

大豆 DNA 去甲基化酶 *IDM1* 基因 5'调控区生物信息学分析

方淑梅¹, 韩毅强¹, 张文慧², 洪艳华², 李丹丹², 范金辉¹, 梁喜龙²

(1. 黑龙江八一农垦大学 生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319; 2. 黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要: 利用生物信息学方法分析了 *IDM1* 基因在大豆中的存在状况及其 5'调控区的启动子序列、甲基化位点及转录因子结合位点的分布情况。结果表明: *IDM1* 基因在大豆中存在 2 个拷贝 Glyma12g35760 和 Glyma13g34641, 并且在表达时存在选择性剪接。对 5'端的 -2 000 ~ 200 bp 序列分析发现, Glyma12g35760 存在 1 段可能的启动子序列, 1 个 CpG 岛, 大小为 133 bp, 位于 495 ~ 627 核酸序列之间, 存在 5 个可能的转录因子结合位点, 转录因子有 SBF-1 和 athb-1 两种; Glyma13g34641 存在 8 段可能的启动子序列, 无 CpG 岛, 存在 6 个可能的转录因子结合位点, 转录因子有 P, SBF-1, MYB. Ph。该分析结果可为 *IDM1* 基因在大豆中的试验研究提供有价值的参考。

关键词: 大豆; DNA 去甲基化酶; *IDM1*; 生物信息学

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2014.04.0483

Bioinformatics Analysis on 5' Regulatory Region Sequence of DNA Demethylatase Gene *IDM1* in Soybean

FANG Shu-mei¹, HAN Yi-qiang¹, ZHANG Wen-hui², HONG Yan-hua², LI Dan-dan², FAN Jin-hui¹, LIANG Xi-long²

(1. College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2. Agronomy College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: The condition of *IDM1* gene in soybean was investigated, and the promoter sequences, methylation sites and transcription factor binding sites of 5' regulatory region were analyzed by bioinformatics methods. The results indicated that *IDM1* gene contained two copies of Glyma12g35760 and Glyma13g34641 in soybean and alternative splicing occurred during gene expression. Glyma12g35760 may had one promoter sequence, one CpG island with 133 bp length between 495-627 nucleotides. There were five potential transcription factor binding sites combined two transcription factors of SBF-1 and athb-1. Glyma12g35760 may contain eight promoter sequences but no CpG island. There were six potential transcription factor binding sites combined three transcription factors of P, SBF-1 and MYB. Ph. These results can provide very valuable information for experimental research of *IDM1* gene in soybean.

Key words: Soybean; DNA demethylatase; *IDM1*; Bioinformatics

基因表达调控是生物经过长期的适应和进化而形成的精密而严谨的调节基因表达的过程,也是生物得以生存和进化的前提。基因表达调控可以发生在基因表达的任何环节,但是通常认为,转录起始是基因表达调控的基本控制点,通过反式作用因子与顺式作用元件的结合而调节 RNA 聚合酶活性,从而赋予基因表达以特定的时间和空间特异性。真核生物的顺式作用元件主要位于 5'调控区,通常含有启动子序列和转录因子结合位点,对于下游基因的表达活性具有决定性作用。

IDM1 (Increased DNA Methylation 1) 是最先在拟南芥中发现的一种组蛋白 H3 乙酰转移酶 (histone H3 acetyltransferase), 它能够通过自身的 MBD

结构域识别甲基化的 DNA, 并通过它的 PHD 结构域识别组蛋白 H3K4 而产生乙酰化的 H3K18 和 H3K23 标记, 随后被 DNA 去甲基化酶或其互作蛋白所识别而导致 DNA 去甲基化, 其在生物体内的正常表达对于维持 DNA 甲基化状态, 防止超甲基化具有非常重要的作用^[1-2]。同时, 也有大量研究显示, 组蛋白乙酰转移酶参与植物的多种逆境胁迫反应, 与植物抗逆密切相关^[3-6]。因此, *IDM1* 对植物的生存及对环境的适应非常重要。目前, *IDM1* 基因的表达调控机制尚未明确, 因此本研究通过生物信息学方法, 分析和预测了 *IDM1* 基因在大豆中的存在情况、启动子序列、潜在的转录因子结合位点及甲基化位点, 以期为进一步开展大豆 *IDM1* 基因功能

收稿日期: 2014-07-17

基金项目: 国家自然科学基金 (31201163); 黑龙江省教育厅科学技术研究项目 (12521381); 国家级大学生创业训练计划项目 (201310223001)。

第一作者简介: 方淑梅 (1977-), 女, 硕士, 讲师, 主要从事植物逆境分子生物学及环境微生物学方面研究。E-mail: fangshumei520@126.com。

通讯作者: 梁喜龙 (1976-), 男, 在读博士, 副教授, 主要从事植物化控及生物逆境方面研究。E-mail: xilongliang@126.com。

及表达调控研究奠定基础。

1 研究方法

1.1 *IDM1* 基因的获取与 5'调控区序列的确定

利用 NCBI 网站检索拟南芥 *IDM1* 蛋白质的氨基酸序列,于大豆全基因组数据库网站 (<http://www.phytozome.net>) 中通过同源比对方法获取 *IDM1* 的转录子序列(transcript sequence)和基因组序列(genomic sequence)。根据参考文献^[7-8],确定转录起始点上游 2 000 bp 和转录起始点下游 200 bp 的区域(-2 000~200 bp)为分析 *IDM1* 基因的 5'调控区序列,该序列于大豆全基因组数据库网站中获得。

1.2 分析所用软件及网站

启动子序列分析利用在线网站 Neural Network Promoter Prediction (http://www.fruitfly.org/seq_tools/promoter.html); CpG island 预测使用

MethPrimer (<http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi>) 软件;转录因子结合位点及转录因子预测利用 TFSEARCH 网站(<http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>)进行。

2 结果与分析

2.1 大豆去甲基化酶基因 *IDM1* 的获取

利用 NCBI 网站搜索到的拟南芥去甲基化酶 *IDM1* 蛋白序列,通过同源比对,于大豆蛋白质数据库中获取相应基因序列(S 值排在前 4,E 值为 0),结果如表 1 所示。从表 1 中可以看出,*IDM1* 类去甲基化酶在大豆基因组中存在,同时对所获得的 2 个基因序列进行同源性比对,其比对区域为 97%,相似性为 91%,因此依据 Zhao 等^[9] 的标准, Glyma12g35760 和 Glyma13g34641 为同一基因,为 *IDM1* 基因在大豆基因组中的 2 个拷贝。

表 1 大豆 *IDM1* 基因序列的获取与定位

Table 1 Obtaining and location of *IDM1* genes in soybean

基因座位 Locus	基因长度 Length of gene/bp	位置 Location	同源性 Homology/%	S 值 S value	E 值 E value
Glyma12g35760	9970	Gm12;38891267-38901236	40.8	758.8	0
Glyma13g34641	10259	Gm13;36172177-36182435	40.6	747.7	0

同时,*IDM1* 在表达中可能存在选择性剪接(图 1), Glyma12g35760 生成 2 个转录子 Glyma12g35760.2 和 Glyma12g35760.3(主要),选择性剪接发生在第一个外显子。Glyma13g34641 也生成

2 个转录子 Glyma13g34641.1 和 Glyma13g34641.2(主要),但从图上无法观察到明显的选择性剪接位点。

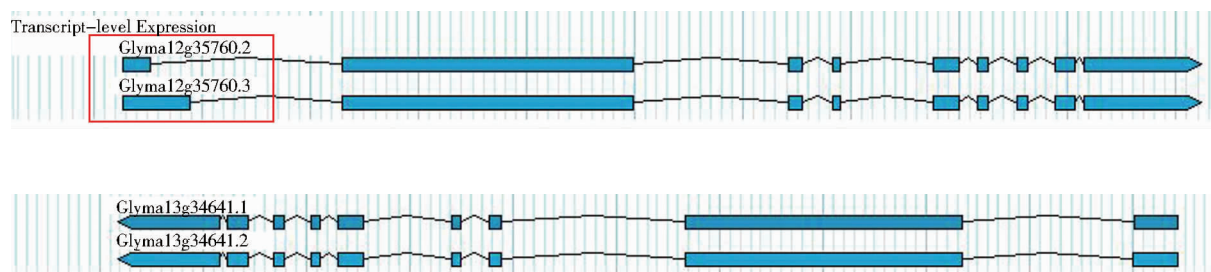


图 1 Glyma12g35760 和 Glyma13g34641 选择性剪接示意图

Fig. 1 Alternative splicing diagram of Glyma12g35760 and Glyma13g34641

2.2 大豆去甲基化酶基因 *IDM1* 的 5'调控区启动子预测

启动子预测利用 Neural Network Promoter Prediction 软件,由表 2 可知,分值 > 0.8, Glyma12g35760 基因存在 1 段可能的启动子序列, Glyma12g35760 基因存在 8 段可能的启动子序列。

2.3 大豆去甲基化酶基因 *IDM1* 启动子区 CpG 岛预测

CpG 岛预测利用 MethPrimer 在线软件进行,认定标准为片段长度 > 100 bp, GC% > 50.0, 观察值/预期值 > 0.6。结果显示, Glyma12g35760 存在 1 个 CpG 岛,大小为 133 bp,位于 495~627 核酸序列(图 2)。而 Glyma13g34641 无 CpG 岛存在。

表 2 大豆 *IDM1* 基因启动子预测结果

Table 2 The predicting promoters of *IDM1* gene in soybean

基因座位 Locus	起点 Start/bp	终点 End/bp	分值 Score	启动子序列 Promoter sequence
Glyma12g35760	111	161	0.88	TTCGATGCTTGTTAAAGTGGGTGGAGGTGTTGTTGCCGCCATGTAGGCCT
Glyma13g34641	374	424	0.93	GTCTTTGATCTATAAATGTAGGAAAGATTTTCTTCAAATCTATTAGCTAA
	447	497	0.95	TGCATCCCACTAAATAAATAGGCCTAAATTTACTAAGGTCATGTGATTTT
	630	680	1.00	GGTCCAGACTTTTTTAAATCCCCACACTCCTGTACCTTGCCACCAACATGA
	935	985	0.94	TTTTATAATTTATATATCACGTAGGATTACTTCAGGCAAAAATTCCATTG
	1266	1316	0.98	ATATATATATATATATAAAATCTAAAACCACGACCACATGTGAAAAATTC
	1907	1957	0.85	GAATACTAAATATAAATATCGATCATACCAAAATATTTGCATGTGAGAGAT
	2047	2097	0.87	ATTTTCCATATATAGAAACTCGATCTCAATTAGAGAGCGTAGGTGCTGCT
	2103	2153	1.00	GAAAGGGGTTTAAAAAATGAGGCACAAATGGACAAGGCCTAGTGCTAAGG

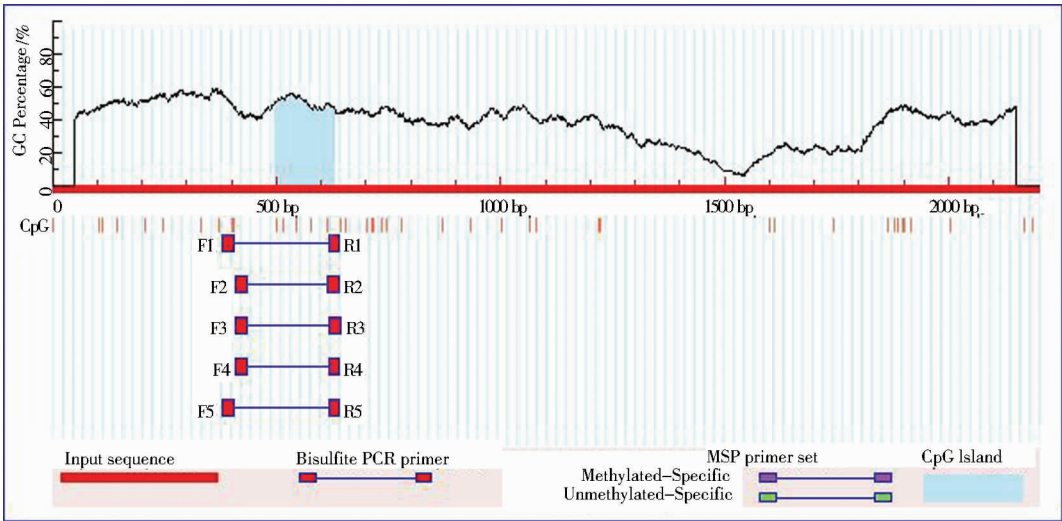


图 2 大豆 Glyma12g35760 甲基化预测图谱

Fig.2 The predicting methylation diagram of Glyma12g35760 in soybean

2.4 大豆去甲基化酶基因 *IDM1* 转录因子结合位点及转录因子预测

利用在线软件 Match public version 1.0 对 *IDM1* 基因启动子区转录因子结合位点进行预测,由表 3

可知, Glyma12g35760 无转录因子结合位点, Glyma13g34641 有 1 个结合位点,结合的转录因子名称为 AGL3。

表 3 Match 软件预测大豆 *IDM1* 基因启动子区转录因子结合位点

Table 3 The predicting transcription factor binding sites by Match soft in *IDM1* promoter from soybean

转录子名称 Transcript name	转录因子名称 TF name	位置 Position/bp	正/反义链 +/- strand	Core match	Matrix match	序列 Sequence
Glyma12g35760	无转录因子结合部位 No sites found for this sequence					
Glyma13g34641	AGL3	2048	+	1.000	0.997	ttttCCATAtatagaaac

进一步利用 TFSEARCH(Ver 1.3)在线网站预测 *IDM1* 转录因子结合位点,规定阈值 > 85.0。结果表明, Glyma12g35760 可能存在 5 个转录因子结

合位点,结合的转录因子为 SBF-1 和 athb-1; Glyma13g34641 可能存在 6 个转录因子结合位点,结合的转录因子为 P,SBP-1 和 MYB. Ph(图 3)。

A	
1301 AITGTGGTTA TATATACAA TTACAATATA GATCCTAGGC TATAATAAAG	entry score M00149 SBF-1 86.8
1501 ATATAAAATA ATTTTATATA TCTATTTAAT ATTAATTTAT TATATATAAT	entry score M00089 Athb-1 87.2 M00089 Athb-1 85.8
1601 ATCGATAGTT TACGATTTTC AAAGCAATAA ATGTAGAAAT AATTACATTA	entry score M00089 Athb-1 86.7
1701 ATACACCAAT CAATAATTAT CATAAACTC ATGCAATTGA AAATACGTTG	entry score M00089 Athb-1 87.2
B	
301 ACTTCATCAA TTGCTCATC TATTACTAAG AGGCTACTAT GCAGCAAATA	entry score
351 TCTACCACCA AGGAAAATAC TTGTCTTTG ATCTATAAAT GTAGGAAAAG	entry score M00226 P 85.6
801 ATAAGAAAAA TTTAACAACA CTGTGTTATA TGTTATGAAA AAATCAATTG	entry score M00149 SBF-1 90.6
851 AAATTATCTG ATTATATGAT TTAAGACTGC TTAATATTTT TTTCAGATAA	entry score
901 AGTATATGAT TAGTTTACTT ATTATTAGTT AAAATTTTAT AATTTATATA	entry score M00149 SBF-1 86.8
1201 GAAGATAACA ACCTAGCTTG TATGTAGTGT CACTTAACAT TAGCAATAGC	entry score
1251 TACCTGGATA TATATATATA TATATATATA TAAATCTAA AACCAAGACC	entry score M00226 P 86.5
1751 AAATAACTTT TAATTGAGAT TAATATAATT AAATATGAAT AACTAATTTT	entry score M00149 SBF-1 86.8
1801 AGGTAACATA AATATATTTT TCTTATATTT AAGATAAAGT AACGGGATCA	entry score M00219 MYB.Ph 86.0

A: Glyma12g35760 可能存在的转录因子结合位点及结合的转录因子; B: Glyma13g34641 可能存在的转录因子结合位点及结合的转录因子。

A: The possible transcription factor binding sites and corresponding transcription factor in Glyma12g35760; B: The possible transcription factor binding sites and corresponding transcription factor in Glyma13g34641.

图3 TFSEARCH 软件预测的大豆 *IDM1* 基因转录因子结合位点

Fig. 3 The predicting transcription factor binding sites by TFSEARCH soft in *IDM1* promoter from soybean

3 结论与讨论

基因表达的精细调控是决定个体发育时空特异性的机制。顺式作用元件与特定转录因子的结合是开启基因表达的重要开关。甲基化状态和水平直接影响转录因子与 DNA 的结合,进而影响基因表达。研究表明,基因组序列的甲基化变化可以引起植物表型的变化,并赋予植物一定的适应性^[10]。生物胁迫(如病原菌感染)也可诱导植物基因组产生大量的 DNA 甲基化变化^[11]。但对于不同的逆境和研究对象其甲基化状态的变化结果并不一致,例如:番茄的异染质区在盐胁迫下会发生超甲基化^[12],而玉米受到寒冷刺激时却出现脱甲基化行为^[13]。

DNA 甲基化酶和去甲基化酶的种类多^[14-16],而且不断有新酶被发现和挖掘, *IDM1* 蛋白就是最近新发现的一种 DNA 去甲基化调节因子,它能识别结合甲基化的 DNA 而产生允许 DNA 糖基化酶(glycosylase)发挥作用的新环境, DNA 糖基化酶能够识别和移除甲基化的胞嘧啶,随后损伤的 DNA 被未甲基化的胞嘧啶修复,从而完成去甲基化过程^[17-18]。所以 *IDM1* 蛋白对于防止植物超甲基化,调节基因表达非常重要。

由于刚刚发现不久,目前对于 *IDM1* 基因表达的调控机制还不明确。本研究以生物信息学方法,

利用通过与拟南芥的 *IDM1* 基因依靠同源比对方式获得了大豆 *IDM1* 基因,结果表明:大豆 *IDM1* 基因包含 2 个拷贝(Glyma12g35760 和 Glyma13g34641),分别位于 12 和 13 号染色体上, Glyma12g35760 存在 5 个转录因子结合位点,可与 2 类转录因子结合, Glyma13g34641 存在 6 个转录因子结合位点,可与 3 类转录因子结合。这些转录因子的活性和数量可能对 *IDM1* 基因的表达起到重要的调控作用。随着研究的深入, *IDM1* 基因的功能将会被进一步了解,本研究结果将对大豆 *IDM1* 基因表达调控机理的研究具有重要参考意义。

参考文献

- [1] Qian W, Miki D, Zhang H, et al. A histone acetyltransferase regulates active DNA demethylation in *Arabidopsis* [J]. Science, 2012, 336(6087): 1445-1448.
- [2] Xu C, Tian J, Mo B. siRNA-mediated DNA methylation and H3K9 dimethylation in plants [J]. Protein & Cell, 2013, 4(9): 656-663.
- [3] Kaldis A, Tsementzi D, Tanriverdi O, et al. *Arabidopsis thaliana* transcriptional co-activators ADA2b and SGF29a are implicated in salt stress responses [J]. Planta, 2011, 233(4): 749-762.
- [4] Li X, Qian W, Zhao Y, et al. Antisilencing role of the RNA-directed DNA methylation pathway and a histone acetyltransferase in *Arabidopsis* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 2012, 109(28): 11425-11430.
- [5] Mao Y, Pavangadkar K A, Thomashow M F, et al. Physical and functional interactions of *Arabidopsis* ADA2 transcriptional coacti-

- vator proteins with the acetyltransferase GCN5 and with the cold-induced transcription factor CBF1 [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 2006, 1759 (1): 69-79.
- [6] Pavangadkar K, Thomashow M F, Triezenberg S J. Histone dynamics and roles of histone acetyltransferases during cold-induced gene regulation in *Arabidopsis* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 74 (1-2): 183-200.
- [7] Yamamoto Y Y, Ichida H, Abe T, et al. Differentiation of core promoter architecture between plants and mammals revealed by LDSS analysis [J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35 (18): 6219-6226.
- [8] 周雯, 蔡望伟, 周代锋, 等. 紧密连接蛋白 claudin-15 基因 5'调控区序列的生物信息学分析 [J]. 海南医学院学报, 2012, 18 (12): 1685-1688. (Zhou W, Cai W W, Zhou D F, et al. Bioinformatics analysis on 5' regulatory region sequence properties of gene encoding tight junction protein Claudin-15 [J]. *Journal of Hainan Medical College*, 2012, 18 (12): 1685-1688.)
- [9] Zhao Y, Li X, Chen W, et al. Whole-genome survey and characterization of MADS-box gene family in maize and sorghum [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2011, 105 (2): 159-173.
- [10] Verhoeven K J F, Jansen J J, van Dijk P J, et al. Stress induced DNA methylation changes and their heritability in asexual dandelions [J]. *New Phytologist*, 2010, 185 (4): 1108-1118.
- [11] Downen R H, Pelizzola M, Schmitz R J, et al. Widespread dynamic DNA methylation in response to biotic stress [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 2012, 109 (32): 2183-2191.
- [12] Kovar A, Koukalova B, Bezde M, et al. Hypermethylation of tobacco heterochromatic loci in response to osmotic stress [J]. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 1997, 95 (1): 301-306.
- [13] Steward N, Ito M, Yamaguchi Y, et al. Periodic DNA methylation in maize nucleosomes and demethylation by environmental stress [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277 (40): 37741.
- [14] Pavlopoulou A, Kossida S. Plant cytosine-5 DNA methyltransferases; structure, function, and molecular evolution [J]. *Genomics*, 2007, 90 (4): 530-541.
- [15] 方淑梅, 梁喜龙, 纪伟波, 等. 大豆 DNA 甲基化酶生物信息学分析 [J]. 中国油料作物学报, 2013, 35 (2): 225-230. (Fang S M, Liang X L, Ji W B, et al. Bioinformatics analysis of DNA methylase from soybean [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2013, 35 (2): 225-230.)
- [16] 徐龙勇, 陈德桂. 组蛋白去甲基化酶研究进展 [J]. 生命科学, 2010, 22 (2): 109-114. (Xu L Y, Chen D G. Research progress and prospect of histone demethylases [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2010, 22 (2): 109-114.)
- [17] Gehring M, Reik W, Henikoff S. DNA demethylation by DNA repair [J]. *Trends in Genetics*, 2009, 25 (2): 82-90.
- [18] Zhu J K. Active DNA demethylation mediated by DNA glycosylases [J]. *Annual Review of Genetics*, 2009, 43: 143.

(上接第 478 页)

- [7] 王常青, 任海伟, 王海凤, 等. 黑豆多肽对 D-半乳糖衰老小鼠抗氧化能力的影响 [J]. 食品科学, 2010, 31 (3): 262-266. (Wang C Q, Ren H W, Wang H F, et al. Antioxidant function of black soybean peptide in D-galactose-induced senescent mice [J]. *Food Science*, 2010, 31 (3): 262-266.)
- [8] 张瑞芬, 黄昉, 徐志宏, 等. 黑豆皮提取物抗氧化和延缓衰老作用研究 [J]. 营养学报, 2007, 29 (2): 160-162. (Zhang R F, Huang F, Xu Z H, et al. Study on the anti-oxidative activity and potential anti-aging effect of black soybean coat extracts [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2007, 29 (2): 160-162.)
- [9] Lai J X, Xin C, Zhao Y, et al. Study of active ingredients in black soybean sprouts and their safety in cosmetic use [J]. *Molecules*, 2012, 17 (10): 11669-11679.
- [10] Schena M, Shalon D, Davis R W, et al. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray [J]. *Science*, 1995, 270, 467-470.
- [11] Sreenivasulu N, Sunkar R, Wobus U, et al. Array platforms and bioinformatics tools for the analysis of plant transcriptome in response to abiotic stress [J]. *Methods Molecular Biology*, 2010, 639: 71-81.
- [12] Aharoni A, Vorst O. DNA microarrays for functional plant genomics [J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, 48: 99-118.
- [13] Tusher V G, Tibshirani R, Chu G. Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2001, 98: 5116-5121.
- [14] Huang X Z, Qian Q, Liu Z B, et al. Natural variation at the DEPT locus enhances grain yield in rice [J]. *Nature Genetics*, 2009, 41 (4): 494-497.
- [15] Ullah S, Khan A S, Raza A, et al. Gene action analysis of yield and yield related traits in spring wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2010, 12: 125-128.
- [16] 李龙云, 于霁雯, 翟红红, 等. 利用基因芯片技术筛选棉纤维伸长相关基因 [J]. 作物学报, 2011, 37 (1): 95-104. (Li L Y, Yu J W, Zhai H H, et al. Identification of fiber length-related genes using cotton oligonucleotide microarrays [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37 (1): 95-104.)
- [17] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻($\Delta\Delta C_T$) Method [J]. *Methods*, 2001, 25: 402-408.
- [18] Bonekamp N A, Volkl A, Fahimi H D, et al. Reactive oxygen species and peroxisomes; struggling for balance [J]. *Biofactors*, 2009, 35: 346-355.
- [19] Brunell D, Weissbach H, Hodder P, et al. A high-throughput screening compatible assay for activators and inhibitors of methionine sulfoxide reductase A [J]. *Assay and Drug Development Technologies*, 2010, 8: 615-620.
- [20] Weissbach H, Etienne F, Hoshi T, et al. Peptide methionine sulfoxide reductase; Structure, mechanism of action, and biological function [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, 397: 172-178.
- [21] Weissbach H, Resnick L, Brot N. Methionine sulfoxide reductases; History and cellular role in protecting against oxidative damage [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005, 1703: 203-212.
- [22] Ruan H, Tang X D, Chen M L, et al. High-quality life extension by the enzyme peptide methionine sulfoxide reductase [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of U S A*, 2002, 99: 2748-2753.
- [23] Walter S, Buchner J. Molecular chaperones--cellular machines for protein folding [J]. *Angewandte Chemie (International Edition in English)*, 2002, 41: 1098-1113.
- [24] Borges J C, Ramos C H. Protein folding assisted by chaperones [J]. *Protein Peptide Lett*, 2005, 12: 257-261.
- [25] Santoro M G. Heat shock factors and the control of the stress response [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2000, 59: 55-63.