

담수어와 해수어의 수온 스트레스에 의한 Heat Shock Factor 1 (HSF1)의 삼량체 조절 인자 분석

최보희 · 박장수[†]
부산대학교(학생) · [†]부산대학교(교수)

Analysis of Trimerization Regulating Factor Induced Water Temperature Stress in heat Shock Factor 1 (HSF1) of Freshwater and Marine Fish

Bo-Hee CHOI · Jang-Su PARK[†]
Pusan National University(student) · [†]Pusan National University(professor)

Abstract

This study evaluated the trimerization mechanism and structure of heat shock factor 1 (HSF1) in humans, goldfish, and walleye pollock at various temperatures. Humans, goldfish, and pollock are representatives of mammals, freshwater fish, and saltwater fish, respectively. First, walleye pollock HSF1, which has not been reported, was used as a Rapid Amplification of cDNA Ends (RACE)-PCR strategy. And then, Humans, goldfish, and walleye pollock contain cysteine (C), tyrosine (Y), and phenylalanine (F) at residue 103. Also, the trimer generation temperature of each species was found to be 42, 37, and 20 °C, respectively. However, when residue 103 was mutated by alanine(A), the trimer was not generated at all species. These results indicate that the temperature and mechanism of forming HSF1 trimer depending on the amino acid residue and their living environment. Therefore, HSF1 can be considered as important indicator for water temperature stress in freshwater and seawater fish.

Key words : HSF1, Trimerization, Goldfish, Walleye pollock, Water temperature stress

I. 서론

최근 수십 년 동안 지구 온난화로 인한 수온 상승은 생태계에 많은 문제를 야기했다(Poff et al., 2002). 특히, 지구 온난화로 인해 2,100년까지 수온이 약 1~4°C 상승할 것으로 예상되며, 이러한 수온 상승은 해양 생물에 급성 스트레스 반응을 유발한다(Alfonso et al., 2021; Barbarossa et al., 2021). 동해의 경우 겨울철 평균 수온이 1970년도에서 2020년도 사이에 5°C 이상 증가하였다. 특히 한국 어류 중 수요가 높은 walleye

pollock(*Gadus chalcogrammus*)의 수확량은 1970년대 이전까지 연간 약 620,000 ton으로 기록되었다. 하지만 2000년대 이후 수확량은 연간 약 50,000 ton 이하로 감소하였다(Kim et al., 2022).

이러한 수확량 감소의 원인은 기후변화로 인한 수온 상승의 결과로 사료된다(Lee and Kim., 2010). 어류와 같은 유기체가 수온 스트레스를 받으면 세포가 산화적 환경에 노출된다(Madeira et al., 2013). 그리고 임계수온 이상의 스트레스에 노출이 되면, 단백질의 misfolding 또는 스스로 사멸을 선택하기도 한다. 그러나 생명체는 허용 범

[†] Corresponding author : 051-510-2294, jaspark@pusan.ac.kr

* 이 연구는 부산대학교 기본연구 지원사업 2년 과제에 수행되었습니다.

위 내에서 외부 스트레스에 저항 할 수 있는 능력이 있다(Mayr et al., 2000; Airaksinen et al., 2003; Misra et al., 1989). Heat shock protein(HSP)은 misfolding 된 단백질을 refolding 시키는 분자 샤페론 역할을 하며, 세포를 정상상태로 유지하는데 영향을 준다(Feder and Hofmann, 1999; Vihervaara and Sistonen, 2014). 스트레스에 의한 HSPs의 발현은 heat shock factor1 (HSF1)에 의해 조절된다(Archana et al., 2017).

정상적인 조건에서 HSF1은 세포 내부에 monomer로 존재한다. 그러나 스트레스에 노출되면 HSF1이 trimer를 형성하며 HSPs의 발현을 유도한다(Lu et al., 2008; Wu, 1995; Zuo et al., 1994). 이전 연구에서는 DNA 결합 도메인의 두 C가 이황화 결합을 형성할 때 human의 HSF1(hHSF1)의 trimer가 42°C에서 생성되는 것을 확인할 수 있었다(Lu et al., 2008). 이 두 시스템은 HSF1의 DNA binding domain 안에 있는 아미노산 잔기 36과 103(각각 C36과 C103)에 위치한다(Ahn and Thiele, 2003; Lu et al., 2008). hHSF1의 DNA binding domain은 HSF1이 trimer 구조를 이루도록 하는 핵심 domain으로 알려져 있다(Lu et al., 2008). 하지만 hHSF1를 제외한 다른 종의 HSF1의 구조 특히 다양한 어종에서의 trimerization에 대해서는 알려진 바가 거의 없다.

선행연구에 따르면 온대성 어류의 대표적인 예인 goldfish(*Carassius auratus*) HSF1(gHSF1)의 trimerization 온도는 37°C인 것으로 나타났다(Kim et al., 2015). 그러나 gHSF1이 trimer를 형성하는 메커니즘은 아직 불분명하다. hHSF1과 gHSF1의 아미노산 잔기 103에서는 C로 같다. 하지만 hHSF1에서는 아미노산 잔기 36과 103이 모두 C으로 채워져 있다. gHSF1에서 역시 잔기 36은 C이다. 하지만 잔기 103은 Y이다. 이는 hHSF1의 Trimer 결합 종류인 S-S bond. 즉 이황화 결합이 gHSF1에는 존재하지 않음을 나타낸다(Kim et al., 2015). 해수어인 Walleye pollock(*Gadus chalcogrammus*)의 HSF1(wHSF1)의 103번 잔기는 F이다. 이는 또

한 wHSF1에 이황화 결합이 존재하지 않는다는 것을 시사한다.

본 연구에서는 human, goldfish 및 walleye pollock를 각각 포유류, 해수어, 담수어의 대표로 두고 다양한 HSF1의 잔기 103을 조사하고 그에 따라 HSF1의 trimer 생성 온도에 대해 알아보았다. 본 연구에서는 수온으로 인한 해수어와 담수어의 스트레스와 그에 따른 HSF1의 활성화에 중점을 두었다. 우리는 human, goldfish, walleye pollock의 HSF1 103번 잔기가 Trimer 생성 온도에 영향을 미치는지 여부를 조사하였다. 다른 여러 종의 어류들의 sequence를 비교하며 어류에서의 HSF1이 생활 환경과의 연관성을 조사할 필요가 있다. 따라서 본 연구는 human, goldfish, walleye pollock의 HSF1의 trimer 특성을 생활환경과 연관지어 관찰하고 그 조절인자를 분석하였다.

II. 연구 방법

1. Plasmid 구성 및 단백질 정제

hHSF1, gHSF1 그리고 wHSF1 cDNA를 함유하는 박테리아 발현 벡터 pET21b+ (Novagen)는 이전에 구축되었다(Lu et al., 2008; Lee et al., 2023). 본 연구에서는 gHSF1, wHSF1 cDNA를 포함하는 발현 벡터 pET21b+ (Novagen)를 C-말단 FLAG (DYKDDDK) 태그를 사용하여 구축하였다. 또한 hHSF1 C103A, wHSF1 F103A 및 gHSF1 Y103A는 PCR-mediated site-directed mutagenesis에 의해 구축했다(Lu ming., 2008). 각 HSF1 플라스미드는 각각 *Escherichia coli* BL21(DE3)로 형질 전환하였다. LB 배지에서 OD 600nm가 0.7 이상이 된 후, 표적 단백질을 추가로 발현하기 위해 0.5 mM isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside (IPTG)를 LB에 첨가하였다(20°C, 16시간) (Ahn et al., 2001). 단백질 정제를 위해 배양액을 원심분리하여 세포를 수집하였다. Cell lysis buffer (20mM Tris-HCl(pH 8.0, 4°C), 30mM imidazole, 200mM

NaCl, 1mM benzamidine 및 0.5mM PMSF)을 사용하여 Somnication을 위해 세포를 재현탁하였다. 그 후 원심분리(13,000rpm, 4°C에서 40분)한 후, His-Trap HP coulum 및 mono Q HR 5/5 column(GE Healthcare) (Lu et al., 2008)을 사용하여 정제하였다. 순도가 높은(>90%) 단백질은 Comassie brilliant blue 염색으로 확인하고 -80°C에서 보관하였다.

2. CROSS-LINKED TRIMERIZATION ASSAY (CTA) 분석

단백질 샘플을 4°C에서 dialysis buffer(0.5mM EDTA, 1mM Dithiothreitol (DTT) 및 프로테아제 억제제가 포함된 0.5 PBS 완충액, pH 7.0)을 사용하여 6시간 동안 투석하였다. CTA의 경우 샘플을 0.5mM cross-link chemical EGS (ethylene glycol bis) 용액과 함께 10분 동안 추가로 배양하고, non-reduced sample buffer과 혼합했다(Lu et al., 2008). 마지막으로 단백질을 95°C에서 10분 동안 끓여 단백질을 완전히 변성시킨 다음 non-reduced SDS-PAGE gel에 로딩하여 HSF1의 monomer 및 trimer의 상대적인 양을 결정하였다.

3. Western blot

100 mg의 신장, 심장, 장, 아가미, 및 간 조직을 분리하여 Tissue Protein Extraction Reagent (T-PER; Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용하여 단백질을 추출하였으며, 추출된 단백질들은 non-reduced 10% SDS-PAGE gel에서 loading 한 후 전기영동 하였다. 전기영동 한 단백질들은 45 mm Immobilon-NC transfer membranes (Millipore, USA)에 옮긴 후 3% BSA로 2시간 동안 blocking 하고 본 연구실에서 제작한 1차 항체, anti-HSF1을 처리하고(Kim et al., 2022), 4°C에서 overnight 후 Alkaline Phosphatase (AP)가 붙어 있는 goat anti-mouse IgG (Sigma, USA, 2차 항체)로 반응시켜 AP가 붙어 있는 1-Step™ NBT/BCIP substrate

solution (Thermo Fisher Scientific, USA) 사용하여 발색 후 HSF1 단백질의 monomer 및 trimer 발현을 확인하였다.

III. 연구 결과

1. Walleye pollock HSF1 cloning과 다른 어종들과의 sequence analysis

이전 연구에서 walleye pollock의 간에서 증폭된 HSF1 단편으로부터 full-length HSF1은 합성이 되었으며, 2,713개의 nucleotide에서 1,581개의 open reading frame (ORF)과 함께 526개의 암호화된 아미노산을 확인하였다(kim et al., 2022).

walleye pollock HSF1과 담수어인 goldfish(goldfish, *Carassius auratus*), 잉어(crap, *Cyprinus carpio*), 제브라피쉬(zebrafish, *Danio rerio*)와 해수어인 가자미(flounder, *Pleuronectidae*), 복어(blow fish, *Tetraodontidae*) 포유류인 휴먼(human, *Homo sapiens*) 생쥐(mouse, *Mus musculus*), 곰(bear, *Ursidae*)의 HSF1 아미노산을 multiple alignment를 통해 DNA-binding domain 상동성을 확인하였다([Fig. 1]).

walleye pollock와 가자미의 HSF1 아미노산 서열은 515개, 97.35%가 일치하였고, walleye pollock와 휴먼의 HSF1 아미노산은 256개, 52.09%, goldfish와는 274개, 51.41%가 일치하였다. 특히 trimerization의 결합 site인 36번과 103번 잔기에서 차이를 보이는데 포유류, 담수어, 해수어 관계없이 모두 C 잔기를 가진다. 하지만 103번 잔기에서 포유류는 동일하게 C인 반면 담수어는 Y, 해수어는 F를 가진다는 차이점을 확인하였다.

2. 어종별 HSF1의 Trimer 형성 최적 온도 확인

수온에 따른 walleye pollock의 조직에서 HSF1 trimer 생성을 확인하기 위해 western blotting을 수행하였다. 포유류, 담수어 그리고 해수어 각 종

```

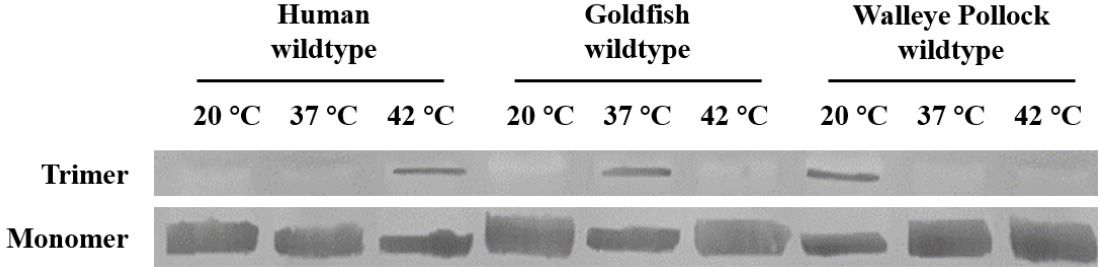
>>Flounder      ---MELPGG-----GAVLPGGNVPAFLNKLWTLVEDPDTDPLICWSPSGTSFHVFDQ
>>Blowfish      ---MEYHGG-----GAVLSGSNVPAFLTCLWTLVEDPDTDPLICWSKTGNSFHVFDQ
>>Walleye       --MMDLHGGPGGGGGPPGVSNNPNVPAFLTCLWMLVEDPDTDDLICWSPSGSSFHVLEH
>>Goldfish      MEYHSVGP-----GVMVSGSNVPAFLTCLWTLVEDPDTDPLICWSPSGNSFHVFDQ
>>Carp          MEYHSVGP-----GVMVSGSNVPAFLTCLWTLVEDPDTDPLICWSPSGNSFHVFDQ
>>Zebrafish     MEYHSVGP-----GVVVTGNVPAFLTCLWTLVEDPDTDPLICWSPNGTSFHVFDQ
>>Human        ---MDLPVG-----PGAAGPSNVPAFLTCLWTLVSDPDTDALICWSPSGNSFHVFDQ
>>Bear         ---MDLPVG-----PGAAGPSNVPAFLTCLWTLVSDPDTDALICWSPSGNSFHVFDQ
>>Mouse        ---MDLAVG-----PGAAGPSNVPAFLTCLWTLVSDPDTDALICWSPSGNSFHVFDQ
                . *                               * * * * * . * * * * * * * * * * . * . * * * * * : :
<
>>Flounder      GHFSKEVLPKFFKHNNMASFIRQLNMYGFRKVVHIEHSGLVKPERDDTEFQHPFFIRGQE
>>Blowfish      GRFSKEILPKFFKHNNMASFIRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPERDDTEFQHPFFIRGQE
>>Walleye       ARFSKDVLPKFFKHNNMASFIRQLNMYGFRKVVHMEHGGLKPEKEDTEFQHPFFSRGQQ
>>Goldfish      GRFSKDVLPKYFKHNNMASFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPEKDDTEFQHPYFIRGQE
>>Carp          GRFSKEVLPKYFKHNNMASFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPEKDDTEFQHPYFIRGQE
>>Zebrafish     GRFSKEVLPKYFKHNNMASFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPEKDDTEFQHPYFIRGQE
>>Human        GQFAKEVLPKYFKHNNMASFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPERDDTEFQHPFFLRGQE
>>Bear         GQFAKEVLPKYFKHNNMASFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPERDDTEFQHPFFLRGQE
>>Mouse        GQFAKEVLPKYFKHNNMASFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPERDDTEFQHPFFLRGQE
                . : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :
    
```

[Fig. 1] Multiple alignment of the deduced amino acid sequences of HSF1 DNA binding domain (DBD). 103 amino acids are presented by color.

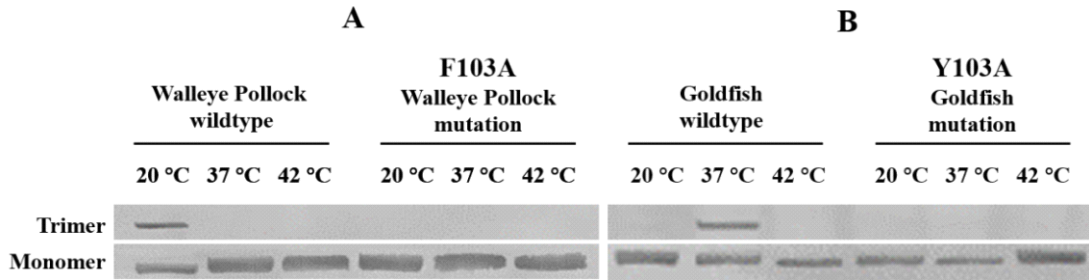
의 대표로 휴먼, goldfish, walleye pollock를 선정했고, 그들의 HSF1인 hHSF1, gHSF1, wHSF1의 온도에서 trimer가 생성되는지 확인하였다. 온도는 hHSF1의 trimer 생성 온도인 42℃를 기준으로 2℃간격으로 온도 titration을 진행하였으며 hHSF1은 42℃에서, gHSF1은 37℃에서 wHSF1은 20℃에서 trimerization이 가장 활발하게 발현되는 패턴을 확인하였다([Fig. 2]).

3. 수온에 따른 어종별 HSF1 mutant를 이용한 Trimer 생성 조절인자 분석

hHSF1과 같이 gHSF1, wHSF1도 36번과 103번 아미노산 잔기가 trimer 결합을 이루는지 확인하기 위해 goldfish, walleye pollock의 103번 잔기를 모두 A으로 mutation하여 동일한 조건으로 cross-link 시킨 후 trimer 생성 확인을 위한 western blotting을 수행하였다. 이전의 연구에서



[Fig. 2] Tendency of trimerization of human, goldfish and walleye pollock HSF1 according to temperature and their trimerization activities were analyzed by Western blotting. Human HSF1 proteins are activated at 42 °C. Goldfish HSF1 proteins are activated at 37 °C. Walleye pollock HSF1 proteins are activated at 20 °C



[Fig. 3] Trimerization of goldfish and walleye pollock HSF1 mutants according to temperature and their trimerization activities were analyzed by Western blotting. Goldfish HSF1 mutant (Y103A) and walleye pollock HSF1 mutant (F103A) proteins are not activated at any temperature

hHSF1은 103번의 C를 A 또는 S로 mutation 하면 어떤 온도에서도 trimer가 생성되지 않았다(Lu et al., 2008). gHSF1과 wHSF1 역시 mutation 한 경우 어떤 온도에서도 trimer가 생성되지 않는 결과를 확인하였다(Fig. 3)].

IV. 결론

어류 세포와 조직에서 HSF1의 활성화는 감염성 병원체, 수온 스트레스, 환경오염물질과 같은 다양한 외부 스트레스에 노출이 되었을 때 영향을 받는다(Iwama et al., 1998). 활성화된 HSF1은 heat shock gene 앞에 위치한 HSEs와 결합하여 HSPs를 유도한다(Baler et al., 1993; Kroes et al., 1991). 본 연구에서 RACE-PCR 전략을 이용하여 walleye pollock의 간 조직에서 HSF1을 암호화하는 full-length cDNA의 분리를 보고하였다. HSF1 DNA binding domain은 잘 보존되어진 높은 상동성을 특징으로 한다(Damberger et al., 1994; Harrison et al., 1994; Vuister et al., 1994).

이전에 hHSF1은 수온 스트레스 및 기타 스트레스에 반응하여 연구가 보고되었으며(Sarge et al., 1993; Koizumi et al., 2007; Prasad et al., 2007; Uenishi et al., 2005; Rabindran et al., 1993), hHSF1의 생화학적 특성과 hHSF1 전사 메커니즘은 monomer 상태인 hHSF1 36번과 또 다른 monomer hHSF1의 103번 잔기 간의 결합을 통해

이루어지는 homotrimer라고 알려져있다(Mathew et al., 2001; Åkerfelt et al., 2010). 그러나 goldfish와 walleye pollock 같은 어류에서 HSF1의 연구는 알려진 바가 크게 없었다. 본 연구에서 goldfish는 37°C에서 수온 스트레스에 의한 gHSF1 trimer 발현이 높았다. 또한 walleye pollock는 20°C에서 wHSF1 trimer 발현이 높았다(Fig. 2)].

gHSF1은 20°C에서는 trimer가 생성되지 않는다. 이는 수온에 대한 스트레스를 받지 않으며 30°C가 넘어갈 때부터 스트레스를 받기 시작한다는 것을 시사한다. 하지만 37°C를 넘어 더 높은 온도인 42°C가 되면 trimer가 사라지는 것을 보아 결합이 버티지 못하고 끊어진다는 것을 알 수 있다. 또한 wHSF1은 20°C에서 trimer가 형성되어 유지되지만 37°C로 온도가 올라가면 trimer 발견되지 않는다. 수온 스트레스에 의한 HSF1의 trimer가 goldfish보다 비교적 낮은 온도인 20°C에서 발현되지만 37°C에서는 견디지 못하고 trimer가 끊어지는 것을 확인할 수 있다.

각각을 A로 mutation 시켰을 때 trimer가 생성되지 않는 결과(Fig. 3)]과 hHSF1이 36번과 103번 잔기의 결합으로 Trimer가 생성된다는 결과를 통해(Lu et al., 2008), 103번이 C인 포유류는 HSF1의 Trimer 생성 온도가 42°C로 hHSF1과 유사하며, 103번이 Y인 담수어는 trimer 생성 온도가 37°C로 gHSF1과 유사함을 보인다. 또한 해수어들은 모두 103번 잔기가 F이며 이들의 trimer 생성

```
>>Salmon      MEFHVGGSVGVVVSNGNSVPAFLTKLWTLVEDPDTDPLICWSPNGNSFHVFDQCRFSKEVL
>>Trout       MEFHVGGSVGVVVSNGNNVPAFLTKLWTLVEDPDTDPLICWSPNGNSFHVFDQCRFSKEVL
*****
>>Salmon      PKYFKHNNMASFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPEKDDTEFQHPYFLRGQEHLLENIKR
>>Trout       PKYFKHNNMASFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPEKDDTEFQHPYFLRGQEHLLENIKR
*****
```

[Fig. 4] Multiple alignment of the deduced amino acid sequences of HSF1 DNA binding domain (DBD). 103 amino acids are presented by color.

```
>>Kogia       MDLPVGPGAAGPSNVPAFLTKLWTLVSDPDTDALICWSPSGNSFHVLDQGGQFAKEVLPKY
>>Physeter    MDLPVGPGAAGPSNVPAFLTKLWTLVSDPDTDALICWSPSGNSFHVLDQGGQFAKEVLPKY
*****
>>Kogia       FKHSNMAFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPERDDTEFQHPYFLRGQEQLLENIKRKVT
>>Physeter    FKHSNMAFVRQLNMYGFRKVVHIEQGGLVKPERDDTEFQHPYFLRGQEQLLENIKRKVT
*****
```

[Fig. 5] Multiple alignment of the deduced amino acid sequences of HSF1 DNA binding domain (DBD). 103 amino acids are presented by color.

온도는 20℃임을 확인할 수 있다.

이러한 결과는 goldfish와 walleye pollock가 서식하는 수온과 HSF1의 trimer 생성, 즉 활성화 온도 가 관련성이 높다는 것을 시사한다. 해수어인 walleye pollock는 담수어인 goldfish에 비해 서식지의 수온이 낮다. 또한 담수에서 서식하는 goldfish는 서식지의 수온이 해수보다 높다. walleye pollock 이외에도 해수어의 대표인 가자미, 북어는 HSF1의 103번 잔기가 F이고 goldfish와 같이 담수어인 잉어, 제브라피쉬는 103번 잔기가 Y이다. 해수와 담수를 모두 오가는 어류는 기수어이며 대표적인 예시로 연어(salmon, *Oncorhynchus keta*)와 송어(trout, *Oncorhynchus masou*)가 있다. 기수어인 두 가지 어류의 HSF1을 alignment 한 결과 103번 잔기가 Y임을 확인할 수 있다([Fig. 4]). 해수와 담수를 모두 오가는 기수어의 경우에는 수온이 비교적 높은 담수의 온도에 맞춰 수온 스트레스 방어기작이 형성되어 있다는 것을 시사한다.

HSF1의 103번 잔기는 어류 외에 포유류의 HSF1 trimer 온도에도 영향을 미친다. 이전에 알려진 것과 같이 human의 HSF1인 hHSF1의 trimer 생성온도는 42℃이다. 이는 사람의 체온과 신체

가 견딜 수 있는 온도와 관련이 있다(Lu et al., 2008). human 뿐만 아니라 포유류인 생쥐와 곰 역시 HSF1의 103번 잔기는 C이다(Fig. 1). 변온동물인 어류와 달리 정온동물인 포유류들은 C 간의 이황화 결합을 통해 HSP를 발현한다. 체온과 HSF1의 trimer 생성 온도가 연관성이 있다는 것은 포유류에 속하지만 해수에 서식하는 고래의 HSF1를 통해 알 수 있다. 고래는 해수에서 살아가는 포유류이다. 쇠향고래(Kogia)와 향고래(physeter)의 HSF1는 36번과 103번 잔기가 모두 C로 42℃에서 trimer가 생성되는 휴면과 동일한 아미노산을 가진다([Fig. 5]). 고래는 해수에 서식하지만 체온이 36-38℃로 유지하기 위해 몸체가 크고 그 대부분은 체지방으로 이루어져 있다.(Nakamura et al., 2020) 이는 고래는 수온 스트레스를 다른 해수어와 같이 20℃가 아닌 체온을 넘어서는 42℃에서 느끼며 HSF1 trimer 또한 다른 포유류들과 비슷하다는 결과를 시사한다. 따라서 본 연구 결과는 수온에 민감한 어류에서 HSF1의 특성을 이해하는 첫 번째 단계이다. 해수어와 담수어에서 HSF1의 trimer 활성화 온도와 그들의 생활 환경과의 연관성을 통해 여러 어류의 수온 스트레스에 의한 HSF1 연구의 기초 자

료로 활용될 수 있으리라 여겨진다.

References

- Ahn SG and Thiele DJ(2003). Redox regulation of mammalian heat shock factor 1 is essential for Hsp gene activation and protection from stress. *Genes & development*, 17(4), 516~528.
<http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.1044503>.
- Airaksinen S, Råbergh CM, Lahti A, Kaatrasalo A, Sistonen L and Nikinmaa M(2003). Stressor-dependent regulation of the heat shock response in zebrafish, *Danio rerio*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 134(4), 839~846.
[https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(03\)00033-3](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(03)00033-3)
- Åkerfelt M, Morimoto RI and Sistonen L(2010). Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan. *Nature reviews Molecular cell biology*, 11(8), 545~555.
<https://doi.org/10.1038/nrm2938>
- Alfonso S, Gesto M and Sadoul B(2021). Temperature increase and its effects on fish stress physiology in the context of global warming. *Journal of Fish Biology*, 98(6), 1496~1508.
<https://doi.org/10.1111/jfb.14599>
- Archana P, Aleena J, Pragna P, Vidya M, Niyas A, Bagath M and Bhatta R(2017). Role of heat shock proteins in livestock adaptation to heat stress. *J. Dairy Vet. Anim. Res*, 5(1), 13~19.
10.15406/jdvar.2017.05.00127
- Baler R, Dahl G and Voellmy R(1993). Activation of human heat shock genes is accompanied by oligomerization, modification, and rapid translocation of heat shock transcription factor HSF1. *Molecular and cellular biology*. 13, 2486~2496.
<https://doi.org/10.1128/mcb.13.4.2486-2496.1993>
- Barbarossa V, Bosmans J, Wanders N, King H, Bierkens MF, Huijbregts MA and Schipper AM(2021). Threats of global warming to the world's freshwater fishes. *Nature communications*. 12(1), 1701.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-21655-w>
- Brander K(1997). Effects of climate change on cod (*Gadus morhua*) stocks. In seminar series-society for experimental biology. Cambridge University Press. p 255~278.
- Damberger FF, Pelton JG, Harrison CJ, Nelson HC and Wemmer DE(1994). Solution structure of the DNA binding domain of the heat shock transcription factor determined by multidimensional heteronuclear magnetic resonance spectroscopy. *Protein Science*, 3(10), 1806~1821.
<https://doi.org/10.1002/pro.5560031020>
- Feder ME and Hofmann GE(1999). Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annual review of physiology*, 61(1), 243~282.
<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.61.1.243>
- Gadhawe RV, Das A, Mahanwar PA & Gadekar PT(2018). Starch based bio-plastics: The future of sustainable packaging.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610202>
- Harrison CJ, Bohm AA & Nelson HC(1994). Crystal structure of the DNA binding domain of the heat shock transcription factor. *Science*, 263(5144), 224~227.
<https://doi.org/10.1126/science.8284672>
- Iwama GK, Thomas PT, Forsyth RB and Vijayan MM(1998). Heat shock protein expression in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 8, 35~56.
<https://doi.org/10.1023/A:1008812500650>
- Kim SS, Chang Z and Park JS(2015). Identification, tissue distribution and characterization of two heat shock factors (HSFs) in goldfish (*Carassius auratus*). *Fish & shellfish immunology*, 43(2), 375~386.
- Kiendrébéogo T, Zampaligré N, Ouédraogo S, Logténé YM & Kaboré-Zoungrana CY(2019). Cassava by-products as feed for pigs in Burkina Faso: Production processes, nutritive values and economic costs. *Open Access Library Journal*, 6(9), 1~14.
- Kim SS, Lee CJ, Yoo HK, Choi J, Byun SG, Kim WJ, Lim HJ & Park JS(2022). Effect of water temperature on walleye pollock (*Gadus chalcogrammus*) embryos, larvae and juveniles: Survival, HSP70 expression, and physiological responses. *Aquaculture*, 554, 738136.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738136>
- Koizumi S, Gong P, Suzuki K and Murata M(2007).

- Cadmium-responsive element of the human heme oxygenase-1 gene mediates heat shock factor 1-dependent transcriptional activation. *Journal of Biological Chemistry*, 282(12), 8715~8723.
<https://doi.org/10.1074/jbc.m609427200>
- Kroes RA, Abravaya K, Seidenfeld J and Morimoto RI(1991). Selective activation of human heat shock gene transcription by nitrosourea antitumor drugs mediated by isocyanate-induced damage and activation of heat shock transcription factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(11), 4825~4829.
<https://doi.org/10.1073%2Fpnas.88.11.4825>
- Lee Y and Kim DY(2010). Measuring surface water temperature effects on the walleye pollock fishery production using a translog cost function approach. *Environmental and Resource Economics Review*, 19(4), 897~914.
- Lu M, Kim HE, Li CR, Kim, S, Kwak IJ, Lee, YJ and Kim DK(2008). Two distinct disulfide bonds formed in human heat shock transcription factor 1 act in opposition to regulate its DNA binding activity. *Biochemistry*, 47(22), 6007~6015.
<https://doi.org/10.1021/bi702185u>
- Madeira D, Narciso L, Cabral HN, Vinagre C, and Diniz MS(2013). Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 166(2), 237~243.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.06.008>
- Mathew A, Mathur SK, Jolly C, Fox SG, Kim S and Morimoto RI(2001). Stress-specific activation and repression of heat shock factors 1 and 2. *Molecular and cellular biology*.
<https://doi.org/10.1128/MCB.21.21.7163-7171.2001>
- Mayr M, Kiechl S, Willeit J, Wick G and Xu Q(2000). Associations of antibodies to *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Helicobacter pylori*, and cytomegalovirus with immune reactions to heat-shock protein 60 and carotid or femoral atherosclerosis. *Circulation*, 102(8), 833~839.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.102.8.833>
- Misra S, Zafarullah M, Price-Haughey J and Gedamu L(1989). Analysis of stress-induced gene expression in fish cell lines exposed to heavy metals and heat shock. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1007(3), 325~333.
[https://doi.org/10.1016/0167-4781\(89\)90155-3](https://doi.org/10.1016/0167-4781(89)90155-3)
- Nakamura I, Matsumoto R and Sato K(2020). Body temperature stability in the whale shark, the world's largest fish. *Journal of Experimental Biology*, 223(11), jeb210286.
<https://doi.org/10.1242/jeb.210286>
- Poff N, Brinson MM and Day J(2002). Aquatic ecosystems and global climate change. *Pew Center on Global Climate Change*, Arlington, VA, 44, 1~36.
<https://doi.org/10.1002/lob.200211122>
- Prasad KV, Taiyab A, Jyothi D, Srinivas UK and Sreedhar AS(2007). Heat shock transcription factors regulate heat induced cell death in a rat histiocytoma. *Journal of biosciences*, 32, 585~593.
<https://doi.org/10.1007/s12038-007-0058-4>
- Rabindran SK, Haroun RI, Clos J, Wisniewski J & Wu C(1993). Regulation of heat shock factor trimer formation: role of a conserved leucine zipper. *Science*, 259(5092), 230~234.
<https://doi.org/10.1126/science.8421783>
- Sarge KD, Murphy SP and Morimoto RI(1993). Activation of heat shock gene transcription by heat shock factor 1 involves oligomerization, acquisition of DNA-binding activity, and nuclear localization and can occur in the absence of stress. *Molecular and cellular biology*. 13(3), 1392~1407.
<https://doi.org/10.1128/mcb.13.3.1392-1407.1993>
- Uenishi R, Suzuki K and Koizumi S(2005). Overexpression of heat shock factor 1 masks the heavy metal response of the heat shock protein 70 (hsp70) gene promoter. *Journal of health science*, 51(2), 242~247.
<https://doi.org/10.1248/jhs.51.242>
- Vihervaara A and Sistonen L(2014). HSF1 at a glance. *Journal of cell science*, 127(2), 261~266.
<https://doi.org/10.1242/jcs.132605>
- Vuister GW, Kim SJ, Wu C and Bax A(1994). NMR evidence for similarities between the DNA-binding regions of *Drosophila melanogaster* heat shock factor and the helix-turn-helix and HNF-3/forkhead families of transcription factors. *Biochemistry*, 33(1), 10~16.

<https://doi.org/10.1021/bi00167a002>

Zuo J, Baler R, Dahl G and Voellmy R(1994).
Activation of the DNA-binding ability of human
heat shock transcription factor 1 may involve the
transition from an intramolecular to an
intermolecular triple-stranded coiled-coil structure.
Molecular and cellular biology, 14(11), 7557~7568.

<https://doi.org/10.1128/mcb.14.11.7557-7568.1994>

-
- Received : 06 September, 2023
 - Revised : 17 November, 2023
 - Accepted : 23 November, 2023