛋白

柯世省 (浙江省临海市台州学院生命科学学院 317000)

**摘要** 热激蛋白是一类在有机体受到高温等逆境刺激后大量表达的蛋白质,是生物对逆境胁迫短期适应的必需组成成分,对减轻逆境胁迫引起的伤害有很大的作用。本文主要介绍了热激蛋白的概念、种类、特点、功能和基因表达的调控。

**关键词** 热激蛋白 分子伴侣 耐热性 耐冷性 基因表达调控

生命的应激反应无处不在,它以一系列热激蛋白的合成增加为主要特征,是生物体细胞内激发的一系列高度程序化事件,起着保护生物体免受应激损伤的作用。热激蛋白(heat shock protein, HSP)是一类在有机体受到高温等逆境刺激后大量表达的蛋白,是生物对逆境胁迫短期适应的必需组成成分,对减轻逆境胁迫引起的伤害有很大的作用<sup>[1-4]</sup>。

## 1 热激蛋白的发现

1962年, Ritossa把 25℃下培育的果蝇幼虫置于 32℃热环境中, 30 min 后发现果蝇唾液腺染色体上出现了很大的“膨突”,提示该区域的基因转录增强,表现为“热激反应”。当时这个现象并没引起广泛的关注。1974年 Tissere利用 SDS-PAGE分离得到热激反应产生的一组新蛋白质,并命名为“热激蛋白”。1986年 Pelham提出热激蛋白是一种分子伴侣的理论。1987年 Sanger阐明编码热激蛋白的序列、基因结构及位点。1992年 Howli提出小分子热激蛋白作为一种分子伴侣,在植物中广泛存在。研究中还发现,生物细胞(包括原核细胞和真核细胞)温度升高时均可合成一类具有生物学活性及多种生理功能的热激蛋白,从此热激蛋白的研究进入了分子水平。近年来的研究表明,除高温外,其他环境胁迫也可以诱导热激蛋白的产生。另外,正常条件下生活的细胞中也有热激蛋白,这类热激蛋白是组成型表达的。组成型热激蛋白与诱导型热激蛋白在结构和功能上都很难区分,所以仍统称为热激蛋白。如泛素(ubiquitin)就是一种依赖 ATP而促进细胞蛋白质水解的小分子量热激蛋白。

## 2 热激蛋白的种类和定位

热激蛋白是一组糖蛋白,种类多,分子量从 15 kD ~110 kD或更高,定位于多种细胞器。目前描述的热激蛋白主要是在 SDS-PAGE电泳上表现的分子量。真核生物中的热激蛋白根据同源程度和分子量大小分为 6个家族: HSP110 HSP90 HSP70 HSP60 小分子量 HSP(如HSP 17 ~28 kD)以及泛素。

植物热激蛋白可在种子、幼苗、根、茎、叶等不同器官中产生,也可存在于组织培养条件下的愈伤组织以及单个细胞之间。它们在亚细胞的定位很复杂,可定位于多种细胞器,包括细胞核、细胞质、叶绿体、线粒体和内膜系统等各个部分,还可存在于胞间隙和细胞壁中。不少热激蛋白可与生物膜相结合,很可能担当了防止膜蛋白变性和生物膜受热破解的功能。

## 3 热激蛋白的特点

热激蛋白具有以下特点: ①细胞内不连续分布。不同的热激蛋白存在于细胞的不同部位,如细胞质、线粒体、叶绿体和质膜等。②诱导表达的方式不同。可分为组成型表达、组成型表达但在逆境中或逆境后表达增高以及仅诱导表达。③合成和降解的动力学特性不同。不同物种热激蛋白合成的量、种类及在体内持续的时间不同。一般来说,生物体热激反应迅速,随着温度升高,几分钟之内细胞质内热激蛋白的 mRNA水平就迅速升高,并以很高的效率翻译成蛋白质。④诱导温度不同。不同生物所需的诱导温度各异,与其自然生长的环境温度有关。一般来说,生活环境温度范围较宽的物种,最适的诱导温度高于其自然生境温度 10~15℃;相反,生活环境温度范围较窄的物种,最适的诱导温度高于其自然生境温度 5℃。⑤组织特异

察图形、分析数据,从而发现记忆的规律。

5 利用诗歌更好地培养学生的科学教育和人文教育沟通的能力

新教材大量引用了优美的诗、词、歌、赋,其中又有相当的一部分是赞美大自然的美好,描写生物的生活、生物与人类的关系。教材中采用这些讴歌自然的艺术声韵,不仅可以使学生得到美的享受和艺术的熏陶,而且可以帮助学生探索生物的奥秘和更好地理解生物学知识。例如,教材中为了说明非生物因素如温度对植

物生长的影响,引用了白居易的“人间四月芳菲尽,山寺桃花始盛开”这句名句。非常生动形象地帮助学生理解了教材中的相关知识——植物的生活和温度的关系,同时赞赏了古人的细致观察。

在以往的教学,几乎都是些自然方面的科学知识教育,是严肃的、严谨的,科学教育与人文教育不易整合,而在新教材中,把这两种教育结合起来,更能使得学生在轻松愉快中获取科学知识,并让整个教学过程充满美的享受和爱的熏陶。◆

性。热激条件下,不同组织热激蛋白表达的种类或数量有差异。⑥保守性。不同物种相同细胞器表达的同类蛋白的同源性程度很高,其同源程度高于同一物种不同细胞器表达的同类热激蛋白。⑦热激并不是唯一诱导热激蛋白表达的因子,其他胁迫如乙醇、重金属、氨基酸类似物、葡萄糖缺乏、脱落酸、钙离子载体等都会影响到不同机体的某些或是全部热激蛋白的合成;冷、干旱或盐渍也可诱导热激蛋白的产生。因此,热激蛋白在广义上被称为应激蛋白(stress protein)。

#### 4 热激蛋白的功能

4.1 分子伴侣作用 分子伴侣是指与新生肽链的折叠、寡聚蛋白质的组装和蛋白质的跨膜运输有关的一类特殊蛋白质分子。HSP60最早被称为分子伴侣,目前已经证明 HSP90、HSP70和  $\alpha$ HSP都具有分子伴侣作用。如 HSP70为正常的细胞功能所必需,是一类高度保守的由 10~15个基因编码的多基因家族,它是主要的分子伴侣。所有 HSP70都与 ATP结合,具有微弱的 ATP酶活性,有关研究推测 HSP70在依赖 ATP的蛋白质折叠和装配中起作用。定位于亚细胞器(如内质网、线粒体等)的蛋白质,在细胞质中合成后需要改变构象,变成非折叠状(或者说是还未折叠的新生蛋白质分子),然后在 HSP70的“陪伴”下才能穿过亚细胞膜,所以, HSP70起着“伸展酶”(enfoldase)的作用,使新生蛋白质分子保持无活性状态,护送它们到达适当的位置。热激时 HSP70与热变性蛋白结合,当热激消失后,通过水解 ATP促使蛋白质的折叠和组装,从而恢复活性。在热激时或消失后,  $\alpha$ HSP在细胞质和细胞器之间穿梭,起到保护细胞不受高温伤害、修补被损伤蛋白质的分子伴侣作用。

4.2 保护胞内蛋白质免受应激损伤 在应激情况下,热激蛋白与其他蛋白质结合,或增强蛋白质的活性,或使蛋白质失活,调节细胞内环境以适应外界胁迫。HSP70是应激因素所诱导出的作用最为显著的蛋白质之一。多数应激使蛋白质的结构受到损伤, HSP70可结合这些损伤的蛋白质,预防它们发生聚集。HSP70不仅可以预防胞浆内蛋白质发生聚集,而且还可以迁徙到核仁中,与部分组装的核糖体建立联系,从而保护细胞核蛋白质。热激蛋白用一种部分折迭构象把损伤蛋白质稳定住,从而为这些损伤蛋白质的重新折迭或降解提供机会。

4.3 提高生物体耐热性 随着全球气温的持续升高,高温胁迫对植物生长的影响也越来越大,热激蛋白与细胞耐热潜力的发挥有关。热激条件下,大部分植物正常蛋白合成受到抑制,热激蛋白的合成开始出现。高温下植物产生的热激蛋白可保护机体蛋白质免遭损

伤或修复已受损伤的蛋白质,从而对植物起到保护作用,热激蛋白的诱导形成能使植物提高耐热性。热锻炼过程中有大量热激蛋白的表达,大量的热激蛋白富集在膜组分上,具有阻止膜蛋白的变性、防止生物膜热破碎的功能。在植物和其他生物体内,  $\alpha$ HSP被认为具有保护细胞免受热激引起的伤害的作用。有人在拟南芥中转入有活性的热激转录因子,可诱导至少一种胞质  $\alpha$ HSP的持续表达,结果拟南芥的耐热性极大提高。果蝇或哺乳动物的  $\alpha$ HSP的过量表达可以使啮齿动物的培养细胞获得耐热性。近年来,通过转基因手段把一些热激蛋白的相关基因导入植物细胞内,结果提高了植物的耐热性。

4.4 提高生物体耐冷性 热激蛋白的主要功能是提高植物的耐热性,但越来越多的研究证实热激蛋白与植物的耐冷性的提高有着明显相关,但耐冷性的提高大部分需高温诱导才能实现。虽然热激反应和冷驯化涉及不同的适应性反应,诱导产生自己独特的逆境蛋白,但不同逆境可以诱导产生相同的蛋白。随着研究的深入,低温诱导热激蛋白的现象进一步得到了证实,热激蛋白和植物的耐冷性直接相关。低温引起的生理变化会促进蛋白质变性,推测热激蛋白可能具有稳定功能,帮助冷胁迫造成的变性蛋白质进行重新折叠,以恢复其功能。一种逆境可以诱导植物对另一种逆境的抗性,近年来用热处理诱导植物抗冷性的现象日益受到人们重视,这在生产上,特别是在提高采后贮藏果蔬的抗冷性上,具有重要的应用价值。

4.5 生理调节作用 随着人们对热激蛋白生物学功能的深入研究,现已发现,有些热激蛋白具有重要的调节作用。如 HSP90可作用于激素受体,形成复合物。当 HSP90解离时,伴随有 DNA结合受体的激活作用,所以认为 HSP90具有保持受体呈无活性状态的功能,直到受体再受到适当信号刺激时再活化。HSP70不仅可结合 ATP而且有 ATPase功能,在参与细胞内加工的过程中,如“陪伴”蛋白质跨膜运输时,都表现出 ATPase活性。最近发现, HSP70还具有钙调蛋白结合位点,这在机体适应逆境的过程中具有重要的调节作用。

#### 5 热激蛋白基因的表达调控

热激蛋白 mRNA的快速积累主要由热激蛋白基因转录水平提高所致。已经发现在热激蛋白基因转录中起调控作用的 DNA序列,称之为热激元件(heat shock element, HSE)。热激元件首先在果蝇上发现,为一种顺式元件,位于热激蛋白基因 5'端的启动子区域,经热激而活化的热激因子(heat shock factor, HSF)可识别存在于热激蛋白基因上游启动子区域的热激元件而诱导热激蛋白的转录。常温下,热激因子以单体形式与

# 曼地亚红豆杉的国内研究现状

芦站根 周文杰 (河北省衡水学院生命科学系 053000)

**摘要** 本文从繁殖方式、生理特性及紫杉醇的提取、紫杉醇结构及分子生物学研究四个方面综述了我国近年来对曼地亚红豆杉的研究现状,为其进一步研究和规模种植提供参考资料。

**关键词** 曼地亚红豆杉 紫杉醇

曼地亚红豆杉 (*Taxus media*) 是东北红豆杉 (*Taxus cuspidata*) 与欧洲红豆杉 (*Taxus baccata*) 的天然杂交品种,不仅树皮含有紫杉醇,而且枝叶中紫杉醇含量高达 0.017%~0.051%,高于国内其他品种。栽培 4~5 年后的植株即可采枝叶提取紫杉醇,因而极具开发价值。曼地亚红豆杉在美国和加拿大生长已有 80 年的历史,虽然我国刚引种不久,但近几年来已对曼地亚红豆杉有了较多的研究报道,本文从繁殖技术、生理特性、紫杉醇的提取等几方面总结了国内近年来对曼地亚红豆杉的研究现状。

## 1 繁殖方式

与其他红豆杉植物一样,曼地亚红豆杉种子的胚有生理后熟现象,种子中有抑制萌发的物质存在,因而具深休眠性,自然条件下需经两冬一夏才能萌发,生产上须经催芽处理,故目前曼地亚红豆杉多采用组织培养和扦插繁殖。

**1.1 组织培养** 在植物组织细胞培养过程中,利用愈伤组织的诱导性和可继代性进行繁殖。愈伤组织的外植体包括根、茎、叶、树皮、形成层、种子胚、假种皮、幼苗胚轴等,但容易出现褐化现象,这是组织培养时首先要解决的问题。

胡凯<sup>[1]</sup>等人对曼地亚红豆杉茎段和叶片的愈伤组织诱导条件和继代培养条件进行了探讨。具有较强分生能力的新生茎段和叶片能够得到很高的诱导率,与萘乙酸 (NAA) 相比, 2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-D) 在

诱导中作用显著。在继代培养中, 2,4-D 比 NAA 对愈伤组织生长的促进作用显著, 6-苄基腺嘌呤 (6-BA) 对愈伤组织生长的促进作用极显著。在第 20 天就开始转移继代和提高愈伤组织与培养基接触面的氧气供给,能够较好控制褐化现象的发生。在含有 5 mg/L 2,4-D、0.5 mg/L 6-BA 及 1 g/L 活性炭 (AC) 的 B<sub>3</sub> 培养基上,愈伤组织细胞增殖倍数最大达到 4.7,褐化也能得到部分控制。但目前这种方法提取的紫杉醇含量仍很低。

**1.2 扦插繁殖** 这是目前解决紫杉醇资源短缺的最经济、最迅速的切实可行的途径之一。陈嫣嫣等人进行了吲哚丁酸 (IBA) 和生根剂 (ABT) 对曼地亚红豆杉插穗生根影响的研究<sup>[2]</sup> (ABT 为一种新型广谱高效绿色植物生长调节剂,它突破了国内外单纯从外界提供植物生长所需外源激素的传统方式,通过强化、调控植物内源激素的含量及重要酶的活性,促进生物大分子的合成,诱导植物不定根或不定芽的形态建成),结果发现用 500 mg/L IBA 处理 2 年生枝条的生根效果好于 1 年生枝条;而用 500 mg/L ABT 处理 1 年生枝条的生根效果却好于 2 年生枝条。研究显示,用这两种物质处理的插穗不仅生根率高而且根系发达,可培育出优质壮苗,这对曼地亚红豆杉大规模快繁、缩短生产周期、降低成本有重要的意义。

## 2 生理特性

近年来我国分别从影响植物生长的重要环境因子

阻遏蛋白结合,而不能结合到热激元件上。热刺激下,热激因子与阻遏蛋白分离,在热激元件附近形成三聚体,与热激元件特异结合,启动基因转录。

综上所述,目前关于热激蛋白与生物的抗性研究和认识还处于初步阶段。生物体内热激蛋白的形成是一个复杂的过程,温度的改变是形成热激蛋白的主要因素,而其他相关逆境因素的胁迫也不容忽视。热激蛋白一旦在体内形成,生物体就会尽快地适应外界环境,表现出很强的抗逆性。现有的研究大多数只限于热激蛋白适应逆境现象的发现,对其内在的发生机制缺乏较为深入、系统的研究,对其生物学特性及作用仍缺乏清晰的了解。因此,全面深入地认识热激蛋白的

遗传机理,准确掌握热激蛋白在生物体内的理化性质及功能,将有助于了解生物对逆境的适应机制,有利于抗逆、抗病品种的培育。

## 主要参考文献

- [1] 耶兴元, 马锋旺. 2004 植物热激蛋白研究进展. 西北植物学报, 13(2): 109~114
- [2] Sabehat A, Weiss D. 1998. Expression of heat shock protein at low temperature. Plant Physiology, 117: 651~658
- [3] 邓家术, 段彬江, 刘中来. 2003. 植物热激蛋白的研究进展及其应用. 生命的化学, 23(3): 226~228
- [4] 吴莹, 徐香玲. 2005 植物热激转录因子的研究进展. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 21(3): 73~78