

# 冷应激对东北野猪成纤维细胞 *HSP90* mRNA 转录水平的影响

李忠秋<sup>1,2</sup>, 刘春龙<sup>3</sup>, 马红<sup>2</sup>, 付博<sup>2</sup>, 汪亮<sup>2</sup>, 彭福刚<sup>2</sup>, 马建章<sup>1\*</sup>, 刘娣<sup>2\*</sup>

(1. 东北林业大学野生动物资源学院, 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省农业科学院畜牧研究所, 哈尔滨 150086; 3. 中国科学院东北地理与农业生态研究所 黑土生态重点实验室, 哈尔滨 150081)

**摘要:** 为了揭示热休克蛋白 90 基因(Heat shock protein 90, HSP90)在细胞冷应激反应过程中的时空表达特性。以东北野猪成纤维细胞为研究对象, 采用实时荧光定量 PCR 技术分析了 4、15、25 和 32 °C 不同强度冷应激条件下细胞内 HSP90 mRNA 转录变化规律。结果表明, 在低温处理过程中, HSP90 mRNA 转录量在各温度均未见显著增加( $P > 0.05$ ); 在冷应激的复温培养过程中, HSP90 mRNA 转录量在 4 和 15 °C 处理 4 h 后复温培养 8 h 内显著增加( $P < 0.05$ ), 峰值出现在 6 h, 在 25 和 32 °C 处理 4 h 后复温培养 8 h 内均未见显著增加; 细胞在 4 和 15 °C 处理 2、4、6 和 8 h 后, 复温培养 4 h, HSP90 mRNA 转录量随处理温度的降低和时间的延长而增加, 在 25 和 32 °C 处理 2、4、6 和 8 h 后, 复温培养未能显著诱导 HSP90 mRNA 的转录。结果提示, 冷应激诱导东北野猪成纤维细胞内 HSP90 mRNA 转录量的增加, 不是发生在低温处理的应激阶段, 而是发生在复温后的细胞应激阶段, 温和冷应激(25~32 °C)未能诱导复温后 HSP90 mRNA 转录量的显著增加, 强度冷应激(4~15 °C)诱导复温后 HSP90 mRNA 转录量的显著增加, 且与冷应激的强度和时间的成正比。

**关键词:** 成纤维细胞; 冷应激; HSP90; 荧光定量 PCR; 东北野猪

中图分类号: S828; S815.4

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)12-1978-06

## Influence of Cold Stress on Transcription of *HSP90* in Northeast Wild Boar Fibroblasts

LI Zhong-qiu<sup>1,2</sup>, LIU Chun-long<sup>3</sup>, MA Hong<sup>2</sup>, FU Bo<sup>2</sup>, WANG Liang<sup>2</sup>,  
PENG Fu-gang<sup>2</sup>, MA Jian-zhang<sup>1\*</sup>, LIU Di<sup>2\*</sup>

(1. College of Wildlife Resource, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; 2. Institute of Animal Husbandry, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 3. Key Laboratory of Black Soil Ecology of Heilongjiang Province, Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China)

**Abstract:** To investigate the spatial and temporal expression profiles of *HSP90* gene in fibroblasts of the Northeast Wild boar under cold stress. Real-time fluorescent quantification reverse transcriptase PCR (FQ-RT-PCR) was applied to analyze the expression of *HSP90* mRNA in the Northeast Wild boar fibroblasts under 4, 15, 25 and 32 °C. The results showed that *HSP90* mRNA transcription level didn't significantly increase ( $P > 0.05$ ) under cold stress treatments at different temperatures; During rewarming culture, *HSP90* mRNA transcription levels increased significantly ( $P < 0.05$ ) within 8 h of rewarming incubation following preincubation at 4 or 15 °C and the peak showed at the 6<sup>th</sup> hour. While *HSP90* mRNA transcription levels didn't increase significantly in

收稿日期: 2012-03-23

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项(2008ZX08006-003); 国家自然科学基金(31101700)

作者简介: 李忠秋(1974-), 女, 黑龙江宾县人, 助理研究员, 博士生, Tel: 0451-87502330, E-mail: lizhongqiu1974@163.com; 刘春龙(1976-), 副研究员, 博士。二者并列为一作者

\* 通讯作者: 马建章, 教授, 院士, E-mail: jianzhangma@163.com; 刘娣, 教授, E-mail: liudi1963@163.com

the 25 or 32 °C preincubation groups within 8 h of rewarming incubation; HSP90 mRNA transcription levels increased with decreasing of the temperature and duration of the cold treatment time when cells were preincubated at 4 or 15 °C for 2, 4, 6 or 8 h followed by a 4 h rewarming incubation. However, rewarming incubation didn't significantly induce transcription of HSP90 mRNA in cells preincubated at 25 or 32 °C for 2, 4, 6 or 8 h. The result indicated that cold stress induced increase of HSP90 mRNA transcription level in fibroblasts of the Northeast Wild boar, did not occur in the stress period during low temperature treatment, but in the cellular stress period after rewarming. Mild cold stress (25-32 °C) didn't induce a significant increase at HSP90 mRNA transcript levels, while harsh cold stress (4-15 °C) induced a significant increase at HSP90 mRNA transcript levels which were directly proportional to the intensity and duration of cold exposure at 4-15 °C.

**Key words:** fibroblasts; cold stress; HSP90; real-time PCR; Northeast Wild boar

细胞应激反应在生物界是普遍存在的,热、冷、缺氧、低渗等应激因素均可打破细胞代谢的相对平衡,可引发细胞内一系列复杂的基因表达和生理适应性反应过程。热休克蛋白(Heat shock proteins, HSPs)是细胞抵抗不良影响的重要保护性蛋白,多种应激均能诱导 HSPs 的表达<sup>[1-4]</sup>。热休克蛋白 90(HSP90)是真核细胞生存必不可少的一种高度保守的蛋白质,它在细胞胞浆中的含量占总蛋白含量的 1%,在维持细胞稳态方面发挥重要作用。HSP90 表达增加可诱导细胞保护作用,在细胞发生应激反应时,HSP90 可以和那些由于环境刺激而使自身构象发生改变的蛋白相互作用,保证蛋白进行适当的折叠并防止蛋白非特异性聚集,从而维持细胞的正常活性。应激状态下产生的 HSP90 发挥分子伴侣作用,维持蛋白原的构象和功能,促进错误蛋白质降解,并将蛋白质移位至线粒体、内质网或叶绿体内发挥作用<sup>[5-6]</sup>。另外,HSP90 可以与各种类固醇激素受体结合而调节激素的活性<sup>[7-8]</sup>。

细胞冷应激反应是一个复杂的过程,它包括低温本身的应激阶段和复温后的应激阶段,在这 2 个阶段细胞所处环境不同,HSP90 基因表达是否有所不同,决定着 HSP90 基因在细胞冷应激过程的作用,通过定量分析细胞在冷应激过程中及不同强度冷应激下 HSP90 基因的表达变化规律,则可揭示冷应激诱导 HSP90 合成的机制,为进一步揭示其生物学功能提供理论依据,同时确定 HSP90 参与细胞冷应激反应的阶段,明确能够显著诱导 HSP90 基因表达的作用条件,为进一步建立细胞冷应激模型提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

黑龙江省庆安县双峰特种猪养殖场 30 日龄纯种东北野猪。

### 1.2 东北野猪成纤维细胞培养

原代培养采用组织块法<sup>[9]</sup>,培养液为含有 20% 胎牛血清、100 IU·mL<sup>-1</sup>青霉素、100 μg·mL<sup>-1</sup>链霉素的 DMEM/F12 (Gibco)。细胞汇合率达到 80%~90%后,消化传代培养,消化液为 0.25% 胰蛋白酶(含 0.01% EDTA),培养液为含有 10% 胎牛血清、100 IU·mL<sup>-1</sup>青霉素、100 μg·mL<sup>-1</sup>链霉素的 DMEM/F12,视细胞生长和代谢物情况换液,传代培养后每隔 3~5 d 视细胞生长情况再次传代,将传至 3~5 代的细胞用于试验。

### 1.3 试验分组

取对数期细胞用于试验,在试验前 24 h 给细胞换液。将 38 °C 正常培养的细胞分别置于 4、15、25 和 32 °C 冷处理 2、4、6 和 8 h;同时将各温度冷处理的细胞复温培养 4 h;各低温处理 4 h 后,恢复 38 °C 培养 2、4、6 和 8 h;对照组为 38 °C 正常培养的细胞,收集各处理组和复温组各时间点细胞用于试验。

### 1.4 总 RNA 的提取和 cDNA 合成

按 Trizol(Invitrogen)法提取细胞总 RNA。通过普通琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 完整性,并测定 RNA 的 OD<sub>260 nm</sub> 和 OD<sub>280 nm</sub>,计算出 RNA 含量,将各总 RNA 样品用无 RNA 酶的双蒸水调整浓度至 1 μg·μL<sup>-1</sup>, -80 °C 保存待用。按照 ABI 公司的反转录试剂盒 (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits)要求进行反转录。反应体系为

20  $\mu\text{L}$ ; 10 $\times$  RT Buffer 2  $\mu\text{L}$ , 25 $\times$  dNTP Mixture (100 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ ) 0.8  $\mu\text{L}$ , 10 $\times$  RT Random Primers 2  $\mu\text{L}$ , MultiScribe Reverse Transcriptase 1  $\mu\text{L}$ , Nuclease-free  $\text{H}_2\text{O}$  4.2  $\mu\text{L}$ , RNA 10  $\mu\text{L}$ 。反应条件为 Step1: 25  $^{\circ}\text{C}$  10 min; Step2: 37  $^{\circ}\text{C}$  120 min, Step3: 85  $^{\circ}\text{C}$  5 min, step4, 4  $^{\circ}\text{C}$   $\infty$ 。

### 1.5 引物的设计和合成

根据 GenBank 中猪 *HSP90* 基因(NM\_213973.1) 和内参基因 *GAPDH*(XM\_003126534.1) 序列, 应用 Primer Premier 5.0 软件设计合成 2 对高特异性引物。*HSP90* 基因上游引物为 5'-GAGGAAAC-CCAGACCCAA-3', 下游引物为 5'-AGAAGC-CGACACCGAACT-3', 扩增片段为 409 bp; *GAPDH* 基因上游引物为 5'-GGTGAAGGTCGGAGT-GAACG-3', 下游引物为 5'-CTCGCTCCTG-GAAGATGGTG-3', 扩增片段为 245 bp。引物由上海生工生物技术有限公司合成。

### 1.6 实时荧光定量 PCR 检测

以反转录后的 cDNA 为模板, 按照 ABI 公司的荧光定量 PCR 试剂盒(Power SYBR<sup>®</sup> GreenRNA-to-CT<sup>™</sup> 1-Step Kit) 进行荧光定量 PCR 反应, 反应体系为 20  $\mu\text{L}$ : 10  $\mu\text{L}$  YBR Green I Master mix (试剂盒提供), 上、下游引物各 0.8  $\mu\text{L}$ , cDNA 产物 0.8  $\mu\text{L}$ , 灭菌超纯水 7.6  $\mu\text{L}$ 。混合样品, 使其不产生气泡。反应条件为 Segment1: 95  $^{\circ}\text{C}$  10 min; Segment2: 95  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 40 个循环; Segment3: 95  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 55  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 95  $^{\circ}\text{C}$  30 s。对照组为 38  $^{\circ}\text{C}$  条件下培养细胞的 cDNA。不同温度处理各组表达试验在同一批进行, 每个样品重复 3 次。

### 1.7 数据统计分析

*GAPDH* 基因在动物体内表达相当恒定, 因此选其作为内参进行实时荧光定量 PCR 分析。Real-time PCR 反应结束后, 获得每个样品的 Ct 值, 采用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ [10] 方法计算目的基因的相对表达量。试验数据用“Mean $\pm$ SE”表示, 用 SPSSV13.0 统计软件进行分析, 用单因素方差分析进行差异显著性分析, 当  $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 东北野猪成纤维细胞原代与传代培养

原代培养接种第 5 天, 组织块边缘开始游离出单个细胞, 大多数为上皮样细胞及一些颗粒物质, 只有少部分为成纤维细胞; 到第 10 天, 组织块周围成

纤维细胞数明显增加, 已成优势生长状态, 但仍有大量上皮样细胞; 到第 13 天, 成纤维细胞生长旺盛, 组织块间隙消失, 细胞汇合连生, 满铺瓶底(图 1)。原代培养成纤维细胞见图 1 所示。原代培养上皮样细胞与成纤维样细胞混杂生长, 经 2~3 次传代后, 应用胰酶消化法和差速贴壁法, 即可排除上皮样细胞。传代后成纤维细胞迅速贴壁生长, 生长状态良好(图 2)。

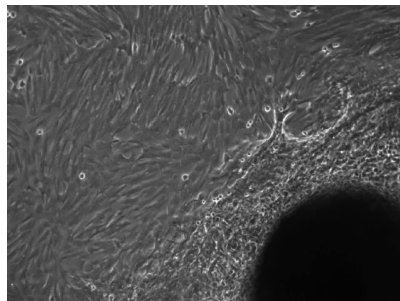


图 1 东北野猪耳皮组织原代细胞(50 $\times$ )

Fig. 1 The growth and emigration of fibroblasts(50 $\times$ )

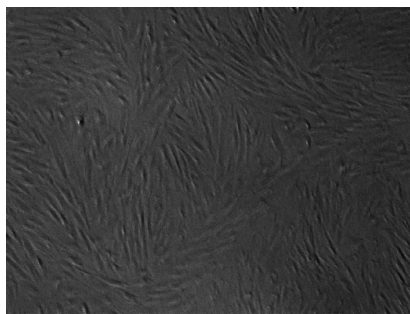


图 2 分离和纯化的东北野猪成纤维细胞(50 $\times$ )

Fig. 2 Fibroblasts isolated and purified culture(50 $\times$ )

### 2.2 溶解曲线分析

对 *HSP90* 和 *GAPDH* 的溶解曲线(图 3、图 4) 进行分析发现, *HSP90* 和 *GAPDH* 基因 PCR 产物的  $T_m$  值都非常均一, 均呈较为锐利的单一峰, 表明 Real-time PCR 过程中, 荧光强度均来自于特异性的扩增产物, 排除了形成引物二聚体和非特异产物对结果的影响, 同时说明设计的引物有很好的特异性。

### 2.3 不同低温处理过程中 *HSP90* 基因 mRNA 转录情况

细胞在 32、25、15 和 4  $^{\circ}\text{C}$  低温处理过程中 *HSP90* mRNA 的转录情况见图 5, 细胞在 32 和 25  $^{\circ}\text{C}$  培养 2 和 4 h 时, *HSP90* mRNA 表达量有所增加, 最大增加量分别为对照组的 1.47 和 1.39 倍, 但与对照组比较差异不显著, 以后逐渐减少, 到 8 h 时少于对照组。细胞在 15 和 4  $^{\circ}\text{C}$  培养, *HSP90* mRNA

表达量随着培养时间延长逐渐减少,到 8 h 表达量显著低于对照组,分别为对照组的 0.45 和 0.42 倍。

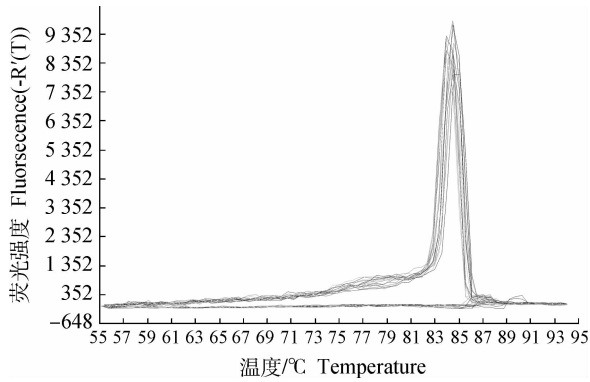


图 3 HSP90 基因的熔解曲线  
Fig. 3 Melting curve of HSP90 gene

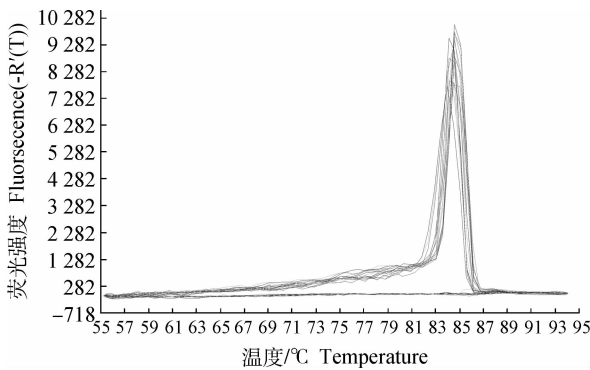
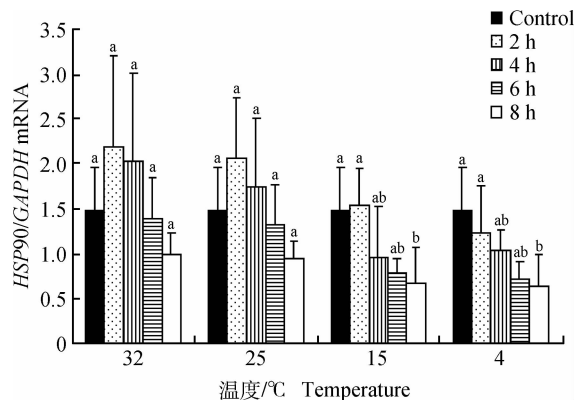


图 4 GAPDH 基因的熔解曲线  
Fig. 4 Melting curve of GAPDH gene



同组内标注相同字母表示差异不显著( $P > 0.05$ );同组内标注不相同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下图同 Different letters in the same group means significant difference between the treatments( $P < 0.05$ ), same letter in the same group means no significant difference between treatments( $P > 0.05$ ). The same as below  
图 5 不同低温培养对 HSP90 mRNA 转录的影响  
Fig. 5 Effect of different low temperature on HSP90 mRNA transcription in the Northeast Wild boar fibroblasts

## 2.4 复温培养后 HSP90 基因 mRNA 转录情况

不同温度处理 4 h 后,复温培养过程中 HSP90 基因 mRNA 转录情况见图 6,细胞在 32 和 25 °C 低温处理后,复温培养细胞内 HSP90 mRNA 转录量在 4~6 h 有所增加,最大增加量分别为对照组的 1.75 和 1.84 倍,与对照组没有统计学差异。细胞在 15 和 4 °C 处理后,复温培养细胞内 HSP90 mRNA 转录量在恢复培养的 4 h 开始显著增加,6 h 出现最高表达峰,分别为对照组的 2.95 和 3.70 倍,8 h 开始有所降低。

不同温度处理 2、4、6、8 h 后,复温培养 4 h, HSP90 基因 mRNA 转录情况见图 7,细胞在 25 和 32 °C 下培养 2、4、6 和 8 h 后,恢复培养 4 h, HSP90 基因 mRNA 转录量随着低温处理时间的延长有所增加,但与对照组没有统计学差异。细胞在 15 和 4 °C 培养 2、4、6 和 8 h 后,恢复培养 4 h, HSP90 基因 mRNA 转录量随着冷应激时间的延长逐渐增加,4、6 和 8 h 与对照组差异均显著,最大增加量分别为对照组的 3.36 和 4.13 倍。

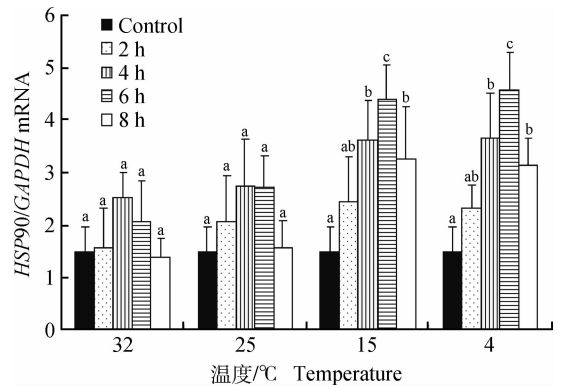


图 6 不同低温处理 4 h 复温过程中 HSP90 mRNA 转录情况  
Fig. 6 HSP90 mRNA transcription of the rewarming process after different low temperature for 4 h

不同温度处理 4 h,复温培养 4 h, HSP90 基因 mRNA 转录情况见图 8,细胞 HSP90 基因 mRNA 转录量随着低温强度的增强而增加,15 和 4 °C 转录量显著高于对照组,分别为对照组的 2.57 和 3.32 倍。

这些结果说明,温和低温处理(25~32 °C)未能刺激复温后细胞 HSP90 mRNA 的转录,强度低温处理(4~15 °C)刺激复温后细胞 HSP90 mRNA 的转录,且与细胞应激强度和作用时间成正比。

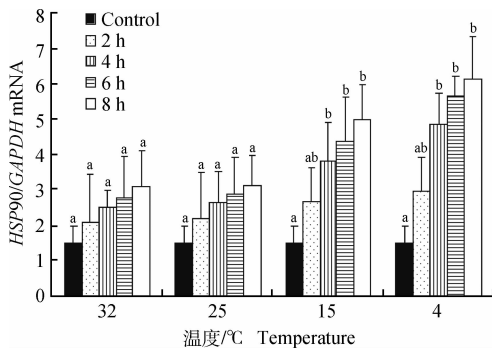


图7 不同低温处理后复温培养4 h HSP90 mRNA 转录情况

Fig. 7 HSP90 mRNA transcription of the rewarming 4 h after different low temperature

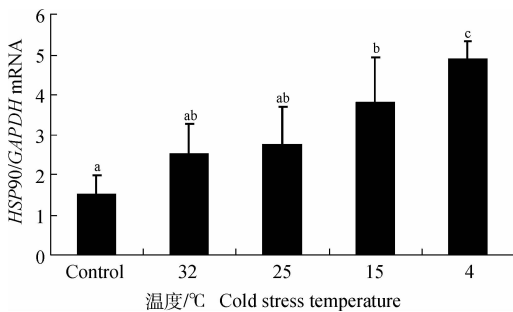


图8 不同低温处理4 h后复温培养4 h HSP90 mRNA 转录情况

Fig. 8 HSP90 mRNA transcription of the rewarming 4 h after different low temperature for 4 h

### 3 讨论

HSPs 最早被发现高表达于受热应激刺激的细胞中,故称为热休克蛋白。研究发现其他应激条件下,如缺氧、寒冷、重金属、组织创伤、微生物感染等亦可诱导细胞内 HSPs 的产生,因此又称应激蛋白 (Stress protein, SP)。HSP90 是 HSPs 家族中重要的成员之一,在细胞生理及病理状态下均起着至关重要的作用。在生理学上, HSP90 可以与许多细胞中的蛋白质相结合,在达到适当的细胞内位置或接收到正确的活动信号时,才会被激活<sup>[11]</sup>。故 HSP90 是影响基质蛋白质成熟的关键因子<sup>[12]</sup>。在病理学上 HSP90 在多种肿瘤细胞中呈高表达<sup>[13-16]</sup>,参与调节肿瘤细胞生长、发育及各种恶性生物学行为的激酶分子与转录因子结合形成复合物,并调节这些底物蛋白的稳定性和功能,在肿瘤的发生、发展及恶化过程中发挥重要的作用<sup>[17-21]</sup>。HSP90 在应激条件下的高表达可维持细胞必需的蛋白质空间构象,保护细胞的功能、生存和对应激原的耐受,是细胞的一种保护机制,应激能

诱导细胞内 HSP90 的合成显著增加, HSP90 对防止应激引起的细胞损害及使受损的细胞恢复方面起着重要作用<sup>[22]</sup>。多种细胞在持续热应激和应激后恢复的初期阶段, HSP90 的水平显著升高,保护应激适应通路上的重要分子,使细胞获得热耐受<sup>[23-26]</sup>。并帮助受损蛋白转运、折叠,防止聚集并回复正常构象,保护细胞减少应激损伤<sup>[27]</sup>。

本研究利用荧光定量 PCR 技术实时监测细胞冷应激反应过程中 HSP90 mRNA 的动态变化规律。结果显示,细胞在冷应激的持续低温处理过程中, HSP90 mRNA 表达量在各温度均未见显著表达,说明低温未能诱导 HSP90 的表达,在冷应激的低温应激阶段 HSP90 没有发挥保护细胞的作用;细胞在冷应激后的复温培养过程中,温和冷应激(25~32 °C)后诱导 HSP90 mRNA 有所增加,但与对照组比差异不显著;强度冷应激(4~15 °C)诱导复温后 HSP90 mRNA 显著表达,且表达量的增加在一定范围内与冷应激的强度和成正相关,这说明 HSP90 对复温应激阶段的细胞损伤有保护作用,能提高细胞的自我保护功能。在应激状态下,细胞内出现大量变性和错误折叠的蛋白质与热休克因子 (HSF1),它们竞争结合 HSP90,由于分子伴侣 HSP90 与错误蛋白的亲合力高于 HSF1,使 HSF1 游离出来,HSF 便形成三聚体形式,转入细胞核,与(热休克原件)HSE 结合,启动 HSP90 的转录<sup>[28]</sup>。HSP90 mRNA 被迅速合成,随着应答过程的进行, HSP90 mRNA 大量转录并高效翻译,又可影响 HSF1 的构象,使 HSP90 转录减弱直至恢复到正常状态。试验结果显示, HSP90 mRNA 表达量在细胞复温培养 4 h 表达量开始显著增加,6 h 出现最高表达峰,8 h 开始有所降低,细胞慢慢恢复正常。虽然目前有一些对哺乳动物细胞 HSPs 基因表达调控机制的研究报道,但 HSPs 基因表达在不同冷应激强度和时间为何有种类及程度的区别都还没有解释明了,同时 HSPs 的主要作用机制还未明确<sup>[29]</sup>。本研究只是对东北野猪的成纤维细胞冷应激反应 HSP90 基因表达研究的初探,下一步将扩大基因种类,在应激强度和时间内对其他种类 HSPs 基因 mRNA 的表达进行细致的研究,并从蛋白质水平进一步研究验证,掌握 HSPs 表达变化情况与应激程度之间的相关关系,以期进一步阐明哺乳动物细胞冷应激发生机制。

### 4 结论

冷应激诱导东北野猪成纤维细胞内 HSP90 表

达量的增加,不是发生在低温处理的应激阶段,而是发生在复温后的细胞应激阶段,温和冷应激(25~32℃)未能诱导复温后 HSP90 表达量的显著增加,强度冷应激(4~15℃)诱导复温后 HSP90 表达量的显著增加,且与冷应激的强度和时间成正比。

### 参考文献:

- [1] LI G C, LASZLO A. Amino acid analogues while inducing heat shock protein sensitive cells to thermal damage[J]. *J Cell Physiol*, 1985, 122: 91-97.
- [2] SONNA L A, JUN F, STEPHEN L, et al. Molecular biology of thermoregulation invited review effects of heat and cold stress on mammalian gene expression [J]. *J App Physiol*, 2002, 92: 1725-1742.
- [3] POLLA B S. A role for heat shock proteins in inflammation[J]. *Immunol Today*, 1988, 9(5): 134-137.
- [4] PARAELL D, LLINDQUIST S. The function of heat-shok proteins in stress tolerance; degradation and re-activation of damaged proteins[J]. *Annu Rev Genet*, 1993, 27: 437-496.
- [5] 钟文英. 热休克蛋白的分子生物学研究进展[J]. 医学综述, 2005, 11(2): 148-150.
- [6] RICHTER K, BUCHNER J. Hsp90: chaperoning signal transduction[J]. *J Cell Physiol*, 2001, 188(3): 281-290.
- [7] 周振峰, 崔瑞莲, 王加启, 等. 热应激对体外培养奶牛乳腺上皮细胞生长、凋亡及其热休克蛋白 mRNA 转录的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2010, 41(5): 600-607.
- [8] LOTZ G P, LIN H, HARST A, et al. Aha1 binds to the middle domain of HSP90, contributes to client protein activation, and stimulates the ATPase activity of the molecular chaperone[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(19): 17228-17235.
- [9] 周向梅, 马月辉, 关伟军, 等. 北京油鸡胚胎成纤维细胞系建立与生物学特性研究[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(3): 209-215.
- [10] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative per and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method[J]. *Methods*, 2001, 25: 402-408.
- [11] MATTHEXS R C, BURNIE J P. The role of HSP90 in fungal infection[J]. *Immunol Today*, 1992, 13(9): 345-348.
- [12] PICARD D. Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2002, 59(10): 1640-1648.
- [13] ZHU X D, LI C L, LANG Z W, et al. Significant correlation between expression level of HSP90 and progression of hepatitis B virus induced diseases[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10: 1141-1145.
- [14] AKALIN A, ELMORE L W, FORSYTHE H L, et al. A novel mechanism for chaperone-mediated telomerase regulation during prostate cancer progression [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 4791-4796.
- [15] 郝 洽, 刘红梅, 海米提·阿布都力木. 维吾尔族妇女宫颈癌组织中 HSP90 的表达及其与 HPV16 的相关性[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(1): 74-76.
- [16] 余 慧. 胃癌中 Hsp90 $\alpha$  和 p53 的表达及意义[J]. 中国医药导报, 2010, 7(1): 27-28.
- [17] GRESS T M, MULLER-PILLASCH F, WEBER C, et al. Differential expression of heat shock proteins in human pancreatic carcinoma[J]. *Cancer Res*, 1994, 54(2): 547-551.
- [18] YANO M, NAITO Z, TANAKA S, et al. Expression and roles of heat shock proteins in human breast cancer [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1996, 87(9): 908-915.
- [19] LIU X L, YE L, WANG J B, et al. Expression of heat shock proteins 90 $\beta$  in human gastric cancer cell lines[J]. *J Fourth Milit Med Univ*, 2000, 21(2): 131-134.
- [20] CORTES-GONZALEZ C C, RAMIREZ-GONZALEZ V, ARIZA A C, et al. Functional significance of heat shock protein 90 [J]. *Rev Invest Clin*, 2008, 60(4): 311-320.
- [21] RICHTER K, BUCHMER J. HSP90: chaperoning signal transduction[J]. *J Cell Physiol*, 2001, 188: 281-290.
- [22] WANG X J, BAO E D. The expression of heat shock proteins[J]. *Anim J Hus Vet Med*, 2004, 36(1): 41-43.
- [23] ERLICHMAN C, TANESPIMYCI N. The opportunities and challenges of targeting heat shock protein 90 [J]. *Exp Opin Invest Drugs*, 2009, 18(6): 861-868.
- [24] MORIMOTA R I. Regulation of the heat shock transcriptional response cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators[J]. *Genes Dev*, 1998, 12: 3788-3796.
- [25] JOLLY C, MORIMOTO R I. Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death[J]. *J Natl Cancer Ins*, 2000, 92: 1564-1572.
- [26] SMITH D E, WHITESELL L, KATSANIS E. Molecular chaperones: Biology and prospects for pharmacological intervention[J]. *Pharmacol Rev*, 1998, 50: 493-514.
- [27] POWER SOWERS M V, CLARKE P A, WORKMANO P. Death by chaperone: HSP90, HSP70 or both [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(4): 518-526.
- [28] MORIMOTA R I. Cell in stress: transcriptional activation of heat shock genes[J]. *Science*, 1993, 259: 1409-1410.
- [29] 屠云洁, 陈国宏, 耿照玉, 等. 雏鹅冷应激反应中 HPT 轴 HSP70 mRNA 的动态表达规律[J]. 中国农业科学, 2010, 43(7): 1473-1479.