

评述与展望

Reviews and Progress

脂质转移蛋白在植物抗病中的作用

范芸[✉], 周晓燕[✉], 王幼平[✉]

扬州大学生物科学与技术学院, 扬州, 225009

✉ 通讯作者: wangyp@yzu.edu.cn ✉ 作者

分子植物育种, 2011年, 第9卷, 第32篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0032

收稿日期: 2010年12月21日

接受日期: 2011年01月28日

发表日期: 2011年03月22日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式:

范芸等, 2011, 脂质转移蛋白在植物抗病中的作用, 分子植物育种 Vol.9 No.32 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0032)

摘要 脂质转移蛋白(Lipid Transfer Protein, LTP)广泛分布于植物、动物和微生物中, 目前已从许多不同植物组织中分离到, 因其对各种脂质体具有广泛的亲和作用, 所以被称作非特异性脂质转移蛋白(non-specific Lipid Transfer Protein, nsLTP)。高等植物受病原菌侵染后会诱导病程相关(Pathogenesis-related, PR)蛋白的表达, 抑制病原菌的生长和蔓延, 并产生系统性获得抗性(Systemic Acquired Resistance, SAR)。目前已确定的病程相关蛋白有14种, 植物脂质转移蛋白LTP被列入其中。LTP是一类对细菌、真菌等具有抑制或杀灭作用的蛋白质, 抗菌能力强, 稳定性高, 抗菌机制独特, 有着广泛的应用前景。研究表明LTP参与植物的抗病反应, 但其准确的生理功能及作用机制目前不是很明确, 本文主要介绍LTP的抗病功能及抗病机制方面的研究进展。

关键词 脂质转移蛋白; 抗病; 机制

Roles of Lipid Transfer Proteins (LTPs) in Plant Disease Resistance

Fan Yun[✉], Zhou Xiaoyan[✉], Wang Youping[✉]

College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou, 225009, P.R. China

✉ Corresponding author, wangyp@yzu.edu.cn; ✉ Authors

Abstract Lipid transfer proteins (LTPs) are present in plants, animals and microorganisms, now have been extracted from different plant tissues. They are named as non-specific lipid transfer proteins (nsLTPs) due to the extensive affinities to various kinds of lipids. After pathogen infection, pathogenesis-related (PR) proteins are induced in plants, and then systemic acquired resistance (SAR) comes into being. Plant LTPs belong to pathogenesis-related (PR) proteins. They have strong antibacterial and antifungal activities, unique mechanisms, and therefore have wide application prospect. A number of evidences revealed that LTPs are probably involved in pathogen defense of plants. However, the precise physiological functions and resistance mechanisms of this protein family remain largely unknown. In this paper, we mainly discuss the recent research in antipathogen functions and mechanisms of LTP.

Keywords Lipid transfer protein; Disease resistance; Mechanism

研究背景

Abdelkader 和 Mazliak (1970) 在研究花椰菜 (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) 的小花和马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 的块茎脂质转移活性时首次发现了脂质转移蛋白(LTP)。研究表明LTP广泛分布于植物、动物和微生物中, 目前已从许多不同植物组织中分离到, 因其对各种脂质体具有广泛的亲和作用, 所以被称为非特异性脂质转移蛋白(non-specific Lipid Transfer Protein, nsLTP)。根据分子量大小, 植物nsLTP可分为两大类, 即nsLTPs1和nsLTPs2, 分子量分别为9 kDa和7 kDa (Torres-Schumann et al.,

1992)。多数LTP的等电点介于8.8~10, 约占高等植物可溶性蛋白的4% (Sossountzov et al., 1991)。Thoma等(1994)研究发现LTP存在于拟南芥气生部分的表皮层中, 进一步的细胞定位发现它存在于植物的表皮细胞壁、角质和液泡中。LTP是植物病程相关蛋白(pathogenesis-related, PR)家族成员(van Loon et al., 1999), 有证据证明LTP参与植物的抗病反应, 作为一种天然抗菌剂, LTP有很大的研究价值和应用前景, 因此本文就LTP的抗病及其分子机理进行综述。

1 LTP的抗病功能

LTP的功能包括参与植物角质的形成与胚胎的发育、参与抗病原菌或真菌反应、适应各种逆境胁迫(温度, 盐和干旱)、脂代谢、生物膜的形成、体细胞发育、花粉与雌蕊的相互作用等。近年来关注的焦点主要是在植物防御功能和抗性信号转导中的作用。它是在高等植物中广泛存在的一类小分子碱性蛋白, 属于阳离子抗菌肽, 在植物抵抗病原物侵染过程中有着重要的作用。它的抗病原微生物功能目前已从下面得到证实: (1)从植物中分离的LTP在体外能不同程度特异性抑制各种病原真菌的生长; (2)病原菌的侵染能诱导植物LTP的过表达, 而且个体的表达水平与植株的生长阶段、组织类型及作用因素有着密切关系; (3)LTP转基因植物能显著增强抗性功能。

1.1 体外抗菌活性

LTP被列为植物防御蛋白, 是因为它具有很强的抵抗植物致病菌活性。纯化的植物LTP蛋白在体外(in vitro)可抑制细菌及真菌的生长, 从玉米、大麦、菠菜、拟南芥、洋葱、豇豆、水稻中分离的LTP都表现出不同程度的抗病功能。研究结果发现LTP既能抑制革兰氏阴性菌, 又能抑制革兰氏阳性菌和其它多种真菌的生长, 但个体不同而有一定的差异, 其中抗真菌的活性更强一些(Kader, 1996)。Molina等(1993)从大麦叶片中分离出4种LTP, 从玉米中分离出1种LTP, 它们对细菌马铃薯环腐病菌(*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*)、青枯病菌(*Pseudomonas sonanacearum*)以及真菌茄腐镰刀菌(*Fusarium solani*)都表现出抗性。Segura等(1993)从拟南芥中分离出2种同源蛋白LTPa1、LTPa2, 均对马铃薯环腐病菌有一定抗性; 从菠菜中分离出LTPs1、LTPs2, 对马铃薯环腐病菌、青枯病菌以及真菌性致病菌茄腐镰刀菌均表现出抗性。Wang等(2004)从绿豆种子中分离出9.03 kDa的LTP, 对抑制茄腐镰刀菌、腐霉菌(*Pythium aphanidermatum*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和罗氏白绢菌(*Sclerotium rolfsii*)的生长有明显作用; 对革兰氏阳性菌中的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)也有抑制作用。Ooi等(2008)从中国水仙的鳞茎中分离纯化出一种新型的脂质转移蛋白(NTP), 分子量为9 kDa, NTP基因包含354 bp的编码阅读框(ORF),

编码118个氨基酸, 并对它的三级结构进行了预测; 体外抗病毒试验表明, 它能有效的抵抗RSV、H1N1、HL-60病毒。Rogozhin等(2009)从稗草中分离出一种LTP, 命名为Ec-LTP, 9.15 kDa, 在体外能有效的抑制真菌晚疫病菌(*Phytophthora infestans*)、小麦长蠕孢菌(*Helminthosporium sativum*)的活性。

1.2 植物体内参与抗菌反应

就LTP在体内的活性目前主要是通过转基因植物的研究来开展工作。Jung等(2006)分离出辣椒LTP基因(*CALTPIII*)的启动子区, 发现存在许多抗性响应元件, 如乙烯响应元件(ERE box)、病原物响应元件(W-box)、水胁迫元件(MYB); 转入烟草后接种烟草野火病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci*), 结果*CALTPIII*的启动子区被强烈激活, 并发现参与病原菌防御应答的关键元件在-626 bp~-552 bp处。Kirubakaran等(2008)从小麦中分离克隆出一种抗病菌的植物脂质转移蛋白基因*Ltp3F1*, 体外抑菌试验证明LTP蛋白具有广谱的抗菌活性; 将该基因转入烟草, 通过给非转基因和转基因烟草叶子接种3种菌, 分别是稻平脐蠕孢病菌(*Bipolaris oryzae*)、柱孢霉菌(*Cylindrocladium scoparium*)和链格孢菌(*Alternaria* sp), 接种10天后观察发现, 跟对照相比, 转基因烟草叶子受到病菌的伤害明显很小而且有限。Sarowar等(2009)通过病毒诱导的基因沉默实验(VIGS)、辣椒*CALTP I*和*CALTP II*基因转入烟草过表达以及嫁接实验等证明*CALTP*基因对于提高植物的抗病性具有显著作用, 并且能将这种抗性信号转导至植物全身。Lee等(2009)从拟南芥中分离出*LTPG1*基因, 细胞定位发现LTPG1蛋白在细胞膜上; *LTPG1*基因敲除的突变体, 表皮细胞的脂质成分发生了改变, 对真菌十字花科黑斑病菌(*Alternaria brassicicola*)的抗性减弱。

另外病原菌的侵染也能诱导植物LTP的过表达。Gonorazky等(2005)从向日葵种子中分离出一种非特异性脂质转移蛋白, 命名为Ha-AP10。Western blot分析显示, 接种真菌赤星病菌(*Alternaria alternata*)后, 发芽的向日葵种子中Ha-AP10表达量增高, 表明Ha-AP10可能参与防御反应。Carvalho等(2006)从豇豆种子中分离克隆出一段LTPcDNA序列, 大小494 bp, 命名为*VULTP*。Northern blot分析表明接种菜豆枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseolus*)

后, *VULTP*在叶片中表达量上升, 在72 h达到峰值。Li等(2006)通过瞬时表达检测分析研究小麦*LTP1*基因在白粉病菌(*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*, *Bgt*)抗性中的作用时发现, 在接种白粉病菌后, 易感品种Bainong3217中*LTP1*、*LTP2*的转录水平较稳定, 而抗性品种近等基因系(Near Isogenic Line, NIL)Mardler/7×Bainong3217中*LTP1*、*LTP2*的转录水平出现了两个峰值, 分别在3 h、10 h处; 另外瞬时过表达结果显示, *LTP1*过表达的易感品种中白粉病菌带来的渗透效应(Penetration Efficiency, PE)比对照降低了28.3%; 这些结果都表明了LTP在小麦抗白粉病中具有一定的作用。Nishimura等(2008)从柠檬中克隆出了编码LTP全长cDNA (*RlemLTP*); 通过GFP进行亚细胞定位分析发现, *RlemLTP*定位在叶绿体上; *RlemLTP*主要在叶片和种子中转录表达; 接种病菌后, *RlemLTP*被诱导表达, 其转录水平提高了6~15倍; 另外*RlemLTP*的大肠杆菌表达系统显示其对真菌赤星病菌和尖孢镰刀菌具有一定的抗性。Jiang等(2010)通过抑制消减杂交法(Suppression Subtractive Hybridization, SSH), 克隆花椰菜抵抗白菜黑腐病菌(*Xanthomonascampestris* pv. *campestris* (*Pammel*) Dowson)的相关基因, 其中包括植物LTP基因; 接种病菌后, 抗性株系中LTP基因的转录、表达水平比易感株系中高很多; 推测LTP的转脂功能促进细胞表面蜡质的合成及角质层厚度的增加, 使植物细胞对病菌的防御能力增强。越来越多的研究表明, LTP与植物的抗逆和防御功能有关。

2 LTP的抗病机制

由于LTP具有体外抗菌活性并且能被多种生物、非生物胁迫诱导, 一些研究者认为LTP的真正功能在于协助亲脂物质的转运, 形成角质机械障碍, 进而保护受损伤的细胞免受微生物的侵害; 也有一些学者认为LTP抑制、杀灭微生物的效果是通过跨越病原菌细胞膜使其细胞内容物溶出而达到的。

2.1 LTP对病菌细胞的毒性效应

LTP属于抗菌肽, 在体外能抑制多种真菌和细菌生长。目前发现的抗菌肽的作用都是通过微生物的质膜来实现它的抗菌活性, 但作用机制有所不同。葛晓春等(2002)对水稻非特异性LTP110的抑菌功能研究后发现, LTP110具有抑制稻瘟病菌孢子萌

发的功能, 在较低浓度即能发挥活性, 其作用与剂量成正相关。Regente等(2005)从向日葵中分离提取到分子量为10 KDa的抗菌肽Ha-AP10, 属于LTP家族。Ha-AP10对真菌细胞的毒性效应, 是通过改变真菌细胞膜的通透性来实现; 但是, Ha-AP10的细胞毒性并不伤害植物细胞, 说明其靶分子仅存在于真菌细胞膜上。汪少芸等(2006)从绿豆分离出非特异性LTP, 研究它对金黄色葡萄球菌的抑菌机理; 通过电镜扫描发现, 在LTP作用下, 菌体细胞表面破损, 出现大小不一的孔洞, 细胞呈扁平状, 表明内容物溶出, 菌体细胞死亡。推测LTP抑制金黄色葡萄球菌生长的机理可能包括如下过程: 第一步, LTP通过静电作用与细菌细胞壁相互作用, 改变细胞壁通透性或使其发生破裂, 从而进入细胞内; 第二步, LTP与细菌质膜结合, 借助疏水分子的柔性插入到细胞质膜中形成离子通道, 使细菌失去膜势不能保持正常的渗透压而死亡。

2.2 参与植物细胞表皮角质层和蜡质层的形成

植物细胞表皮有很多角质(聚酯羟基脂肪酸)及蜡质(高熔点的可溶性的有机化合物)。既然组成表皮的这些脂类物质是在细胞内合成的, 那么必然要有一些物质来担当转移脂质的任务, LTP一直被认为参与这一重要过程。Sterk等(1991)提出的“角质理论”认为LTP转运疏水角质单体穿过胞外基质到达角质层合成部位参与角质的形成。虽然目前还没有直接的证据证明, 但是已有不少研究者支持这一理论。Trevino和OConnell (1998)认为, LTP参与植物表面一个保护性疏水角质——软木脂层的形成, 这些结构可以防止水分扩散到谷物当中并且可以抵抗真菌的攻击。Hollenbach等(1997)和Cameron等(2006)研究发现随着LTP表达的增加, 蜡质的合成也越来越多; 认为LTP参与蜡质的合成, 进而促进细胞表皮角质层的沉积。Jiang等(2010)也认为LTP推动脂质向细胞壁的转移, 从而促进细胞表面蜡质的合成及角质层厚度的增加, 进而加强植物细胞对病菌的防御能力。

2.3 信号转导

在信号转导方面, 植物系统性获得抗性(SAR)是植物抵御病原物攻击、实现自我保护的重要信号转导系统。一些研究者认为LTP参与SAR过程, 也

有研究认为LTP与其他分子互作共同参与SAR过程的调节, 其具体机制还有待进一步研究。

2.3.1 LTP参与SAR

Maldonado等(2002)从拟南芥中分离到一个系统获得性抗性(SAR)发生改变的突变体DIR1, 它的局部抗病反应正常; 但接种病原菌后, 正常植物会产生的系统性获得性抗性发生缺失, 对该突变体进行基因定位发现, 基因组中只有一个基因发生了突变, 就是LTP基因; 推测该基因可能参与植物系统获得性抗性信号的传导。Sarowar等(2009)通过在转基因烟草体内过表达CALTPII/CALTPII基因, 诱导植物对病原菌的抗性, 验证LTP的功能; 后又通过嫁接实验, 发现CALTPI/CALTPI、CALTPII/CALTPII组合的嫁接植物均能对病原菌产生抗性, 而WT/WT组合的嫁接植物则无抗性, 但是WT/CALTP嫁接的植物对病原菌却有很好的抗性, 从而认为LTP在长距离的系统性的信号转导过程中起着很重要的作用。

2.3.2 LTP参与激发子触发植物细胞过敏性反应的信号转导过程

激发子在植物诱导抗病性中发挥着重要的作用, 它是一类能诱导寄主植物产生防卫反应的特殊化合物, 在与受体分子结合后, 通过一定的信号传导途径激发植物产生防卫反应(刘梅芳等, 2008)。Osman等(2001)认为激发子具有转移甾醇的活性, 与甾醇形成激发子——甾醇复合物后, 与植物细胞膜上的受体蛋白互作, 引起植物细胞的过敏反应(Hypersensitive Response, HR), 从而激活抗病防卫反应的信号转导途径, 诱导植物抗性。Buhot等(2001)比较发现LTP和激发子空间结构相似, 并且都具有非特异性脂质结合活性, 但LTP不能结合甾醇; 体内竞争实验表明, 它们竞争性结合相同的膜受体; 推测LTP参与激发子触发植物细胞过敏性反应的信号转导过程。Blein等(2002)认为: 在病菌侵染植物早期, 由于很多真菌不能合成对其生存必需的甾醇类物质, 激发子在植物细胞和真菌之间穿梭将植物细胞的甾醇类物质带给病原菌启动有性或无性繁殖; 另一方面, 激发子与甾醇结合成激发子——甾醇复合物后, 与植物细胞膜上的激发子受体结合, 引起植物过敏细胞的死亡, 进而诱导植物抗性的产生。当激发子遇到LTP, 由于它们在空间结构上显

著的相似性, 使得LTP竞争性结合激发子的膜受体, 从而降低了植物细胞对激发子的敏感性, 抑制了细胞的死亡并诱导系统抗性的产生。

2.3.3 LTP与茉莉酸(jasmonic acid, JA)、几丁质酶(chitinase)等互作, 并促进长距离信号传导

植物LTP分子中具有一个可塑的疏水空穴, 可结合容纳各类脂肪酸。一些脂质分子作为第二信使参与植物细胞功能的调节, 在细胞信号转导中构成脂类信号通路。Maldonado等(2002)认为在病菌入侵的情况下, 拟南芥脂质转移蛋白DIR1与一种脂源分子互作并促进长距离信号传导。这种脂源分子可能是由病菌的质膜上合成或者释放的羟脂如茉莉酸、磷脂酸, 在植物防御信号中能够起到次级信使的作用。Buhot等(2004)的受体竞争实验和脂结合分析结果表明, 用LTP-茉莉酸(JA)复合物处理的烟草能显著提高抗烟草黑胫病菌(*Phytophthora parasitica*)能力, 而LTP-亚麻酸(LA)复合物、LTP、LA及JA单独存在时均无上述效应; 虽然LTP能与各类脂质分子相结合, 但惟有与JA的结合能显著增强LTP与质膜受体的特异性识别和亲和力, 因此他们首次提出LTP-JA复合物是LTP的生物活性形式。Girault等(2008)从葡萄中分离克隆出5种LTP亚型VvLTP1~5, 体外试验研究认为VvLTP4-茉莉酸复合体, 诱导植株对灰霉病(*Botrytis cinerea*)的抗性最高, VvLTP4次之, 茉莉酸最低。

LTP属于病程相关(PR)蛋白家族, 有报道LTP诱导几丁质酶(PR-3)等的表达, 并与其互作促进植物系统获得抗性(SAR)过程, 从而增强植株抗病性。Roy-Barman等(2006)在转基因小麦中组成型表达脂质转移蛋白Ace-AMP1 (从洋葱中分离到的抗菌蛋白), 发现在Ace-AMP1转基因植株中, 水杨酸SA、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、葡聚糖酶(PR2)、几丁质酶(PR3)的水平均有所提高, 表明Ace-AMP1诱导了SAR过程。Jayaraj等(2007)将2个PR蛋白基因, 小麦LTP基因和玉米几丁质酶基因(*chi2*)进行转基因胡萝卜实验时, 发现LTP-*chi2*复合的转基因植株抗病性要远优于LTP、*chi2*单个基因的转基因植株, 表明LTP与几丁质酶互作增强了植株的抗性。关于LTP与茉莉酸和几丁质酶等如何互作、传递防御信息并引起植物SAR进而增强植株抗病性, 详细机制仍需进一步研究。

2.3.4 LTP与钙调素结合蛋白具有相同的钙调素结合活性, $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 信号系统可能参与植物转脂蛋白功能的调节

钙调素(Calmodulin, CaM)作为钙信使的多功能受体蛋白, 自身没有任何酶活性, 而是通过与钙调素结合蛋白(Calmodulin Binding Proteins, CaMBPs)的相互作用来行使诸多调节功能。从白菜中分离的钙调素结合蛋白-10 (CaMBP-10)被鉴定为植物转脂蛋白家族成员, 并且体外实验证明钙调素调节其脂质结合活性, 认为钙调素参与植物转脂蛋白功能的调节。Liu等(2001)和祁倩等(2004)从中国大白菜中分离出CaMBP-10, 氨基酸和核苷酸序列分析结果显示, 它与植物转脂蛋白高度同源, 特别是含有8个保守半胱氨酸, 并具极为相似的理化性质如分子量、等电点和热稳定性等。据此认为, CaMBP-10是转脂蛋白家族的新成员, $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 信号系统可能参与植物转脂蛋白功能的调节。Wang等(2005)克隆表达出拟南芥nsLTP1, 研究它的CaM结合活性, 发现CaM结合位点在nsLTP1的69~80位氨基酸处, 并且这个区域高度保守。推测nsLTP1是钙调蛋白CaMBP的一个新的家族成员, 参与CaM的信号转导过程。白文艳等(2006)克隆并表达了玉米非特异性脂转移蛋白(Zm-nsLTP)。钙调素凝胶覆盖分析和钙调素亲和层析下拉实验结果表明, Zm-nsLTP不仅具有与CaMBP-10和拟南芥非特异性脂转移蛋白1 (At-nsLTP1)相同的结合CaM的活性, 且这种结合特性不依赖于 Ca^{2+} , 其与钙调素的结合结构域(CaM-binding Domain, CaMBD)为碱性双亲 α -螺旋(Basic Amphiphilic α -helix, BAA)结构, 与已发现的大多数CaMBP的CaMBD的特征一致, 为证明植物脂转移蛋白是一类新的CaMBP提供了又一证据。谢万钦等(2006)荧光标记的脂质结合实验表明, 钙调素结合蛋白-10 (CaMBP-10)具有典型的植物非特异性脂转移蛋白与脂质结合的特性。Neumann等(1995)从矮牵牛花的花瓣中分离出能被钙依赖性蛋白激酶(Calcium-dependent Protein kinase, CDPK)磷酸化的LTP。赵玉龙等(2009)研究LTP的磷酸化作用, 以CaMBP-10为材料, 发现豌豆幼叶质膜中的一种内源性蛋白激酶能磷酸化CaMBP-10, 磷酸化作用具有 Ca^{2+} 依赖性特征, 进一步用抗体鉴定证明该内源性激酶为钙依赖性蛋白激酶CDPK。研究发

现磷酸化作用能显著增强CaMBP-10的脂质结合活性, CaMBP-10的磷酸化结构域正好也是它的CaM结合结构域, 2种结构域完全重合提示在CaMBP-10, CDPK和CaM之间可能存在着特殊的相互作用机制。首次证明了LTP受CaM结合和钙依赖性蛋白激酶(CDPK)磷酸化的双重调节。而且, CaM结合位点与磷酸化位点的重合预示可能存在特殊的调节机制, 以协同应答胞内的 Ca^{2+} 信号。

综上所述, 脂质转移蛋白的抗菌机制应该是一个多途径、多层次的信号转导网络, 因而植物在抵抗病原物侵染时能作出及时有效的应答。

3展望

关于植物脂转移蛋白的研究已有30多年, 发展十分迅速, LTP的多种生理功能先后被提出, 除前述的功能外, LTP也涉及细胞程序性死亡、食物过敏原, 但体内确切的生理功能还不明确。我们实验室把从早稻里分离出的LTP基因导入蝴蝶兰中, 转基因植株抗低温的能力有明显提高(Qin et al., 2011)。并构建了该基因的双元T-DNA载体, 用于无抗性筛选标记转基因的研究(吴磊等, 2010)。近年来, 研究焦点主要集中在其抗性功能及机制上。由于LTP能够介导不同脂质分子在体外膜间的转移, 能体外抑制细菌和真菌等病原物的生长; 并且病原菌的侵染能诱导植物体内LTP的过表达, LTP转基因植物对病菌的抗性显著增强; 另外LTP可能在植物SAR的信号转导网络中行使重要的功能, 因而被认为是植物重要的防御蛋白。

植物LTP抗菌功能的研究目前已积累了许多事实, 越来越多的研究表明LTP与植物的防御功能有关。但仍存在一些问题需要深入, 比如: LTP结构和功能之间的关系报道相对较少; LTP的抑菌活性与其转脂功能之间的关系还不是很清楚; 进一步探讨LTP抑菌活性的分子机理, 研究它在植物体抗性信号转导中的作用将是十分必要的。病菌危害是世界范围内农作物减产的重要原因, 植物对病原微生物的防御一直是植物病理学研究的热点。LTP的抑菌活性对于将该基因应用于农作物转基因工程以增强作物抗性具有非常重要的意义。作为一种天然的抗菌剂, LTP在工农业以及医药生产中有非常好的应用前景。

作者贡献

范芸负责国外文献的收集和论文的撰写, 周晓燕负责国内文献的收集和论文的撰写, 王幼平负责论文的指导和修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由转基因重大专项(2009ZX08004-002B)资助。

参考文献

- Abdelkader A.B., and Mazliak P., 1970, Lipid exchange between mitochondria, microsomes and cytoplasmic supernatant of potato or cauliflower cells, *European Journal of Biochemistry*, 15(2): 250-262
- Bai W.Y., Zhao L.Q., Li Z.P., Xie W.Q., Zhao Y.L., and Li C.F., 2006, Cloning and expression of cDNA for maize nonspecific lipid transfer protein as well as calmodulin-binding activity analysis of the expression product, *Zhiwu Shengli Yu Fenzishengwuxue Xuebao (Journal of Plant Physiology and Molecular Biology)*, 32(5): 570-576 (白文艳, 赵立青, 李振鹏, 谢万钦, 赵玉龙, 李翠凤, 2006, 玉米非特异性脂转移蛋白的cDNA克隆和表达及表达产物的钙调素结合活性分析, *植物生理与分子生物学学报*, 32(5): 570-576)
- Blein J.P., Coutos-Th evenot P., Marion D., and Ponchet M., 2002, From elicitors to lipid-transfer proteins: a new insight in cell signalling involved in plant defence mechanisms, *Trends in Plant Science*, 7(7): 293-296
- Buhot N., Douli ez J.P., Jacquemard A., Marion D., Tran V., Maume B.F., Milat M.L., Ponchet M., Mik s V., Kader J.C., and Blein J.P., 2001, A lipid transfer protein binds to a receptor involved in the control of plant defence responses, *FEBS Letters*, 509(1): 27-30
- Buhot N., Gom s E., Milat M.L., Ponchet M., Marion D., Lequeu J., Delrot S., Coutos-Th evenot P., and Blein J.P., 2004, Modulation of the biological activity of a tobacco LTPI by lipid complexation, *Molecular Biology of the Cell*, 15(11): 5047-5052
- Cameron K.D., Teece M.A., and Smart L.B., 2006, Increased accumulation of cuticular wax and expression of lipid transfer protein in response to periodic drying events in leaves of tree tobacco, *Plant Physiology*, 140(1): 176-183
- Carvalho A.O., Souza-Filho G.A., Ferreira B.S., Branco A.T., Ara ujo I.S., Fernandes K.V., Retamal C.A., and Gomes V.M., 2006, Cloning and characterization of a cowpea seed lipid transfer protein cDNA: expression analysis during seed development and under fungal and cold stresses in seedlings' tissues, *Plant Physiology and Biochemistry*, 44: 732-742
- Ge X.C., Chen J.C., Lin Y., Sun C.R., and Cao K.M., 2002, Expression, purification and function of rice nonspecific lipid transfer protein, *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao (Acta Biochimica et Biophysica Sinica)*, 34(1): 83-87 (葛晓春, 陈继超, 林奕, 孙崇荣, 曹凯鸣, 2002, 水稻非特异性脂质转移蛋白的原核表达、纯化及抑菌功能, *生物化学与生物物理学报*, 34 (1): 83-87)
- Girault T., Francois J., Rogniaux H., Pascal S., Delrot S., Coutos-Th evenot P., and Gom s E., 2008, Exogenous application of a lipid transfer protein-jasmonic acid complex induces protection of grapevine towards infection by *Botrytis cinerea*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(2): 140-149
- Gonorazky A.G., Regente M.C., and de la Canal L., 2005, Stress induction and antimicrobial properties of a lipid transfer protein in germinating sunflower seeds, *Journal of Plant Physiology*, 162(6): 618-624
- Hollenbach B., Schreiber L., Hartung W., and Dietz K.J., 1997, Cadmium leads to stimulated expression of the lipid transfer protein genes in barley implications for the involvement of lipid transfer proteins in wax assembly, *Planta*, 203(1): 9-19
- Jayaraj J., and Punja Z.K., 2007, Combined expression of chitinase and lipid transfer protein genes in transgenic carrot plants enhances resistance to foliar fungal pathogens, *Plant Cell Reports*, 26(9): 1539-1546
- Jiang H., Song W., Li A., Yang X., and Sun D., 2010, Identification of genes differentially expressed in cauliflower associated with resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*, *Molecular Biological Reports*, 38(1):621-629
- Jung H.W., Lim C.W., and Hwang B.K., 2006, Isolation and functional analysis of a pepper lipid transfer protein III (CALTPIII) gene promoter during signaling to pathogen, abiotic and environmental stresses, *Plant Science*, 170: 258-266
- Kader J.C., 1996, Lipid-transfer proteins in plants, *Annu. Rev. Plant Physiol., Plant Mol. Biol.*, 47: 627-654
- Kirubakaran S.I., Begum S.M., Ulaganathan K., and Sakthivel N., 2008, Characterization of a new antifungal lipid transfer protein from wheat, *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(10): 918-927
- Lee S.B., Go Y.S., Bae H.J., Park J.H., Cho S.H., Cho H.J., Lee D.S., Park O.K., Hwang I., and Suh M.C., 2009, Disruption of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein gene altered cuticular lipid composition, increased plastoglobules, and enhanced susceptibility to infection by

- the fungal pathogen *Alternaria brassicicola*, *Plant Physiology*, 150(1): 42-54
- Li A., Meng C., Zhou R., Ma Z., and Jia J., 2006, Assessment of Lipid Transfer Protein (*LTP1*) Gene in Wheat Powdery Mildew Resistance, *Agricultural Sciences in China*, 5(4): 241-249
- Liu H., Xue L., Li C., Zhang R., and Ling Q., 2001, Calmodulin-Binding Protein BP-10, a Probable New Member of Plant Nonspecific Lipid Transfer Protein Superfamily, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 285(3): 633-638
- Liu M.F., Zhu X.C., and Xiao H.S., 2008, Research Progress of Elicitor and its Signal Transduction in Plants, *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 24(3): 215-220 (刘梅芳, 朱晓程, 肖华山, 2008, 植物激发子及其信号传导之研究进展, *中国农学通报*, 24(3): 215-220)
- Maldonado A.M., Doerner P., Dixon R.A., Lamb C.J., and Cameron R.K., 2002, A putative lipid transfer protein involved in systemic resistance signaling in *Arabidopsis*, *Nature*, 419: 399-403
- Molina A., Segura A., and García-Olmedo F., 1993, Lipid transfer proteins (nsLTPs) from barley and maize leaves are potent inhibitors of bacterial and fungal plant pathogens, *FEBS Letters*, 316(2): 119-122
- Neumann G.M., Condron R., Thomas I., and Polya G.M., 1995, Purification, characterization and sequencing of a family of *Petunia* petal lipid transfer proteins phosphorylated by plant calcium-dependent protein kinase, *Plant Science*, 107(2): 129-145
- Nishimura S., Tatano S., Gomi K., Ohtani K., Fukumoto T., and Akimitsu K., 2008, Chloroplast-localized nonspecific lipid transfer protein with anti-fungal activity from rough lemon, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72: 134-140
- Ooi L.S., Tian L., Su M., Ho W.S., Sun S.S., Chung H.Y., Wong H.N., and Ooi V.E., 2008, Isolation, characterization, molecular cloning and modeling of a new lipid transfer protein with antiviral and antiproliferative activities from *Narcissus tazetta*, *Peptides*, 29(12): 2101-2109
- Osman H., Vauthrin S., Mikes V., Milat M.L., Panabieres F., Marais A., Brunie S., Maume B., Ponchet M., and Blein J.P., 2001, Mediation of elicitor activity on tobacco is assumed by elicitor-sterol complexes, *Molecular Biology of the Cell*, 12: 2825-2834
- Qi Q., Rao E.Y., Wang Z., Liu H., Ling Q.L., and Li C.F., 2004, Cloning and Expression of a cDNA Encoding CaMBP210 and CaM Binding Activity Analysis, *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 20(4): 451-456 (祁倩, 饶恩于, 王喆, 刘华, 凌启阁, 李翠凤, 2004, CaMBP-10的cDNA克隆和表达及钙调素结合活性分析, *中国生物化学与分子生物学报*, 20(4): 451-456)
- Qin X.Y., Liu Y., Mao S.J., Li T.B., Wu H.K., Chu C.C., and Wang Y.P., 2011, Genetic transformation of lipid transfer protein (LTP) gene in *Phalaenopsis amabilis* to enhance its cold resistance, *Euphytica*, 177: 33-43
- Regente M.C., Giudici A.M., Villalan J., and de la Canal L., 2005, The cytotoxic properties of a plant lipid transfer protein involve membrane permeabilization of target cells, *Letters in Applied Microbiology*, 40(3): 183-189
- Rogozhin E.A., Odintsova T.I., Musolyamov A.Kh., Smirnov A.N., Babakov A.V., Egorov T.A., and Grishin E.V., 2009, The purification and characterization of a novel lipid transfer protein from caryopsis of barnyard grass (*Echinochloa crusgalli*), *Applied Biochemistry and Microbiology*, 45(4): 363-368
- Roy-Barman S., Sautter C., and Chattoo B.B., 2006, Expression of the lipid transfer protein Ace-AMP1 in transgenic wheat enhances antifungal activity and defense responses, *Transgenic Research*, 15(4): 435-446
- Sarowar S., Kim Y.J., Kim K.D., Hwang B.K., Ok S.H., and Shin J.S., 2009, Overexpression of lipid transfer protein (LTP) genes enhances resistance to plant pathogens and LTP functions in long-distance systemic signaling in tobacco, *Plant Cell Reports*, 28(3): 419-427
- Segura A., Moreno M., and García-Olmedo F., 1993, Purification and antipathogenic activity of lipid transfer proteins (LTPs) from the leaves of *Arabidopsis* and spinach, *Federation of European Biochemical Societies*, 332(3): 243-246
- Sossountzov L., Ruiz-Avila L., Vignols F., Jolliot A., Arondel V., Tchang F., Grosbois M., Guerbette F., Miginiac E., and Delseny M., 1991, Spatial and temporal expression of a maize lipid transfer protein gene, *Plant Cell*, 3(9): 923-933
- Sterk P., Booij H., Schellekens G.A., Van Kammen A., and De Vries S.C., 1991, Cell-specific expression of the Carrot EP2 lipid transfer protein gene, *Plant Cell*, 3(9): 907-921
- Thoma S., Hecht U., Kippersn A., Botella J., De Vries S., and Somerville C., 1994, Tissue-specific expression of a gene encoding a cell wall-localized lipid transfer protein from *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, 105(1): 35-45
- Torres-Schumann S., Godoy J.A., and Pintor-Toro J.A., 1992, A probable lipid transfer protein gene is induced by NaCl in stems of tomato plants, *Plant Molecular Biology*, 18: 749-757

- Trevino M.B., and OConnell M.A., 1998, Three drought-responsive members of the nonspecific lipid-transfer protein gene family in *Lycopersicon pennellii* show different developmental patterns of expression, *Plant Physiol.*, 116(4): 1461-1468
- van Loon L.C., and van Strien E.A., 1999, The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-I type proteins, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55: 85-97
- Wang S.Y., Shao B., Ye X.Y., and Rao P.F., 2006, The Analysis on Antibacterial Mechanism of Non Specific Lipid Transfer Protein from Mung Bean, *Zhongguo sipin Xuebao (Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology)*, 6(6): 9-13 (汪少芸, 邵彪, 叶秀云, 饶平凡, 2006, 绿豆中非特异性脂转移蛋白的抑菌机理分析, *中国食品学报*, 6(6): 9-13)
- Wang S.Y., Wu J.H., Ng T.B., Ye X.Y., and Rao P.F., 2004, A non-specific lipid transfer protein with antifungal and antibacterial activities from the mung bean, *Peptides*, 25: 1235-1242
- Wang Z., Xie W., Chi F., and Li C., 2005, Identification of non-specific lipid transfer protein-1 as a calmodulin-binding protein in *Arabidopsis*, *FEBS Letters*, 579(7): 1683-1687
- Wu L., Shi X., Tian W., Liu Q., and Wang Y., 2010, Construction of twin T-DNA binary vectors of two disease resistance genes, *Molecular Plant Breeding*, 8:976-980 (吴磊, 史秀岚, 田巍, 刘巧泉, 王幼平, 2010, 两种抗病基因双T-DNA区双元载体的构建, *分子植物育种*, 8: 976-980)
- Xie W.Q., Zhao L.Q., Bai W.Y., Li Z.P., Zhao Y.L., and Li C.F., 2006, The Effects of Calmodulin on the Lipid-Binding Activity of CaM-Binding Protein-10 and Maize Non-specific Lipid Transfer Protein, *Plant Physiology and Molecular Biology*, 32(6): 679-684 (谢万钦, 赵立青, 白文艳, 李振鹏, 赵玉龙, 李翠凤, 2006, 钙调素对钙调素结合蛋白-10和玉米非特异性脂转移蛋白与脂质结合活性的影响, *植物生理与分子生物学学报*, 32(6): 679-684)
- Zhao Y.L., Xie W.Q., Hu W.Q., Zhang Y.Y., Zhang R., and Li C.F., 2009, Plant lipid transfer protein CaMBP-10's phosphorylation by endogenous CDPK of pea (*Pisum sativum* L.) plasma membrane and effects of kinase's autophosphorylation by CaMBP-10, *Science in China Series C: Life Sciences*, 39(9):862-872 (赵玉龙, 谢万钦, 胡文全, 张映熠, 张蕊, 李翠凤, 2009, 豌豆质膜内源CDPK对植物转脂蛋白CaMBP-10的磷酸化及CaMBP-10对激酶自磷酸化的影响, *中国科学C辑:生命科学*, 39(9): 862-872)



5thPublisher是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5thPublisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量的评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>