

博士論文(要約)

植物の高温ストレス応答の初期に機能する
転写因子 HsfA1 の活性制御機構の解析

大濱直彦

目次

目次	2
略語一覧	3
図表一覧	5
第1章 序論	7
第2章 リン酸化による HsfA1 活性制御機構の解析	12
II-1 背景	14
II-2 方法	14
II-3 結果	30
II-4 考察	37
第3章 ドメイン解析を通じた HsfA1 活性制御領域の同定	56
III-1 背景	56
III-2 方法	58
III-3 結果	67
III-4 考察	79
第4章 総合考察	127
謝辞	131
参考文献	132

略語一覧

本項目の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。

図表一覧

本項目の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。

第1章 序論

植物は移動の自由を持たないため、周囲の環境の変化によるストレスから積極的に逃れることができない。そのため、植物は環境ストレスに適応するために様々な仕組みを発達させてきた (Ahuja et al., 2011、Conde et al., 2011)。この仕組みを解明することは植物の生存戦略を理解する上で役に立つだけでなく、農業という実用的な面においても環境ストレス耐性品種の育種を行う上で有益である (Lavania et al., 2015)。植物が本来持つ環境ストレス適応力を遺伝子組換えにより強化、または農薬等により人為的に誘導することができれば、気候変動や異常気象による農作物の減収を防ぐことが可能となる。様々な環境ストレスが農作物に悪影響を与えうるが、高温ストレスはその影響が最も大きなストレスの一つである (Mittler, 2006、Teixeira et al., 2013)。また、地球温暖化の進行により耕作に適した気温を超える期間や地域が増加し、農作物の減収につながる可能性も指摘されている (Porter., 2005、Lobell et al., 2011)。そのため、植物が高温ストレスに適応する機構を明らかにすることで食糧の安定供給に大きく貢献できる可能性がある。

高温ストレスはあらゆる生物が遭遇しうる普遍的なストレスである。日周、年周の気温、水温変化に加え、気象条件によっては突発的に異常な高温に見舞われることもある。高温ストレスに曝された細胞では細胞膜流動性の上昇、タンパク質の変性、ミトコンドリアや葉緑体からの活性酸素種 (ROS) の発生などが起こる (Wahid et al., 2007、Mittler et al., 2012、Horváth et al., 2012)。これらは細胞の構成要素に大きなダメージを与え、細胞環境の恒常性の維持を難しくする。それらダメージを避けるため、高温ストレスに曝された細胞は速やかに転写をリプログラミングし、高温ストレスに対応するためのタンパク質を合成する。この応答は高温ストレス応答と呼ばれ、進化の過程で様々な生物種において広く保存されてきた仕組みである。

真核生物の高温ストレス応答に関する初期の研究は、主にショウジョウバエを用いて進められた。ショウジョウバエの唾液腺染色体で高温ストレスに応じたパフ形成が発見されて以降 (Ritossa, 1962)、高温ストレスによって誘導される RNA やタンパク質が次々と同定されていった (Ashburner and Bonner, 1979)。高温ストレス処理時に急激に発現が誘導される一群のタンパク質は Heat shock protein (HSP) と呼ばれ、それらに相同性の高いタンパク質は様々な生物の細胞で高温ストレスに応じて蓄積することが示されていった (Lindquist et al., 1986)。ショウジョウバエの HSP プロモーターは他の生物に導入した際も高温ストレスによる発現誘導を示したことから (Corces e al., 1981)、高温ストレス応答の制御機構は生物種間で広く保存されている可能性が考えられていた。HSP のプロモーター解析から、高温ストレスに

応じた遺伝子発現誘導に関わるシス因子として Heat shock element (HSE; nGAAnnTTCn または nTTCnnGAAn) が同定された (Pelham, 1982)。さらにその配列に結合する転写因子として Heat shock transcription factor (HSF) が単離された (Wu et al., 1987)。その後、HSF は酵母やヒトなどで次々と単離されていった (Wiederricht et al., 1987、Goldenberg et al., 1988)。植物の HSF はトマトで最初に単離されたのに続き、シロイヌナズナやダイズでも単離されていった (Scharf et al., 1990、Hübel et al., 1994、Czarnecha-Verner et al., 1995)。HSF が示す幅広い保存性から、高温ストレス応答の基本的な転写制御機構は真核生物の間で共通していると考えられている。

HSF の構造はモジュール化されており、基本的に N 末端側から DNA 結合ドメイン、オリゴマー化ドメイン、転写活性化ドメインと並んだ構造を取っている (Wu, 1995)。植物以外の生物の HSF では、オリゴマー化ドメインと転写活性化ドメインの間の領域が HSF の活性制御に関与しており、制御ドメインと呼ばれている (Anckar et al., 2011)。植物の HSF では制御ドメインに相当する領域が存在するかどうか明らかにされていない。

HSF は通常生育条件では不活性な単量体として存在し、その状態の維持に HSP90 が関わるということが知られている (Ali et al., 1998、Zou et al., 1998、Guo et al., 2001)。細胞が高温ストレスに曝されると、HSP が変性タンパク質に結合するため HSF から解離し、HSF 同士がオリゴマー化ドメインでコイルドコイル構造を作ることにより三量体化する。三量体化することによって HSF は DNA 結合能を獲得するが、高い転写活性化能を発揮するためにはさらにリン酸化による活性化を受ける必要がある (Xu et al., 2012)。活性化した HSF は基本転写因子だけでなく、クロマチン再構成因子もプロモーターへ呼び込むことで遺伝子発現を促進する (Sullivan et al., 2001)。高温ストレス誘導性遺伝子の発現は 1 時間から数時間程度でピークを迎え、その後減衰するという一過的な発現パターンを持つ。この減衰は HSF の活性に抑制的に働く様々な翻訳後修飾が起きるためであると共に (Xu et al., 2012)、HSF によって発現が誘導された HSP70 や HSP90 が HSF の活性を抑えるネガティブフィードバックが働くためであると考えられている (Rabindran et al., 1994、Shi et al., 1998、Bharadwaj et al., 1999)。これまでに明らかにされた HSF の活性制御機構は主に動物の HSF を用いて解析されてきた。植物の HSF も HSP による活性制御を受けることが示されているが (Lee and Schöffl, 1996、Hahn et al., 2011)、その他の制御機構は、保存されているのかも含まれて未解明な点が多く残されている。

動物細胞と植物細胞では、生き残るために想定しなければいけない高温ストレス条件が異なると推測される。移動の自由を持たない植物とは異なり、動物は気温の

低い場所に移動することで積極的にストレスから逃げるができる。このため必ずしも高度な高温ストレス応答機構を備えておく必要はなく、むしろ高温ストレスを感知して逃避行動につなげるための神経を介したシグナル伝達系が発達している。高温ストレス忌避に異常が見られるショウジョウバエや線虫の変異体を用いた解析から、高温ストレスの感知やシグナル伝達に必要なタンパク質、神経細胞が近年明らかにされている (Sokabe et al., 2008、Prahlaad et al., 2008)。それに対し、植物は自然に温度が下がるまで高温ストレスに耐え続けなくてはならない。そのため、植物は長期の高温ストレスにも耐えられるような仕組みを備えておく必要がある。近年急速に蓄積されつつあるゲノム情報やシロイヌナズナを用いた個々の HSF に関する機能解析から、植物では高温ストレス応答の中核制御因子としての HSF は保存されつつも、それらのファミリー遺伝子構成が動物よりも遥かに複雑化していることが明らかとなってきた (Nover et al, 2001、von Koskull-Döring et al., 2007、Scharf et al, 2011)。酵母やショウジョウバエでは 1 遺伝子、ヒトでは 6 遺伝子の HSF がゲノムにコードされているが (Akerfel et al., 2010、Xu et al., 2012)、シロイヌナズナには 21 遺伝子、イネには 25 遺伝子、ダイズに至っては 52 遺伝子の HSF が存在している (Scharf et al., 2011)。これら HSF のアミノ酸配列を比較した際、植物の HSF のオリゴマー化ドメインには非植物の HSF には見られない挿入配列が存在し、その配列の長さが 21 アミノ酸のものを A グループ (HsfA)、7 アミノ酸のものを C グループ (HsfC)、挿入配列がないものを B グループ (HsfB) と分類している (Nover et al., 2001、Scharf et al., 2011)。さらに同じグループ内でも特に相同性の高い HSF 同士でサブグループを形成しており、これまでに HsfA では A1~A9 の 9 つ、HsfB では B1~B5 の 5 つ、HsfC では C1、C2 の 2 つのサブグループが確認されている。非植物の HSF は転写活性化因子である場合がほとんどであるが、植物の HSF はグループごとに転写制御における役割が異なる。HsfA は Aromatic and large hydrophobic amino acid residues embedded in an acidic context (AHA) と呼ばれる転写活性化モチーフを持ち、非植物の HSF と同様に転写活性化因子として働く。一方、HsfB は B3 repression domain (BRD) と呼ばれる転写抑制モチーフを持ち、転写抑制因子として働く。HsfC は特徴的な転写制御モチーフを持たないため、転写制御における役割はよく分かっていない。

植物は多様化した HSF ファミリー遺伝子を高温ストレス応答の進行に応じて使い分け、継続的な高温ストレスにも適応できるような仕組みを作り上げていることが、主にシロイヌナズナを用いた研究から明らかにされている (Kotak et al., 2007、Larkindale and Vieling et al., 2008)。そこには HSF が別の HSF の発現を誘導し、高温ストレス応答を増幅する転写カスケードが存在している (Nishizawa-Yokoi et al.,

2011、Yoshida et al., 2011)。高温ストレスに曝された植物細胞では、まず高温ストレス応答のマスターレギュレーターである A1 サブクラスの HsfA (HsfA1) が活性化される。シロイヌナズナのゲノム中には 4 つの *HsfA1* がコードされているが、そのうち *HsfA1a*、*HsfA1b*、*HsfA1d* が同時に破壊された *hsf1a hsf1b hsf1d* 三重変異体では高温ストレス応答が起こらない (Liu et al., 2011、Yoshida et al., 2011)。そのため、シロイヌナズナではこれら 3 つの HsfA1 が特に重要であると考えられている。HsfA1 は構成的に発現しており、タンパク質レベルで活性が制御されると考えられている。HsfA1 の下流には HSP に加え、HsfA2、HsfA7a、HsfA7b、HsfB1、HsfB2a、HsfB2b といった高温ストレス誘導性 HSF 群が存在する。HsfA2 などの高温ストレス誘導性 HsfA は HSP の発現をさらに増幅させるとともに、HsfA1 とは異なる標的遺伝子の発現を促進する (Chang et al., 2007、Larkindale and Vierling et al., 2008、Liu et al., 2013)。高温ストレス誘導性 HsfB は HsfA に対するブレーキとして作用し、過剰な高温ストレス応答を防いでいると考えられている (Ikeda et al., 2011)。HsfA1 の下流には Dehydration responsive element-binding protein 2A (DREB2A)、Multiprotein bridging factor 1c (MBF1c) など、HSF 以外の高温ストレス誘導性転写因子も存在し、高温ストレス誘導性遺伝子の発現を増幅させる。これらの転写カスケードのさらに下流には HsfA3 が存在する。HsfA3 は DREB2A の標的遺伝子であるため HsfA2 よりも遅いタイミングで発現し、長時間高温ストレス応答を持続させるために働く (Schramm et al., 2008、Yoshida et al., 2008)。植物がこのような多段階な転写カスケードを有しているのに対し、動物では専ら HSF1 が高温ストレス誘導性遺伝子の発現誘導を担っている。動物には高温ストレス誘導性 HSF も存在しておらず、複数の HSF からなる転写カスケードの存在は報告されていない (Akerfel et al., 2010)。

動物では高温ストレスの受容から HSF1 の活性化までのシグナルの流れがある程度明らかにされている。先に述べた HSP70、HSP90 による変性タンパク質の存在量を反映した活性抑制に加え、翻訳後修飾による活性化、高温ストレスによって構造変化した RNA による活性化、高温ストレスを認識した神経細胞経路による活性化などが知られる (Xu et al., 2012、Shamovsky et al., 2006、Prahld et al., 2008)。一方、これら制御機構に相当するものが植物で保存されているかは明らかにされていない。高温ストレスから逃れられない植物は、動物以上に外部環境の変化を敏感に感じ取り、高温ストレス応答の制御をより高度に発達させていることが予想される。高温ストレスの強度や継続時間に応じて適切に転写カスケードを動かすためには、HsfA1 の活性を適宜調節する仕組みが必要となる。より複雑な下流遺伝子群に対する制御を要求されることから、HsfA1 の活性制御機構は動物 HSF1 のものとは異なる発達を遂げている可能性が考えられる。植物の高温ストレス応答では転写カスケ

一ドの下流については多くの知見が蓄積している。しかしながら、それよりも上流の高温ストレスセンサーから HsfA1 の活性化が起こるまでのシグナル伝達については大部分が未解明である。これまでに ROS シグナルやカルシウムシグナルが高温ストレス応答の駆動に関与することが知られているが (Volkov et al., 2006、Saidi et al., 2009、Gao et al., 2012、Finka et al., 2013)、それらのシグナルがどのような経路で HsfA1 に伝えられるのかはほとんど分かっていない。このような状況で HsfA1 の活性制御機構を明らかにするためには、まず HsfA1 の活性化に関わる翻訳後修飾や相互作用因子などを明らかにする必要がある。その知見を基に高温ストレスのシグナル伝達に関わる因子群が同定されれば、動物の高温ストレス応答制御機構との比較により植物特異的な機構や動植物共通の機構が明らかとなるだろう。また、同定された高温ストレスシグナルの伝達経路の構成因子をターゲットとした育種を行うことで、効率的な高温ストレス耐性作物の作出につながる可能性もある。

本研究では植物における高温ストレス応答の制御機構を明らかにするため、シロイヌナズナを用いて HsfA1 の活性制御機構について解析した。本研究では二つの切り口から解析を進めた。一つ目は翻訳後修飾に注目した解析で、他の生物で HSF の活性制御に関わる例が多く報告されているリン酸化に特に注目した (第 2 章)。この解析では HsfA1 のリン酸化サイトの同定と機能解析を行った。二つ目は HsfA1 の活性制御ドメインと推定される領域に注目した解析で、デリーションシリーズを用いたドメイン解析を行った (第 3 章)。この解析では HsfA1 の活性制御において重要な役割を持つ領域を特定し、その領域の機能を解析した。

第2章 リン酸化による HsfA1 活性制御機構の解析

本項目の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。

第3章 ドメイン解析を通じた HsfA1 活性制御領域の同定

本項目の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。

第4章 総合考察

本項目の内容は、共著論文として学術雑誌に掲載予定であり、インターネット公表に対する共著者全員の同意が得られていないため公表できない。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご指導、ご助言を賜りました植物分子生理学研究室の篠崎和子教授に謹んで感謝申し上げます。また、本研究を進める上で実験計画、実験操作のご指導を賜りました溝井順哉博士に謹んで感謝申し上げます。また、マイクロアレイ解析にご指導とご助力を賜りました植物分子生理学研究室の城所聡博士、村崎さゆり様、本論文の執筆にあたりご指導とご助力を賜りました戸高大輔博士に厚く御礼申し上げます。

本研究の遂行にあたり、多くのご指導、ご助力を賜りました理化学研究所環境資源科学研究センター機能開発研究グループの研究員、技術補佐員、秘書の皆様に深く感謝申し上げます。特に研究計画に多大なご助言を賜りました篠崎一雄先生、質量分析のご指導とご助力を賜りました高橋史憲博士、水門佐保様に厚く御礼申し上げます。

本研究を遂行するにあたり数々のご指導、ご助力を賜るとともに、日々の研究生活を支えてくださった植物分子生理学研究室の皆様に深く感謝申し上げます。

参考文献

- Ahuja I, de Vos R, Bones A, Hall R** (2011) Plant molecular stress responses face climate change. *Trends Plant Sci* **15**: 664-674
- Akerfelt M, Morimoto R, Sistonen L** (2010) Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan. *Nat Rev Mol Cell Biol* **11**: 545-555
- Ali A, Bharadwaj S, O'Carroll R, Ovsenek N** (1998) HSP90 interacts with and regulates the activity of heat shock factor 1 in *Xenopus* oocytes. *Mol Cell Biol* **18**: 4949-4960
- Ankar J, Sistonen L** (2011) Regulation of HSF1 function in the heat stress response: implications in aging and disease. *Annu Rev Biochem* **80**: 1089-1115
- Ashburner M, Bonner J** (1979) The induction of gene activity in *Drosophila* by heat shock. *Cell* **17**: 241-254
- Bharadwaj S, Ali A, Ovsenek N** (1999) Multiple components of the HSP90 chaperone complex function in regulation of heat shock factor 1 *In vivo*. *Mol Cell Biol* **19**: 8033-8041
- Chang Y, Liu H, Liu N, Chi W, Wang C, Chang S, Wang T** (2007) A heat-inducible transcription factor, HsfA2, is required for extension of acquired thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **143**: 251-262
- Conde A, Chaves M, Gerós H** (2011) Membrane transport, sensing and signaling in plant adaptation to environmental stress. *Plant Cell Physiol* **52**: 1583-1602
- Corces V, Pellicer A, Axel R, Meselson M** (1981) Integration, transcription, and control of a *Drosophila* heat shock gene in mouse cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **78**: 7038-7042
- Czarnecka-Verner E, Yuan C, Fox P, Gurley W** (1995) Isolation and characterization of six heat shock transcription factor cDNA clones from soybean. *Plant Mol Biol* **29**: 37-51

- Finka A, Cuendet A, Maathuis F, Saidi Y, Goloubinoff P (2013)** Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance. *Plant Cell* **24**: 3333-3348
- Gao F, Han X, Wu J, Zheng S, Shang Z, Sun D, Zhou R, Li B (2012)** A heat-activated calcium-permeable channel--*Arabidopsis* cyclic nucleotide-gated ion channel 6--is involved in heat shock responses. *Plant J* **70**: 1056-1069
- Goldenberg C, Luo Y, Fenna M, Baler R, Weinmann R, Voellmy R (1988)** Purified human factor activates heat shock promoter in a HeLa cell-free transcription system. *J Biol Chem* **263**: 19734-19739
- Guo Y, Guettouche T, Fenna M, Boellmann F, Pratt W, Toft D, Smith D, Voellmy R (2001)** Evidence for a mechanism of repression of heat shock factor 1 transcriptional activity by a multichaperone complex. *J Biol Chem* **276**: 45791-45799
- Hahn A, Bublak D, Schleiff E, Scharf K (2011)** Crosstalk between Hsp90 and Hsp70 Chaperones and Heat Stress Transcription Factors in Tomato. *Plant Cell*
- Horváth I, Glatz A, Nakamoto H, Mishkind M, Munnik T, Saidi Y, Goloubinoff P, Harwood J, Vigh L (2012)** Heat shock response in photosynthetic organisms: membrane and lipid connections. *Prog Lipid Res* **51**: 208-220
- Hübel A, Schöffl F (1994)** *Arabidopsis* heat shock factor: isolation and characterization of the gene and the recombinant protein. *Plant Mol Biol* **26**: 353-362
- Ikeda M, Mitsuda N, Ohme-Takagi M (2011)** *Arabidopsis* HsfB1 and HsfB2b act as repressors of the expression of heat-inducible Hsfs but positively regulate the acquired thermotolerance. *Plant Physiol* **157**: 1243-1254
- Kotak S, Larkindale J, Lee U, von Koskull-Döring P, Vierling E,**

- Scharf K** (2007) Complexity of the heat stress response in plants. *Curr Opin Plant Biol* **10**: 310-316
- Larkindale J, Vierling E** (2008) Core genome responses involved in acclimation to high temperature. *Plant Physiol* **146**: 748-761
- Lavanita D, Dhingra A, Siddiqui M, Al-Whaibe M, Grover A** (2015) Current status of the production of the high temperature tolerant transgenic crops for cultivation in warmer climates. *Plant Physiol Biochem* **86**: 100-118
- Lee J, Hübel A, Schöffl F** (1995) Derepression of the activity of genetically engineered heat shock factor causes constitutive synthesis of heat shock proteins and increased thermotolerance in transgenic Arabidopsis. *Plant J* **8**: 603-612
- Lindquist S** (1986) The heat-shock response. *Annu Rev Biochem* **55**: 1151-1191
- Liu H, Liao H, Charng Y** (2011) The role of class A1 heat shock factors (HSFA1s) in response to heat and other stresses in Arabidopsis. *Plant Cell Environ* **34**: 738-751
- Lobell D, Schlenker W, Costa-Roberts J** (2011) Climate trends and global crop production since 1980. *Science* **333**: 616-620
- Mittler R** (2006) Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends Plant Sci* **11**: 15-19
- Mittler R, Finka A, Goloubinoff P** (2012) How do plants feel the heat? *Trends Biochem Sci*
- Nishizawa-Yokoi A, Nosaka R, Hayashi H, Tainaka H, Maruta T, Tamoi M, Ikeda M, Ohme-Takagi M, Yoshimura K, Yabuta Y, Shigeoka S** (2011) HsfA1d and HsfA1e Involved in the Transcriptional Regulation of HsfA2 Function as Key Regulators for the Hsf Signaling Network in Response to Environmental Stress. *Plant Cell Physiol* **52**: 933-945
- Nover L, Bharti K, Döring P, Mishra S, Ganguli A, Scharf K** (2001)

- Arabidopsis and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need? *Cell Stress Chaperones* **6**: 177-189
- Pelham H** (1982) A regulatory upstream promoter element in the *Drosophila* hsp 70 heat-shock gene. *Cell* **30**: 517-528
- Porter J** (2005) Rising temperatures are likely to reduce crop yields. *Nature* **436**: 174
- Prahlad V, Cornelius T, Morimoto R** (2008) Regulation of the cellular heat shock response in *Caenorhabditis elegans* by thermosensory neurons. *Science* **320**: 811-814
- Rabindran S, Wisniewski J, Li L, Li G, Wu C** (1994) Interaction between heat shock factor and hsp70 is insufficient to suppress induction of DNA-binding activity in vivo. *Mol Cell Biol* **14**: 6552-6560
- Ritossa F** (1964) Experimental activation of specific loci in polytene chromosomes of *Drosophila*. *Exp Cell Res* **35**: 601-607
- Saidi Y, Finka A, Muriset M, Bromberg Z, Weiss Y, Maathuis F, Goloubinoff P** (2009) The heat shock response in moss plants is regulated by specific calcium-permeable channels in the plasma membrane. *Plant Cell* **21**: 2829-2843
- Scharf K, Berberich T, Ebersberger I, Nover L** (2011) The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: Structure, function and evolution. *Biochim Biophys Acta*
- Scharf K, Rose S, Zott W, Schöffl F, Nover L** (1990) Three tomato genes code for heat stress transcription factors with a region of remarkable homology to the DNA-binding domain of the yeast HSF. *EMBO J* **9**: 4495-4501
- Schramm F, Larkindale J, Kiehlmann E, Ganguli A, Englich G, Vierling E, von Koskull-Döring P** (2008) A cascade of transcription factor DREB2A and heat stress transcription factor HsfA3 regulates the heat stress response of *Arabidopsis*. *Plant J* **53**: 264-274

- Shamovsky I, Ivannikov M, Kandel E, Gershon D, Nudler E (2006)** RNA-mediated response to heat shock in mammalian cells. *Nature* **440**: 556-560
- Shi Y, Mosser D, Morimoto R (1998)** Molecular chaperones as HSF1-specific transcriptional repressors. *Genes Dev* **12**: 654-666
- Sokabe T, Tsujiuchi S, Kadowaki T, Tominaga M (2008)** Drosophila painless is a Ca²⁺-requiring channel activated by noxious heat. *J Neurosci* **28**: 9929-9938
- Sullivan E, Weirich C, Guyon J, Sif S, Kingston R (2001)** Transcriptional activation domains of human heat shock factor 1 recruit human SWI/SNF. *Mol Cell Biol* **21**: 5826-5837
- Teixeira E, Fischer G, Velthuizen H, Walter C, Ewert F (2013)** Global hot-spots of heat stress on agricultural crops due to climate change. *Agric For Meteorol* **170**: 206-215
- Volkov R, Panchuk I, Mullineaux P, Schöffl F (2006)** Heat stress-induced H₂O₂ is required for effective expression of heat shock genes in Arabidopsis. *Plant Mol Biol* **61**: 733-746
- von Koskull-Döring P, Scharf K, Nover L (2007)** The diversity of plant heat stress transcription factors. *Trends Plant Sci* **12**: 452-457
- Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad M (2007)** Heat tolerance in plants: An overview. *Environ Exp Bot* **61**: 199-223
- Wiederrecht G, Shuey D, Kibbe W, Parker C (1987)** The Saccharomyces and Drosophila heat shock transcription factors are identical in size and DNA binding properties. *Cell* **48**: 507-515
- Wu C (1995)** Heat shock transcription factors: structure and regulation. *Annu Rev Cell Dev Biol* **11**: 441-469
- Wu C, Wilson S, Walker B, Dawid I, Paisley T, Zimarino V, Ueda H (1987)** Purification and properties of Drosophila heat shock activator protein. *Science* **238**: 1247-1253
- Xu Y, Huang D, Chiu J, Lau A (2012)** Post-translational modification of

human heat shock factors and their functions: a recent update by proteomic approach. *J Proteome Res* **11**: 2625-2634

Yoshida T, Ohama N, Nakajima J, Kidokoro S, Mizoi J, Nakashima K, Maruyama K, Kim J, Seki M, Todaka D, Osakabe Y, Sakuma Y, Schöfl F, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2011) Arabidopsis HsfA1 transcription factors function as the main positive regulators in heat shock-responsive gene expression. *Mol Genet Genomics* **286**: 321-332

Yoshida T, Sakuma Y, Todaka D, Maruyama K, Qin F, Mizoi J, Kidokoro S, Fujita Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2008) Functional analysis of an Arabidopsis heat-shock transcription factor HsfA3 in the transcriptional cascade downstream of the DREB2A stress-regulatory system. *Biochem Biophys Res Commun* **368**: 515-521

Zou J, Guo Y, Guettouche T, Smith D, Voellmy R (1998) Repression of heat shock transcription factor HSF1 activation by HSP90 (HSP90 complex) that forms a stress-sensitive complex with HSF1. *Cell* **94**: 471-480