

专题介绍

## 叶绿体小分子量热激蛋白介绍

郭尚敬 陈 娜 孟庆伟

(山东农业大学生命科学学院 泰安 271018)

**摘要** 本文对叶绿体小分子量热激蛋白的研究进行了简要的回顾和总结。叶绿体小分子量热激蛋白是热激蛋白超家族的成员，具有3个特殊的保守区域；当植物遇到热胁迫时，叶绿体小分子量热激蛋白能够保护光合系统 和类囊体膜；初步分析了叶绿体小分子量热激蛋白与植物的耐热性和耐冷性关系以及其分子伴侣功能。

**关键词** 叶绿体，热激蛋白，基因家族，分子伴侣

## Chloroplast-localized Small Heat Shock Proteins

GUO Shang-Jing CHEN Na MENG Qing-Wei

(College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian 271018)

**Abstract** This paper summarized current research on chloroplast-localized small heat shock proteins. Chloroplast-localized small heat shock proteins, members of a super-family of heat shock proteins, contain three conserved domains, and function in the protection of PS and thylakoids during heat stress. Moreover, the relation between heat or chilling tolerance and the proteins, and their chaperone function were discussed.

**Key words** Chloroplast, Heat shock proteins, Gene family, Chaperone

环境条件如温度、光照、水分胁迫以及激素平衡等都调控植物的基因表达。目前在分子水平上研究植物对环境的响应，较多的是研究植物对高温或热激(heat shock, HS)的响应。当植物经非致死高温锻炼后可以对致死高温产生耐性，在这一过程中，植物合成的热激蛋白(heat shock protein, HSP)起了很重要的作用(Heckathorn *et al.*, 2002)。人们已经在真核生物中发现了几类HSP。根据其分子量的大小，HSP被分为HSP110、HSP90、HSP70、HSP60和小分子量HSP(small heat

shock protein, sHSP)(Linquist and Craig, 1988)。HSP家族十分复杂，但对植物非常有用。HSP的结构十分保守，这意味着功能的相似性。HSP在一种生物中的功能可用来类推其在其他生物中的作用，不同来源的信息有助于人们理解HSP的功能。高等植物中HSP以sHSP最为丰富。sHSP由核基因编码，属于6个多基因家族，分别定位于不同的亚细胞结构，如细胞质、叶绿体、内质网和线粒体(Vierling *et al.*, 1991)。

### 逆境条件下植物光合系统的光破坏防御

国家重点基础研究发展规划项目(G1998010100)和国家自然科学基金(30370854)项目资助。

通讯作者。Author for correspondence. E-mail: qwmeng@sda.edu.cn

收稿日期：2003-11-25 接受日期：2004-02-06 责任编辑：孙冬花，于昕

机制一直是人们研究的热点之一(李新国等, 2002)。近年来的研究发现, 叶绿体小分子量热激蛋白(chloroplast-localized small heat shock protein, CPsHSP)的结构比较特殊, 在植物遇到热胁迫时, 它对光合作用机构有保护作用(Heckathorn *et al.*, 2002)。另外, CPsHSP 还参与植物的低温防御(Sato *et al.*, 2001)。本文就叶绿体小分子量热激蛋白与植物的耐热性和耐冷性的关系及其可能的分子伴侣的功能进行了总结。

## 1 CPsHSP是sHSP超家族的成员

CPsHSP 是 sHSP 超家族的成员, 植物的 sHSP 分子量在 17~28 kD 之间。在植物生长的适宜温度下检测不到 sHSP 的表达, 而在热胁迫条件下有一些植物能产生大量的 sHSP。人们已从大豆、拟南芥、大麦和玉米中克隆出编码 sHSP 的基因。对这些基因的分析表明, 大多数 sHSP 基因属于 6 个多基因家族。它们编码的蛋白分别定位于细胞质、叶绿体、内膜系统和线粒体(Lafayette *et al.*, 1996)。这样, 植物中的 sHSP 组成一个基因超家族, 在细胞的不同位置编码特殊的蛋白。

CPsHSP最早见于Kloppstech等(1985)的报道。现在已发现多种 CPsHSP 基因或同类基因, 其分子量约在20~25 kD之间(Glaczinski and Kloppstech, 1988; Vierling, 1991; Waters and Vierling, 1999)。CPsHSP由核基因编码合成它的前体, 然后转运至叶绿体加工成熟。不同植物中编码 CPsHSP 基因的数目不同, 例如在拟南芥中 CPsHSP 由单基因编码, 而在大豆和豌豆中由一个小基因家族编码。

## 2 CPsHSP的结构

与 HSP70 的高保守性相比, sHSP 的序列保守性较低(Lindquist and Craig, 1988), 不

仅不同种的生物之间, 而且在同种生物不同家族之间也是如此。但是 sHSP 有相当保守的 C 端。通过比较不同种生物不同家族的 sHSP 发现了 2 个保守区。保守区 1 的长度为 27 个氨基酸, 有 9 个相同的氨基酸, 7 个保守的氨基酸。保守区 2 的长度为 29 个氨基酸, 含 9 个相同氨基酸和 8 个保守的氨基酸。包含这 2 个保守区的 77 个氨基酸的区域可能有相对保守的结构。亲水性分析表明, 在所有的 sHSP 中, 保守区 1 和保守区 2 之间的非保守区是一个高度亲水的区域(Vierling, 1991)。

Vierling(1986)最先描述了 CPsHSP 的结构。与其他小分子量热激蛋白一样, CPsHSP 也有 2 个同源保守区, 特殊之处是 CPsHSP 还有保守区 3。保守区 3 富含甲硫氨酸(Met)及两性 - 螺旋。豌豆、大豆、玉米、拟南芥和矮牵牛的蛋白中这个螺旋的亲水侧面氨基酸残基 100% 同源, 在亲水侧面, 6 个位置中的 4 个有不变的 Met 残基, 这个特别保守的区域无疑对叶绿体的功能起很关键的作用。对不同植物的 CPsHSP 进行比较发现, 其 N 端有 40~50 个残基没有同源性, 这个区域与多肽向叶绿体转运的功能有关(Vierling, 1991)。

在衣藻细胞类囊体膜上分离出核基因编码的 sHSP22 蛋白可能是一个结构更为特殊的 CPsHSP。与其他核基因编码的 CPsHSP 不同, 它有 C 端的保守区, 但没有 N 端的转运肽段, 这表明衣藻的小分子量热激蛋白功能可能与高等植物叶绿体 sHSP 有所不同(Waters and Vierling, 1999)。

## 3 CPsHSP与植物的耐热性

热胁迫是造成植物伤害的主要原因之一。高温胁迫导致植物生长缓慢, 光合效率下降, 发生光抑制。植物经热锻炼后可以增加对高温的耐性, 叶绿体小分子量热激蛋白

在此过程中起了重要作用(Waters and Vierling, 1999; Knight and Ackerly, 2001; Wang and Luthe, 2003)。人们研究发现CPsHSP是质体中含量最丰富的热激蛋白。植物和藻类中, CPsHSP在进化上高度保守(Vierling, 1991; Waters *et al.*, 1996); 热胁迫条件下, CPsHSP的生成可以减轻光系统(PS)的光抑制(Schuster *et al.*, 1998); 同种植物的不同基因型中, 其耐热性与CPsHSP的水平有关(Downs *et al.*, 1998; Preczewski *et al.*, 2000)。

植物遭受热胁迫时, CPsHSP可以保护光合电子传递链(Heckathorn *et al.*, 1998; Downs *et al.*, 1999a, 1999b)。番茄离体实验证实, 高温条件下CPsHSP可以保护PS的电子传递以及放氧复合体(oxygen evolution complex, OEC)(Downs *et al.*, 1999a), 由于光系统(PS)对温度变化表现得相对稳定(李新国, 2002), 说明CPsHSP主要保护PS, 而PS受CPsHSP影响较小。对耐热性不同的同种生物中的sHSP进行表达, 研究结果表明OEC是光合电子传递中最易受高温影响的组分(Havaux, 1993; Heckathorn *et al.*, 1998; Heckathorn *et al.*, 2002)。Heckathorn等(2002)对禾本科植物翦股颖2种不同基因型的植株研究表明, 当受到热胁迫时, 热敏感基因型的植株中的D1蛋白比OEC更容易受到伤害, 而耐热基因型的植株中则检测不到对D1蛋白的净损伤。在热胁迫条件下, 耐热基因型植株的CPsHSP含量高于热敏感型植株, 说明大量CPsHSP的产生与PS耐热性的提高, 特别是与OEC的热稳定性有关, 但其对D1蛋白影响不大, CPsHSP对OEC的保护作用可能减缓了高温对D1蛋白的伤害。

热胁迫时植物的CPsHSP可以保护类囊体膜, 至少有一种CPsHSP位于类囊体膜上(Kloppstech *et al.*, 1985; Török *et al.*, 2001)。Török等(2001)的研究表明, 蓝细菌中的sHSP在热激时可以和其他分子伴侣一起结合变性

的蛋白并使之进一步折叠, 也可以与膜脂结合以稳定类囊体膜。Tsvetkova等(2002)则指出, sHSP可以调节膜脂的多态性, 稳定膜的液晶相, 并且增加液体相分子排列的有序性。它结合于膜脂双分子层的磷脂头部, 对疏水区也有影响。Tsvetkova等认为在高温下sHSP和膜的相互作用可以降低膜的流动性, 保护膜的整体性。其他的研究结果也支持sHSP稳定类囊体膜的观点(Glaczinski and Kloppstech, 1988; Haslbeck *et al.*, 1999)。上述研究结果表明, 在逆境条件下有一个或多个CPsHSPs保护PS的电子传递链以及类囊体膜, 从而提高植物对胁迫的耐性。

人们通过转基因研究植物CPsHSP与热胁迫反应的关系。烟草中过量表达CPsHSPs可以增加PS在热胁迫时的稳定性(Miyao-Tokutomi *et al.*, 1998), 对转入sHSP基因的蓝细菌的研究也得到同样的结果(Nakamoto *et al.*, 2000), 而缺少sHSP的蓝细菌突变体其氧气的释放以及类囊体膜的稳定性有所降低(Lee *et al.*, 1998, 2000b; Török *et al.*, 2001)。而在拟南芥中过量表达CPsHSP对PS的热稳定性没有影响(Prandl *et al.*, 1995; Härndahl *et al.*, 1999)。因此, 没有完全充分的证据表明转基因植物中过量表达CPsHSP可以保护PS。拟南芥是一种对热特别敏感的植物, 而CPsHSP可以保护PS的植物都是耐热型的植物, 如C<sub>4</sub>草类(Heckathorn *et al.*, 1996), 番茄(Heckathorn *et al.*, 1998, 1999; Downs *et al.*, 1999b), 烟草(Miyao-Tokutomi *et al.*, 1998)。这意味着起源于热带的植物在热胁迫时可以产生大量的CPsHSP以保护PS, 而热敏感的植物类型可能在热胁迫时不能产生足够的CPsHSP。Härndahl和Sundby(2001)在豌豆离体实验中加入CPsHSP后并没有发现对PS的保护作用, Heckathorn等(1998)对番茄的研究也得到同样的结果, 这对CPsHSP在胁迫时能否保护PS提出了疑

问。但是 Härndahl 和 Sundby(2001)的研究是在 20℃ 条件下测定的。Heckathorn 等(1998)认为, 只有在高温(47℃)下 sHSP 才对 PS 有保护作用, 而在 25℃ 条件下 sHSP 对 PS 没有保护作用。

#### 4 CPsHSP与植物的耐冷性

当热带或亚热带起源的一些植物, 如玉米、黄瓜、番茄和水稻等, 遇到低温(0~10℃)时, 往往会产生低温伤害, 即冷害。冷害的主要特征表现在光合效率降低、感病率增加、活力下降、失水、离子和可溶性物质渗漏率增加以及内部和外部褐变等。冷害的表征与生物种类有关, 当然也与环境条件如光照、湿度和温度有关(Heckathorn *et al.*, 1998)。

对植物进行热激预处理可以提高植物组织的耐低温的能力。Collins 等(1993)研究发现, 热激后豌豆下胚轴在 2.5℃ 条件下生长 9 天受到的冷害比未经热激处理的对照轻。Collins 等(1995)对绿豆下胚轴的研究发现, 热激可以诱导耐冷性增加并合成特异热激蛋白 HSP79 和 HSP70, 并认为热激诱导产生的 HSP 低温时保留在绿豆下胚轴中, 从而在某种程度上增加了下胚轴组织的抗冷性。Sabehat 等(1996)将番茄果实热激后在低温(2℃)下处理, 发现热激可以提高果实的抗冷性, 其影响效果达 21 天。利用染色、放射性标记以及免疫杂交的方法研究表明, 热激产生的 HSP70、HSP18.1 和 HSP23 存在于低温处理的果实中。Sabehat 等(1998)克隆了 2 个热激诱导的番茄 sHSP 基因 *tom66H* 和 *tom111*, 并分析了它们在低温下的表达, 发现高温可以诱导这 2 个基因的表达。热激的果实转入低温后, 基因的表达量先降低后又被诱导, 据此指出低温下 sHSP 的表达可以减轻低温危害。Tom111 属于 CPsHSP 家族, 这能否表明 CPsHSP 与减轻低温伤害密切相

关, 尚需更多的证据。刘箭和庄野真理子(2001)研究发现低温能够诱导线粒体 sHSP 在叶片中表达, 然而仍然不能证明叶绿体小分子量热激蛋白是否也受低温诱导。Tsvetkova 等(2002)研究发现 sHSP 在低温条件下能够提高膜脂的流动性, sHSP 与膜的相互作用可以维持膜的完整性, 这可能是 sHSP 对冷害的保护机制之一。

在强光引起光抑制和光氧化胁迫时 CPsHSPs 可以保护 PS<sub>a</sub>。植物叶绿体是产生活性氧的主要细胞器, 因此 CPsHSPs 可能对光氧化胁迫造成的伤害有防御作用。对番茄幼苗热激处理, 叶绿体的 sHSP 组成型表达可以减轻光氧化伤害(Miyao-Tokutomi *et al.*, 1998)。Lee 等(2000a)利用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理水稻幼苗诱导叶绿体 sHSP 的合成, 他们认为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是诱导该基因表达的信号。

#### 5 CPsHSP的分子伴侣功能

CPsHSP 可以提高植物对逆境的耐性, 原因是其具有分子伴侣活性, 可以帮助蛋白正确折叠及修复。分子伴侣是一类辅助蛋白分子, 主要参与生物体内新生肽的运输、折叠、组装、定位以及变性蛋白的复性和降解。分子伴侣通过控制底物的结合与释放来协助目标蛋白的折叠与组装以及向亚细胞器的运输, 或结合并稳定目标蛋白质的不稳定构型, 但分子伴侣本身不参与到目标蛋白的最终结构中。HSP70、HSP60 和 HSP90 是热激蛋白中研究较多、较早的分子伴侣(Hendrick and Hartl, 1993)。

Landary 等(1994)研究发现, 在哺乳动物中 sHSP 与肌动蛋白细胞骨架相互作用以保护细胞结构。sHSP 提供蛋白质变性亚基的结合表面, 减少其自由碰撞, 抑制蛋白质凝聚(Jakob *et al.*, 1993; Ito *et al.*, 2003)。植物中有关 sHSP 保护蛋白和抑制热凝聚的作用最早由 Jinn 等(1989)提出, 在 55℃ 时有 50% 豌豆

蛋白受到保护而没有凝聚。Lee等(1995)提纯了植物细胞质类和类sHSP并证实它们在体外有分子伴侣活性。后来又有一些研究支持sHSP具有分子伴侣活性的观点(Haslbeck *et al.*, 1999; Stromer *et al.*, 2003; Friedrich *et al.*, 2004)。例如HSP26是一个受温度调节的分子伴侣,它可以形成大的寡聚复合体,在热激温度下其24聚体解离(Haslbeck *et al.*, 1999)。对不同温度下分子伴侣的功能进行分析表明,HSP26复合体热激时的解离是其具有分子伴侣活性的前提。HSP26和蛋白质结合产生大的球状复合物,在这个复合物中一个底物单体结合一个HSP26二聚体。大的贮藏形式的HSP26依赖温度解离成小的、有活性的形式,又可重新连接形成大的分子伴侣-底物复合物,代表了分子伴侣功能活化的新机理。对*Synechocystis* HSP17的研究(Török *et al.*, 2001)表明,热胁迫时HSP17可以降低膜的流动性,稳定膜的结构,并且结合变性蛋白,在分子伴侣介导的再折叠中起作用。另外sHSP还能和膜脂相互作用,Tsvetkova(2002)称它为膜脂的分子伴侣。

Heckathorn等(1998, 1999)研究发现CPsHSP在热胁迫时可以与其他蛋白相互作用。分别在热处理前和处理后的离体叶绿体中加入纯化的CPsHSP,可在热胁迫时保护OEC免于热变性,但是它并不能和已经热变性的蛋白相互作用。和其他HSP家族的分子伴侣作用相比,植物和哺乳动物的sHSP每一个寡聚蛋白复合体可以结合几种辅助蛋白,结合和释放亚基不需要ATP的结合及水解(Jakob *et al.*, 1993)。sHSP复合体中释放亚基效率很低,表明sHSP复合体的功能是作为非折叠蛋白的库。在HSP70的协作和依

赖ATP的条件下,sHSP结合的蛋白可以重新折叠恢复原来的状态(Ehrnsperger *et al.*, 1997; Stromer *et al.*, 2003)。

## 6 展望

对植物CPsHSP的结构和生物功能的研究才刚刚开始,在很多的领域还需进一步的研究。植物在热激时有CPsHSP生成并且被认为对耐热性特别重要,而低温胁迫时CPsHSP对植物光合机构的保护作用,热激和冷害以及其他胁迫的作用及机理的研究相对较少。

在植物体内CPsHSP是否真的具有分子伴侣的功能?如果有,在植物遭受逆境胁迫时起什么作用?利用sHSP突变体以及转基因植物研究活体内sHSP的功能的报道很少,即使离体实验,也很难说明所有的sHSP都具有分子伴侣的作用。此外,有资料显示CPsHSP定位于类囊体膜上(Glaczinski and Kloppstech, 1988; Török *et al.*, 2001),那么在基质中是否有CPsHSP?如果有,哪些在膜上,哪些在基质中?有研究认为细胞质的sHSP在细胞核质膜之间运动(Wollgehn *et al.*, 1994),那么叶绿体的sHSP是否也遵循同样的运动规律?近年来对HSP的基因及表达的研究表明,HSP分子量的多样性是由基因的多样性决定的,因此深入到基因水平的研究对认识HSP的生物学意义是有益的。不同类型植物中CPsHSP的基因分离、表达、转化和功能分析有助于揭示HSP的作用机制。

目前,我们实验室已经分离到甜椒的一种CPsHSP基因的全长cDNA(GenBank登录号为AY224603),并将其正义和反义表达载体成功地转入了烟草中,现正在做进一步的研究。

## 参考文献

李新国,段伟,孟庆伟,邹琦(2002)PSI的低温光抑制.植物生理学通讯,38:375-381

刘箭,庄野真理子(2001)番茄线粒体和内质网小分子量热激蛋白的分子克隆.植物学报,43:138-145

- Collins GG, Nie XL, Saltveit ME, (1995) Heat shock proteins and chilling sensitivity of mung bean hypocotyls. *Journal of Experimental Botany*, **46**: 795-802
- Collins GG, Nie XL, Saltveit ME (1993) Heat shock increases chilling tolerance of mung bean hypocotyls tissue. *Physiologia Plantarum*, **89**: 117-124
- Downs CA, Coleman JS, Heckathorn SA (1999a) The chloroplast 22-Ku heat-shock protein: a luminal protein that associates with the oxygen evolving complex and protects photosystem during heat stress. *Journal of Plant Physiology*, **155**: 477-487
- Downs CA, Heckathorn SA, Bryan JK, Coleman JS (1998) The methionine-rich low-molecular-weight chloroplast heat-shock protein: evolutionary conservation and accumulation in relation to thermotolerance. *American Journal of Botany*, **85**: 175-183
- Downs CA, Jones LR, Heckathorn SA (1999b) Evidence for a novel set of small heat-shock proteins that associate with mitochondria of murine PC12 nerve cells and protects NADH: ubiquinone oxidoreductase from heat stress and oxidative stress. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **365**: 344-350
- Ehrnsperger M, Gruber S, Gaestel M, Buchner J (1997) Binding of non-native protein to Hsp25 during heat shock creates a reservoir of folding intermediates for reactivation. *The EMBO Journal*, **16**: 221-229
- Friedrich KL, Giese KC, Buan NR, Vierling E (2004) Interactions between small heat shock protein subunits and substrate in small heat shock protein-substrate complexes. *Journal of Biological Chemistry*, **279**: 1080-1089
- Glaczinski H, Kloppstech K (1988) Temperature-dependent binding to the thylakoid membranes of nuclear-coded chloroplast heat-shock proteins. *European Journal of Biochemistry*, **173**: 579-583
- Härndahl U, Hall RB, Osteryoung KW, Vierling E, Bornman JF, Sundbu C (1999) The chloroplast small heat-shock protein undergoes oxidation-dependent conformational changes and may protect plants from oxidative stress. *Cell Stress & Chaperones*, **4** (2): 129-138
- Härndahl U, Sundby C (2001) Does the chloroplast small heat shock protein protect photosystem during heat stress *in vitro*? *Physiologia Plantarum*, **111**: 273-275
- Haslbeck M, Walke S, Stromer T, Ehrnsperger M, White HE, Chen S, Saibil HR, Buchner J (1999) Hsp26: a temperature-regulated chaperone. *The EMBO Journal*, **18**: 6744-6751
- Havaux M (1993) Characterization of thermal damage to the photosynthetic electron transport system in potato leaves. *Plant Science*, **94**: 19-33
- Heckathorn SA, Downs CA, Coleman JS (1999) Small heat shock proteins protect electron transport in chloroplasts and mitochondria during stress. *American Zoologist*, **39**: 865-876
- Heckathorn SA, Downs CA, Sharkey TD, Coleman JS (1998) The small, methionine-rich chloroplast heat-shock protein protects photosystem electron transport during heat stress. *Plant Physiology*, **116**: 439-444
- Heckathorn SA, Poller GJ, Coleman JS, Hallberg RL (1996) Nitrogen availability alters patterns of accumulation of heat stress-induced proteins in plants. *Oecologia*, **105**: 413-418
- Heckathorn SA, Ryan SL, Baylis JA, Wang DF, Hamilton EW, Cundiff L, Luthe DS (2002) *In vivo* evidence from an *Agrostis stolonifera* selection genotype that chloroplast small heat-shock proteins can protect photosystem during heat stress. *Functional Plant Biology*, **29**: 933-944
- Hendrick JP, Hartl FU (1993) Molecular chaperone functions of heat-shock proteins. *Annual Review of Biochemistry*, **62**: 349-384
- Ito H, Inaguma Y, Kato K (2003) Small heat shock proteins participate in the regulation of cellular aggregates of misfolded protein. *Nippon Yakurigaku*

- Zasshi, **121(1)**: 27-32
- Jakob U, Gaestel M, Engel K, Buchner J (1993) Small heat shock proteins are molecular chaperones. *Journal of Biological Chemistry*, **268**: 1515-1520
- Jinn TL, Yeh YC, Chen YH, Lin CY (1989) Stabilization of soluble proteins *in vitro* by heat shock proteins-enriched ammonium sulfate fraction from soybean seedlings. *Plant and Cell Physiology*, **30**: 463-469
- Kloppstech K, Meyer G, Ohad I (1985) Synthesis, transport and localization of a nuclear coded 22-kD heat-shock protein in the chloroplast membranes of peas and *Chlamydomonas reinhardtii*. *The EMBO Journal*, **4**: 1901-1909
- Knight CA, Ackerly DD (2001) Correlated evolution of chloroplast heat shock protein expression in closely related plant species. *American Journal of Botany*, **42**: 313-349
- Lafayette PR, Nagao RT, O'Grady K, Vierling E, Key JL (1996) Molecular characterization of cDNAs encoding low-molecular-weight heat shock proteins of soybean. *Plant Molecular Biology*, **30**: 159-169
- Landry SJ, Giersch LM (1994) Polypeptide interactions with molecular chaperones and their relationship to *in vivo* protein folding. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, **23**: 645-669
- Lee BH, Won SH, Lee HS, Miyao M, Chung WI, Kim IJ, Jo J (2000a) Expression of the chloroplast-localized small heat shock protein by oxidative stress in rice. *Gene*, **245**: 283-290
- Lee GJ, Pokala N, Vierling E (1995) Structure and *in vitro* molecular chaperone activity of cytosolic small heat shock proteins from pea. *Journal of Biological Chemistry*, **270**: 10432-10438
- Lee S, Owen HA, Prochaska DJ, Barnum SR (2000b) HSP16.6 is involved in the development of thermotolerance and thylakoid stability in the unicellular cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC6803. *Current Microbiology*, **40**: 283-287
- Lee S, Prochaska DJ, Fang F, Barnum SR (1998) A 16.6-kilodalton protein in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803 plays a role in the heat shock response. *Current Microbiology*, **37**: 403-407
- Lindquist S, Craig EA (1988) The heat shock proteins. *Annual Review of Genetics*, **22**: 631-677
- Miyao-Tokutomi M, Lee BH, Mizusawa N, Yamamoto N (1998) Active oxygen and photoinhibition of photosystem . In: Garab G ed. *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*, Vol . Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, pp. 2079-2102
- Nakamoto H, Suzuki N, Roy SK (2000) Constitutive expression of a small heat-shock protein confers cellular thermotolerance and thermal protection to the photosynthetic apparatus in cyanobacteria. *FEBS Letters*, **483**: 169-174
- Prandl R, Kloske E, Schoffl F (1995) Developmental regulation and tissue-specific differences of heat shock gene expression in transgenic tobacco and *Arabidopsis* plants. *Plant Molecular Biology*, **28**: 73-82
- Preczewski P, Heckathorn SA, Downs CA, Coleman JS (2000) Photosynthetic thermotolerance is positively and quantitatively correlated with production of specific heat-shock proteins among nine genotypes of tomato. *Photosynthetica*, **38**: 127-134
- Sabehat A, Lurie S, Weiss D (1998) Expression of small heat-shock proteins at low temperatures. *Plant Physiology*, **117**: 651-658
- Sabehat A, Weiss D, Lurie S, (1996) The correlation between heat-shock protein accumulation and persistence and chilling tolerance in tomato fruit. *Plant Physiology*, **110**: 531-547
- Sato Y, Murakami T, Funatsuki H, Matsuki S, Saruyama H, Tanida M (2001) Heat shock-mediated APX gene expression and protection against chilling injury in rice seedlings. *Journal of Experimental Botany*, **52**: 145-151

- Schuster G, Even D, Kloppstech K, Ohad I (1988) Evidence for protection by heat-shock protein against photoinhibition during heat-shock. *The EMBO Journal*, **7**: 1-6
- Stromer T, Ehrnsperger M, Gaestel M, Buchner J (2003) Analysis of the interaction of small heat shock proteins with unfolding proteins. *Journal of Biological Chemistry*, **278**: 18015-18021.
- Török Z, Goloubinoff P, Horvath I, Tsvetkova NM, Glatz A, Balogh G, Varvasovszki V, Los D, Vierling E, Crowe JH, Vigh L (2001) Synechocystis HSP17 is an amphitropic protein that stabilizes heat-stressed membranes and binds denatured proteins for subsequent chaperone-mediated refolding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **98**: 3098-3103
- Tsvetkova NM, Horvath I, Török Z, Wolkers WF, Balogi Z, Shigapova N, Crowe LM, Tabin F, Vierling E, Crowe JH, Vigh L (2002) Small heat-shock proteins regulate membrane lipid polymorphism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **99**: 13504-13509
- Vierling E (1991) The roles of heat shock proteins in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **42**: 579-620
- Vierling E, Mishkind ML, Schmidt GW, Key JL (1986) Specific heat shock proteins are transported into chloroplasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **83**: 361-365
- Wang D, Luthe DS (2003) Heat sensitivity in a bentgrass variant. Failure to accumulate a chloroplast heat shock protein isoform implicated in heat tolerance. *Plant Physiology*, **133**: 319-327
- Waters ER, Lee GJ, Vierling E (1996) Evolution, structure and function of the small heat shock protein in plants. *Journal of Experimental Botany*, **47**: 325-338
- Waters ER, Vierling E (1999) Chloroplast small heat shock proteins: evidence for atypical evolution of an organelle-localized protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **96**: 14394-14399
- Wollgehn R, Neumann D, zur Nieden U, Musch A, Scharf KD, Nover L (1994) Intracellular distribution of small heat stress proteins in cultured cells of *Lycopersicon peruvianum*. *Journal of Plant Physiology*, **150**: 491-499