

· 生物体应激与调控 ·

引用格式:杨璐,陈梦凡,周海霖,等.木枣HSP基因的克隆及时空表达模式分析[J].延安大学学报(自然科学版),2026,45(1):64-69. [YANG L, CHEN M F, ZHOU H L, et al. Cloning and spatio-temporal expression patterns analysis of HSP gene of "Muzao" in *Ziziphus jujuba* Mill. [J]. Journal of Yan'an University (Natural Science Edition), 2026, 45 (1) : 64-69.] DOI: 10.13876/J.cnki.ydnse.250040

木枣HSP基因的克隆及时空表达模式分析

杨璐¹,陈梦凡¹,周海霖¹,胡珺华¹,陈国梁¹,王建华²,王延峰¹,栗现芳¹

(1. 延安大学 生命科学学院/陕西省黄土高原资源植物研究与利用重点实验室; 2. 延安合源生物科技有限公司, 陕西 延安 716000)

摘要:植物在逆境环境或发育特殊时期表达的热休克蛋白(HSP)能够帮助抵抗逆境并且保护植物细胞。文章以田间种植木枣、狗头枣、圆酸枣、V1、V2、V3及木枣不同组织、不同时期枣果为试验材料,从脆熟期枣果中克隆获得HSP基因,采用生物信息学方法分析其序列特征,并通过RT-qPCR分析其时空表达模式。结果显示,木枣HSP基因的cDNA序列长度为478 bp,编码154个氨基酸,推测分子量大小为17.29 kDa,等电点为12.22,呈碱性,蛋白质不稳定系数为81.04,平均亲水性数值为-0.308,为亲水性蛋白,脂肪族氨基酸指数为75.45,蛋白亚细胞定位预测该基因编码的蛋白质位于叶绿体。时空表达模式分析表明,HSP基因在抗裂性好的品种中表达量低、叶片中表达量高、易发生裂果的脆熟期表达量高,裂果发生后表达量呈明显下降。枣HSP基因在变异系V1、木枣叶片、脆熟期枣果中表达量较高。

关键词:枣;热休克蛋白;基因克隆;基因表达分析

中图分类号:Q781 Q786

文献标志码:A

文章编号:1004-602X(2026)01-0064-06

鼠李科枣属(*Ziziphus jujuba* Mill.)植物干燥而成熟的果实被称为枣^[1],枣树由于其抗逆性强、果实数量多、营养价值高、经济和社会效益显著等特点而被广泛种植^[2]。中国是枣树的第一种植国,生产的枣及枣制品约占世界总产量的90%以上^[3]。枣既可以入药,也可以入食,亦可以医用。大枣能够安神益气、补血养胃、促进血液循环、预防贫血和高血压等病症^[4]。近年来,我国枣树产业发展势头猛升,技术日趋成熟,与此同时,部分地区出现阴雨季节时,对红枣的产量和质量有很大影响,低温冻害在一定程度上也影响着各地红枣产业的发展^[5]。

热休克蛋白(Heat shock protein, HSP)是在植物

体细胞和其他细胞处于逆境条件下,或是在特殊发育时期所产生的应激蛋白,可以通过分子伴侣保护机制,维持机体细胞的稳定,从而增强植物对外部环境的耐受性^[6-7]。在细胞或机体受到高温、冻害刺激时能够合成蛋白热休克蛋白来维持植物细胞自身代谢平衡,迅速调节应激反应中细胞的存活机制,还可能参与病毒等生物逆境响应过程^[8]。热激因子(HSF)响应于环境压力而激活,与热激元素(HSE)结合,促进HSP的产生,抑制对生物体的破坏,HSP作为分子伴侣参与修复蛋白质折叠错误,维持细胞内环境稳定^[9]。在种子萌发和成熟阶段热休克蛋白也会表达,因此,它在维持机体的稳定性

收稿日期:2025-04-21

基金项目:国家自然科学基金项目(31860535);陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2025JC-YBMS-236);横向项目(206020872);陕西省教育厅重点实验室项目(18JS118);延安市科技计划项目(2022SLJBZ-012,2018KN-01-01)

作者简介:杨璐(2001—),女,硕士研究生,主要从事枣树育种研究。

*通信作者 E-mail:lixianfang810702@163.com

的同时,还能够保持体内酶的活力^[10]。按照分子量大小以及氨基酸同源性的不同,热休克蛋白家族可以分为HSP90、HSP110、HSP70、HSP60、小分子HSP及泛素等^[11]。目前,关于小分子热休克蛋白参与调控植物生长发育及抗逆胁迫的功能研究较少^[12]。小分子热休克蛋白是相对分子质量介于12~43 kDa蛋白家族,大多为14~27 kDa^[13]。不论是真核还是原核细胞,在高温的刺激下,都会产生一种小分子热休克蛋白来抵御高温。在植物中,小分子HSP数量和种类丰富且非常重要。在植物受高温胁迫时HSP能够迅速表达和积累,从而减少细胞受到高温的伤害^[14]。通常在比其正常生长温度高8℃~12℃的环境下,植物细胞会分泌出HSP^[10]。HSP可以在植物的叶片、茎、幼苗、根、果实等不同器官中产生,也可以在组织培养无菌条件下的愈伤组织或单细胞中发现^[15-16]。

木枣是我国的一种传统枣树制干品种,主要分布在陕西、山西、河北、山东等北方种植区。具有耐旱、耐瘠薄、适应性强等特点。基于木枣裂果与未裂果转录组分析筛选到差异表达的HSP基因,为了解木枣HSP的理化性质及编码基因的时空表达模式,文章以木枣脆熟期枣果为研究材料,通过同源序列克隆获得枣HSP基因的cDNA序列,采用生物信息学方法对基因序列及其编码的热休克蛋白理化性质等进行分析,利用RT-qPCR法对该基因在不同品种、不同组织及不同时期枣果的时空表达模式进行详细分析。为进一步探讨枣HSP基因的功能提供坚实基础,也为枣抗性育种提供重要参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

选用陕西省延川县田间同一生长条件下的木枣、狗头枣、野生圆酸枣、木枣抗裂变异系V1、V2、V3等6个品种或品系为材料,分别采样木枣青果期、白熟期、半红期、脆熟期未裂果和裂果果实、木枣脆熟期的枣吊、叶片、果柄、果皮和果肉、各品种脆熟期枣果。田间采样后,液氮速冻,带回直接提取RNA或-80℃保存备用。

1.2 枣HSP的cDNA序列克隆

使用TIANGEN公司多糖多酚植物总RNA提取试剂盒(离心柱型),分别提取各品种、木枣各时期枣果和木枣脆熟期果皮、果肉、枣吊、叶片总RNA,利用1%琼脂糖凝胶电泳及Impeln超微量分光光度计分别评估RNA质量和浓度。使用Prime Script TMRT

Master Mix试剂盒对提取的RNA进行反转录得到cDNA,反应条件:37℃ 15 min, 85℃ 5 s, 4℃。通过对枣GAPDH内参基因的PCR扩增检测cDNA质量。利用Primer Quest tool设计引物序列,GAPDH和HSP基因特异性引物序列见表1。PCR反应体系为:2×Hieff Canace® Gold PCR Master Mix 2.0 μL、正向引物 2.0 μL、反向引物 2.0 μL、cDNA模板 1.0 μL、ddH₂O 18.0 μL,总体积 25 μL,以98℃ 3 min; 98℃ 10 s, 68℃ 2 min, 72℃ 1 min, 35 cycles; 72℃ 5 min扩增程序进行PCR反应。经1%琼脂糖凝胶电泳检测后,回收PCR扩增产物送样测序。引物合成和目的基因测序由北京奥科鼎盛生物科技有限公司完成。

表1 引物序列

基因名称	特异性扩增序列	定量引物序列
GAPDH	ATGTCTAGCGGAAA	CTGCTAAGGCTGTAGGG
	GATCAAGATCG	AAAG
	TCACTTGGCAAGTG	CGTGAGGTCAACCACTG
	CAACGTGG	AAA
HSP	ATGTCGCTGATTCCA	GAGAAGGAGGACAAGA
	AGCTT	ACGATAC
	GATTTCAATGGACTT	TTCTCCATGGCAGCTCT
	TACATCGGG	AATC

1.3 木枣HSP基因的序列分析

测序获得枣HSP基因的cDNA序列,利用DNAMAN软件预测其编码的氨基酸序列,利用ProtParam工具(<https://web.expasy.org/protparam/>)对HSP的理化特性进行深入分析,使用ExPasy网站在线工具(<http://web.expasy.org/protscale/>),对氨基酸序列进行疏水性分析,利用Cell-PLo(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>)在线网站预测HSP亚细胞定位,在NCBI网站对所测序列进行同源性检索,获得并下载已有物种基因序列,使用MEGA.X软件采样邻域连接法(NJ)进行系统进化树分析,利用iTOL在线工具(<https://itol.embl.de/>)系统发育树进行绘制和美化。

1.4 木枣HSP基因的表达模式分析

利用Primer Quest tool设计内参基因与目的基因的定量引物(表1),由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成。以GAPDH为内参基因,使用TaKaRa TB Green™ Premix Ex Taq™ II试剂盒、嵌合荧光法、StepOnePlus Real-time PCR System完成表达量的测定。RT-qPCR反应体系(20 μL)为:cDNA模板2 μL、10 μmol·L⁻¹引物各0.8 μL、TB Green Premix Ex Taq II

($2\times$) 10 μL 、Rox Reference Dye (50 \times) 0.4 μL 、无酶水 6 μL 。反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 预变性; 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环; 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s 制作溶解曲线。分别以木枣脆熟期枣果、木枣果皮、木枣白熟期为对照采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算基因在不同品种、不同组织、不同时期的相对表达量。其中, Ct 为达到荧光阈值所需要的扩增循环数, Ct 值越小, 模板基因起始量越大; 反之则越小。 $\Delta\text{Ct} = \text{Gene Ct} - \text{GAPDH Ct}$ (GAPDH 在各组织、阶段表达水平稳定, 用来校正加样等过程引起的误差), $\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct} - \text{对照组 Ct}$, 通过此方法, 能够得到基因的相对表达量。采用 Microsoft Excel 2019 统计分析软件进行统计处理。

2 结果与分析

2.1 模板质量检测及基因扩增结果

RNA 电泳检测结果显示(图 1), 18S 和 28S RNA 条带清晰, 且 28S 条带亮度是 18S 的 2 倍, 满足实验要求。利用逆转录试剂盒得到的 cDNA 为模板进行 GAPDH 基因的 PCR 扩增(图 2), 结果证实 cDNA 质量、浓度均满足后续需求。以木枣脆熟期果实 cDNA 为模板进行 HSP 基因的 PCR 扩增(图 3), 获得 500 bp 左右的目标条带。将目的基因胶回收、送样、测序, 结果显示该基因全长为 478 bp。

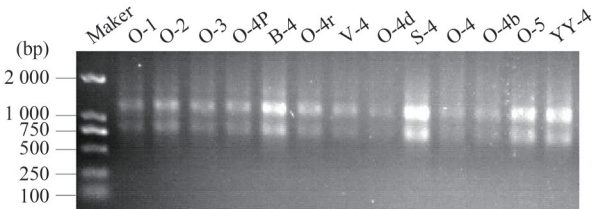


图 1 RNA 电泳检测部分结果

注: Marker: DL2000; O-1、O-2、O-3、O-4、O-5: 分别为木枣青果期、白熟期、半红期、脆熟期未裂果、脆熟期裂果; O-4p、O-4r、O-4b、O-4d 分别为木枣脆熟期果皮、果肉、果柄、枣吊; B-4、S-4、YY-4 分别为木枣变异系 V1、木枣变异系 V2、野生圆酸枣脆熟期枣果。

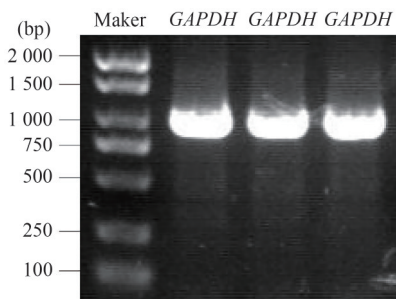


图 2 GAPDH 基因的 PCR 扩增结果

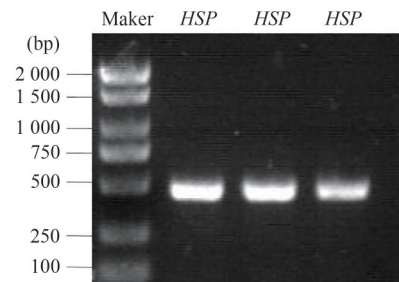


图 3 HSP 基因的 PCR 扩增结果

2.2 木枣 HSP 的理化性质分析及系统进化树分析

使用 ExPasy 网站在线工具对所测序列进行理化分析和亚细胞定位。该序列编码氨基酸 154 个(图 4), 编码的蛋白质分子量大小为 17.29 kDa, 等电点为 12.22, 呈碱性。该基因编码的蛋白质平均亲水性数值为 -0.308, 为亲水性蛋白, HSP 蛋白不稳定系数为 81.04, 脂肪族氨基酸指数为 75.45。利用 Cell-PLoc 在线网站预测分析枣休克蛋白亚细胞定位发现 HSP 位于叶绿体。通过 NCBI 网站对所测序列进行同源性检索分析, 获得了多个物种基因序列, 包括枣 (*Ziziphus jujuba* Mill)、夏栎 (*Quercus robur*)、巨桉 (*Eucalyptus grandis*)、橡胶树 (*Hevea brasiliensis*)、毛果杨 (*Populus trichocarpa*)、黑杨 (*Populus nigra*)、蒲桃 (*Syzygium oleosum*)、银叶树 (*Rhodamnia argentea*) 的 HSP 序列。使用 MEGA.X 软件进行系统进化树分析(图 5), 结果显示, 木枣 HSP 基因与枣、夏栎等 HSP 基因处于同一分支且同源性较高, 推测木枣和夏栎的 HSP 基因可能有共同起源, 木枣 HSP 与枣 HSP 基因同源性达 98.89%、96.66%、96.37%; 与夏栎 HSP 基因同源性达 80.85%、80.62%、80.00%。

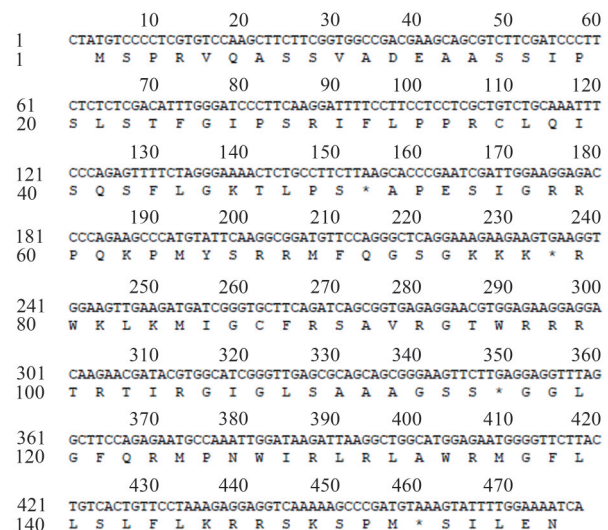


图 4 HSP 基因基因编码的氨基酸序列

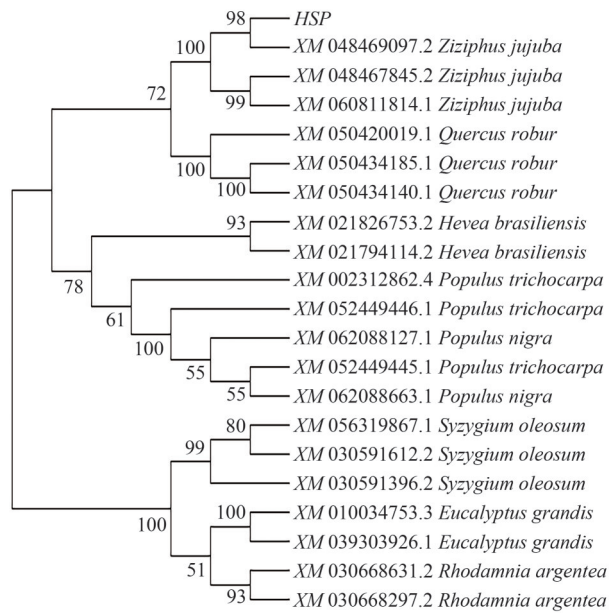


图 5 基于枣 *HSP* 基因序列构建的系统进化树

2.3 木枣热休克蛋白基因的表达模式分析

根据 RT-qPCR 测定结果和统计分析, *HSP* 基因在不同品种脆熟期的表达量表现为变异系 V1>狗头枣>木枣>野生圆酸枣>变异系 V3>变异系 V2, 6 个品种间变异系 V1 的 *HSP* 基因表达量最高, 变异系 V2 表达量最低(图 6), 变异系 V1 与其他品种的 *HSP* 基因表达量有较大差异。对 *HSP* 基因在木枣不同组织进行表达差异分析, 可得表达量: 叶片>果皮>果肉>枣吊>果柄(图 7)。从基因表达量均值上看, 木枣不同组织中叶片 *HSP* 基因表达量远高于其他组织, 叶片中基因的表达量是果柄表达量的 1 113.03%。果皮和果肉中 *HSP* 基因表达量无明显差异, 枣吊和果柄的 *HSP* 基因表达量无明显差异。对 *HSP* 基因在木枣不同发育时期的表达差异分析, 得到 *HSP* 基因在脆熟期表达量最高, 其中脆熟期与青果期基因表达差异最大, 脆熟期裂果发生后 *HSP* 基因表达量明显下调(图 8)。

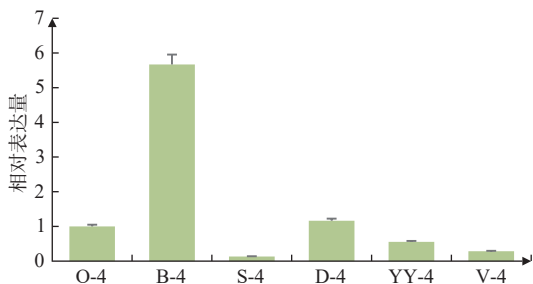


图 6 不同品种脆熟期枣果 *HSP* 基因的表达量结果
注: O-4: 木枣; B-4: 变异系 V1; S-4: 变异系 V2; D-4: 狗头枣; YY-4: 野生圆酸枣; V-4: 变异系 V3。

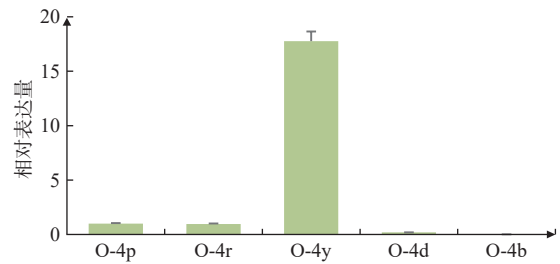


图 7 木枣不同组织中 *HSP* 基因的表达量结果
注: O-4p: 果皮; O-4r: 果肉; O-4y: 叶片; O-4d: 枣吊; O-4b: 果柄。

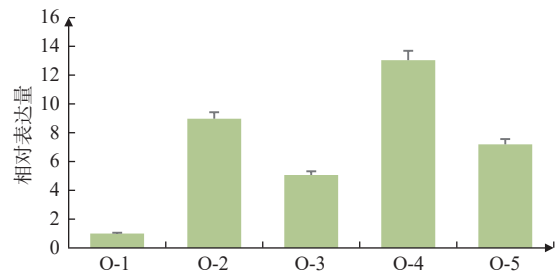


图 8 木枣不同时期 *HSP* 基因的表达量结果
注: O-1: 青果期; O-2: 白熟期; O-3: 半红期; O-4: 脆熟期未裂果; O-5: 脆熟期裂果。

3 讨论

多项研究表明, 热休克蛋白对植物生长发育及抗逆具有重要作用^[17]。 *HSP* 基因在橡胶树、蓖麻、拟南芥、玉米等多种植物中都有研究^[18-19]。其中在模式生物拟南芥中研究较为透彻, *HSP* 能提高拟南芥对冷和热的耐受性^[20], 在玉米中 *HSP* 能够提高叶绿体蛋白的耐受性^[21]。枣树是陕北甚至全国的重要经济树种, 枣树生产中面临着重要的抗性问題, 包括抗裂性、抗病性、抗寒性等。通过前期木枣脆熟期末裂果与裂果转录组分析发现该基因在脆熟期裂果发生后呈现明显下调。为了明确木枣 *HSP* 的理化性质及其编码基因的时空表达模式, 文章以脆熟期枣果为材料, 通过同源序列克隆的方法获得了木枣 *HSP* 基因的 cDNA 序列, 并进行了基因的时空表达模式分析, 将有助于进一步研究 *HSP* 基因的生物学功能。

枣树是我国特有的一种经济树种, 品种种类丰富。木枣、狗头枣是陕北的主要种植栽培品种, 其中木枣属于制干品种, 而狗头枣则属于鲜食品种。相对于狗头枣来说木枣具有较好的抗裂性^[22]。野生酸枣属于枣的祖先或近缘种, 具有极好的抗裂性。本研究选用木枣、狗头枣、野生圆酸枣及田间选育的 3 种木枣变异系为材料开展了 *HSP* 基因的表达差

异分析,结果表明比木枣抗裂性好的品种或品系(如木枣变系 V2、V3 和野生圆酸枣)HSP 基因的表达量相对较低,比木枣抗裂性较差的品种或品系(如狗头枣、变异系 V1)该基因表达量相对较高。

柑橘中 HSP20 基因家族编码 135~373 个氨基酸,蛋白分子量为 15.17~41.71 kDa^[23],这与枣 HSP 基因编码的氨基酸理化性质相近,但两者氨基酸等电点稍显不同,枣 HSP 基因编码的氨基酸等电点为 12.22,而柑橘 HSP20 基因家族编码的氨基酸等电点为 4.53~10.07。尽管 HSP 的核心功能在物种间高度保守,但由于进化过程中环境不同,某些物种的 HSP 可能进化出额外的功能,从而更好地服务于各物种的生理需求。

HSP 基因在果皮、果肉、叶片、枣吊和果柄等不同组织中具有表达特异性,叶片中该基因表达量远远高于其他组织,而果皮与果肉、枣吊与果柄间该基因的表达量差异不明显。蛋白质亚细胞定位预测显示 HSP 位于叶绿体。菜豆、辣椒在遭受盐、干旱、高温胁迫时小热休克蛋白均在叶片组织中表达量上升^[24-25],这与本研究结果相一致。HSP90 是热休克蛋白基因家族成员,高温胁迫下 HSP90 在苹果果实中表达量最高^[26]。根据枣果皮颜色和果肉质地的变化可将枣果的成熟期分为青果期、白熟期、半红期、脆熟期、完熟期 5 个阶段。近年来,由于全球气候变化,陕北枣果成熟时恰逢连阴雨天气,枣裂果现象较为严重,且裂果现象主要发生在脆熟期阶段^[22]。有研究表明枣 HSP 基因在高温、干旱和盐胁迫下会呈现差异表达^[27]。本研究通过果实不同发育时期 HSP 基因的表达量分析显示易发生裂果的脆熟期 HSP 基因表达量最高,表明当枣果遭遇连续降雨逆境胁迫时,HSP 基因表达量会有所上升。裂果发生后表达量呈明显下降,与转录组测序分析结果一致。可见,HSP 基因是枣逆境胁迫下的一种重要基因,值得进一步开展该基因的生物学功能研究^[26-27]。

4 结论

本研究通过 PCR 法克隆获得木枣 HSP 基因的 cDNA 序列,长度为 478 bp,编码 154 个氨基酸,分子量大小为 17.29 kDa 等电点 12.22,呈碱性。对其理化性质分析 HSP 平均亲水性数值为 -0.308,为亲水性蛋白,HSP 不稳定系数为 81.04,脂肪族氨基酸指数为 75.45,亚细胞定位预测在叶绿体。系统进化

树分析显示枣 HSP 基因与夏栎、巨桉等亲缘关系较近。通过基因的时空表达模式分析表明 HSP 基因在抗裂性好的品种中表达量低、叶片中表达量高、易发生裂果的脆熟期表达量高,裂果发生后表达量呈明显下降。

参考文献:

- [1] LI D Q, YUE D D, LIU D, et al. Phytochemical and chemotaxonomic study on *Ziziphus jujuba* mill. (Rhamnaceae) [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2020, 91: 104058.
- [2] 刘孟军,王玖瑞. 新中国果树科学研究 70 年:枣[J]. *果树学报*, 2019, 36(10): 1369-1381.
- [3] LIU M J, WANG J R, WANG L L, et al. The historical and current research progress on jujube—a superfruit for the future[J]. *Horticulture Research*, 2020, 7: 119.
- [4] 杨世平,孙润广,陈国良,等. 红枣中营养、药用有效成分多糖的分离与提纯及其鉴定[J]. *延安大学学报(自然科学版)*, 2004, 23(3): 38-40.
- [5] 高梅秀,田小卫,宗晶莹. 枣不同品种抗寒性分析[J]. *北方园艺*, 2009(12): 102-104.
- [6] 樊欣,彭仁. 热休克蛋白 70:生物学功能与作用机制研究进展[J]. *生命科学*, 2019, 31(3): 270-278.
- [7] 蒲力群,王逢会,霍满鹏. 热休克蛋白的研究进展[J]. *延安大学学报(自然科学版)*, 2008, 27(1): 72-75.
- [8] LI J, XIANG C Y, YANG J, et al. Interaction of HSP20 with a viral RdRp changes its sub-cellular localization and distribution pattern in plants [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14016.
- [9] SHAN Q, MA F, WEI J, et al. Physiological functions of heat shock proteins [J]. *Current Protein & Peptide Science*, 2020; 21(8): 751-760.
- [10] 杨玉珍,雷志华,彭方仁. 低温诱导蛋白及其与植物的耐寒性研究进展[J]. *西北植物学报*, 2007, 27(2): 421-428.
- [11] BERKA M, KOPECKÁ R, BERKOVÁ V, et al. Regulation of heat shock proteins 70 and their role in plant immunity [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(7): 1894-1909.
- [12] 齐盼盼. 烟草小热休克蛋白 (*NbHSP20*) 与两种植物病毒的互作研究 [D]. 金华:浙江师范大学, 2023.
- [13] 李艳,张国强,邵东燕,等. 小分子热休克蛋白的结构与功能 [J]. *生命科学*, 2017, 29(1): 55-61.
- [14] MUKHOPADHYAY R, BORO P, KARMAKAR K, et al. Advances in the understanding of heat shock proteins and their functions in reducing abiotic stress in plants [J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2024, 33(4): 474-491.
- [15] MONDAL S, KARMAKAR S, PANDA D, et al. Crucial plant processes under heat stress and tolerance through heat shock proteins [J]. *Plant Stress*, 2023, 10: 100227.

- [16] SUN X B, ZHU J F, LI X, et al. *AsHSP26.8a*, a creeping bentgrass small heat shock protein integrates different signaling pathways to modulate plant abiotic stress response [J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1):184.
- [17] WU J T, GAO T, HU J N, et al. Research advances in function and regulation mechanisms of plant small heat shock proteins (*sHSPs*) under environmental stresses [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 825:154054.
- [18] 纪向云, 印汉, 任小青, 等. 橡胶树 *sHSP* 基因家族的表达谱分析[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(12):3424–3432.
- [19] NETO V G, BARBOSA R R, CAROSIO M G A, et al. Sequence analysis of *Ricinus communis* small heat-shock protein (*sHSP*) subfamily and its role in abiotic stress responses [J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, 152:112541.
- [20] ESCOBAR M R, FEUSSNER I, VALLE E M. Mitochondrial small heat shock proteins are essential for normal growth of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12:600426.
- [21] 王华丽, 陈宁, 杜晗蔚, 等. 高温胁迫下 ABA 调控 *sHSP26* 对玉米叶绿体的保护作用[J]. *河南农业大学学报*, 2019, 53(6):831–838.
- [22] 栗现芳, 李晓娟, 刘锦峰, 等. 基于木枣与其抗裂变异系 V2 比较的枣裂果相关基因鉴定[J]. *中国南方果树*, 2024, 53(6):225–232.
- [23] 张凯. 柑橘 *HSP20* 家族基因鉴定及响应溃疡病菌侵染的表达分析[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021.
- [24] DE SOUZA RESENDE J S, DOS SANTOS T B, DE SOUZA S G H. Small heat shock protein (*Hsp20*) gene family in *Phaseolus vulgaris* L.: Genome-wide identification, evolutionary and expression analysis [J]. *Plant Gene*, 2022, 31:100370.
- [25] FENG X H, ZHANG H X, ALI M, et al. A small heat shock protein *CaHsp25.9* positively regulates heat, salt, and drought stress tolerance in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 142:151–162.
- [26] 姚富文, 王枚阁, 宋春晖, 等. 苹果 *HSP90* 家族基因鉴定及高温胁迫下的表达分析[J]. *园艺学报*, 2021, 48(5):849–859.
- [27] PANZADE K P, KALE S S, CHAVAN N R, et al. Genome-wide analysis of *Hsp70* and *Hsp100* gene families in *Ziziphus jujuba* [J]. *Cell Stress and Chaperones*, 2021, 26(2):341–353.

[责任编辑 李晓霞]

Cloning and spatio-temporal expression patterns analysis of *HSP* gene of “Muzao” *Ziziphus jujuba* Mill.

YANG Lu¹, CHEN Mengfan¹, ZHOU Hailin¹, HU Junhua¹, CHEN Guoliang¹,
WANG Jianhua², WANG Yanfeng¹, LI Xianfang^{1*}

(1. Shaanxi Key Laboratory of Research and Utilization of Resource Plants on the Loess Plateau, School of Life Sciences, Yan'an University; 2. Yan'an Heyuan Biotechnology Co., LTD, Yan'an 716000, China)

Abstract: Heat shock proteins (HSPs) expressed by plants in adverse environments or special periods of development can help resist stress and protect plant cells. The article took “Muzao”、“Gouto zao”、round sour jujube、V1、V2、V3、different tissues in “Muzao” and fruits of different periods of “Muzao” as experimental materials, *HSP* gene encoding heat shock protein was cloned from “Muzao” at the brittle stage of ripening, and its sequence characteristics were analyzed by bioinformatics method, and its spatio-temporal expression pattern was analyzed by RT-qPCR. The results showed that the *HSP* gene was 478 bp in length, encoding 154 amino acids, with a presumed molecular weight size of 17.29 kDa, an isoelectric point of 12.22, indicating an alkaline nature. The coefficient of protein instability was 81.04, the value of average hydrophilicity was -0.308, suggesting a hydrophilic protein. The index of aliphatic amino acid was 75.45. Spatio-temporal expression pattern analysis showed that the expression of the *HSP* gene was low in the varieties with good crack resistance, high in the leaves, high in the crispy ripening stage when fruit cracking was easy to occur, and decreased significantly after fruit cracking occurred. The expression of date *HSP* gene was higher in the variant line V1, the leaves of jujube, and the fruits of jujube at the crispy ripening stage.

Key words: Jujube; *HSP*; gene cloning; gene expression analysis