

一个水稻小热休克蛋白的异源表达及寡聚特性分析

蔡年俊^{1,2} 郭留明^{1,2} 李静² 项聪英^{1,2} 羊健² 陈剑平^{2,*} 张恒木^{2,*}

(¹ 浙江师范大学 化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004; ² 浙江省农业科学院 病毒学与生物技术研究所, 杭州 310021; *通讯联系人, E-mail: zhhengmu@tsinghua.org.cn)

Heterologous Expression and Oligomeric Identification of a Small Heat Shock Protein (SHSP) from *Oryza sativa*

CAI Nianjun^{1,2}, GUO Liuming^{1,2}, LI Jing², XIANG Congying^{1,2}, YANG Jian², CHEN Jianping^{2,*}, ZHANG Hengmu^{2,*}

(¹ College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China; ² State Key Laboratory Breeding Base for Zhejiang Sustainable Pest and Disease Control, Key Laboratory of Biotechnology in Plant Protection of MOA and Zhejiang Province, Institute of Virology and Biotechnology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; *Corresponding author, E-mail: zhhengmu@tsinghua.org.cn)

Abstract: 【Objective】In our previous study, a small heat shock protein gene *OsSHSP17.6* was cloned from *Oryza sativa* and its expression was shown to be significantly up-regulated by heat shock or viral infection, suggesting that the *OsSHSP17.6* could play an important role in both biotic and abiotic stress responses. In this study, our objective is to further identify the characteristics of *OsSHSP17.6*. 【Method】The *OsSHSP17.6* gene was sub-cloned into the plasmid pET-32a, a prokaryotic expression vector, and transformed into *Escherichia coli* BL21(DE3)pLysS for inducible expression. Then the recombinant protein was purified with affinity chromatography and used for native PAGE and Western-blotting assays. 【Result】Its heterologous expression appeared to alleviate the poisonous effect of IPTG on the host *E. coli*. Native PAGE and Western-blotting assays showed that the purified recombinant *OsSHSP17.6* could form homological dimers and oligomer *in vitro*. 【Conclusion】Taken together, these findings supported the hypothesis that the protein should be functional molecular chaperone *in vivo* and indicated that *OsSHSP17.6* could be involved in the stress response by its homological oligomerization, which could contribute to the functional identification of *OsSHSP17.6*.

Key words: small heat shock protein (SHSP); heterologous expression; oligomerization

摘要: 【目的】在前期研究中, 本实验室已克隆了一个水稻小热休克蛋白基因(*OsSHSP17.6*), 并发现该基因的表达明显受到热激和病毒侵染调控, 表明该蛋白可能在逆境胁迫过程中起重要作用。本研究的目的在于进一步明确 *OsSHSP17.6* 的特性。【方法】在本研究中, 进一步将该基因亚克隆至原核表达载体 pET-32a 并导入大肠杆菌 *E. coli* BL21(DE3)pLysS 诱导表达, 通过亲和层析的方法纯化了该重组蛋白, 进一步用于非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和 Western blotting 分析。【结果】异源表达的重组 *OsSHSP17.6* 能减轻 IPTG 对宿主菌的毒害。非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和 Western blotting 分析显示纯化的重组 *OsSHSP17.6* 蛋白在体外能形成同源二聚体和寡聚体。【结论】这些结果支持 *OsSHSP17.6* 是一个有功能的分子伴侣蛋白并表明该蛋白可能通过形成同源寡聚体的方式参与逆境胁迫反应, 这为进一步明确 *OsSHSP17.6* 的功能机制奠定基础。

关键词: 小热休克蛋白; 异源表达; 寡聚化作用

中图分类号: Q755; S511.032

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2017)05-0483-06

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是一类高度保守的、分子量在 10~200 kD 之间的分子伴侣蛋白, 其中小热休克蛋白(small heat shock protein, SHSP)的分子量大小一般在 15~30 kD, 且在充当分子伴侣时不依赖 ATP^[1,2]。SHSP 广泛存在于各类生

物细胞中且含量丰富, 在重金属、干旱、冷冻和氧化胁迫等诸多非生物逆境以及细胞凋亡、分化等发育过程中发挥重要功能^[3-5]。作为动植物抗逆过程中的一道防线, SHSP 在进化过程中呈现复杂性。据统计, 哺乳动物中含有 4 个 SHSP, 果蝇中有 4 个

收稿日期: 2017-01-18; 修改稿收到日期: 2017-02-21。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31601603); 浙江省自然科学基金资助项目(LQ14C140003)。

SHSP, 细菌中有2个SHSP^[6], 而拟南芥中至少有19个SHSP^[7], 表明植物SHSP种类更为丰富多样。根据进化树分析, 植物SHSP至少被分为14个亚类(subfamilies), 亚细胞定位预测显示, 这些SHSP可能定位于不同的细胞器, 包括细胞质、细胞核、叶绿体、线粒体、内质网、过氧化物体^[7]。SHSP在不同细胞器中定位至少在一定程度上反应植物SHSP的功能多样性。最近的报道显示, 植物SHSP不仅参与保护植物免受非生物逆境的伤害, 还可能参与病毒等生物逆境响应过程^[8], 但对于它们的功能机制仍然了解很少。

在前期的研究中, 本实验室在研究水稻条纹病毒与水稻互作的过程中首次发现病毒侵染可改变SHSP在水稻细胞内的定位和分布模式, 并且水稻条纹病毒复制酶可特异性地与水稻中一个SHSP在细胞质中相互作用, 表明SHSP参与病毒与水稻间的互作过程^[8]。基因克隆鉴定显示, 该SHSP分子量大小约17.6 kD; 序列分析显示该类SHSP在不同的植物中是保守的, 在分类上隶属于CI类; 实时定量RT-PCR和Western blotting分析显示热激处理和病毒侵染都显著影响该基因的表达, 且该蛋白可能存在寡聚体的形式^[9]。为了进一步确定该SHSP的生物学功能, 本研究进一步通过异源重组表达并利用纯化蛋白分析该蛋白的寡聚特性。

1 材料与方法

1.1 材料

所用的水稻品种为日本晴。大肠杆菌菌株DH5 α 由北京全式金生物有限公司提供; pGEM-T Easy载体购自Promega公司; SDS-PAGE低分子量蛋白标准购自Invitrogen公司; T₄DNA连接酶购自TaKaRa公司; 质粒小提试剂盒购自康为世纪生物科技有限公司; HSP20抗体由本实验室制备保存; 表达载体pET-32a(+)购自Novagen公司; 本实验所需的引物由上海博尚生物技术有限公司合成。

1.2 三维结构分析

通过HOMCOS程序(<http://homcos.pdbj.org/>)对蛋白进行三维结构预测, 并采用Rasmol软件(<http://www.openRasmol.org>)对模型结构进行分析。

1.3 原核表达载体构建

*OsSHSP17.6*扩增及其克隆参照项聪英等^[9]。取水稻cDNA(约1~5 ng)作模板, 采用基因特异性上游引物OsSHSP-F(CGCGGATCCATGTCGCTGATCCGCCGAG, 划线部位为BamH I识别位点)

和下游引物OsSHSP-R(GCGAGCTCCTAGCCGGAGATCTGGATG, 划线部位为Sac I识别位点), 按项聪英等^[9]的方法和反应条件进行PCR并构建克隆载体。获得克隆载体后取1~2 μ g, 依次加入2 μ L 10 \times 酶切反应缓冲液、1 μ L BamH I和Sac I及ddH₂O至终体积为20 μ L, 在37 $^{\circ}$ C水浴条件下酶切3 h, 酶切产物经琼脂糖凝胶电泳检测后回收纯化目的基因片段, 然后将其连接至同样双酶切的原核表达载体pET-32a质粒上, 连接反应体系如下: 7 μ L目的片段(50~200 ng)、1 μ L表达载体pET-32a质粒(约50 ng)、1 μ L 10 \times 连接反应缓冲液、1 μ L T₄DNA连接酶, 总体积10 μ L, 4 $^{\circ}$ C下连接反应约12 h; 并将连接产物转化大肠杆菌DH5 α , 通过菌液PCR、双酶切和测序鉴定筛选含有目的基因片段的重组子。

1.4 原核表达及重组蛋白纯化

将含有目的基因的表达体质粒导入表达菌株*E. coli* BL21(DE3)pLysS, 接种于含氨苄抗生素的固体LB培养基中, 37 $^{\circ}$ C下培养过夜; 第2天转接至液体培养基振荡培养, 当OD₆₀₀值约0.6时加入异丙基- β -D-硫代半乳糖苷(IPTG)继续振荡培养1~3 h。然后离心收集菌体, 加入苯甲基磺酰氟(Phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)至其终浓度为1 mmol/L; 菌体经超声波裂解后, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min下离心25 min, 收集上清; 再按照商家说明使用Ni柱从上清液中亲和层析纯化目的重组蛋白。

1.5 非变性PAGE、SDS-PAGE和Western blot分析

ProtParam程序分析(<http://web.expasy.org/protparam/>)显示OsSHSP17.6蛋白为酸性蛋白, 因此我们选用分离酸性蛋白的缓冲液[10 \times Tris-Gly电泳缓冲液: 0.25 mol/L三羟甲基氨基甲烷(Trisbase), 1.92 mol/L甘氨酸, pH 8.8]、4%浓缩胶[0.5 mL丙烯酰胺(30%)、1.25 mL Tris-HCl(0.5 mol/L, pH 6.8)、3.2 mL ddH₂O、50 μ L 10%过硫酸铵、5 μ L四甲基乙二胺]、9%分离胶[3 mL丙烯酰胺(30%)、2.5 mL Tris-HCl(1.5 mol/L, pH 8.8)、4.5 mL ddH₂O、50 μ L 10%过硫酸铵、5 μ L四甲基乙二胺]进行非变性凝胶电泳; SDS-PAGE参照梁国栋^[10]的方法进行。总蛋白或纯化的重组蛋白经电泳分离后, 通过电转移法将蛋白质转印到硝酸纤维素膜上, 用OsSHSP17.6兔抗作为一抗, 参照梁国栋^[10]的方法进行蛋白质印迹分析, 利用ECL Western Blot试剂盒按照商家说明进行显色反应, 应用Amersham imager 600(美国GE公司)成像系统获取图像信号。

2 结果与分析

2.1 OsSHSP17.6 结构预测

为了研究 OsSHSP17.6 蛋白的特性, 首先利用该蛋白的一级结构序列(158 aa)进行二级结构分析, 结果显示该蛋白含有 3 个 α -螺旋, 8 个 β -折叠; 其 C-端部分 (52-143 aa) 的 α -晶体蛋白结构域 (α -crystallin domain, ACD)(92 aa)^[11] 中含有 7 个 β -折叠(图 1-A), 这与其他小热休克蛋白的二级结构相似^[6]; 因此, 我们进一步采用同源建模方式分析该蛋白的三维结构(图 1-B~D), 表明 OsSHSP17.6 蛋白中不仅存在 α -螺旋(红色部分)、 β -折叠(黄色部分)结构, 还存在 β -转角(Turn)(淡蓝色部分)以及其他无定形结构(白色部分)。在结构模型中, 该蛋白还能够形成同源二聚体(图 1-C)或寡聚体(图 1-D), 表明该蛋白可能以同源聚合的方式发挥作用。在二聚体结构模型中, 邻近的 2 个 OsSHSP17.6 蛋白分子的 ACD 结构域均形成反向平行的 β -折叠且相互靠近, 表明 ACD 结构域及其中的 β -折叠在同源互作形成二聚体过程中可能起关键作用; 在同源十二聚体中, 一个单体 N-端的 α -螺旋和 C-端无规则区域和相邻单体也相互靠近, 表明 OsSHSP17.6 蛋白的 N-和 C-端也可能在形成寡聚体过程中起一定作用。

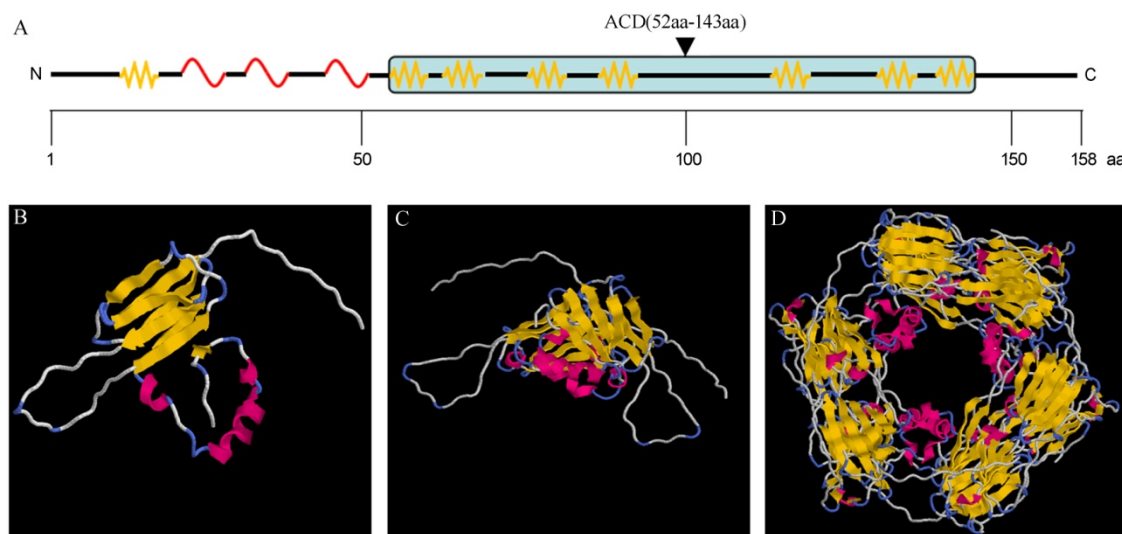
2.2 OsSHSP17.6 载体构建及其重组蛋白的表达分析

为了构建 OsSHSP17.6 基因的原核表达载体,

我们首先通过双酶切实验从其克隆载体上切下目的片段, 再亚克隆至原核表达载体质粒 pET-32a 并导入大肠杆菌 DH5 α , 双酶切、PCR 鉴定(图 2-A)一致表明插入片段大小与预期一致, 测序分析进一步表明所筛选的重组子含有目的基因片段, 且阅读框架正确, 表明我们获得正确的重组原核表达载体质粒 pET-OsSHSP17.6。为了表达 OsSHSP17.6 重组蛋白, 重组质粒 pET-OsSHSP17.6 转化至表达菌株 *E. coli* BL21 (DE3) pLysS, 并且在含有 IPTG 的条件下诱导表达 1-3 h; 收集诱导表达后的菌液用于提取总蛋白, 采用 SDS-PAGE 进行检测分析结果显示(图 2-B), 在含重组质粒 pET-OsSHSP17.6 的表达菌株样品中均存在一条分子量约 36 kD 的条带, 这与预期重组蛋白的大小一致(推测的目的蛋白分子量约为 17.6 kDa, 此外表达载体 pET-32a 载体上还有一段包含有 Trx-、His-、S-Tag 分子量近 18.2 kD 的融合肽段, 因此, 重组蛋白的分子量约 36 kD), 表明重组 OsSHSP17.6 蛋白已在大肠杆菌中高水平表达。随着诱导时间的增加, 重组蛋白的表达量也略有增加(图 2-B, 第 7~9 泳道)。

2.3 重组 OsSHSP17.6 蛋白对宿主菌的保护作用分析

为了确定原核表达重组 OsSHSP17.6 蛋白是否有活性, 我们进一步比较分析 IPTG 处理条件下含载体 pET-32a 和 pET-OsSHSP17.6 宿主菌的生长特点。当液体培养基中不加 IPTG 时, 含 pET-32a 的宿主菌和含 pET-OsSHSP17.6 宿主菌的生长曲线基

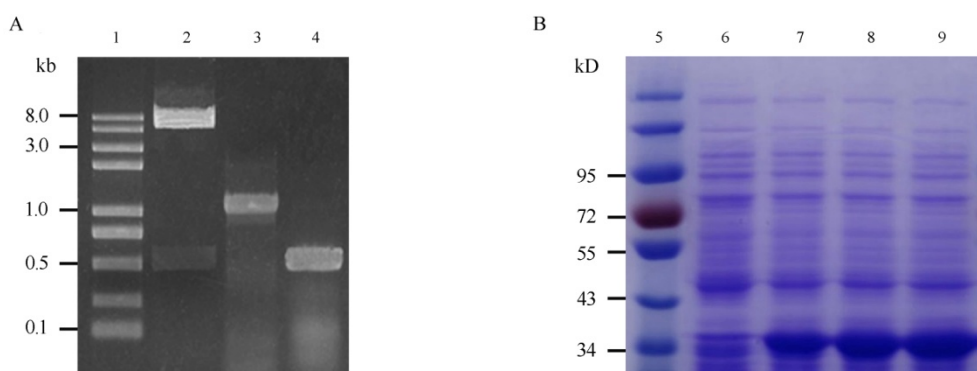


A—二级结构示意图; B—单体结构; C—二聚体结构; D—十二聚体结构。

A, Secondary structure; B, Monomer; C, Homodimer; D, 12-mer.

图1 OsSHSP17.6 二级及高级结构预测

Fig. 1. Secondary and tertiary structure predictions of OsSHSP17.6.

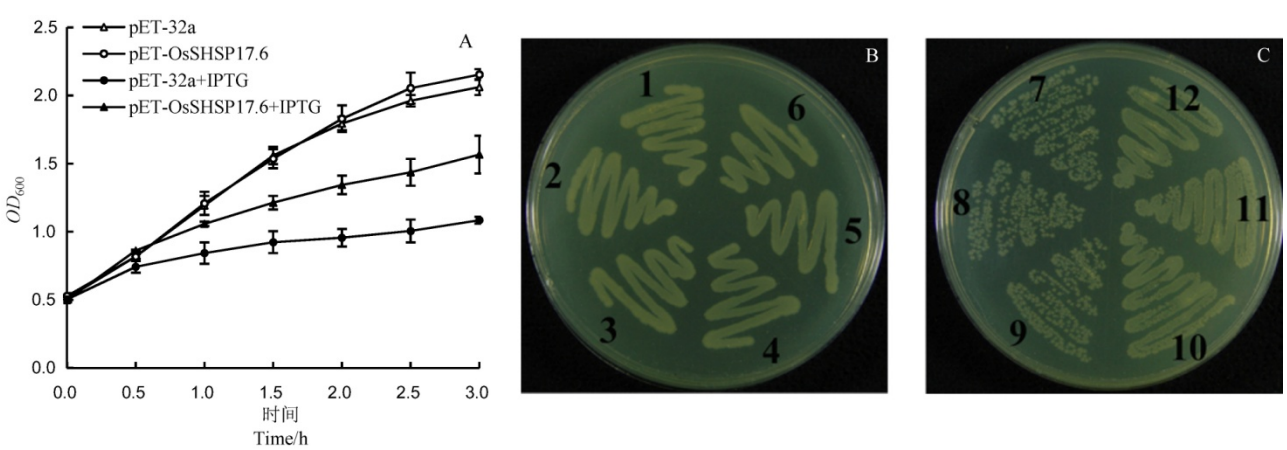


第 1 泳道为 DNA 标记; 第 2 泳道为质粒 pET-OsSHSP17.6 的 *Bam*H I 和 *Sac* I 双酶切鉴定; 第 3 泳道为载体特异性上游引物 T7 与基因特异性下游引物 OsSHSP-R 的 PCR 扩增鉴定; 第 4 泳道为用基因特异引物对 OsSHSP-F/-R 的 PCR 扩增鉴定; 第 5 泳道为蛋白标记; 第 6 泳道为仅含 pET-32a(+)载体的 *E. coli* BL21 (DE3) pLysS 宿主菌; 第 7、8、9 泳道分别为诱导 1、2、3 h 含 pET-OsSHSP17.6 的宿主菌。

Lane 1, DNA marker; Lane 2, Digestion of pET-OsSHSP17.6 by *Bam*H I and *Sac* I; Lane 3, PCR products amplified with upstream vector-specific primer T7 and downstream *OsSHSP17.6*-specific primer OsSHSP-R; Lane 4, PCR products amplified with *OsSHSP17.6*-specific primers OsSHSP-F/-R; Lane 5, Protein marker; Lanes 6, *E. coli* BL21(DE3) pLysS transformed with plasmid pET-32a(+); Lanes 7-9, *E. coli* BL21 (DE3) pLysS harboring recombinant plasmid pET-OsSHSP17.6 induced by IPTG for 1, 2, and 3 h, respectively.

图 2 重组质粒 pET-OsSHSP17.6 的鉴定(A)及其重组表达分析(B)

Fig. 2. Identification of recombinant plasmid pET-OsSHSP17.6(A) and detection of recombinant OsSHSP17.6 (B) in *E. coli*.



A—液体 LB 培养中 OsSHSP17.6 蛋白表达菌株的生长曲线; B—LB 平板培养中 OsSHSP17.6 蛋白表达菌株生长情形。1~3—在无 IPTG 条件下平板培养含 pET-32a(+)质粒的菌株生长; 4~6—在无 IPTG 条件下平板培养含 pET-OsSHSP17.6 质粒的菌株; 7~9—在 1 mmol/L IPTG 条件下平板培养含 pET-32a(+)质粒的菌株; 10~12—在 1 mmol/L IPTG 条件下平板培养含 pET-OsSHSP17.6 质粒的菌株。

A, Growth curves of *E. coli* expressing the recombinant OsSHSP17.6 proteins in liquid LB medium; B, Growth of *E. coli* expressing the recombinant OsSHSP17.6 proteins on LB plates. 1 to 3, *E. coli* containing the plasmid pET-32a(+) on plates without IPTG; 4 to 6, *E. coli* containing the plasmid pET-OsSHSP17.6 on plates without IPTG; 7 to 9, *E. coli* containing the plasmid pET-32a(+) on plates with 1 mmol/L IPTG; 10 to 12, *E. coli* containing the plasmid pET-OsSHSP17.6 on plates with 1 mmol/L IPTG.

图 3 重组 OsSHSP17.6 蛋白的活性分析

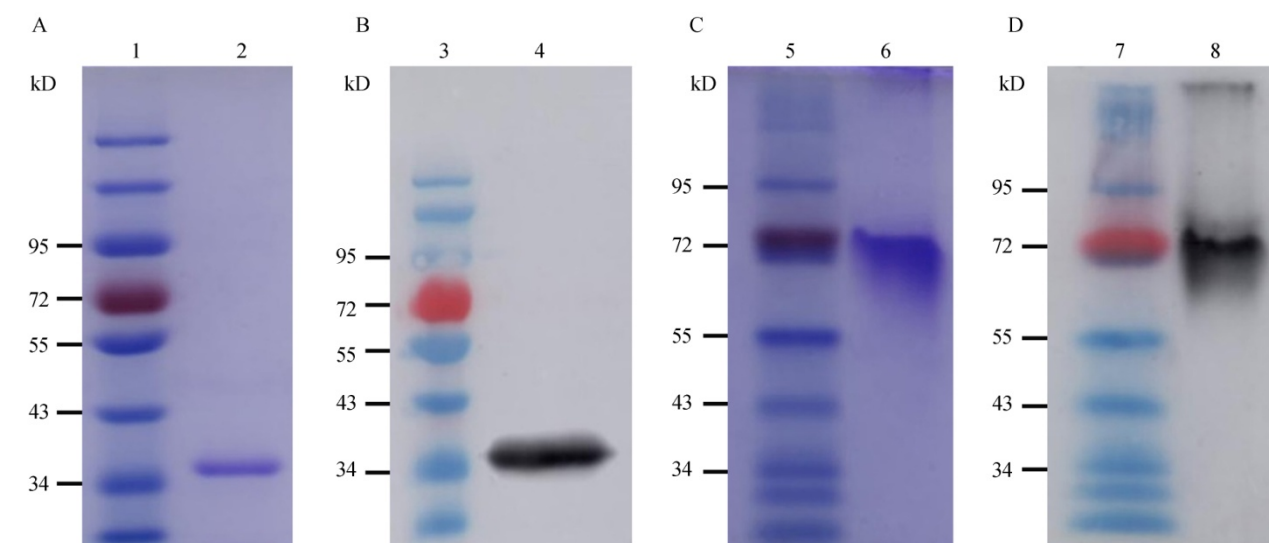
Fig. 3. Activity assays of recombinant OsSHSP17.6 protein in *E. coli*.

本一致; 当加入 IPTG 时, 二者的生长受到不同程度的抑制(图 3-A), 很显然携带载体 pET-OsSHSP17.6 宿主菌要比含 pET-32a 的宿主菌生长得快。利用固体培养基进行 IPTG 的处理实验也得到相似结果(图 3-B), 以上表明原核表达的重组 OsSHSP17.6 蛋白具有生物学活性, 且可大幅减轻 IPTG 对宿主菌的生长抑制作用; 证实 OsSHSP17.6

蛋白和其他植物小热休克蛋白相似^[2,12-14], 具有增强细胞抗逆境胁迫能力的推测^[9]。

2.4 重组 OsSHSP17.6 蛋白的聚合特性分析

重组表达的 *OsSHSP17.6* 具有生物活性, 且结构预测显示该蛋白可能具有形成寡聚体的特性。为了确定该蛋白的存在形式, 我们又采用亲和层析的方法从宿主菌超声波裂解液的上清液中提取并纯



A—SDS-PAGE; B—经 SDS-PAGE 分离后进行 western blot 分析; C—非变性 PAGE; D—经非变性 PAGE 分离后进行 Western blot 分析; 第 1、3、5、7 泳道为蛋白标记; 第 2、4、6、8 泳道 2 为纯化的重组 OsSHSP17.6 蛋白样品。

A, SDS-PAGE; B, Western blot via SDS-PAGE; C, Native PAGE; D, Western blot via native PAGE. Lanes 1, 3, 5, and 7, Protein marker; Lanes 2, 4, 6, and 8, Purified recombinant OsSHSP17.6 proteins.

图 4 PAGE 和 Western blot 分析纯化的重组 OsSHSP17.6 蛋白

Fig. 4. Assays of purified recombinant OsSHSP17.6 proteins by PAGE and Western blot.

化重组表达的蛋白。检测结果显示纯化产物在 SDS-PAGE 中仅有一条与预期大小一致的特异条带(图 4-A),进一步通过 Western blot 分析显示该条带可与 OsSHSP17.6 特异性多克隆抗体发生强烈的免疫学反应(图 4-B),表明我们获得了纯化的重组 OsSHSP17.6 蛋白。为了验证该重组蛋白是否具有同源聚合活性,我们又对纯化产物进行了非变性(native)PAGE 分析,结果显示该产物在约 70 kD 处存在一条特异性条带(图 4-C),但在约 36 kD 处并没有条带;当通过 Western blotting 检测时,发现在纯化产物中在 36 kD 处也未发现条带,除了在约 70 kD 处存在一条特异性主要条带之外,还在高分子量(约 200 kD)处存在一条弱带(图 4-D),根据分子量估计,推测可能是少量的同源六聚体。这些结果一致性地表明在纯化的重组 OsSHSP17.6 蛋白不是以单体形式存在,而是主要以同源二聚体形式存在,小部分以更高同源聚合体形式存在。这与其他有关小热休克蛋白寡聚体特性的报道一致^[6,7,15],表明异源表达的重组 OsSHSP17.6 蛋白具有自发的同源聚合特性。但是从本研究结果来看,异源表达的重组 OsSHSP17.6 蛋白主要形成同源二聚体(图 4-D);根据三维结构模型预测的同源十二聚体却未检测到。有研究表明小热休克 N-和 C-端的氨基酸组成及其构型在小热休克分子聚合物形成过程中发挥重要功能^[6,11,16-20];前面的三维结构模型预测表明

OsSHSP17.6 的 N-和 C-端可能在十二聚体中起重要作用,推测该重组蛋白 N-端融合的 Tag 可能影响 OsSHSP17.6 的正确折叠,从而阻碍了十二聚体的形成,但确切的机制仍有待进一步鉴定。

参考文献:

- [1] Miernyk J A. Protein folding in the plant cell. *Plant Physiol*, 1999, 121(3): 695-703.
- [2] Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2003, 42(4): 579-620.
- [3] Arrigo A P. Small stress proteins: Chaperones that act as regulators of intracellular redox state and programmed cell death. *Biol Chem*, 1998, 379(1):19-26.
- [4] Kappe G, Leunissen J A, DeJong W W. Evolution and diversity of prokaryotic small heat shock proteins. *Prog Mol Subcell Biol*, 2002, 28: 12-17.
- [5] Zou J, Liu A, Chen X, Zhou X, Gao G, Wang W. Expression analysis of nine rice heat shock protein genes under abiotic stresses and ABA treatment. *Plant Physiol*, 2009, 166(8): 851-861.
- [6] Haslbeck M, Franzmann T, Weinfurter D, Buchner J. Some like it hot: The structure and function of small heat shock proteins. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, 12(10): 842-846.
- [7] Scharf KD, Siddique M, Vierling E. The expanding family of Arabidopsis thaliana small heat stress proteins and a new family of proteins containing alpha-crystallin

- domains (Acid proteins). *Cell Stress Chaperones*, 2001, 6(3): 225-237.
- [8] Li J, Xiang C Y, Yang J, Chen J P, Zhang H M. Interaction of HSP20 with a viral RdRp changes its sub-cellular localization and distribution pattern in plants. *Sci Rep*, 2015, 5: 14016.
- [9] 项聪英, 蔡年俊, 李静, 羊健, 陈剑平, 张恒木. 一个水稻小热休克蛋白基因的克隆和鉴定. *中国水稻科学*, 2016, 30(6): 587-592.
Xiang C Y, Cai N J, Li J, Yang J, Chen J P, Zhang H M. Cloning and characterization of a small heat shock protein (SHSP) gene in rice plant. *Chin J Rice Sci*, 2016, 30(6): 587-592. (in Chinese with English abstract)
- [10] 梁国栋. 最新分子生物学实验技术. 北京: 科学出版社, 2001.
Liang G D. The Newest Experimental Techniques of Molecular Biology. Beijing: Science Press, 2001. (in Chinese)
- [11] MacRae T H. Structure and function of small heat shock/alpha-crystallin proteins: Established concepts and emerging ideas. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57(06): 899-913.
- [12] Wang W, Vinocur B, Shoseyov O, Altman A. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends Plant Sci*, 2004, 9(5): 244-252.
- [13] Seo J S, Lee Y M, Park H G, Lee J S. The intertidal copepod *Tigriopus japonicus* small heat shock protein 20 gene (*Hsp20*) enhances thermotolerance of transformed *Escherichia coli*. *Biochem Biophysical Res Commun*, 2006, 340(3): 901-908.
- [14] Satoru T. Analytical assays of human HSP27 and thermal-stress survival of *Escherichia coli* cells that overexpress it. *Biochem Biophysical Res Commun*, 2006, 341(4): 1252-1256.
- [15] DeJong W W, Caspers G J, Leunissen J A. Genealogy of the alpha-crystallin-small heat-shock protein superfamily. *Intl J Biol Macromol*, 1998, 22(3): 151-162.
- [16] Gusev N B, Bogatcheva N V, Marston S B. Structure and properties of small heat shock proteins (sHsp) and their interaction with cytoskeleton proteins. *Biochemistry (Moscow)*, 2002, 67(5): 511-519.
- [17] van Montfort R, Slingsby C, Vierling E. Structure and function of the small heat shock protein/alpha-crystallin family of molecular chaperones. *Adv Protein Chem*, 2002, 59(59): 105-156.
- [18] Narberhaus F. Alpha-crystallin-type heat shock proteins: socializing minichaperones in the context of a multichaperone network. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2002, 66(1): 64-93.
- [19] Cooper L F, Uoshima K. Differential estrogenic regulation of small Mr heat shock protein expression in osteoblasts. *J Biol Chem*, 1994, 269(11): 7869-7873.
- [20] Boelens WC, Croes Y, De R M, De R L, De Jong W W. Negative charges in the C-terminal domain stabilize the alphaB-crystallin complex. *J Biol Chem*, 1998, 273(43): 28085-28090.

《植物遗传资源学报》2018 年征订启事

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院作物科学研究所和中国农学会主办的学术期刊, 中国科技核心期刊、全国中文核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD)核心期刊, 被国内多家数据库收录, 被 CA 化学文摘(美)(2014)收录, 荣获 2015 年度中国自然资源学会高影响力十佳期刊。据《中国科技期刊引证报告》(核心版)统计, 2016 年影响因子 1.181, 在农艺学类期刊中排名第 3。据 CNKI《中国学术期刊影响因子年报》统计, 2016 年复合影响因子 1.495, 在 48 种农艺学类期刊排名第 4, 期刊综合影响因子 1.256。

报道内容为有关植物遗传资源基础理论研究、应用研究方面的研究成果、创新性学术论文和高水平综述或评论。如种质资源的考察、收集、保存、评价、利用、创新, 信息学、管理学等; 起源、演化、分类等系统学; 基因发掘、鉴定、克隆、基因文库建立、遗传多样性研究。

双月刊, A4 开本, 216 页, 彩色铜版纸印刷。定价 68 元, 全年 408 元。各地邮局发行。邮发代号: 82-643。国内连续出版物号 CN11-4996/S, 国际连续出版物号 ISSN1672-1810。本刊编辑部常年办理订阅手续, 如需邮挂每期另加 3 元。

地址: 北京市中关村南大街 12 号 《植物遗传资源学报》编辑部; 邮编: 100081

电话: 010-82105794; 010-82109494

网址: <http://www.zwyczy.cn>

E-mail: zwyczyxb2003@163.com; zwyczyxb2003@caas.cn; zwyczyxb2003@sina.com

微信 ID: 植物遗传资源学报

作者 QQ 群: 372958240