

郭丽红,徐 娅,郇秋霞,等. 拟南芥热激因子 AtHsfA1a 在低温胁迫下对细胞程序性死亡中 Caspase-3 活性的影响[J]. 江苏农业科学,2017, 45(21):24-27.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.21.006

# 拟南芥热激因子 AtHsfA1a 在低温胁迫下对细胞程序性死亡中 Caspase-3 活性的影响

郭丽红<sup>1,2,4</sup>, 徐 娅<sup>3</sup>, 郇秋霞<sup>3</sup>, 李 念<sup>3</sup>, 檀文涛<sup>3</sup>, 张学兰<sup>3</sup>

(1. 昆明学院/云南省高校特色生物资源开发与利用重点实验室, 云南昆明 650214; 2. 昆明学院/昆明市滇池水生态恢复重点实验室, 云南昆明 650214; 3. 昆明学院生命科学与技术系, 云南昆明 650214; 4. 昆明学院农学院, 云南昆明 650214)

**摘要:**为了研究拟南芥热激因子 AtHsfA1a 对低温胁迫下细胞程序性死亡(programmed cell death, 简称 PCD)中含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny aspartate specific protease, 简称 Caspase)活性的影响,进一步确定拟南芥热激因子 AtHsfA1a 与低温胁迫中 PCD 的关系。以热激因子 AtHsfA1a 不同基因型(野生型、基因沉默型)的拟南芥为材料,首先获得单细胞,于 4℃ 处理 1 h 后,测定热激因子 AtHsfA1a 的表达量,发现基因沉默型中 AtHsfA1a 的表达量低于野生型。接着用 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, 简称 DAPI)进行染色,在荧光显微镜下观察细胞形态,结果表明,低温胁迫后野生型未出现凋亡小体,基因沉默型的细胞出现了细胞凋亡小体。最后根据荧光底物 Ac-DEVD-pNA 的断裂程度测定 Caspase-3 活性,结果发现,低温处理后的拟南芥 Caspase-3 活性明显增强,而 AtHsfA1a 基因沉默型拟南芥 Caspase-3 活性比野生型拟南芥的高,说明低温胁迫下拟南芥 AtHsfA1a 能够抑制 Caspase-3 蛋白酶的活性。研究结果初步表明,在低温胁迫下拟南芥热激因子 AtHsfA1a 可以通过抑制 Caspase-3 蛋白酶的活性而对细胞程序性死亡有一定的抑制作用,这对于揭示植物耐逆境反应机制具有重要意义。

**关键词:**拟南芥;热激因子 AtHsfA1a;低温胁迫;细胞程序性死亡;Caspase-3 活性

**中图分类号:** Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)21-0024-03

在自然界中,低温是影响植物生长发育、制约农作物增产增收的主要因子。植物细胞在遭受各种低温胁迫时,转录因子调控一系列防御基因的表达,启动相应的耐低温生理、生化途径,从而获得耐低温能力。植物热激因子(heat shock transcription factor, 简称 HSF)是真核生物中结构和功能上相对保守的一类转录因子家族,多个 HSFs 家族成员形成了复杂的分子网络<sup>[1-2]</sup>。根据寡聚域的区别,HSF 可分为 A、B、C 三类,A 类 HSF(HsfA)主要负责基因表达的调控<sup>[3-4]</sup>。拟南芥中存在 21 个 HSFs,研究表明,AtHsfA1a 是 HsfA 类中参与逆境调控的重要转录因子<sup>[5-7]</sup>。研究发现,逆境胁迫可以诱导植物细胞程序性死亡(programmed cell death, 简称 PCD),PCD 是一个由基因决定的自动结束生命的过程,表现出特殊的细胞形态特征,具有复杂的生化基础<sup>[8-10]</sup>。关于 HSF 对 PCD 的调控,在动物中获得了一些有价值的研究成果,研究发现哺乳动物 HSF1 诱导热激蛋白的表达可以保护细胞免受胁迫引起的细胞凋亡<sup>[11]</sup>,HSF1 可以调控干细胞中与 PCD 相关基因 *FasL* 的表达<sup>[12]</sup>,也可以调控肠癌细胞的抗细胞凋亡基因 *BAG3* 和 *XAF-1* 的表达<sup>[13-14]</sup>。但是对于植物中 HSF 与

PCD 的直接关系研究相对较少,尚不清楚热激因子 AtHsfA1a 是否调控 PCD 以及如何调控 PCD。含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny aspartate specific proteinase, 简称 Caspase)家族在介导细胞凋亡的过程中起着非常重要的作用,其中 Caspase-3 是凋亡信号通路中一个重要的蛋白酶,也是凋亡的关键执行分子<sup>[15-16]</sup>。关于 Caspase-3 能否在 AtHsfA1a 调控 PCD 的过程中起作用值得研究。为了研究拟南芥热激因子 AtHsfA1a 对低温胁迫下细胞程序性死亡中 Caspase-3 的影响,以热激因子 AtHsfA1a 不同基因型(野生型、基因沉默型)的拟南芥为试验材料,在低温处理后,测定热激因子 AtHsfA1a 的表达量并观察细胞形态,分析拟南芥热激因子 AtHsfA1a 对低温胁迫下 Caspase-3 活性的影响。本试验旨在鉴定拟南芥热激因子 AtHsfA1a 与低温胁迫下 PCD 的关系,对于揭示热激因子 AtHsfA1a 的作用机制和 PCD 的调控机制均具有重要的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

拟南芥哥伦比亚种(*Arabidopsis thaliana*, ecotype Columbia);AtHsfA1a 基因沉默的转基因拟南芥植株(ST)、野生型拟南芥植株(WT),由云南省高校特色生物资源开发与利用重点实验室提供。

### 1.2 方法

1.2.1 拟南芥 AtHsfA1a 不同基因型单细胞获得及低温处理  
用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 和 70% 乙醇对拟南芥种子进行灭菌处理

收稿日期:2016-06-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31260061,31060039);云南省高校特色生物资源开发与利用重点实验室项目(编号:GXZD201601)。

作者简介:郭丽红(1971—),女,云南大理人,博士,教授,主要从事植物生理学与分子生物学研究。E-mail:guolihong7122@163.com。

后,将种子接种于 MS 固体培养基中,置于 25 ℃ 光照下萌发。待种子长出 3 或 4 张真叶时,将小苗移至土壤中,用保鲜膜遮盖,遮阴恒温培养 3 d 后去膜,4 周后取不同基因型拟南芥叶片,用无菌水冲洗干净后依次用 75% 乙醇、0.1%  $\text{HgCl}_2$  灭菌。将灭菌的拟南芥叶片切成边长为 0.5 mm 的正方形叶片,将叶片置于愈伤组织诱导培养基 (MS 培养基中添加 3 mg/L 2,4-D、0.3 mg/L 6-BA) 上,置于 25 ℃ 温度条件下光照培养 (16 000 lx),诱导愈伤组织。将疏松透明的愈伤组织放入液体培养基 (以 MS 培养基为基本培养基,添加 3 mg/L 2,4-D、0.3 mg/L 6-BA) 中。在 120 ~ 140 r/min、(25 ± 0.5) ℃ 的摇床中进行振荡悬浮培养,每周更换新鲜液体培养基 2 次,每次更换 1/3 体积,直至获得分散的单个悬浮细胞。将单细胞培养液置于 4 ℃ 低温处理 1 h,以 25 ℃ 为对照温度。

1.2.2 拟南芥 *AtHsfA1a* 不同基因型细胞低温处理后 *AtHsfA1a* 表达量的测定 参照 Guo 等的方法<sup>[17]</sup>。总 RNA 提取采用 QIAGEN RNA 提取试剂盒,采用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳 (120 V) 15 min,在凝胶成像仪下检测总 RNA。按照下列配方反转录合成 cDNA: RNA/mRNA (8 μL)、Transcript TmRT/RI Enzyme Mix (1 μL)、Aneored Oligo (dT)<sub>18</sub> (1 μL)、2 × TS Reaction Mix (10 μL),加 RNase-free water 定容至 20 μL,轻轻混匀后,在 85 ℃ 水浴锅中加热 5 min 以失活 Trans Script™ RT。以反转录产物作为 PCR 模板, *Actin2* 作为内参,扩增引物如下: *AtHsfA1a* - F, 5' - AATGGGCTTGAGAG ATGAAT - 3', *AtHsfA1a* - R, 5' - AATGCCGAGACTTCCCAGAT - 3'; *Actin2* - F, 5' - TTGTCACACACAAGTGCATCAT - 3', *Actin2* - R, 5' - AAGCTGGGGTTTTATGAATGG - 3'。PCR 扩增程序: 94 ℃ 5 min; 94 ℃ 30 s, 62 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 35 个循环; 72 ℃ 10 min。扩增后的产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 拟南芥 *AtHsfA1a* 不同基因型细胞程序性死亡的形态特征观察 取于 4 ℃ 处理 1 h 的 2 种类型拟南芥单细胞,涂在载玻片上,用 0.1% 多聚甲醛固定 30 min,再用磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer saline, 简称 PBS) 洗 5 min。将制备好的装片用 5 mg/L 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, 简称 DAPI) 染液染色 10 min,用盖玻片封片,避光将制作好的装片放到载物台上,用荧光正置显微镜在 359 nm 激发光下观察细胞的形态学变化。

1.2.4 拟南芥 *AtHsfA1a* 不同基因型细胞中 Caspase-3 活性的检测 将细胞在液氮中研磨后,悬浮在裂解液 [含 50 mmol/L pH 值 8.0 的 Tris-HCl, 15 mmol/L NaCl, 1% Triton X-100, 0.1 mg/L 苯甲基磺酰氟 (PMSF)] 中,在冰上轻轻摇动培养 30 min 后,于 4 ℃、12 000 g 离心 5 min,取上清液备用。蛋白浓度测定采用 Bradford 的方法<sup>[18]</sup>。Caspase-3 的活性通过测定荧光底物 Ac-DEVD-pNA 的断裂程度来衡量 [以单位时间、单位质量蛋白的对硝基苯胺 (p-nitroaniline, 简称 pNA) 的数量表示],在 405 nm 处测定自由荧光 pNA 的吸光度<sup>[19]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 拟南芥 *AtHsfA1a* 不同基因型细胞中低温胁迫后 *AtHsfA1a* 的表达情况

以 *AtHsfA1a* 基因沉默的转基因植株和野生型植株为试

验材料,拟南芥 *AtHsfA1a* 基因沉默植株是本试验前期通过 RNA 干扰技术获得内源 *AtHsfA1a* 基因沉默的转基因拟南芥植株。由于 RNA 干扰,该植株 *AtHsfA1a* 基因不能正常表达。为了探究拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 对低温胁迫下细胞程序性死亡中 Caspase-3 活性的影响,首先必须研究在低温环境下 *AtHsfA1a* 基因沉默的转基因植株和野生型中 *AtHsfA1a* 基因的表达情况。将 2 种基因型细胞在 4 ℃ 低温处理 1 h,以 25 ℃ 为对照温度,然后提取总 RNA,逆转录获得 cDNA,再用 *AtHsfA1a* 引物进行 PCR 扩增。由图 1 可以看出,在 25 ℃ 下野生型的 *AtHsfA1a* 条带比基因沉默型的亮;在 4 ℃ 下,2 种基因型的 *AtHsfA1a* 条带亮度明显增强,但野生型的 *AtHsfA1a* 条带也明显比基因沉默型的亮,说明基因沉默型的热激因子的 *AtHsfA1a* 由于 RNA 干扰无法正常表达。以 *Actin2* 为对照,计算相对表达量,从图 2 中可以看出,在同一温度下,野生型中 *AtHsfA1a* 的表达量高于基因沉默型,经过低温胁迫处理后的野生型中的表达量增量较多,而基因沉默型中的表达量虽有所增加,但增加量相对较少。

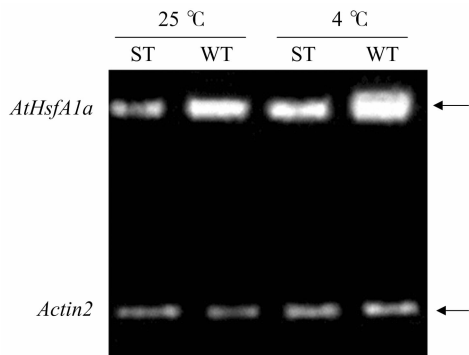


图1 拟南芥 *AtHsfA1a* 不同基因型叶片中低温胁迫后 *AtHsfA1a* 基因的 RT-PCR 结果

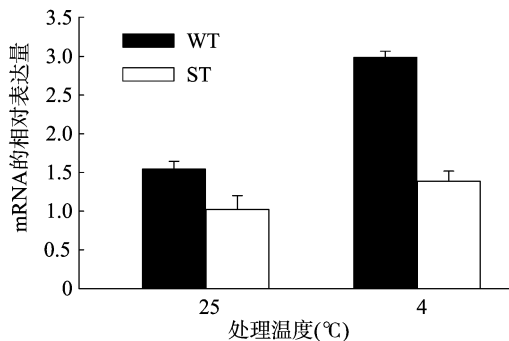


图2 拟南芥 *AtHsfA1a* 不同基因型叶片中低温胁迫后 *AtHsfA1a* 的 mRNA 相对表达量

### 2.2 拟南芥 *AtHsfA1a* 不同基因型细胞中低温胁迫后细胞程序性死亡的形态特征

将热激因子 *AtHsfA1a* 不同基因型的细胞置于 4 ℃ 低温处理 1 h 后,通过 DAPI 染色后封片,在荧光显微镜下观察。从图 3 中可以看出,野生型拟南芥的单细胞在低温胁迫下,细胞核开始发生变化,但未出现凋亡小体,基因沉默型的细胞出现了细胞凋亡小体,细胞质的浓缩现象更突出。细胞程序性死亡凋亡小体出现在热激因子 *AtHsfA1a* 表达量低的基因沉默型植株中,初步推测低温胁迫下拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 对细胞程序性死亡有一定的抑制作用。

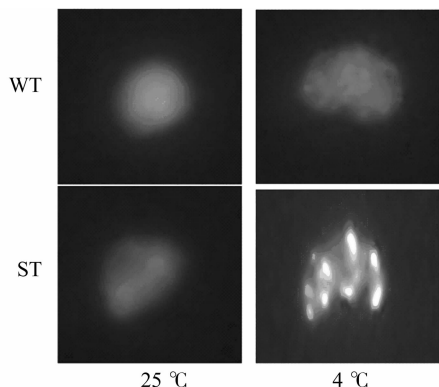


图3 拟南芥 *AtHsfA1a* 不同基因型细胞中低温胁迫后细胞程序性死亡的形态特征

### 2.3 拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 低温胁迫后对 Caspase-3 活性的影响

以热激因子 *AtHsfA1a* 不同基因型的细胞为试验材料,低温胁迫处理后,根据荧光底物 Ac-DEVD-pNA 的断裂程度测定 Caspase-3 活性。从图 4 中可以看出,与 25 °C 处理相比,经过低温 4 °C 处理 1h 后,野生型拟南芥和沉默型拟南芥 Caspase-3 活性均明显增强,但基因沉默型拟南芥 Caspase-3 活性高于野生型拟南芥的 Caspase-3 活性,这与图 2 的热激因子 *AtHsfA1a* 的表达量呈负相关,说明拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 在低温胁迫下对 Caspase-3 活性有抑制作用。

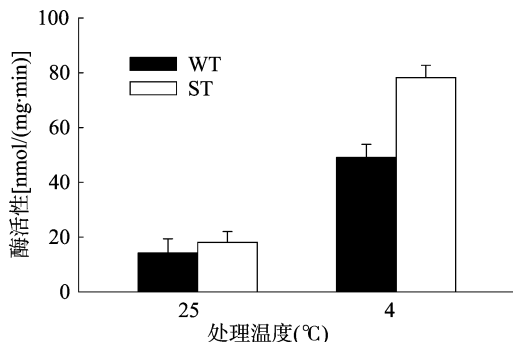


图4 拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 对低温胁迫后 Caspase-3 活性的影响

### 3 讨论与结论

近年来的研究发现,在正常环境中,HSF 主要以无活性单体的形式存在,受到逆境胁迫时,单体向有活性的同源三聚体形式转变,三聚体能与热激元件结合,从而导致抗逆基因的表达<sup>[3-5]</sup>。本研究采用 *AtHsfA1a* 基因沉默的转基因植株为试验材料,该植株是利用 RNA 干扰技术将 2 个反向重复的 *C-AtHsfA1a* 序列克隆到植物发夹 RNA 表达载体中,从而筛选出稳定、有效的内源 *AtHsfA1a* 基因沉默的转基因拟南芥植株。通过 RT-PCR 方法检测低温胁迫后热激因子 *AtHsfA1a* 的表达情况,结果表明,尽管低温处理后不同基因型热激因子 *AtHsfA1a* 的表达量均会增加,但是与野生型相比,*AtHsfA1a* 基因沉默型植株在低温胁迫后表达量明显较少。表达量的减少势必会影响热激因子 *AtHsfA1a* 执行生理功能。植物在逆境中会发生细胞程序性死亡,本研究结果也表明,低温胁迫后野生型细胞核开始发生变化,但未出现凋亡小体,而基因沉默型的细胞出现了细胞凋亡小体,细胞程序性死亡凋亡小体出现

在热激因子 *AtHsfA1a* 表达量低的基因沉默型植株中,表明冷胁迫下拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 对细胞程序性死亡有一定的抑制作用。至于拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 是如何抑制细胞程序性死亡的,涉及复杂的生化基础。研究发现各种富含半胱氨酸 Caspase 被激活后,能够在靶蛋白的特异天冬氨酸残基部位进行切割,从而造成细胞程序性死亡,其中 Caspase-3 是凋亡信号通路中一个重要的蛋白酶,也是凋亡的关键执行分子<sup>[12]</sup>。Caspase-3 正常以酶原(32 ku)的形式存在于胞浆中,没有活性。在凋亡的早期阶段,Caspase-3 被激活;活化的 Caspase-3 由 2 个大亚基(17 ku)和 2 个小亚基(12 ku)组成,裂解相应的胞浆、胞核底物,最终导致细胞凋亡<sup>[13]</sup>。关于热激因子 *AtHsfA1a* 抑制 PCD 是否与 Caspase-3 活性有关需要深入研究。为了研究拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 对低温胁迫下细胞程序性死亡中 Caspase-3 活性的影响,探究拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 与逆境中 PCD 的关系,本试验将 *AtHsfA1a* 不同基因型(野生型、沉默型)的拟南芥幼苗于 4 °C 低温处理 1h 后,在用 RT-PCR 技术分析拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 表达量和观察细胞形态的基础上,根据荧光底物 Ac-DEVD-pNA 的断裂程度,测定 Caspase-3 的活性,经过低温处理后的拟南芥类 Caspase-3 活性明显增强,说明低温可以诱导细胞程序性死亡。而结果也显示,基因沉默型拟南芥类 Caspase-3 活性相对较高,野生型拟南芥类 Caspase-3 活性相对较低,与热激因子 *AtHsfA1a* 的表达量呈负相关,说明低温胁迫下热激因子 *AtHsfA1a* 抑制拟南芥 Caspase-3 蛋白酶的活性。至于热激因子 *AtHsfA1a* 影响 Caspase-3 蛋白酶活性是通过调控细胞程序性死亡其他基因的表达来调控 Caspase-3 蛋白酶活性大小,还是直接调控 Caspase-3 蛋白酶表达,还需要通过染色质免疫沉淀分析、凝胶阻滞电泳及酵母双杂交等方法进行进一步研究。本研究初步表明,热激因子 *AtHsfA1a* 可能通过抑制类 Caspase-3 蛋白酶的活性而对细胞程序性死亡有一定的抑制作用,从而保护植物免受逆境的伤害。从分子水平鉴定拟南芥热激因子 *AtHsfA1a* 与逆境中 PCD 关键基因 *Caspase-3* 的关系,对于揭示植物抗逆机制具有重要的意义。

### 参考文献:

- [1] Akkerfelt M, Morimoto R I, Sistonen L. Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan [J]. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, 2010, 11(8): 545-555.
- [2] Kotak S, Larkindale J, Lee U, et al. Complexity of the heat stress response in plants [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2007, 10(3): 310-316.
- [3] von Koskull - Döring P, Scharf K, Nover L. The diversity of plant heat stress transcription factors [J]. *Trends Plant Sci*, 2007, 12(10): 452-457.
- [4] Li M, Doll J, Weckermann K, et al. Detection of in vivo interactions between *Arabidopsis* class A - HSFs, using a novel BiFC fragment, and identification of novel class B - HSF interacting proteins [J]. *Eur J Cell Biol*, 2010, 89(2/3): 126-132.
- [5] Liu H C, Liao H T, Charng Y Y. The role of class A1 heat shock factors (HSFA1s) in response to heat and other stresses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Environ*, 2011, 34(5): 738-751.

王会敏,罗 成,齐江蛟,等. 中国美利奴羊 *TLR4* 基因多态性的 PCR-SSCP 鉴定[J]. 江苏农业科学,2017,45(21):27-31.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.21.007

# 中国美利奴羊 *TLR4* 基因多态性的 PCR-SSCP 鉴定

王会敏,罗 成,齐江蛟,王元元,李村院,高剑峰

(石河子大学生命科学学院,新疆石河子 832003)

**摘要:**为了研究中国美利奴羊 TOLL 样受体(*TLR4*)基因第 3 外显子上的单核苷酸多态性(SNPS)和单氨基酸多态性(SAPS)。利用生物信息学方法对 NCBI 上公布的有关绵羊的 *TLR4* 序列进行下载并用 SeqMan 对下载的绵羊 *TLR4* 基因外显子进行多态性比对分析,然后采用 PCR-SSCP 并结合测序的方法对 119 只中国美利奴羊 *TLR4* 基因的外显子 3 的扩增片段进行分析。通过分析发现,在中国美利奴羊第 3 外显子 1 180 bp 处有 1 个突变位点,由 G 突变成 T,氨基酸由天冬氨酸(D)变成酪氨酸(Y),即该位点为有义突变。在 1 537 bp 处也有 1 个突变位点,即由 G 突变成了 A,氨基酸由丙氨酸(A)变成苏氨酸(T),在 *TLR4* 第 3 外显子的其他位点并没有 SNPS 位点,说明中国美利奴羊 *TLR4* 基因上的第 3 外显子区域有 2 个多态位点。

**关键词:**中国美利奴羊;*TLR4* 基因;多态性;生物信息学方法;PCR-SSCP;外显子;突变位点

**中图分类号:**S826.8<sup>+</sup>62 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)21-0027-05

Toll 样受体(toll-like receptor, TLR)最早是从果蝇体内分离得到的,它对果蝇腹背侧体轴的发展方向和特异性免疫反应起重要的作用<sup>[1]</sup>。Medzhitov 等首次人体分离出果蝇 TLR 的同系物,从而发现人类及哺乳动物存在一个 TLR 家族,它是一种重要的模式识别受体,能识别微生物的多种成分

如 DNA、RNA、脂多糖、脂蛋白等,从而激活非特异性和特异性免疫反应,抵抗细菌、病毒的侵入<sup>[2]</sup>。TLR 家族至少有 10 个 TLR 成员,它们分别在不同的免疫应答机制中扮演各自的重要角色。*TLR* 基因的多态性可以使机体对疾病的遗传具有易感性和抗性,基因 *TLR* 位点多态性与炎症应答损伤和感染性疾病的遗传易感性相关<sup>[3-5]</sup>。TOLL 样受体 4 是一种 I 型跨膜蛋白,包括富含半胱氨酸的胞内区、富含亮氨酸的胞外区和跨膜区<sup>[6]</sup>。*TLR4* 广泛表达于哺乳动物细胞表面,在抗感染免疫中发挥重要作用。目前,关于 *TLR4* 的多态主要集中在人和小鼠的研究上。例如,刘继峰等对 *TLR2*、*TLR4* 基因多态性与尖锐湿疣患者易感性及复发性的相关性进行研究<sup>[7]</sup>。

收稿日期:2016-06-30

基金项目:国家“973”计划(编号:2010CB530200)。

作者简介:王会敏(1990—),女,硕士研究生,研究方向为动物基因工程。

通信作者:高剑峰,博士,教授,研究方向为动物功能基因组学与分子免疫学。E-mail: jianfengg@shuzu.edu.cn。

[6] Nover L, Bharti K, Döring P, et al. *Arabidopsis* and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need? [J]. Cell Stress Chaperones, 2001, 6(3): 177-189.

[7] Döring P, Treuter E, Kistner C, et al. The role of AHA motifs in the activator function of tomato heat stress transcription factors HsfA1 and HsfA2 [J]. Plant Cell, 2000, 12(2): 265-278.

[8] Pennell R I, Lamb C. Programmed cell death in plants [J]. Plant Cell, 1997, 9(7): 1157-1168.

[9] Lin J, Wang Y, Wang G. Salt stress-induced programmed cell death in tobacco protoplasts is mediated by reactive oxygen species and mitochondrial permeability transition pore status [J]. J Plant Physiol, 2006, 163(7): 731-739.

[10] Xu C J, Chen K S, Ferguson I B. Programmed cell death features in apple suspension cells under low oxygen culture [J]. Bioscience & Biotechnology, 2004, 5(2): 137-143

[11] Gechev T S, Van Breusegem G F, Stone J M, et al. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death [J]. BioEssays, 2006, 28(11): 1091-1101.

[12] Gechev T S, Hille J. Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death [J]. J Cell Biol, 2005, 168(1): 17-20.

[13] Thonel A D, Mezger V, Garrido C. Implication of heat shock factors

in tumorigenesis: therapeutical potential [J]. Cancers, 2011, 3: 1158-1181.

[14] Jacobs A T, Marnett L J. HSF1-mediated BAG3 expression attenuates apoptosis in 4-hydroxynonenal-treated colon cancer cells via stabilization of anti-apoptotic Bcl-2 proteins [J]. J Biol Chem, 2009, 284(14): 9176-9183.

[15] Beere H M. ‘The stress of dying’: the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis [J]. J Cell Sci, 2004, 117: 2641-2651.

[16] Ahn S G, Thiele D J. Redox regulation of mammalian heat shock factor 1 is essential for *Hsp* gene activation and protection from stress [J]. Genes and Development, 2003, 17(4): 516-528.

[17] Guo L H, Cai J, Yu Z X, et al. Influence of High Temperature on the Expression of *Arabidopsis* Heat Shock Transcription Factor *AtHsfA1a* [J]. Agricultural Biotechnology, 2013, 2(1/2): 13-15

[18] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding [J]. Analyt Biochem, 1976, 44: 276-287.

[19] Zhang L, Jiang H, Gao X, et al. Heat shock transcription factor 1 inhibits H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis via down-regulation of reactive oxygen species in cardiac myocytes [J]. Mol Cell Biochem, 2011, 347(1/2): 21-28.