

利用蛋白质组学技术揭示的植物高温胁迫响应机制*

刘军铭¹ 赵琪¹ 尹贻鹏¹ 徐晨曦² 王全华² 戴绍军^{1**}

(¹东北林业大学盐碱地生物资源环境研究中心/东北油田盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室, 哈尔滨 150040; ²上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要 高温是限制植物生长和产量的主要非生物胁迫因子. 近年来, 蛋白质组学研究为我们从系统生物学水平深入认识植物高温胁迫应答的复杂的分子机制提供了重要信息. 目前, 已经分析了模式植物拟南芥、主要粮食作物(大豆、水稻和小麦)、耐热植物(匍匐剪股颖、马齿苋、假虎刺), 以及野生毛葡萄、胡杨、苜蓿、半夏等应答高温胁迫过程中的蛋白质组变化特征. 这些研究共鉴定到 838 种响应高温胁迫的蛋白质, 其中 534 种蛋白质表达受到高温诱导, 304 种蛋白质表达受到抑制. 本文整合分析了上述植物在应对不同程度高温胁迫(30~45 °C 处理 0~10 d)时蛋白质表达模式的变化特征, 为解释高温胁迫应答网络体系中重要的信号与代谢通路(如: 信号转导、胁迫防御、糖类与能量代谢、光合作用、转录、蛋白质合成与命运、膜与转运等)的变化提供了证据和线索, 为深入认识植物应答高温胁迫的分子调控机制奠定了坚实的基础.

关键词 植物; 高温胁迫; 分子机制; 蛋白质组学

文章编号 1001-9332(2015)08-2561-10 **中图分类号** Q94 **文献标识码** A

Heat-responsive mechanisms in plants revealed by proteomic analysis: A review. LIU Jun-ming¹, ZHAO Qi¹, YIN Ze-peng¹, XU Chen-xi², WANG Quan-hua², DAI Shao-jun¹ (¹*Alkali Soil Natural Environmental Science Center, Northeast Forestry University/Ministry of Education Key Laboratory of Saline-alkali Vegetation Ecology Restoration in Oil Field, Harbin 150040, China*; ²*College of Life and Environmental Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China*). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2015, **26**(8): 2561–2570.

Abstract: Heat stress is a major abiotic stress that limits plant growth and productivity. In recent years, proteomic investigations provide more information for understanding the sophisticated heat-responsive molecular mechanism in plants at systematic biological level. The heat-responsive proteomic patterns in several plants, *i. e.*, model plants (*Arabidopsis thaliana*), staple food crops (soybean, rice and wheat), heat-tolerant plants (*Agrostis stolonifera*, *Portulaca oleracea*, and *Carissa spinarum*), grapevine, *Populus euphratica*, *Medicago sativa*, and *Pinellia ternate*, were reported. A total of 838 heat-responsive proteins have been identified in these studies. Among them, 534 proteins were induced and the expression of 304 proteins was reduced in plants under heat stress. In this paper, the diverse protein patterns in plants under various heat stress conditions (30–45 °C for 0–10 d) were analyzed integratively. This provided new evidences and clues for further interpreting the signaling and metabolic pathways, *e. g.*, signaling, stress and defense, carbohydrate and energy metabolism, photosynthesis, transcription, protein synthesis and fate, membrane and transport, in heat-responsive networks, and laid a foundation for a holistic understanding of the molecular regulatory mechanism in plants in response to heat stress.

Key words: plant; heat stress; molecular mechanism; proteomics.

* 国家自然科学基金项目(31270310)、中央高校基本科研业务费专项资金项目(2572014EA04)和上海市科委地方院校能力建设项目(14390502700)资助.

** 通讯作者. E-mail: daishaojun@hotmail.com

2014-11-11 收稿, 2015-04-22 接受.

高温胁迫严重影响植物生长发育和繁殖,导致农作物产量降低^[1-3].深入研究植物应答高温胁迫的分子机制对于提高作物抗性和培育耐高温新品种具有重要意义^[4-5].高温胁迫影响植物体内 RNA 与蛋白质结构,破坏细胞膜完整性,干扰细胞骨架动态重塑,改变细胞内酶促反应速率,从而导致植物体内代谢紊乱^[6-8].植物高温应答转录组学分析表明,植物体内约有 5% 的基因受高温胁迫诱导上调表达两倍以上,如在 40 ℃ 处理 24 h 条件下,小麦中转录相关的成髓细胞血症 (myeloblastosis, MYB) 基因家族、WRKY 基因家族、钙离子信号通路中的钙结合蛋白 (calcium binding protein, CBP) 基因和钙依赖蛋白激酶 (calcium-dependent protein kinase, CDPK) 基因,以及活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 清除途径中的交替氧化酶 (alternative oxidase, AOX) 基因和抗坏血酸过氧化物酶 3 (ascorbate peroxidase 3, APX3) 基因等都显著上调表达.这些转录组学研究揭示的基因表达模式变化初步构建了植物高温胁迫应答的分子网络框架^[9-12].但是,由于在蛋白质翻译过程中存在 mRNA 可变剪切与蛋白质翻译后修饰等过程,细胞中 mRNA 的表达水平并不能完全代表蛋白质表达水平,因此,研究蛋白质表达的变化对于揭示植物高温胁迫应答分子机制非常必要^[13-14].

近年来,植物高温应答蛋白质组学研究为我们从系统生物学水平深入认识植物对高温的网络协同

应答机制提供了重要信息.目前,已经得到了模式植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)^[15]、粮食作物[如:大豆 (*Glycine max*)^[16-17]、水稻 (*Oryza sativa*)^[18-19]、小麦 (*Triticum aestivum*)^[20-23]]、耐热植物[如:匍匐剪股颖 (*Agrostis stolonifera*)^[24]、马齿苋 (*Portulaca oleracea*)^[25]、假虎刺 (*Carissa spinarum*)^[26]],以及野生毛葡萄 (*Vitis quinquangularis*)^[27]、胡杨 (*Populus euphratica*)^[28]、苜蓿 (*Medicago sativa*)^[29]、半夏 (*Pinellia ternata*)^[30] 等物种应答高温胁迫的蛋白质表达谱,共鉴定到 838 种高温胁迫响应蛋白质,其中 534 种上调表达,304 种下调表达 (表 1).由于这些研究结果来自于不同的实验室,对蛋白质命名和功能分类的标准不尽相同,因此,本文整合分析了高温胁迫 (30~45 ℃ 处理 0~10 d) 应答蛋白质的表达特征,主要包括:基于数据库搜索获得的功能结构域特征对蛋白质名称进行了注释和修订,根据统一的功能分类标准对蛋白质重新进行了功能分类,进而整理并绘制了植物高温胁迫应答蛋白质参与的信号与代谢途径图谱 (图 1).这些分析表明,植物主要通过调节参与信号转导、胁迫防御、光合作用、糖类与能量代谢、转录、蛋白质合成与周转、膜泡运输,以及细胞周期等重要通路中的蛋白质表达模式来应对高温胁迫,这为深入研究植物应答高温胁迫的网络调控分子机制提供了重要信息.

表 1 植物高温胁迫应答蛋白质组学研究的对象与内容
Table 1 Objects and contents in plant heat-responsive proteomics studies

物种 Species	组织/器官 Tissue/organ	处理条件 ^{a)} Treatment condition	鉴定 结果 ^{b)} IDs	高温应答 蛋白质 ^{c)} Protein	文献 Reference
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	叶片	40 ℃ ; 6 h	37	33 (12/21)	[15]
栽培大豆 <i>Glycine max</i>	茎、根	40 ℃ ; 6、12、24 h	150	150 (122/28)	[16]
	种子	昼 40 ℃ /夜 30 ℃ ; 24、96、168 h	42	42 (22/20)	[17]
水稻 <i>Oryza sativa</i>	叶片	42 ℃ ; 12、24 h	73	56 (47/9)	[18]
	叶片	35、40、45 ℃ ; 48 h	63	52 (28/24)	[19]
小麦 <i>Triticum aestivum</i>	胚乳	昼 34 ℃ /夜 10 ℃ ; 313、488 和 763 ℃ · d	37	23 (22/1)	[20]
	非醇溶蛋白	昼 34 ℃ /夜 10 ℃ ; 313、488 和 763 ℃ · d	42	24 (16/8)	[21]
	种子	昼 37 ℃ /夜 17 ℃ ; 5 d	47	47 (37/10)	[22]
	小穗	昼 32 ℃ /夜 24 ℃ ; 10 d	57	57 (36/21)	[23]
匍匐剪股颖 <i>Agrostis stolonifera</i>	根	20 ℃、30 ℃、40 ℃ ; 2、10 d	70	67 (23/44)	[24]
马齿苋 <i>Portulaca oleracea</i>	叶片	35 ℃ ; 6、12、24 h	154	51 (36/15)	[25]
假虎刺 <i>Carissa spinarum</i>	叶片	昼 42 ℃ /夜 35 ℃ ; 48、120 h	49	26 (13/13)	[26]
野生毛葡萄 <i>Vitis quinquangularis</i>	叶片	43 ℃ ; 6 h	113	69 (22/47)	[27]
胡杨 <i>Populus euphratica</i>	叶片	昼 42 ℃ /夜 37 ℃ ; 6、30、54 h	51	36 (15/21)	[28]
苜蓿 <i>Medicago sativa</i>	种子	40 ℃ ; 24、48、72 h	96	81 (66/15)	[29]
半夏 <i>Pinellia ternata</i>	叶片	38 ℃ ; 24 h	27	24 (17/7)	[30]

a) 处理条件包括高温处理的温度和时间,其中℃d 表示日均积温 Treatment conditions included heat treatment temperature and time, and ℃ · d represented cumulative average of daily temperature; b) 鉴定到的蛋白质斑点数量 The number of identified protein identities; c) 鉴定到的非冗余蛋白质数量 (上调表达蛋白质数量/下调表达蛋白质数量) The number of non-redundant protein identities (increased protein number/decreased protein number).

1 高温诱导 G 蛋白介导的钙离子信号通路和蛋白质可逆磷酸化

高温胁迫使细胞膜上 Ca^{2+} 通道活性增强, 促使胞外 Ca^{2+} 转运到胞内, 导致胞内 Ca^{2+} 浓度升高^[31], 同时也激活了 G 蛋白/小 G 蛋白介导的 Ca^{2+} 信号通路^[32]. 蛋白质组学研究发现, Ca^{2+} 信号通路相关的 G 蛋白和小 G 蛋白在高温胁迫下表达发生变化(图 1A). 35 °C 处理 6、12 和 24 h 后, 耐热植物马齿苋叶片中的 G 蛋白(gi297612820)表达丰度显著上调^[25]; 而 40 °C 高温胁迫 2 d 导致匍匐剪股颖根中的 G 蛋白(gi1749825)下调表达^[24](图 1A). 这表明, 35 °C 胁迫激活 G 蛋白介导的信号通路, 而 40 °C 长时间胁迫会抑制 G 蛋白介导的相关信号通路. 在 34~42 °C 胁迫下, 匍匐剪股颖根和小麦非醇溶蛋白组分中的小 G 蛋白表达上调^[21,24](图 1A). 与之相似, 转录组学研究发现高温胁迫(38~40 °C 处理 72 h)下, 西瓜(*Citrullus lanatus*)根、茎和叶片中的小 G 蛋白 Ran 结合蛋白(CmRanBP, gi194462392)编码基因显著上调^[33]. CmRanBP 作为分子伴侣能与 Ran 结合并调节其活性. 这两者上调表达暗示着 G 蛋白介导的信号通路受高温胁迫诱导. 此外, 蛋白质组学研究也发现, 参与 Ca^{2+} 信号通路的磷脂酶 C 也受到高温胁迫的影响, 34 °C 导致小麦胚乳中磷脂酶 C 表达显著上调^[20](图 1A). 豌豆叶片细胞膜定位的磷脂酶 C 可以与脱落酸结合参与高温胁迫应答, 其活性在 38 °C 胁迫 40 min 时达到最大值^[34]. 磷脂酶 C 表达与活性的提高有助于传递高温胁迫信号, 从而调控相关基因的表达.

蛋白质可逆磷酸化在传递高温胁迫信号的过程中具有重要作用. 蛋白质组学研究发现, 参与调控蛋白质可逆磷酸化过程的 CDPK、核苷二磷酸激酶(nucleoside diphosphate kinase, NDPK)和 14-3-3 蛋白都受到高温胁迫的影响(图 1A). 其中, 大豆种子中的 CDPK 在 30~40 °C 胁迫 24 和 96 h 时表达显著上调^[17](图 1A). CDPK 作为分子开关, 能够激活多种有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK), 被激活的 MAPK 可以磷酸化多种蛋白质的丝氨酸/苏氨酸残基, 从而激活这些蛋白质来调控高温胁迫应答基因的表达^[35]. 与之相似, 在 37~42 °C 胁迫 12~120 h 后, 小麦种子、水稻和大豆叶片中的 NDPK 表达均显著上调^[16,18,22](图 1A). 而在热敏感型匍匐剪股颖根中, 40 °C 胁迫 10 d 导致 NDPK 表达丰度下调^[24](图 1A). NDPK 作为一种重

要的蛋白激酶, 不仅可以利用 ATP 来维持细胞内 CTP、GTP 与 UTP 的正常水平, 还可以通过调节高温诱导蛋白(86 kD 蛋白)的表达来应答高温胁迫^[36]. 此外, 32~37 °C 处理 5~10 d 导致小麦小穗和种子中的 14-3-3 蛋白(gi40781605, gi22607)表达下调^[22-23], 而 43 °C 处理 6 h 导致野生毛葡萄叶片中的 14-3-3 蛋白(gi226295432, gi147805242)表达显著上调^[27](图 1A). 14-3-3 蛋白可以调节代谢相关蛋白质(如: 谷胱甘肽还原酶、乙烯合成酶、细胞色素 P450 蛋白等)与信号通路中的蛋白质(如: 蛋白激酶、磷酸酶、磷脂酶等)的磷酸化/去磷酸化状态, 从而通过调节这些蛋白质参与的信号转导、转录激活和胁迫防御等过程来参与植物逆境应答^[37]. 由此可见, 野生毛葡萄叶片中 14-3-3 蛋白受高温诱导将有助于调控下游目标蛋白质的功能, 应对高温胁迫.

2 高温激活植物 ROS 清除等防御机制

植物体内活性氧自由基(ROS)包括超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)、单线态氧($^1\text{O}_2$)和羟自由基($\cdot\text{OH}$). 植物体内 ROS 的产生与清除通常处于动态平衡状态, 而高温胁迫会导致植物体内积累过量的 ROS^[38-39]. ROS 过量积累会对植物体内的蛋白质、DNA 和脂类等物质造成氧化损伤^[40-41]. 为了在高温胁迫下维持体内 ROS 稳态, 植物启动了多种抗氧化途径来清除过量的 ROS(图 1B).

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)通过催化 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的歧化反应而形成植物体内抵御 ROS 的第一道防线^[42]. 蛋白质组学研究发现, 在 35~43 °C 处理 6 h~10 d 时, 马齿苋、大豆和野生毛葡萄叶片中的 SOD, 以及匍匐剪股颖根中的 [Mn] SOD 表达上调^[16,24-25,27]; 而 42 °C 处理 24 h 导致水稻叶片中的 [Cu-Zn] SOD 表达下调^[18](图 1B). 这表明, 不同 SOD 家族成员在应答高温胁迫过程中的作用存在差异.

蛋白质组学研究发现, 参与清除 H_2O_2 的过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物氧还蛋白/硫氧还蛋白(peroxiredoxin/thioredoxin, Prx/Trx)、抗坏血酸-谷胱甘肽(ascorbic acid-glutathione, AsA-GSH)循环, 以及谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, GST)途径在不同植物应答高温胁迫过程中都有所增强(图 1B). 植物过氧化物酶体中的 CAT 能够直接将 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 . 在 34~40 °C 胁迫下, 小麦胚乳和大豆种子中的 CAT 表达都上调^[17,20](图 1B). 此外, Prx 可以利用巯基催化机制还原 H_2O_2 ,

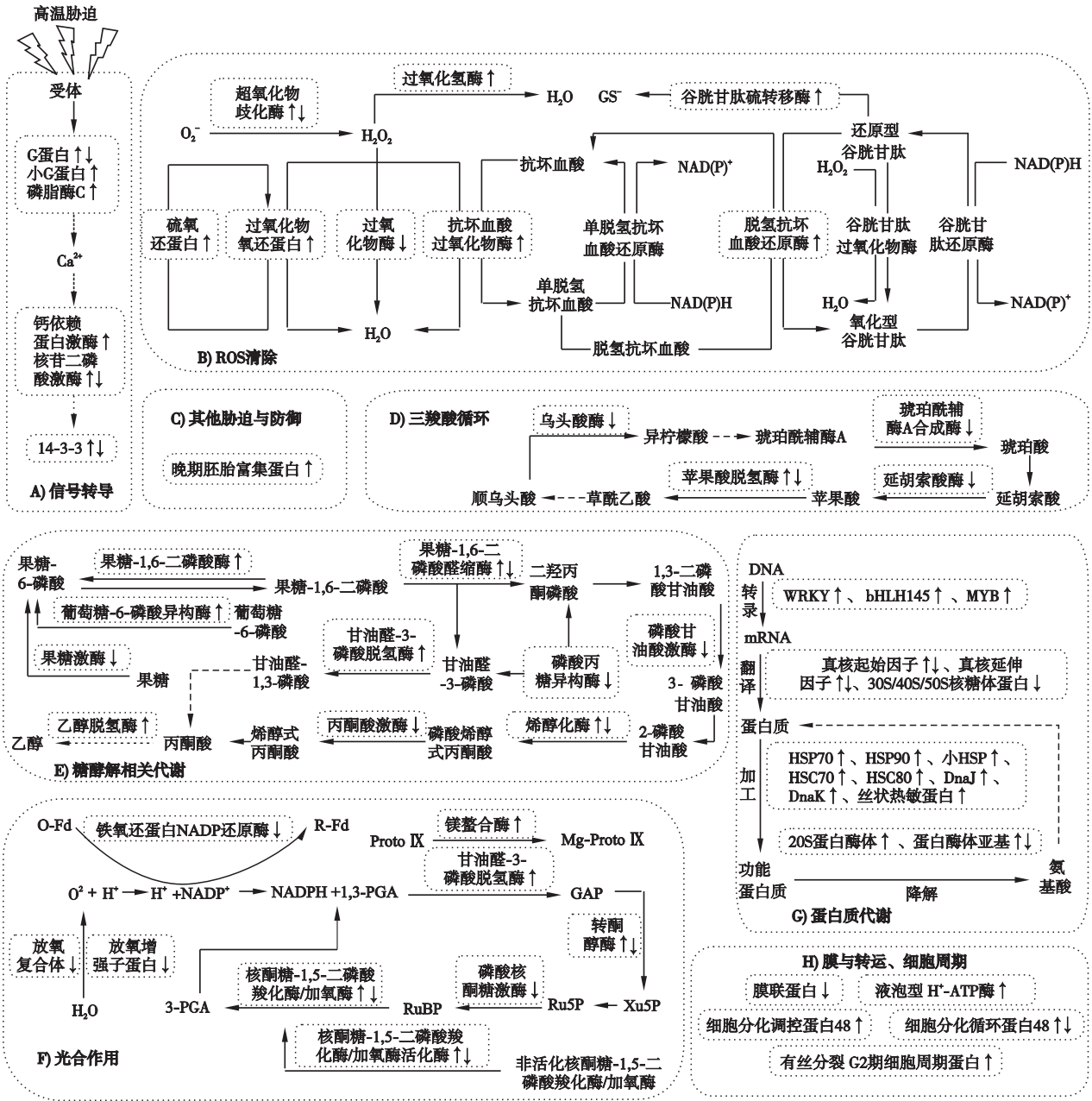


图 1 植物高温胁迫应答蛋白质参与的代谢途径

Fig.1 Schematic presentation of the heat stress-responsive networks in plants revealed by proteomic studies.

向上箭头和向下箭头分别表示蛋白质表达受高温诱导和抑制 Up and down arrows indicated induced and reduced protein expression abundances, respectively.

而 Trx 则有助于还原态 Prx 的再生^[43]. 32~37 °C 处理 5~10 d 后, 小麦小穗和种子中的 Prx 表达上调^[22~23]; 与之相似, 在 42 °C 处理 12~54 h 条件下, 水稻、大豆和胡杨叶片中的 Trx 表达也上调^[16, 18, 28] (图 1B). AsA-GSH 循环在植物应答高温胁迫过程中也起到清除 H₂O₂ 的作用. 其中, 抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)以 AsA 作为底物催化 H₂O₂ 的还原反应. 同时, 脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, DHAR)以 GSH 为底物, 催

化脱氢抗坏血酸还原为 AsA, 从而保证由 APX 催化的 H₂O₂ 还原反应能够不断进行^[44~46]. 在 35~45 °C 处理 6~72 h 条件下, 大豆和马齿苋叶片、苜蓿种子中的 APX, 以及水稻叶片中的 DHAR 表达都上调^[16, 18~19, 25, 29] (图 1B). 此外, GST 通过催化 H₂O₂ 的还原反应, 在缓解 ROS 对植物造成的氧化损伤过程中发挥重要作用^[47]. 在 35~42 °C 胁迫 6 h~10 d 条件下, 马齿苋、水稻、拟南芥和大豆叶片中的 GST 表达显著上调^[15~16, 18, 25] (图 1B). 这些 H₂O₂ 清除途径

的增强对于植物在高温胁迫下重建体内稳态并维持正常的代谢活动具有重要意义。

过氧化物酶(peroxidase, POD)途径也是植物清除 H_2O_2 的主要途径之一。POD 是由多基因家族编码的一种含血红素的糖蛋白,它能够利用多种电子供体(如酚类化合物、木质素前体、生长素,以及次级代谢产物等)来催化 H_2O_2 的还原反应(图 1B)。蛋白质组学研究发现,高温胁迫(30~42 °C 处理 24 h~10 d)导致水稻叶片、大豆和匍匐剪股颖根中的 POD 表达下调^[16,18,24](图 1B)。然而,此前的研究表明,在 40 °C 处理 2、4 和 6 h 条件下,桑树(*Morus alba*)叶片中的 POD 活性升高^[48]。在 30、35、40 和 45 °C 处理 48 h 条件下,草莓(*Fragaria xananassa*)叶片中的 POD 活性也呈上升趋势^[49]。这表明,长时间高温胁迫可能会抑制 POD 表达,短时间胁迫下则通过增强 POD 活性有效清除过量的 ROS。

此外,晚期胚胎富集蛋白(late embryogenesis-abundant protein, LEA)作为防御相关蛋白质在植物应答高温胁迫过程中发挥重要作用^[20]。研究表明,43 °C 胁迫会导致柠檬酸合成酶发生高温诱导的蛋白质聚集,LEA 可以作为分子伴侣与海藻糖协同作用,防止柠檬酸合成酶异常聚集,从而保证高温胁迫下细胞内的相关代谢活动能够正常进行^[50]。蛋白质组学研究发现,34~37 °C 胁迫导致小麦胚乳和种子中的 LEA 表达上调^[20,22],这为 LEA 在植物应答高温胁迫过程中的重要作用提供了新的证据(图 1C)。

3 高温诱导植物糖类与能量代谢过程的动态调节

糖类与能量代谢过程(三羧酸循环、糖酵解途径等)对于植物生长发育和逆境应答具有重要作用^[51]。在高温(32~45 °C 处理 24 h~10 d)胁迫下,参与三羧酸循环的酶,如匍匐剪股颖根中的乌头酸酶、延胡索酸酶和苹果酸脱氢酶^[24],大豆根和小麦小穗中的琥珀酰辅酶 A 合成酶^[16,23],以及野生毛葡萄叶片^[27]中的苹果酸脱氢酶全都下调表达(图 1D)。相反,水稻叶片中的苹果酸脱氢酶表达上调^[19](图 1D)。此外,糖酵解相关酶的表达模式也受到高温胁迫的影响。在 32~42 °C 处理 6 h~10 d 下,小麦胚乳中的葡萄糖-6-磷酸异构酶,大豆种子中的果糖-1,6-二磷酸酶,小麦种子、匍匐剪股颖根、大豆叶片和茎、水稻与拟南芥叶片中的甘油醛-3-磷酸脱氢酶,小麦小穗和种子中的烯醇化酶,苜蓿种子、大豆茎和根、马齿苋叶片中的乙醇脱氢酶表达丰度上调^[15-17,20,22-25,29](图 1E)。相反,在 30~42 °C 处理

6 h~10 d 条件下,大豆根中的果糖激酶,以及小麦种子、匍匐剪股颖根、大豆根和叶片、拟南芥叶片中的果糖-1,6-二磷酸醛缩酶(fructose-1,6-bisphosphate aldolase, FBA)表达下调,而苜蓿种子和野生毛葡萄叶片中的 FBA 蛋白在受高温胁迫(40~43 °C 处理 6~24 h)时上调表达^[15-16,22,24,27,29]。大豆、假虎刺和拟南芥叶片与小麦小穗中的磷酸丙糖异构酶,大豆叶片和小麦种子中的磷酸甘油酸激酶,苜蓿种子中的烯醇化酶以及假虎刺根中的丙酮酸激酶表达下调^[15-16,22-24,26,29](图 1E)。此外,在 32~42 °C 处理 6 h~10 d 条件下,其他参与糖类与能量代谢过程的酶,如小麦非醇溶蛋白组分中的醛糖还原酶、马齿苋叶片中的乙醇酸氧化酶,以及大豆茎中的 UDP 葡萄糖焦磷酸化酶表达上调^[16,21,25]。这些结果表明,高温胁迫下植物通过调节体内糖类与能量代谢途径来保持基础物质与能量的供应。

4 高温抑制光合作用

高温胁迫导致植物叶绿体类囊体膜结构改变,并影响光系统 II、光系统 I 和碳同化相关蛋白质/酶的表达/活性,从而降低植物的光合速率^[52-53]。蛋白质组学研究发现,在 35~45 °C 处理 12 h~5 d 条件下,水稻叶片中的放氧复合体(oxygen-evolving complex, OEC),拟南芥、假虎刺和大豆叶片中的放氧增强子蛋白(oxygen-evolving enhancer, OEE)表达下调^[15-16,19,26](图 1F)。OEC 位于类囊体膜基粒片层外侧,是光系统 II 的重要成员,能够裂解水并释放氧气。OEE 是 OEC 的组成成员,在 OEC 参与光能吸收过程中发挥重要作用。两者的下调表达表明高温胁迫抑制了植物对光能的吸收。然而,在高温(35 °C 处理 6、12 和 24 h)胁迫下,耐热植物马齿苋叶片中参与叶绿素合成的镁螯合酶表达上调^[25](图 1F),这对植物在高温下维持叶绿素含量从而最大限度地吸收光能具有重要意义。此外,42 °C 处理 12 h 导致大豆叶片中铁氧还蛋白 NADP 还原酶(ferredoxin NADP reductase, FNR)表达下调^[16](图 1F)。FNR 能够催化 NADPH 合成,在光合电子传递过程中发挥关键作用。高温导致的 FNR 下调表达会使光合电子传递过程减缓。

参与碳同化过程的多种酶的表达丰度也受到高温影响(图 1F)。核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, RuBisCO)具有羧化酶和加氧酶双重活性,它是光合作用中决定碳同化速率的关键酶,同时也参与

植物的光呼吸途径。RuBisCO 活化酶 (RuBisCO activase, RA) 可以催化 RuBisCO 从无活性状态转变为有活性状态。在 40 °C 处理 24~48 h 条件下, 高粱叶片中的 RuBisCO 和 RA 活性受到抑制^[54]。蛋白质组学研究也发现, 在 35~45 °C 处理 12~120 h 条件下, 拟南芥、水稻、野生毛葡萄、假虎刺和大豆叶片中的 RuBisCO 大亚基^[15-16, 19, 26-27]、胡杨和野生毛葡萄叶片中的 RA^[27-28] 都下调表达 (图 1F)。与之相反, 在 35~45 °C 处理 6~120 h 条件下, 耐热植物马齿苋叶片中的 RuBisCO 大亚基^[25]、拟南芥、水稻和假虎刺叶片中的 RA^[15, 19, 26] 表达上调 (图 1F)。在 34~45 °C 处理 6~168 h 时, 拟南芥和水稻叶片中的 RuBisCO 小亚基上调表达, 但大豆叶片和苜蓿种子中的 RuBisCO 小亚基同工型呈现多样的变化模式^[15-16, 18, 29]。这表明, 不同植物中的 RuBisCO 和 RA 对高温十分敏感, 并呈现多样化的表达模式, 这直接影响了碳同化速率。

此外, 其他参与光合作用碳同化过程的蛋白质, 如磷酸核酮糖激酶 (phosphoribulose kinase, PRK)、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)、羧酸酯酶 (carboxylesterase, CEX) 和转酮醇酶 (transketolase, TK) 也受到高温影响 (图 1F)。例如, 在 35~42 °C 处理 6~24 h 条件下, 水稻叶片中的 PRK^[18] 和马齿苋叶片中的 PEPC^[25] 下调表达; 然而, 耐热植物马齿苋叶片中的 CEX 在 35 °C 处理 6 和 12 h 时表达上调, 在处理 24 h 时表达下调^[25]; 在 42 °C 处理 6~54 h 条件下, 水稻叶片中的 TK (gi50933551) 上调表达, 但胡杨叶片中的 TK 同工型 (gi2501356, gi2501353) 下调表达^[18, 28] (图 1F)。这表明, 高温胁迫影响植物碳同化过程, 进而影响植物光合效率。

5 高温影响转录、翻译与翻译后调控

在转录水平上调控胁迫响应基因的表达是植物应答高温胁迫的重要策略之一, 转录因子在此过程中起到关键作用。研究表明, 过表达转录因子 *WRKY25* 的拟南芥植株比野生型植株具有更强的耐热性^[55]。蛋白质组学研究发现, 在 35 °C 处理 6、12 和 24 h 条件下, 耐热植物马齿苋叶片中的 *WRKY* 转录因子表达上调^[25] (图 1G)。此外, 在 35 °C 处理 6~24 h 条件下, 耐热植物马齿苋叶片中螺旋-环-螺旋 (basic helix-loop-helix 145, bHLH145) 转录因子和 MYB 转录因子的表达也都上调^[25] (图 1G)。已有报道表明, bHLH145 和 MYB 转录因子超家族在 ABA

诱导下参与干旱胁迫应答^[56], 但两者在植物高温胁迫应答过程中的功能还有待进一步研究。

蛋白质组学研究发现, 高温胁迫导致植物体内参与蛋白质合成的蛋白质表达改变。真核起始因子 (eukaryotic initiation factor, eIF) 是蛋白质翻译起始过程中的重要成员之一。在 34~42 °C 处理 48~120 h 条件下, 假虎刺叶片、小麦非醇溶蛋白组分和苜蓿种子中的 eIF 表达上调^[21, 26, 29]; 但 42 °C 处理 12 h 导致大豆根中的 eIF 表达下调^[16] (图 1G)。此外, 真核延伸因子 (eukaryotic elongation factor, eEF) 通过催化核糖体上氨基酸链的延伸来参与调控蛋白质的合成过程。研究表明, 拟南芥 eEF1B- α 可以与 eEF1B- β 协同作用参与应答高温胁迫^[57]。在六倍体小麦中过表达玉米 (*Zea mays*) 叶绿体 EF-TU 编码基因 *Zmef-tu1*, 可以有效抑制高温胁迫 (45 °C) 造成的叶绿体蛋白质聚集反应, 从而保护光合作用相关酶和类囊体膜结构^[58]。在 34~42 °C 处理 6~24 h 条件下, 拟南芥、水稻和马齿苋叶片, 以及小麦非醇溶蛋白组分中的 EF-TU 表达都上调^[15, 18, 21, 25]; 相反, 大豆种子、茎和叶片中的 EF-TU 在高温胁迫 (30~42 °C 处理 12~168 h) 下表达下调^[16-17] (图 1G)。这表明, 长时间高温胁迫影响 EF-TU 在蛋白质合成过程中的功能。另外, 核糖体蛋白也是参与蛋白质合成的重要成员。在 32~42 °C 处理 6~240 h 条件下, 水稻和野生毛葡萄叶片中的 30S 核糖体蛋白^[19, 27]、小麦小穗中的 40S 核糖体蛋白以及胡杨叶片中的 50S 核糖体蛋白表达都下调^[23, 28] (图 1G)。其中, 30S 核糖体蛋白和 50S 核糖体蛋白定位于叶绿体中, 这表明植物叶片细胞的细胞质和叶绿体中的蛋白质合成过程都受高温胁迫的抑制。

蛋白质正确折叠与加工对于其在植物高温胁迫应答过程中行使功能尤为重要。在高温胁迫下, 植物能够通过调节热激蛋白 (heat shock protein, HSP) 家族成员中的 HSP70、HSP90、小热激蛋白 (small heat shock protein, smHSP)、热激同源蛋白 70 (heat shock cognate protein 70, HSC70) 和 HSC80 等的表达水平, 保证蛋白质正确折叠, 并增强部分未折叠蛋白质的稳定性^[59]。在 35~42 °C 处理 12~168 h 条件下, 拟南芥、水稻和马齿苋叶片, 大豆根、茎和叶片, 苜蓿种子, 以及小麦胚乳和种子中的 HSP70^[15-16, 18, 20, 22, 25, 29] 上调表达, 马齿苋和胡杨叶片、大豆根和茎中的 HSP90^[16, 25, 28] 也上调表达 (图 1G)。HSP90 是具有 ATP 酶活性的分子伴侣, 能与转录调控和信号转导相关蛋白质相互作用。在高温胁迫下, HSP70 能够与

HSP90 共同作用,促进蛋白质正确折叠并维持蛋白质的稳定结构.此外,在 34~45 ℃ 处理 12~120 h 时,水稻、假虎刺、半夏和野生毛葡萄叶片,小麦胚乳,苜蓿种子,大豆根、茎和种子中的 smHSP 表达丰度上调^[16, 19-20, 26-27, 29-30] (图 1G).这有助于 smHSP 在高温胁迫下有效捕捉未折叠蛋白质,并使之处于有利于折叠的状态^[60-61].此外,在 34~45 ℃ 处理 12~240 h 条件下,水稻叶片、小麦小穗、大豆根和茎中的 HSC70,以及小麦胚乳中的 HSC80 表达上调^[16, 19-20] (图 1G).DnaJ 型分子伴侣(DnaJ-type molecular chaperone, DnaJ)和 Dnak 型分子伴侣(Dnak-type molecular chaperone Bip, DnaK)作为分子伴侣也参与植物对高温胁迫的应答过程.在 35 ℃ 处理 6~24 h 条件下,耐热植物马齿苋叶片中的 DnaJ^[25] 和水稻叶片中的 DnaK^[18] 表达上调(图 1G).另外,丝状热敏蛋白具有 ATP 酶活性,作为一种分子伴侣蛋白参与蛋白质的折叠过程^[62].35 ℃ 处理 12~24 h 时,耐热植物马齿苋叶片中的丝状热敏蛋白(gi187830110)表达丰度显著上调(图 1G),这有助于高温胁迫下蛋白质的正确折叠.

参与蛋白质降解过程的蛋白质也受到高温胁迫的影响.在 42 ℃ 处理 12~48 h 条件下,水稻叶片中的 20S 蛋白酶体,苜蓿种子、大豆叶片和根中的蛋白酶体亚基表达显著上调^[16, 18, 29];相反,在 40~43 ℃ 处理 6~240 h 条件下,大豆和匍匐剪股颖根以及生毛葡萄叶片中的 4 种蛋白酶体亚基表达下调^[16, 24, 27] (图 1G).这表明在高温胁迫下,植物蛋白质降解途径存在多样化的调节模式.

6 高温影响膜与转运蛋白质表达并改变细胞周期

高温胁迫导致植物体膜的流动性增强,同时影响膜与转运相关蛋白质的表达^[63].膜联蛋白是一类具有离子通道活性的钙依赖膜结合蛋白质,在植物细胞适应渗透胁迫过程中具有重要作用^[64].在 42 ℃ 胁迫 6~12 h 条件下,大豆根和拟南芥叶片中的膜联蛋白表达下调^[15-16] (图 1H).这表明膜联蛋白介导的转运过程受到了高温胁迫的抑制.此外,液泡型 H⁺-ATP 酶能够利用 ATP 水解产生的能量将 H⁺ 转运到膜内,形成跨膜 H⁺ 电化学势,为物质吸收和离子跨膜转运提供动能^[65].在 34 ℃ 胁迫下,小麦胚乳和非醇溶蛋白组分中的液泡型 H⁺-ATP 酶表达显著上调^[20-21] (图 1H),这有助于植物在高温下促进物质吸收与转运,从而维持细胞代谢活动所需的物质供给.

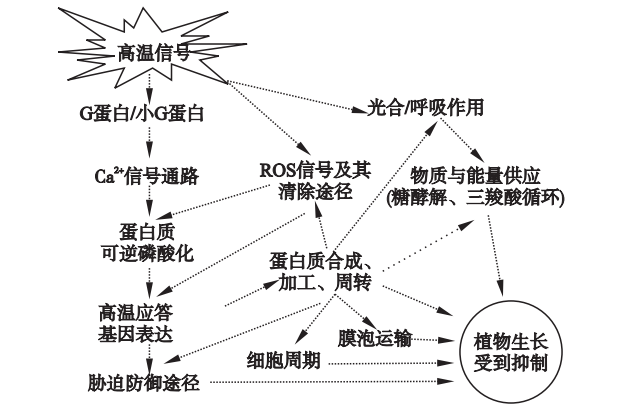


图 2 蛋白质组学研究揭示的植物高温胁迫应答机制
Fig.2 Heat stress-responsive mechanisms in plants revealed by proteomic studies.

高温胁迫导致细胞周期改变,进而影响细胞分裂和分化^[66].蛋白质组学研究发现,高温胁迫(32~40 ℃ 处理 96 h~10 d)导致小麦小穗中的细胞分化调控蛋白 48(cell division control protein 48)^[23] 和大豆种子中的有丝分裂 G2 期细胞周期蛋白(G2/mitotic-specific cyclin S13-6)^[17] 上调表达(图 1H).其中,有丝分裂 G2 期细胞周期蛋白可以调控有丝分裂向 G2 期过渡^[67].这两种细胞周期调控相关蛋白质的上调表达在植物应答高温胁迫时动态调整细胞周期过程中具有重要意义.此外,在 35 ℃ 胁迫 6 h 条件下,耐热植物马齿苋叶片中的细胞分化循环蛋白 48(cell division cycle protein 48)上调表达,但在胁迫 12 和 24 h 时下调表达^[25] (图 1H).这表明长时间高温胁迫会抑制细胞周期相关蛋白的表达.

7 结论与展望

探索植物逆境应答的网络调控机制已成为当前的研究热点之一^[68].随着全球气候变暖,持续高温天气的频繁出现对植物生长造成严重影响.因此,研究植物应答高温胁迫的分子调控机理具有重要意义.定量蛋白质组学研究结果揭示了植物高温胁迫应答的基本策略(图 2),主要包括:1)利用 G 蛋白和小 G 蛋白介导的 Ca²⁺ 信号通路与 CDPK、NDPK 和 14-3-3 蛋白共同调控目标蛋白质可逆磷酸化过程传递高温胁迫信号;2)提高抗氧化酶表达丰度(活性),从而启动多种抗氧化途径清除 ROS,并利用 LEA 抑制高温引发的蛋白质聚集反应;3)调整糖类与能量代谢相关酶的表达模式,从而动态调节植物体内的物质与能量水平;4)提高叶绿素合成相关酶的表达丰度,抵御高温对光合作用的抑制;5)调节转录因子、蛋白质合成与命运相关蛋白质的表达

模式,从而在转录、翻译和蛋白质周转等水平上调控高温应答蛋白质的功能;6)通过调节膜联蛋白、液泡型 H^+ -ATP 酶与细胞周期相关蛋白质的表达,促进细胞内物质吸收与转运.这些信息对于深入理解植物高温胁迫应答的分子调控网络机制具有重要意义.然而,大部分蛋白质组学研究主要分析了植物高温胁迫应答过程中的中高丰度表达蛋白质,缺乏对低丰度蛋白质(如转录因子、蛋白质激酶、膜与转运蛋白)等的研究.更重要的是,蛋白质磷酸化、糖基化等翻译后修饰、蛋白质相互作用、蛋白质氧化还原状态在植物应答高温胁迫过程中的作用机制还有待深入研究.

参考文献

- [1] Wheeler TR, Craufurd PQ, Ellis RH, *et al.* Temperature variability and the yield of annual crops. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2000, **82**: 159–167
- [2] Tubiello FN, Soussana JF, Howden SM. Crop and pasture response to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, **104**: 19686–19690
- [3] Lobell DB, Schlenker W, Costa-Roberts J. Climate trends and global crop production since 1980. *Science*, 2011, **333**: 616–620
- [4] Ahuja I, de Vos RC, Bones AM, *et al.* Plant molecular stress responses face climate change. *Trends in Plant Science*, 2010, **15**: 664–674
- [5] Mittler R, Blumwald E. Genetic engineering for modern agriculture: Challenges and perspectives. *Annual Reviews of Plant Biology*, 2010, **61**: 443–462
- [6] McClung CR, Davis SJ. Ambient thermometers in plants: From physiological outputs towards mechanisms of thermal sensing. *Current Biology*, 2010, **20**: 1086–1092
- [7] Ruelland E, Zachowski A. How plants sense temperature. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, **69**: 225–232
- [8] Suzuki N, Koussevitzky S, Mittler R, *et al.* ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant Cell & Environment*, 2012, **35**: 259–270
- [9] Rizhsky L, Liang H, Shuman J, *et al.* When defense pathways collide: The response of Arabidopsis to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiology*, 2004, **134**: 1683–1696
- [10] Larkindale J, Vierling E. Core genome responses involved in acclimation to high temperature. *Plant Physiology*, 2008, **146**: 748–761
- [11] Qin D, Wu H, Peng H, *et al.* Heat stress-responsive transcriptome analysis in heat susceptible and tolerant wheat (*Triticum aestivum* L.) by using wheat genome array. *BMC Genomics*, 2008, **22**: 432
- [12] Finka A, Mattoo RU, Goloubinoff P. Meta-analysis of heat- and chemically upregulated chaperone genes in plant and human cells. *Cell Stress and Chaperones*, 2011, **16**: 15–31
- [13] Chen SX, Harmon AC. Advances in plant proteomics. *Proteomics*, 2006, **6**: 5504–5516
- [14] Yu J-J (喻娟娟), Dai S-J (戴绍军). Research advances in plant proteomics. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学报), 2009, **44**(4): 410–425 (in Chinese)
- [15] Rocco M, Arena S, Renzone G, *et al.* Proteomic analysis of temperature stress-responsive proteins in *Arabidopsis thaliana* rosette leaves. *Molecular Biosystems*, 2013, **9**: 1257–1267
- [16] Ahsan N, Donnart T, Nouri MZ, *et al.* Tissue-specific defense and thermo-adaptive mechanisms of soybean seedlings under heat stress revealed by proteomic approach. *Journal of Proteome Research*, 2010, **9**: 4189–4204
- [17] Wang L, Ma H, Song L, *et al.* Comparative proteomics analysis reveals the mechanism of pre-harvest seed deterioration of soybean under high temperature and humidity stress. *Journal of Proteomics*, 2012, **75**: 2109–2127
- [18] Lee DG, Ahsan N, Lee SH, *et al.* A proteomic approach in analyzing heat-responsive proteins in rice leaves. *Proteomics*, 2007, **7**: 3369–3383
- [19] Han F, Chen H, Li XJ, *et al.* A comparative proteomic analysis of rice seedlings under various high-temperature stresses. *Biochimica et Biophysica Acta: Proteins and Proteomics*, 2009, **1794**: 1625–1634
- [20] Majoul T, Bancel E, Tribot E, *et al.* Proteomic analysis of the effect of heat stress on hexaploid wheat grain: Characterization of heat-responsive proteins from total endosperm. *Proteomics*, 2003, **3**: 175–183
- [21] Majoul T, Bancel E, Tribot E, *et al.* Proteomic analysis of the effect of heat stress on hexaploid wheat grain: Characterization of heat-responsive proteins from non-prolamins fraction. *Proteomics*, 2004, **4**: 505–513
- [22] Laino P, Shelton D, Finnie C, *et al.* Comparative proteome analysis of metabolic proteins from seeds of durum wheat (cv. Svevo) subjected to heat stress. *Proteomics*, 2010, **10**: 2359–2368
- [23] Yang F, Jørgensen AD, Li H, *et al.* Implications of high-temperature events and water deficits on protein profiles in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Vinjett) grain. *Proteomics*, 2011, **11**: 1684–1695
- [24] Xu C, Huang B. Root proteomic responses to heat stress in two *Agrostis* grass species contrasting in heat

- tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 2008, **59**: 4183–4194
- [25] Yang Y, Chen J, Liu Q, *et al.* Comparative proteomic analysis of the thermotolerant plant *Portulaca oleracea* acclimation to combined high temperature and humidity stress. *Journal of Proteome Research*, 2012, **11**: 3605–3623
- [26] Zhang M, Li G, Huang W, *et al.* Proteomic study of *Carissa spinarum* in response to combined heat and drought stress. *Proteomics*, 2010, **10**: 3117–3129
- [27] Liu GT, Ma L, Duan W, *et al.* Differential proteomic analysis of grapevine leaves by iTRAQ reveals responses to heat stress and subsequent recovery. *BMC Plant Biology*, 2014, **14**: 110
- [28] Ferreira S, Hjerno K, Larsen M, *et al.* Proteome profiling of *Populus euphratica* Oliv. upon heat stress. *Annals of Botany*, 2006, **98**: 361–377
- [29] Li W, Wei Z, Qiao Z, *et al.* Proteomics analysis of alfalfa response to heat stress. *PLoS One*, 2013, **8**: e82725
- [30] Zhu Y, Zhu G, Guo Q, *et al.* A comparative proteomic analysis of *Pinellia ternata* leaves exposed to heat stress. *International Journal of Molecular Science*, 2013, **14**: 20614–20634
- [31] Konigshofer H, Tromballa HW, Loppert HG. Early events in signalling high-temperature stress in tobacco BY2 cells involve alterations in membrane fluidity and enhanced hydrogen peroxide production. *Plant, Cell and Environment*, 2008, **31**: 1771–1780
- [32] Reddy ASN, Ali GS, Celesnik H, *et al.* Coping with stresses: Roles of calcium- and calcium/calmodulin-regulated gene expression. *The Plant Cell*, 2011, **23**: 2010–2032
- [33] Baloglu MC, Zakharov FN, Öktem HA, *et al.* Molecular cloning, characterization, and expression analysis of a gene encoding a Ran binding protein (RanBP) in *Cucumis melo* L. *Turkish Journal of Biology*, 2011, **35**: 387–397
- [34] Liu HT, Huang WD, Pan QH, *et al.* Contributions of PIP2-specific-phospholipase C and free salicylic acid to heat acclimation-induced thermotolerance in pea leaves. *Journal of Experimental Botany*, 2006, **163**: 405–416
- [35] Sangwan V, Orvar BL, Beyerly J, *et al.* Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP kinase pathways. *The Plant Journal*, 2002, **31**: 629–638
- [36] Galvis MLE, Marttila S, Håkansson G, *et al.* Heat stress response in pea involves interaction of mitochondrial nucleoside diphosphate kinase with a novel 86-kilodalton protein. *Plant Physiology*, 2001, **126**: 69–77
- [37] Roberts MR, Salinas J, Collinge DB. 14-3-3 proteins and the response to abiotic and biotic stress. *Plant Molecular Biology*, 2002, **1031**: 1031–1039
- [38] Potters G, Pasternak TP, Guisez Y, *et al.* Stress-induced morphogenic responses: Growing out of trouble? *Trends in Plant Science*, 2007, **12**: 98–105
- [39] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 2002, **7**: 405–410
- [40] Imlay JA. Pathways of oxidative damage. *Annual Reviews in Microbiology*, 2003, **57**: 395–418
- [41] Parida AK, Das AB. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, **60**: 324–349
- [42] Alscher RG, Erturk N, Heath LS. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 2002, **53**: 1331–1341
- [43] Horling F, Lamkemeyer P, König J, *et al.* Divergent light-, ascorbate-, and oxidative stress-dependent regulation of expression of the peroxiredoxin gene family in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 2003, **131**: 317–325
- [44] Noctor G, Gomez L, Vanacker H, *et al.* Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signalling. *Journal of Experimental Botany*, 2002, **53**: 1283–1304
- [45] Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, *et al.* Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*, 2002, **53**: 1305–1319
- [46] Foyer CH, Noctor G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: A re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell & Environment*, 2005, **28**: 1056–1071
- [47] Dixon DP, Laphorn A, Edwards R. Plant glutathione transferases. *Genome Biology*, 2002, **3**: 3004.1–3004.10
- [48] Chaitanya KV, Sundar D, Masilamani S, *et al.* Variation in heat stress-induced antioxidant enzyme activities among three mulberry cultivars. *Plant Growth Regulation*, 2002, **36**: 175–180
- [49] Gulen H, Eris A. Effect of heat stress on peroxidase activity and total protein content in strawberry plants. *Plant Science*, 2004, **166**: 739–744
- [50] Goyal K, Walton L, Tunnacliffe A. LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress. *Biochemical Journal*, 2005, **388**: 151–157
- [51] Ruan YL, Jin Y, Yang YJ, *et al.* Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: Roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant*, 2010, **3**: 942–955
- [52] Haldimann P, Feller U. Growth at moderately elevated temperature alters the physiological response of the pho-

- tosynthetic apparatus to heat stress in pea (*Pisum sativum* L.) leaves. *Plant, Cell & Environment*, 2005, **28**: 302–317
- [53] Sharkey TD. Effects of moderate heat stress on photosynthesis: Importance of thylakoid reactions, rubisco deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene. *Plant, Cell & Environment*, 2005, **28**: 269–277
- [54] Jagtap V, Bhargava S, Streb P, *et al.* Comparative effect of water, heat and light stresses on photosynthetic reactions in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Journal of Experimental Botany*, 1998, **49**: 1715–1721
- [55] Li S, Fu Q, Huang W, *et al.* Functional analysis of an Arabidopsis transcription factor WRKY25 in heat stress. *Plant Cell Reports*, 2009, **28**: 683–693
- [56] Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress responsive promoters. *Trends in Plant Science*, 2005, **10**: 88–94
- [57] Paul MR. *Arabidopsis thaliana* eukaryotic elongation factors eEF1B- α (1 and 2), eEF1b- β (1 and 2) and their relationship to the plant heat shock response/small heat shock protein system. *The University of Arizona Campus Repository*, 2009, **5**: 1–43
- [58] Fu J, Momčilović I, Clemente TE, *et al.* Heterologous expression of a plastid EF-Tu reduces protein thermal aggregation and enhances CO₂ fixation in wheat (*Triticum aestivum*) following heat stress. *Plant Molecular Biology*, 2008, **68**: 277–288
- [59] Larkindale J, Hall JD, Knight MR, *et al.* Heat stress phenotypes of Arabidopsis mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of thermotolerance. *Plant Physiology*, 2005, **138**: 882–897
- [60] Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 1991, **42**: 579–620
- [61] Waters ER, Lee GJ, Vierling E. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants. *Journal of Experimental Botany*, 1996, **47**: 325–338
- [62] Langer T. AAA proteases: Cellular machines for degrading membrane proteins. *Trends in Biochemical Sciences*, 2000, **25**: 247–251
- [63] Savchenko GE, Klyuchareva EA, Abramchik LM, *et al.* Effect of periodic heat shock on the inner membrane system of etioplasts. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2002, **49**: 349–359
- [64] Lee S, Lee EJ, Yang EJ, *et al.* Proteomic identification of annexins, calcium-dependent membrane binding proteins that mediate osmotic stress and abscisic acid signal transduction in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 2004, **16**: 1378–1391
- [65] Davis JM. Vacuolar energization: Pumps shunts and stress. *Journal of Experimental Botany*, 1997, **48**: 633–644
- [66] Smertenko A, Draber P, Viklicky V. Heat stress affects the organization of microtubules and cell division in *Nicotiana tabacum* cells. *Plant, Cell & Environment*, 1997, **20**: 1534–1542
- [67] Hata S, Kouchi H, Suzuka I, *et al.* Isolation and characterization of cDNA clones for plant cyclins. *The EMBO Journal*, 1991, **10**: 2681–2688
- [68] Zhang H (张恒), Dai S-J (戴绍军). Technical strategies in the research of plant salt-responsive proteomics: A review. *Chinese Journal of Applied Ecology (应用生态学报)*, 2011, **22**(8): 2201–2210 (in Chinese)

作者简介 刘军铭,男,1988年生,硕士研究生.主要从事植物逆境应答蛋白质组学研究. E-mail: 53025121@qq.com

责任编辑 孙菊
