

植物脂肪氧化酶的研究进展

胡廷章^{1,2}, 胡宗利¹, 屈霄霄¹, 任彦荣¹, 陈国平¹

1 重庆大学生物工程学院, 重庆 400044

2 重庆三峡学院生物系, 重庆 404000

摘 要: 植物脂肪氧化酶(LOX)是一个多基因家族, 是由单一的多肽链组成的含有非血红素铁、不含硫的过氧化物酶。LOX 催化具有顺, 顺-1, 4-戊二烯结构的多元不饱和脂肪酸的双加氧反应。植物中, 不同脂肪氧化酶的最适 pH、pI、底物和产物特异性、时空表达特性、亚细胞定位等存在差异。LOX 参与的生理过程涉及损伤、病原攻击、种子萌芽、果实熟化、植物衰老、脱落酸和茉莉酸合成, LOX 也在正常的植物生长和生殖生长过程中作为营养储藏蛋白, 参与脂类迁移、响应营养胁迫、调节“源”与“库”的分配。对 LOX 家族的深入理解, 将有助于 LOX 在作物新品种的选育、新型植保素的开发、食品加工等方面得到广泛的应用。

关键词: 脂肪氧化酶, 结构, 催化反应, 功能, 基因表达, 亚细胞定位

Advances in plant lipoxygenases research

Tingzhang Hu^{1,2}, Zongli Hu¹, Xiaoxiao Qü¹, Yanrong Ren¹, and Guoping Chen¹

1 Bioengineering College of Chongqing University, Chongqing 400044, China

2 Department of Biology, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404000, China

Abstract: Lipoxygenases (linoleate: oxygen oxidoreductase, EC 1.13.11.12; LOXs) are encoded by a multi-gene family in plants. The LOXs are monomeric non-heme, non-sulfur iron dioxygenases, which catalyze the incorporation of molecular oxygen into polyunsaturated fatty acids containing a cis, cis-1, 4-pentadiene moiety. The LOX isoforms are distinguished by differences in optimum pH of the reaction, pI, substrate and product specificity, spatial and temporal expression, and subcellular localization. The function of various LOXs in plants has been suggested. Some of the physiological processes in which lipoxygenases have been implicated include wounding, pathogen attack, seed germination, fruit ripening, plant senescence, and synthesis of Abscisic acid (ABA) and Jasmonic acid (JA). During normal vegetative and reproductive growth, lipoxygenases have also been suggested to act as vegetative storage proteins, participate in transference of lipid, and response to nutrient stress and source/sink relationships. Significant progress in understanding LOX families will be beneficial to the application of the LOX in crop breeding, research on new-type phytoalexin and food industry.

Keywords: lipoxygenases, structure, catalysis, function, gene expression, subcellular localization

Received: June 10, 2008; **Accepted:** October 8, 2008

Supported by: the National Natural Science Foundation of China (No. 30771464), the Chunhui Project of Education Ministry (No. Z2007-1-63006), the Natural Science Foundation Project of Chongqing Science and Technology Committee (No. 2007BB1196) and the Natural Science Foundation Project of Chongqing Three Gorges University (No. 2007-Sxxyb-04).

Corresponding author: Guoping Chen. Tel: +86-23-65112674; E-mail: chenguoping@cqu.edu.cn

国家自然科学基金(No. 30771464), 教育部“春晖计划”资助项目(No. Z2007-1-63006), 重庆市自然科学基金(No. 2007BB1196), 重庆三峡学院资助项目(No. 2007-Sxxyb-04)资助。

自 1932 年首次发现脂肪氧化酶(Lipoxygenases, LOXs; EC 1.13.11.12)后, 脂氧酶的研究取得了长足发展^[1]。在动物、植物和微生物中都发现有脂肪氧化酶^[2,3]。LOX 在真核生物中参与不饱和脂肪酸的代谢, 在植物不同发育阶段存在着不同的类型, LOX 与植物的生长发育、衰老、伤害反应和抗有害生物有关^[4]。

1 脂肪氧化酶的存在和细胞定位

LOX 是一个含非血红素铁的蛋白大家族, 在动植物和微生物中普遍存在^[2,3]。已经发现拟南芥有 6 个 LOX 基因, 马铃薯有 14 个 LOX 基因, 番茄有 5 个 LOX 基因, 大豆有 9 个 LOX 基因^[5-6], 在其他植物中也不断有新的 LOX 基因发现。

LOX 存在于植物细胞的微粒、胞质和液泡中。在黄化的黄瓜子叶中, 发现有 5 种不同的 LOX, 除了可溶性的 LOX 外, 在微粒体膜、原生质膜和脂质体也发现了 LOX^[7-9]。大豆叶的细胞溶质和液泡中至少有 6 种不同的 LOX^[10-11]。在菠菜、大麦、番茄、马铃薯、拟南芥等植物的叶绿体包膜内, 也有特异的 LOX 存在^[12-15]。多数 LOX 存在于叶绿体基质中, 但在菠菜叶的叶绿体包膜片段中, 也有 LOX 存在^[12]。不同 LOX 的亚细胞定位, 与酶表达的时间上的差异一起, 共同协调过氧化氢多元不饱和脂肪酸的形成。

2 脂肪氧化酶的结构和性质

LOX 由单一的多肽链组成, 分子量为 94~104 kD, 是一种含有非血红素铁、不含硫的过氧化物酶, 是球形, 无色, 可溶性蛋白, 其等电点的范围为 pH 值 5.7~6.4^[4]。大豆种子中有 3 种 LOX 同工酶, 它们的最适 pH 值、热稳定性、与 Ca^{2+} 关系、等电点以及底物专一性等许多生化性质上均不相同。比较大豆种子中 3 种 LOX 同工酶序列组成发现, 同源序列中 N 末端均有 1 个约 150 个氨基酸组成的 β -桶状结构(区域 I), 为 Ca^{2+} 结合、酶活性激活及 LOX 与其异构物进行核膜置换所必需, 可能与全部蛋白稳定性的维持有关; C 末端为 α -螺旋结构(区域 II), 在 C 末端有一段 40 个氨基酸组成的保守区域, 其中包括 6 个组氨酸和 2 个酪氨酸, 作为酶蛋白的活性中心与

Fe^{3+} 结合, 从而调节酶的活性。分子氧通过裂隙 I 与 Fe^{3+} 结合, 而裂隙 II 可以容纳花生四烯酸甚至更大的脂肪酸^[16,17] (图 1)。

3 脂肪氧化酶的分类

LOX 催化具有顺, 顺-1, 4-戊二烯结构的多元不饱和脂肪酸(Polyunsaturated fatty acid, PUFA)的双加氧反应, 如亚油酸(Linoleic acid, LA)、亚麻酸(α -linolenic acid, LeA)、花生四烯酸(Arachidonic acid, AA)。氧分子加到戊二烯的任一末端(区域专一性), 根据 LA 氧化的位置特异性, 植物 LOX 分为 2 类: 催化 LA 碳链骨架的 C-9 和 C-13 氧化的 LOX 分别称为 9-LOX 和 13-LOX, 它们氧化 LA 分别产生 9-或 13-过氧化氢衍生物。大多数 LOX 只能催化 LA 碳链骨架的 C-9 或 C-13 一个位点氧化, 但一些 LOX 具有双重位置特异性(Dual positional specificity), 即它们既能催化 LA 碳链骨架的 C-9 氧化, 也能催化 C-13 氧化, 分别生成 C-9 和 C-13 氧化物^[18-23]。根据酶分子的一级结构, 植物 LOX 分为 2 个亚基因家族: 一类是蛋白序列高度相似(>75%), 并且没有质体转移肽序列, 称为 1-LOX; 另一类酶的 N-端有质体转移肽序列, 相互间的蛋白序列只有中度相似性(~35%), 称为 2-LOX, 至今发现这些 LOX 都属于亚油酸 13-LOX 亚家族^[6, 24]。

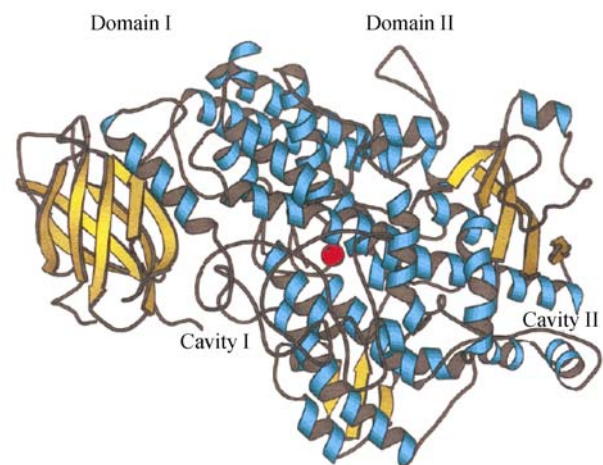


图 1 大豆 LOX-1 的三维结构示意图^[16]

Fig. 1 Schematic diagram of the three-dimensional structure of soybean (*Glycine max*) lipoxygenase-1^[16].

4 脂肪氧化酶的催化反应

在植物的发育过程中, 细胞内脂肪的成分常常发生改变。氧化 PUFA 形成氧合脂类(Oxylipin)是脂肪变化中主要反应之一^[25]。PUFA 的氧化可以由化学氧化或酶催化, 都生成过氧化氢 PUFA^[2, 25, 26], 但反应过程差异很大^[27]。其中, 最重要的差异是产物的特异性, 非酶催化的脂质体过氧化反应的产物是由不同位置和光学异构体组成的混合物。而在 LOX 催化的反应中, PUFA 通常被氧化形成特异的高光学纯度异构体^[6]。

LOX 是多功能酶, 至少催化 3 种不同的反应类型: 1) 脂质的双加氧化反应(过氧化物酶反应); 2) 氢过氧化脂质的次级转化(氢过氧化物酶反应)^[28]; 3) 环氧白三烯的形成(白三烯合成反应)^[29]。

在生理条件下, 植物中的双加氧化反应是最普遍的, 主要底物是 C18-PUFA。过氧化氢 PUFA 的 2 种区域异构体是由 2 个独立的催化作用决定: 1) 选择性夺氢反应: 在 LEA 中, 可能在 C-11 和/或 C-14 进行。在 LA 或 LEA 中, 只有 C-11 的双烯丙基亚甲基被用^[30]。2) 氧插入位点的选择: 通过中间脂肪酸的重排进行。当 C-11 的氢脱去时, 分子氧能在位置 [+2] 或 [-2] 引入, 即氧插入在 C-13 或 C-9^[6] (图 2)。

除了氧化含 (1Z, 4Z)-戊二烯的 PUFA, LOX 也可以氧化烯丙基酮, 如蓖麻酸的酮衍生物可以被代谢成成对的不饱和二酮脂肪酸或可以被裂开为相应的 ω -酮 C13-脂肪酸^[31]。更多的研究表明某些 LOX 也能催化酯化脂质(Ester lipid)的氧化, 如磷脂、TAGs、胆甾醇酯, 甚至更复杂的脂蛋白复合物如生物膜都能被 LOX 催化代谢^[32-39]。

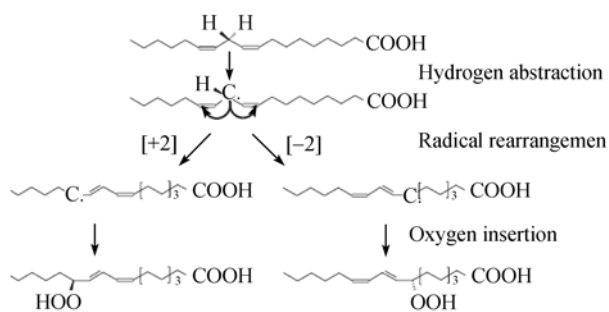


图 2 LOX 催化反应^[6]
Fig. 2 LOX reaction^[6].

5 脂肪氧化酶的功能

植物 LOX 参与植物生长发育、成熟及衰老的各个阶段^[4, 40]。LOX 参与的生理过程涉及损伤、病原攻击、种子萌芽、果实熟化、植物衰老、脱落酸(Absciscic acid, ABA)和茉莉酸(Jasmonic acid, JA)合成, LOX 也在正常的植物生长和生殖生长过程中作为营养储藏蛋白(Vegetative storage protein, VSP), 参与脂类迁移, 以及调节“源”与“库”的分配, 响应营养胁迫^[41-44]。

5.1 种子中的 LOX 的作为储藏蛋白和参与防御

在种子发育过程中, LOX 没有明确的生理功能。成熟的大豆种子有 3 种 LOX, 而缺乏这 3 种 LOX 的大豆, 其表型与正常大豆没有明显差异, LOX 在种子中是储藏蛋白^[40, 45]。

花生 (*Arachis hypogaea*) 的成熟种子中, *Aspergillus* spp. 感染诱导 *PnLOX1* 基因表达。*PnLOX1* 的催化产物(13S)-过氧化氢-(9Z,11E)-十八碳二烯酸(13-HPOD)和(9S)-过氧化氢-(10Z,12E)-十八碳二烯酸(9-HPOD)分别是真菌毒素合成的抑制剂和诱导剂, 说明 *PnLOX1* 在植物-真菌的相互作用中起作用^[46]。

5.2 LOX 在幼苗中参与储藏脂肪动员

种子萌发成为幼苗, 有新的 LOX 合成, 大量的 LOX 蛋白和相应 mRNA 的累积可以持续几小时甚至几天。在大豆幼苗生长发育的初期, 子叶 LOX 的作用之一就是破坏细胞内的膜系统, 使多种酶与其相应底物结合, 启动生长过程^[47-49]。

黑暗中萌发的含油种子, 动员子叶中脂肪体的储藏脂肪, 储藏脂质的 LA 部分转化为 LA-CoA 或 13-HODE-CoA 进入乙醛酸循环 β -氧化^[50]。萌发的黄瓜种子中, 与脂肪体结合的特异 LOX 能加氧到酯化脂肪酸, 产生含一、二或三 13-HPOD 残基的三酰甘油, 氧化的脂肪酸很容易从脂肪体解离而释放到胞液中^[44]。

5.3 LOX 参与植物的营养生长

LOX 参与马铃薯块茎的生长。POTLX-1 具有 LOX-9 活性, POTLX-1 在马铃薯块茎和根中表达, *POTLX-1* mRNA 出现在块茎的末梢最活跃地生长部分。表达反义 *POTLX-1* 的转基因马铃薯的 LOX 活性降低, 形成的块茎是小而畸形, 产量降低。在块茎

的形成过程中, LOX 可能启动调节细胞生长的氧化油脂的合成, 控制块茎生长和发育^[51]。

几种豆科植物根瘤中, 有 LOX 蛋白和相应的 mRNA 存在。在 *P. vulgaris* 根瘤中, LOX mRNA 和蛋白质主要存在于生长的根瘤中, 在长大的根瘤中, 表达水平下降。在根瘤薄壁组织和根瘤组织中央的未感染细胞中存在 LOX, LOX 的积聚可能与根瘤发育有关^[49]。

5.4 LOX 参与果实风味物质的形成

编码番茄的 LOX 基因有 *TomloxA*、*TomloxB*、*TomloxC*、*TomloxD*、*TomloxE*。在果实熟化过程中, *TomloxA*、*TomloxB*、*TomloxC* 和 *TomloxE* 在果实中有不同程度的表达^[5,52]。*TomloxC* 和 *TomloxD* 是叶绿体 LOX, 除了可能具有防御功能外, 果实中的 LOX 可能与风味和香味化合物 C6 醛的合成有关, 或在叶绿体向色质体转变过程中参与类囊体膜的降解^[5,52]。本实验室研究番茄的 LOX 家族, 发现 *TomloxC* 参与番茄风味物质己醛和己烯醛的形成。在转基因番茄中, *TomloxC* 的反义沉默和协同抑制并不明显影响其他脂肪氧化酶的表达, 但使番茄果实和叶中脂肪酸衍生的短链挥发物醛和醇的含量大大降低, 己醛和己烯醛减少的程度与转基因番茄中 *TomloxC* mRNA 减少的量有关^[5]。在果实成熟过程中, *TomloxC* 并不直接催化合成风味物质, 而是首先催化 13-过氧化氢衍生物的生成, 后者再由过氧化氢物裂解酶(HPL)催化产生 C6 挥发物醛和醇^[5]。

5.5 LOX 可以作为营养储藏蛋白

非种子组织合成的储藏蛋白不同于种子中的储藏蛋白, 称为 VSP(Vegetative storage protein)。VSP 存在于大豆叶的维管束鞘(Bundle sheath, BS)液泡和侧脉叶肉(Paraveinal mesophyll, PVM)细胞, 也存在于花、萌发子叶和豆荚壁中。VSP 的功能是储藏多余氮, 参与脂类迁移以及调节“源”与“库”的分配^[43,44]。在库限制(Sink limitation)(除去豆荚或芽尖)、高氮、缺水、损伤和 JA 的情况下, VSP 基因的表达增强^[43,53]。库限制时, 大豆叶中至少 5 种营养 LOX 蛋白(VLXA、VLXB、VLXC、VLXD 和 VLXE)的含量增高^[43]。VLXA、VLXB 和 VLXC 在 PVM 细胞的胞液中, 除去豆荚后, 它们也聚积在 BS 和邻近细胞的胞液, 在经 PVM 细胞层吸收的再迁移过程中, VLXA、VLXB 和 VLXC 可能是参与脂肪代谢和/或

膜重组酶, VLXD 聚积在 BS 和 PVM 细胞液泡中, VLXD 是大豆叶中的主要储藏蛋白^[43]。

大豆豆荚壁是种子发育的主要氮库。在发育期间, 聚积大量的 LOX 和 VSP α , 在种子填充期间, 首先是减少这些蛋白。在种子填充前, VLXD 主要聚积在内果皮中间带的液泡和细胞质中^[54]。而 VLXA、VLXB 和 VLXC 在中果皮细胞层(Mid-pericarp cell layer, MPL)细胞的细胞质中。MPL 细胞的细胞壁薄, 偶尔会破裂, 从而使细胞成分混合。当豆荚壁瓦解, 富含 LOX 的分泌液从 MPL 流出, 使 LOX 与其底物接触, 触发与 LOX 相关的防御反应^[55]。

5.6 LOX 在植物防御中的作用

5.6.1 损伤

几种植物在受到机械损伤或昆虫取食后, 其损伤叶和未损伤的叶的 LOX 的转录都被诱导, LOX 与多种信号物的合成有关^[21, 23, 41, 56]。LOX 在伤害反应和抗有害生物中的作用缘于植物组织受到伤害后, LOX 蛋白质及其活性会急剧增加, 形成新的 LOX 同工酶。在植物的正常组织中, LOX 与反应底物是分开的, 当组织损伤, LOX 才能与底物接触催化反应^[57,58]。

拟南芥和马铃薯植物, 对损伤的响应需要叶绿体 LOX^[59,60]。叶绿体包膜含有催化几种氧化油脂合成的酶, 一些响应损伤的氧化脂肪的合成在叶绿体中开始^[12]。在损伤后, 叶绿体单半乳糖二酰甘油减少, 这些油脂是氧化油脂合成的亚麻酸来源^[61]。由于非叶绿体 LOX 在损伤时也被诱导, 因此, 其他的细胞区室也存在损伤诱导的氧化油脂合成。

LOX 催化产生的 JA 和愈伤酸(12-Oxo-10(E)-dodecenoic Acid, Traumatol)在植物生长中也有重要的生理作用。愈伤酸可促进植物组织伤口愈合, 从而降低受伤组织中病原菌的侵入^[62]。在损伤响应中, JA 和植物二烯酸(12-oxo-phytodienoic acid, OPDA)是信号分子, 受损伤时, JA 和 OPDA 含量增加。JA 或 OPDA 处理会诱导植物合成防御草食动物的分子^[41,63]。缺乏合成或感知 JA 的拟南芥植物对损伤和昆虫的侵害反应迟钝^[64,65]。*Atlox2* 共抑制表达的转基因拟南芥的 JA 减少, 受损伤诱导的 *vsp* 基因的表达水平降低。在植物受损伤后, 除 JA 外的其他氧化油脂合成也在损伤响应中起重要作用。

植物一旦受到损伤, 过氧化氢物裂解酶(Hydroperoxide lyase, HPL)途径的所有产物—C6 挥

发物、醛和醇快速合成。这些化合物在防御反应中也作为信号分子。拟南芥中, (*E*)-2-己烯醛诱导与防御反应相关的 JA 可诱导基因的表达, 但不能诱导其他 JA 响应基因的表达^[56], 说明在损伤响应中, 来自 LOX 衍生途径的信号分子是中介体。LOX H3 减少的转基因马铃薯植物叶, 在未受到损伤或受到损伤后不久, 较野生型产生稍多的 JA; JA 处理这些反义转基因马铃薯植物, 不会诱导蛋白酶抑制剂 II (PIN2) 的 mRNA 达到在野生型的水平^[60]。因此, 受到损伤后, 一种与 JA 不同的氧油脂可能参与诱导 PIN2 mRNA 聚积。在叶绿体中, 不同的 LOX 结合不同的膜, 有不同代谢途径的酶, 从而导致叶绿体中氧化油脂合成的分区化。

5.6.2 草食动物侵袭

植物受到伤害后的初期阶段, 抗性品种比易感品种的 LOX 活性要大得多。大豆 LOX 的直接抗性反应是催化亚麻酸和亚油酸氧化生成过氧化氢脂质和一些次级氧化产物, 这些物质是有毒性的。LOX 催化产物如己醛等对植物病原物有不利影响, 氢过氧化物和己醛有驱除害虫的作用^[66]。

LOX 途径在植物防护草食动物过程中, 通过诱导产生几种防御分子和吸引草食动物的天敌物质发挥作用^[67]。植物受昆虫伤害, 释放的挥发物在质量上和/或数量上, 是不同于未受损伤或机械损伤植物的, 邻近的植物能区分这些刺激, 从而作出相应反应^[68]。这些挥发物是 LOX 途径产物, 如(*Z*)-3-己烯乙酸^[69]。受草食动物诱导产生的挥发物能吸引草食动物的天敌^[70]。如诱导素 (Volicitin, N-(17-hydroxylineloyl)-l-Gln) 就是这些挥发物之一, 用这种挥发物处理玉米 (*Zea mays*), 会引起吸引寄生黄蜂 (*Cotesia marginiventris*) 的挥发物释放^[69]。植物中, 诱导素与 AOS 途径的产物关联, 诱导素活化 LOX 介导的防御反应^[69]。

蜘蛛螨 (*Tetranychus urticae*) 侵染利马豆 (*Phaseolus lunatus*) 后, 植物会聚积 LOX 和 5 个其他防御基因的 mRNA, 增加 LOX 活性。受侵染利马豆叶产生的挥发物主要是萜类化合物^[68]。水杨酰氧肟酸是 LOX 活性抑制剂, 用水杨酰氧肟酸预处理, 会阻滞 LOX 和防御基因的表达。由于这种抑制剂的抑制效果能被同时施用的 JA 减弱, 因此, 植物对蜘蛛螨的响应似乎是 JA 介导的。虽然与草食动物诱导产

生的挥发物不完全相同, 但是, JA 诱导产生的挥发物是类似于草食动物诱导产生的挥发物的混和物^[70]。外源 JA 处理的番茄, 引起甜菜粘虫幼虫被它的天然天敌—黄蜂 *Hyposoter exiguae* 寄生的寄生病增加^[67]。

5.6.3 病菌侵袭

在几种植物-病原相互作用过程中, LOX 基因受到诱导。LOX 对有害物的防御功能与不同的信号化合物和抗微生物活性物的合成有关, 或与 HR 的发展相关^[41, 63, 71-73]。

烟草中, 9-LOX 活性和 *Lox1* mRNA 的表达受 *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* 感染诱导。9-LOX 活性和 *Lox1* mRNA 表达在不相容植物-病原相互作用比相容植物-病原相互作用更早, 说明 9-LOX 在植物防御真菌感染中起作用^[74]。用不相容 *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* 处理反义 *Lox1* 转基因烟草植物, 产生的病症相似于相容相互作用的病症^[74]。有 2 种可能的解释: 1) 来自于 LOX 途径具有抗真菌活性的代谢物不再合成, 因此允许真菌生长。2) 诱导过敏反应 (Hypersensitive response, HR) 是病原诱导细胞死亡过程, 需要一些 LOX 代谢产物, 在不相容相互作用中, HR 在感染部位限制病原生长。在 HR 过程中, LOX 介导的油脂氧化在膜损伤过程中是重要的^[72]。诱发物 (Elicitor) 隐地蛋白 (Cryptogein) 处理烟草叶, HR 需要 2 种 LOX, 其中, 13-LOX 参与 JA 合成, 9-LOX 参与脂肪酸过氧化反应, 导致膜损伤, 最后细胞死亡^[72]。在 HR 发展过程中, 小扁豆根原生质体中的过氧化氢产生早, 诱导细胞死亡、增加 LOX 活性。LOX 抑制剂和抗 LOX 抗体保护原生质体免受过氧化氢诱导的细胞死亡。此外, 9-和 13-HPOT 在该系统中引起细胞死亡^[75]。

5.7 LOX 参与植物的抗逆反应

一些 LOX mRNA 的表达水平会因 ABA 和 JA 的施用而增加, 也会因损伤、病原感染、缺水等因素的存在而提高。大豆在受损伤、干旱和热胁迫等逆境中, LOX 的含量及活性成倍增加^[47-49], 说明 LOX 参与了大豆的抗逆生理反应。LOX 在酶促脂肪酸氧化过程中伴生的游离基和过氧化氢物, 是植物产生活性氧的途径之一, 而活性氧可进一步参与植物体的防卫反应^[40]。LOX 能促进各种细胞膜不可逆损害的修复^[17]。

6 LOX 基因的表达

6.1 LOX 基因表达的组织特异性

在植物中,许多 LOX 基因的表达是组成型的,但一些 LOX 基因的表达具有组织特异性。在大豆中,LOX 同功酶在不同的组织中表达,大豆种子存在有 3 种不同性质脂肪氧化酶同功酶 Lox1、Lox2 和 Lox3,一旦种子萌发,其活性降低^[15]。而在大豆种子萌发初期子叶中分离提纯出 3 种新同功酶 Lox4、Lox5 和 Lox6^[76]。番茄中, *TomloxB* 和 *TomloxE* 在果实中表达,在叶中不表达,而 *TomloxD* 则相反,在叶中表达,而不在果实中表达^[5]。马铃薯的 *Lox1*、*Lox2* 和 *Lox3* 的表达具有组织特异性, *Lox1* 在块茎和根中表达, *Lox2* 在叶中表达, *Lox3* 在叶和根中表达^[15]。

6.2 植物 LOX 基因表达的可诱导性

在众多的植物 LOX 中,有许多 LOX 基因是诱导表达的。在生物和非生物压力下,会诱导一些 LOX 的表达。在受伤后不久的大豆叶片中分离出 Lox7、Lox8 两种脂肪氧化酶,并发现这两种同功酶在幼叶、花和未成熟的荚中都存在,并具有很高的酶活性^[57]。马铃薯受到损伤后, *Lox2* 和 *Lox3* 在叶中的表达明显提高^[15]。番茄 *TomLoxD* 的表达受损伤、系统素和茉莉酸甲酯的诱导^[14]。*OsLOX1* 在水稻受损伤和褐稻虱侵害后,其表达明显增高^[23]。豌豆在受损伤和线虫侵染后, *LOXN2* 基因在豌豆根中的表达受到明显诱导^[21]。

7 展望

在植物发育和对复杂环境条件响应过程中,PUFA 的氧化是复杂的。LOX 的数量、结构和功能多样性使植物能适应不同的环境。LOX 途径不仅能代谢植物的脂质,而且形成有新功能的重要生物分子。茉莉酸和它们的十八碳烯酸前体具有信号功能,这些化合物在植物发育和压力适应中具有“总开关”的作用。研究 LOX 突变体、编码 LOX 基因的过量表达和失活、纯酶结晶,是希望进一步理解 LOX 衍生物的生物化学和生理作用。

研究 LOX 在植物生长发育、种子劣变、伤害反应和抗有害生物等方面的功能,将有助于人类对植物生长发育进行调控、种子的安全贮藏和进行新品种的选育。特别是脂肪氧化酶具有的植物保护方面

的作用,已引起人们的广泛关注,脂肪氧化酶催化反应的产物氢过氧化物衍生物、己醛等已被证明对许多昆虫是有毒物质,有可能成为开发新型植保素的重要来源。

LOX 的作用和各种生理功能使其成为商业上的一种重要酶,在食品原料与加工中有很大的意义。如由小麦磨制的新鲜面粉,因含类胡萝卜素而成淡黄色,制作面包时掺入适量大豆粉以取代化学漂白剂,即是利用 LOX 耦联氧化类胡萝卜素而进行生物漂白,保证了面粉的质量;同时 LOX 还可以增强小麦中麦谷蛋白的交联和氧化作用,提高麦类食品的口感和风味。LOX 还广泛应用于茶叶加工中,在红茶和乌龙茶的制造发酵工艺过程中,能促进茶叶原料的脂质过氧化作用,生成茶叶的香味。另外,在自然界中使大多数蔬菜和水果成熟时具有特殊风味也是 LOX 系统的代谢产物。随着研究的深入,LOX 的应用将更加广阔。

REFERENCES

- [1] Andre E, Hou KW. The presence of a lipid oxidase in soybean, *Glycine soya*. *Lieb CR Acad Sci*, 1932, **194**: 645-647.
- [2] Brash AR. Lipoxygenases: Occurrence, functions, catalysis, and acquisition of substrate. *J Biol Chem*, 1999, **274**(34): 23679-23682.
- [3] Feussner I, Wasternack C. The lipoxygenase pathway. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, **53**: 275-297.
- [4] Hildebrand DF. Lipoxygenase. *Physiol Plant*, 1989, **76**(2): 249-253.
- [5] Chen G, Hackett R, Walker D, et al. Identification of a specific isoform of tomato lipoxygenase (TomloxC) involved in the generation of fatty acid-derived flavor compounds. *Plant Physiol*, 2004, **136**(1): 2641-2651.
- [6] Liavonchanka A, Feussner I. Lipoxygenases: Occurrence, functions and catalysis. *J Plant Physiol*, 2006, **163**(3): 348-357.
- [7] Feussner I, Kindl H. A lipoxygenase is the main lipid body protein in cucumber and soybean cotyledons during the stage of triglyceride mobilization. *FEBS Lett*, 1992, **298**(2-3): 223-225.
- [8] Feussner I, Kindl H. Particulate and soluble lipoxygenase isoenzymes-comparison of molecular and enzymatic properties. *Planta*, 1994, **194**(1): 22-28.
- [9] Nellen A, Rojahn B, Kindl H. Lipoxygenase forms located at the plant plasma membrane. *Z Naturforsch*, 1995, **50c**: 29-36.
- [10] Grayburn WS, Schneider GR, Hamiltonkemp TR, et al. Soybean leaves contain multiple lipoxygenases. *Plant*

- Physiol*, 1991, **95**(4): 1214–1218.
- [11] Stephenson LC, Bunker TW, Dubbs WE, *et al.* Specific soybean lipoxygenases localize to discrete subcellular compartments and their mRNAs are differentially regulated by source-sink status. *Plant Physiol*, 1998, **116**(3): 923–933.
- [12] Blée E, Joyard J. Envelope membranes from spinach chloroplasts are a site of metabolism of fatty acid hydroperoxides. *Plant Physiol*, 1996, **110**(2): 445–454.
- [13] Feussner I, Hause B, Vörös K, *et al.* Jasmonate-induced lipoxygenase forms are localized in chloroplasts of barley leaves (*Hordeum vulgare cv Salome*). *Plant J*, 1995, **7**(6): 949–957.
- [14] Heitz T, Bergery DR, Ryan CA. A gene encoding a chloroplast-targeted lipoxygenase in tomato leaves is transiently induced by wounding, systemin, and methyl jasmonate. *Plant Physiol*, 1997, **114**(3): 1085–1093.
- [15] Royo J, Vancanneyt G, Pérez AG, *et al.* Characterization of three potato lipoxygenases with distinct enzymatic activities and different organ-specific and wound-regulated expression patterns. *J Biol Chem*, 1996, **271**(35): 21012–21019.
- [16] Maccarrone M, Melino G, Finazzi-Agrò A. Lipoxygenases and their involvement in programmed cell death. *Cell Death Differ*, 2001, **8**(8): 776–784.
- [17] DiVenere A, Salucci ML, van Zadelhoff G, *et al.* Structure-to-function relationship of mini-lipoxygenase a 60 kD fragment of soybean lipoxygenase-1 with lower stability but higher enzymatic activity. *J Biol Chem*, 2003, **278**(20): 18281–18288.
- [18] Hughes RK, West SI, Hornostaj AR, *et al.* Probing a novel potato lipoxygenase with dual positional specificity reveals primary determinants of substrate binding and requirements for a surface hydrophobic loop and has implications for the role of lipoxygenases in tubers. *Biochem J*, 2001, **353**(Pt 2): 345–355.
- [19] Kim ES, Choi E, Kim Y, *et al.* Dual positional specificity and expression of non-traditional lipoxygenase induced by wounding and methyl jasmonate in maize seedlings. *Plant Mol Biol*, 2003, **52**(6): 1203–1213.
- [20] Garbe LA, Barbosa de Almeida R, Nagel R, *et al.* Dual positional and stereospecificity of lipoxygenase isoenzymes from germinating barley (green malt): biotransformation of free and esterified linoleic acid. *J Agric Food Chem*, 2006, **54**(3): 946–955.
- [21] Veronico P, Giannino D, Melillo MT, *et al.* A novel lipoxygenase in pea roots. Its function in wounding and biotic stress. *Plant Physiol*, 2006, **141**(3): 1045–1055.
- [22] Jang S, Huon T, Kim K, *et al.* Regiochemical and stereochemical evidence for enzyme-initiated catalysis in dual positional specific maize lipoxygenase-1. *Org Lett*, 2007, **9**(16): 3113–3116.
- [23] Wang R, Shen W, Liu L, *et al.* A novel lipoxygenase gene from developing rice seeds confers dual position specificity and responds to wounding and insect attack. *Plant Mol Biol*, 2008, **66**(4): 401–414.
- [24] Shibata D, Slusarenko A, Casey R, *et al.* Lipoxygenases. *Plant Mol Biol Rep*, 1994, **12**(2): 41–42.
- [25] Müller MJ. Archetype signals in plants: the phytoprostanes. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, **7**(4): 441–448.
- [26] Hamberg M, Ponce de León I, Sanz A, *et al.* Fatty acid alpha-dioxygenases. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2002, **68-69**: 363–374.
- [27] Kühn H, Thiele BJ. The diversity of the lipoxygenase family. Many sequence data but little information on biological significance. *FEBS Lett*, 1999, **449**(1): 7–11.
- [28] Kühn H, Wiesner R, Rathmann J, *et al.* Formation of ketodienoic fatty acids by the pure pea lipoxygenase-1. *Eicosanoids*, 1991b, **4**(1): 9–14.
- [29] Shimizu T, Radmark O, Samuelsson B. Enzyme with dual lipoxygenase activities catalyses leukotriene A4 synthesis from arachidonic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, **81**(3): 689–693.
- [30] Feussner I, Kühn H. Application of lipoxygenases and related enzymes for the preparation of oxygenated lipids. In: Bornscheuer UT, editor. *Enzymes in lipid modification*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2000: 309–336.
- [31] Kühn H, Eggert L, Zabolotsky OA, *et al.* Keto fatty acids not containing doubly allylic methylenes are lipoxygenase substrates. *Biochem*, 1991a, **30**(42): 10269–10273.
- [32] Brash AR, Ingram CD, Harris TM. Analysis of a specific oxygenation reaction of soybean lipoxygenase-1 with fatty acids esterified in phospholipids. *Biochem*, 1987, **26**(17): 5465–5471.
- [33] Murray JJ, Brash AR. Rabbit reticulocyte lipoxygenase catalyzes specific 12(S) and 15(S) oxygenation of arachidonoyl-phosphatidylcholine. *Arch Biochem Biophys*, 1988, **265**(2): 514–532.
- [34] Kühn H, Belkner J, Wiesner R, *et al.* Oxygenation of biological membranes by the pure reticulocyte lipoxygenase. *J Biol Chem*, 1990, **265**(30): 18351–18361.
- [35] Belkner J, Wiesner R, Kühn H, *et al.* The oxygenation of cholesterol esters by the reticulocyte lipoxygenase. *FEBS Lett*, 1991, **279**(1): 110–114.
- [36] Maccarrone M, Van Aarle PGM, Veldink GA, *et al.* *In vitro* oxygenation of soybean biomembranes by lipoxygenase-2. *Biochim Biophys Acta*, 1994, **1190**(1): 164–169.
- [37] Holtman WL, Vredenburg-Heistek JC, Schmitt NF, *et al.* Lipoxygenase-2 oxygenates storage lipids in embryos of germinating barley. *Eur J Biochem*, 1997, **248**(2): 452–458.
- [38] Feussner I, Balkenhohl TJ, Porzel A, *et al.* Structural elucidation of oxygenated storage lipids in cucumber cotyledons-implication of lipid body lipoxygenase in lipid mobilization during germination. *J Biol Chem*, 1997, **272**(34): 21635–21641.
- [39] Feussner I, Bachmann A, HÖhne M, *et al.* All three acyl moieties of trilinolein are efficiently oxygenated by recombinant His-tagged lipid body lipoxygenase *in vitro*.

- FEBS Lett*, 1998, **431**(3): 433–436.
- [40] Siedow JN. Plant lipoxygenases: structure and function. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1991, **42**: 145–188.
- [41] Creelman RA, Mullet JE. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, **48**: 355–381.
- [42] Kausch KD, Handa AK. Molecular cloning of a ripening-specific lipoxygenase and its expression during wild-type and mutant tomato fruit development. *Plant Physiol*, 1997, **113**(4): 1041–1050.
- [43] Fischer AM, Dubbs WE, Baker RA, *et al.* Protein dynamics, activity and cellular localization of soybean lipoxygenases indicate distinct functional roles for individual isoforms. *Plant J*, 1999, **19**(5): 543–554.
- [44] Feussner I, Kühn H, Wasternack C. Lipoxygenase-dependent degradation of storage lipids. *Trends Plant Sci*, 2001, **6**(6): 268–273.
- [45] Wang C, Croft KPC, Järlfors U, *et al.* Subcellular localization studies indicate that lipoxygenases 1 to 6 are not involved in lipid mobilization during soybean germination. *Plant Physiol*, 1999, **120**(1): 227–236.
- [46] Burow GB, Gardner HW, Keller NP. A peanut seed lipoxygenase responsive to *Aspergillus* colonization. *Plant Mol Biol*, 2000, **42**(5): 689–701.
- [47] Melan MA, Enriquez ALD, Peterman TK. The *LOX1* gene of *Arabidopsis* is temporally and spatially regulated in germinating seedlings. *Plant Physiol*, 1994, **105**(1): 385–393.
- [48] Park TK, Holland MA, Laskey JG, *et al.* Germination-associated lipoxygenase transcripts persist in maturing soybean plants and are induced by jasmonate. *Plant Sci*, 1994, **96**(1-2): 109–117.
- [49] Porta H, Rueda-Benítez P, Campos F, *et al.* Analysis of lipoxygenase mRNA accumulation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during development and under stress conditions. *Plant Cell Physiol*, 1999, **40**(8): 850–858.
- [50] Gerhardt B, Fischer K, Balkenhohl TJ, *et al.* Lipoxygenase-mediated metabolism of storage lipids in germinating sunflower cotyledons and β -oxidation of (9Z, 11E, 13S)-13-hydroxy-octadeca-9, 11-dienoic acid by the cotyledonary glyoxysomes. *Planta*, 2005, **220**(6): 919–930.
- [51] Kolomiets MV, Hannapel DJ, Chen H, *et al.* Lipoxygenase is involved in the control of potato tuber development. *Plant Cell*, 2001, **13**(3): 613–626.
- [52] Griffiths A, Barry C, Alpuche-Solis AG, *et al.* Ethylene and developmental signals regulate expression of lipoxygenase genes during tomato fruit ripening. *J Exp Bot*, 1999, **50**(355): 793–798.
- [53] Staswick PE. Novel regulation of vegetative storage protein genes. *Plant Cell*, 1990, **2**(1): 1–6.
- [54] Dubbs WE, Grimes HD. Specific lipoxygenase isoforms accumulate in distinct regions of soybean pod walls and mark a unique cell layer. *Plant Physiol*, 2000a, **123**(4): 1269–1279.
- [55] Dubbs WE, Grimes HD. The mid-pericarp cell layer in soybean pod walls is a multicellular compartment enriched in specific lipoxygenase isoforms. *Plant Physiol*, 2000b, **123**(4): 1281–1288.
- [56] Bate NJ, Rothstein SJ. C6-volatiles derived from the lipoxygenase pathway induce a subset of defense-related genes. *Plant J*, 1998, **16**(5): 561–569.
- [57] Saravitz DM, Siedow JN. The differential expression of wound-inducible lipoxygenase genes in soybean leaves. *Plant Physiol*, 1996, **110**(1): 287–299.
- [58] Hildebrand DF, Rodriguez JG, Brown GC, *et al.* Peroxidative responses of leaves in two soybean genotypes injured by two spotted spider mites. *J Eco Entomol*, 1986, **79**(6): 1459–1465.
- [59] Bell E, Creelman RA, Mullet JE. A chloroplast lipoxygenase is required for wound-induced jasmonic acid accumulation in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**(19): 8675–8679.
- [60] Royo J, León J, Vancanneyt G, *et al.* Antisense-mediated depletion of a potato lipoxygenase reduces wound induction of proteinase inhibitors and increases weight gain of insect pests. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**(3): 1146–1151.
- [61] Conconi A, Miquel M, Browse JA, *et al.* Intracellular levels of free linolenic and linoleic acids increase in tomato leaves in response to wounding. *Plant Physiol*, 1996, **111**(3): 797–803.
- [62] Melan MA, Dong X, Endara ME, *et al.* An *Arabidopsis thaliana* lipoxygenase gene can be induced by pathogens, abscisic acid, and methyl jasmonate. *Plant Physiol*, 1993, **101**(2): 441–450.
- [63] Parchmann S, Gundlach H, Mueller MJ. Induction of 12-oxo-phytodienoic acid in wounded plants and elicited plant cell cultures. *Plant Physiol*, 1997, **115**(3): 1057–1064.
- [64] McConn M, Creelman RA, Bell E, *et al.* Jasmonate is essential for insect defense in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(10): 5473–5477.
- [65] Xie DX, Feys BF, James S, *et al.* COI1: an *Arabidopsis* gene required for jasmonate-regulated defense and fertility. *Science*, 1998, **280**(5366): 1091–1094.
- [66] Mohri S, Endo Y, Matsuda K, *et al.* Physiological effects of soybean seed lipoxygenase on insects. *Agric Biol Chem*, 1990, **54**(9): 2265–2270.
- [67] Thaler J. Jasmonate-inducible plant defences cause increased parasitism of herbivores. *Nature*, 1999, **399**(6737): 686–688.
- [68] Arimura G, Ozawa R, Shimoda T, *et al.* Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature*, 2000, **406**(6795): 512–515.
- [69] Alborn HT, Turlings TCJ, Jones TH, *et al.* An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science*, 1997, **276**(5314): 945–949.
- [70] Agrawal AA. Mechanisms, ecological consequences and agricultural implications of tri-trophic interactions. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, **3**(4): 329–335.

- [71] Croft KPC, Juttner F, Slusarenko AJ. Volatile products of the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris* (L.) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Plant Physiol*, 1993, **101**(1): 13–24.
- [72] Rustérucci C, Montillet JL, Agnel JP, et al. Involvement of lipoxygenase- dependent production of fatty acid hydroperoxides in the development of the hypersensitive cell death induced by cryptogin of tobacco leaves. *J Biol Chem*, 1999, **274**(51): 36446–36455.
- [73] Weber H, Chételat A, Caldelari D, et al. Divinyl ether fatty acid synthesis in late blight-diseased potato leaves. *Plant Cell*, 1999, **11**(3): 485–493.
- [74] Rancé I, Fournier J, Esquerré-Tugayé MT. The incompatible interaction between phytophthora parasitica var nicotianae race 0 and tobacco is suppressed in transgenic plants expressing antisense lipoxygenase sequences. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(11): 6554–6559.
- [75] Maccarrone M, Van Zadelhoff G, Veldink GA, et al. Early activation of lipoxygenase in lentil (*Lens culinaris*) root protoplasts by oxidative stress induces programmed cell death. *Eur J Biochem*, 2000, **267**(16): 5078–5084.
- [76] Kato TK, Tanaka K, Shibata D. Appearance of new lipoxygenases in soybean cotyledons after germination and evidence for expression of a major new lipoxygenase gene. *Plant Physiol*, 1992, **98**(1): 324–330.

《生物工程学报》对摘要的写作要求

1. 研究报告摘要: 基本要素包括研究目的、方法、结果和结论(不用单列标题书写)。目的(Purpose): 主要说明作者写此文章的目的, 或说明本文主要要解决的问题; 方法(Methods): 重点说明作者的主要工作过程及使用的方法。应用性文章如需要, 可注明条件、使用的主要设备和仪器。结果(Results): 本文最后得出的结果(实验数据部分)。结论(Conclusions): 如系基础研究, 应写明本文的创新之处, 及文章在讨论部分表述的观点; 如系应用性研究, 应尽可能提及本文结果和结论的应用范围和应用情况或应用前景。

2. 综述摘要: 包括论述内容的发展水平、自己的评论及展望, 尤其要注意结合自己的研究工作。

3. 英文摘要的撰写要点: 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但比中文摘要更详尽。英文摘要完成后, 务必请英文较好、且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。

凡不符合要求的, 即使学术上可以达到刊出的水平, 本刊也将推迟发表。

(1) 建议使用第一人称, 尽量不使用第三人称和被动语态。

(2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊尽量不用, 这样可以免好多长句, 以求简单清晰。

(3) 尽量使用清晰简练的短句, 避免很长的句子。注意正确使用英文写作习惯和语法。

(4) 摘要应当使用过去时态, 语法正确, 句子通顺。

(5) 摘要中避免使用缩写语, 除非是那些人人皆知的(如DNA、ATP等), 或者确实是非常长, 而且出现多次的短语才允许用缩写语, 并且在第一次出现时要写出全称。

(6) 在英语摘要中, 不要使用任何汉字字符, 包括标点、括号、温度、希腊字母等。

(7) 句子的开头处最好不要使用数字。