

研究通讯 Research Letter

植物亚麻芥素的生物合成

李一蒙¹, 陈思学², 阎秀峰^{1,*}¹东北林业大学生命科学学院, 东北林业大学生物遗传育种与生物技术教育部重点实验室, 哈尔滨 150040; ²佛罗里达大学植物学系, 盖恩斯维尔 FL 32611, 美国

Biosynthesis of Camalexin in Plant

LI Yi-Meng¹, CHEN Si-Xue², YAN Xiu-Feng^{1,*}¹Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement and Biotechnology, Ministry of Education, College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; ²Department of Botany, University of Florida, Gainesville FL 32611, USA

摘要: 文章介绍植物亚麻芥素合成过程中的中间体、催化酶和相关基因的研究进展。

关键词: 亚麻芥素; 生物合成; 拟南芥

有些高等植物在抵抗病原体侵染过程中能诱导合成一类具有抗微生物侵害活性的低分子量物质——植保素(phytoalexin) (Smith 1996)。如亚麻芥素(3-thiazol-2'-yl-indole, camalexin)是一种含硫的吲哚生物碱, 是十字花科(Cruciferae)植物特有的植保素, 也是拟南芥中发现的唯一的一类植保素。亚麻芥素是首先在遭受甘蓝链格孢菌(*Alternaria brassicae*)侵染的亚麻芥(*Camelina sativa*)叶中发现的(Browne 等 1991), 随后在受到丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)侵染的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)叶中也检测到了亚麻芥素(Tsuji 等 1992)。拟南芥中的亚麻芥素能受细菌(Tsuji 等 1992; Glazebrook 和 Ausubel 1994)、真菌(Glazebrook 等 1997; Zook 和 Hammerschmidt 1997; Thomma 等 1999; Roetschi 等 2001)和病毒(Callaway 等 1996; Dempsey 等 1997)等诱导, 也可以受重金属(Tsuji 等 1993)、UV-B 辐射(Mert-Turk 等 2003)、镰刀菌酸(fusaric acid) (Bouizgarne 等 2006)和挥发性的异罗勒烯(allo ocimene) (Kishimoto 等 2006)等诱导。亚麻芥素不但能抵抗病原菌的侵染, 且有抗癌作用(Mezencev 等 2003), 因此其生物合成的研究引起了人们的注视。

1 亚麻芥素的生物合成

亚麻芥素合成途径的研究开始于上世纪90年代初, 主要是通过体内饲喂实验(*in vivo* feeding experiment)和突变体筛选进行的, 目前已基本上鉴定出亚麻芥素的合成前体以及一些关键步骤的中间

体和催化酶。图 1 是根据近年来的研究结果(Glawischnig 等 2004; Schuhegger 等 2006; Nafisi 等 2007)总结的亚麻芥素生物合成过程。亚麻芥素的合成起始于色氨酸途径, 早期的研究未能确定色氨酸途径中是哪种物质直接参与亚麻芥素的合成, Glawischnig 等(2004)发现细胞色素 P450 酶的参与基本上证明了色氨酸转化为吲哚-3-乙醛肟(indole-3-acetaldoxime, IAOx)的过程。吲哚-3-乙醛肟是多种代谢产物合成的分支点, 同时与吲哚-3-乙酸和吲哚芥子油苷的合成途径有关联。Nafisi 等(2007)的研究表明, 亚麻芥素合成途径中吲哚-3-乙醛肟受细胞色素 P450 酶 CYP71A13 催化形成吲哚-3-乙腈(indole-3-acetonitrile, IAN)。但吲哚-3-乙腈到亚麻芥素的反应步骤还不是非常清晰, Schuhegger 等(2006)的工作证实亚麻芥素合成的最后一步反应是由二氢亚麻芥酸(S-dihydrocamalexin acid)到亚麻芥素。从吲哚-3-乙腈到二氢亚麻芥酸中的一个重要而未解的问题是亚麻芥素结构中噻唑环部分的引入, 尽管 Zook 和 Hammerschmidt (1997)的体内饲喂实验已确定噻唑环部分来源于半胱氨酸, 但是其中与半胱氨酸缩合的中间体始终未得到

收稿 2008-06-05 修订 2008-07-04

资助 国家自然科学基金海外青年学者合作研究基金(30528013)、国家自然科学基金(30670325)和新世纪优秀人才支持计划(NCET-05-0328)。

* 通讯作者(E-mail: xfyang@mail.hl.cn; Tel: 0451-82190052)。

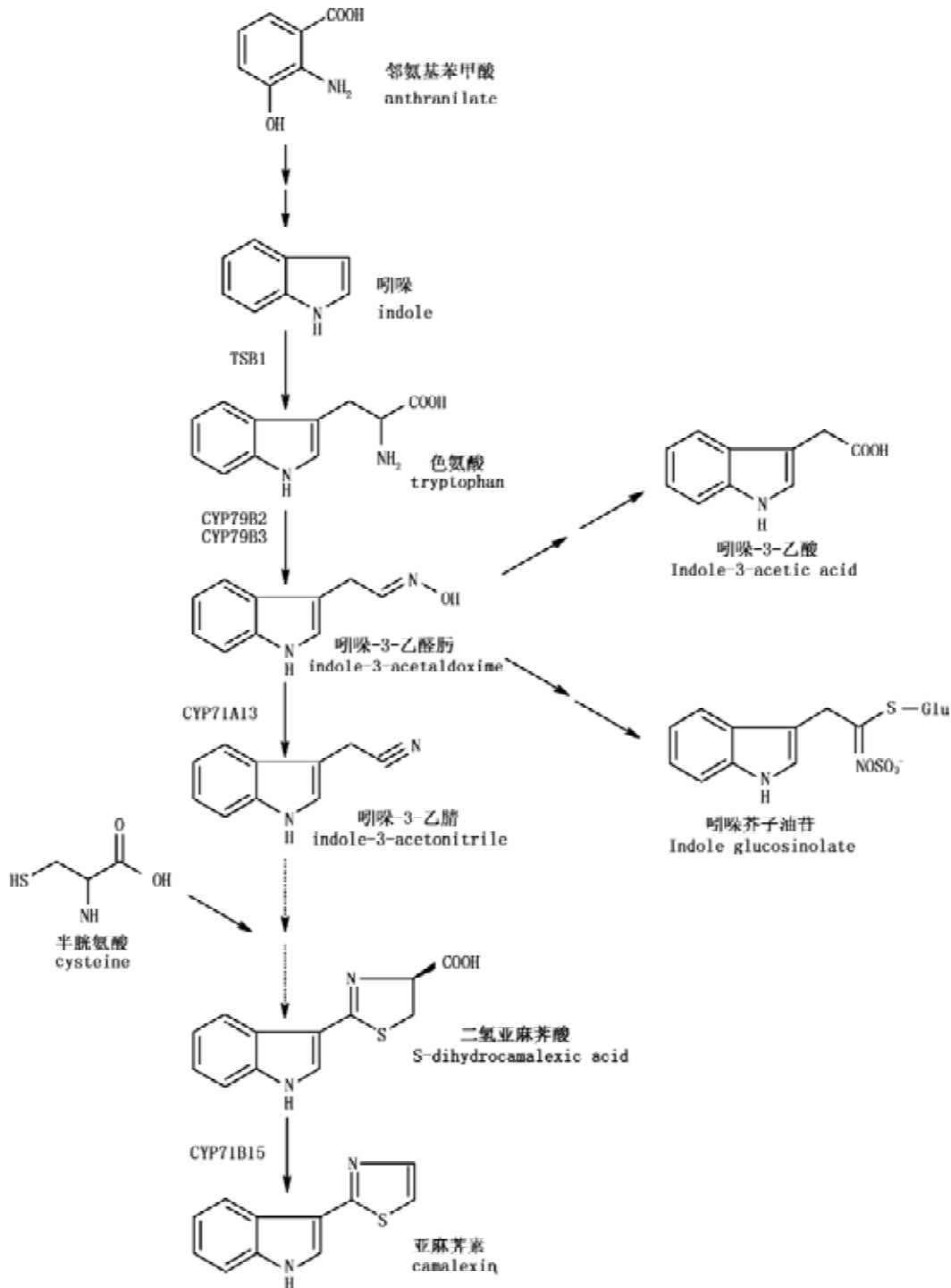


图1 亚麻荠素的合成途径(Glawischnig等2004; Schuegger等2006; Nafisi等2007)

证实。

2 色氨酸转化为吲哚-3-乙醛肟

亚麻荠素的合成起始于色氨酸途径,色氨酸在细胞色素P450酶的催化下转化为吲哚-3-乙醛肟。

在亚麻荠素合成过程研究的早期,研究者始终

未能确定色氨酸途径中的哪种物质直接参与亚麻荠素的合成。拟南芥叶饲喂实验的结果显示,邻氨基苯甲酸(anthranilate)掺入到亚麻荠素合成过程的量比色氨酸更高,表明色氨酸没有直接参与亚麻荠素的合成(Tsuji等1993; Zook和Hammerschmidt

1997)。这个结论在3种色氨酸突变体中已得到证实,在 $trp1-100$ 突变体(邻氨基苯甲酸合成酶基因发生突变)中亚麻芥素含量显著下降,而 $trp2-1$ 突变体(色氨酸合成酶的 β 亚基基因发生突变)和 $trp3-1$ 突变体(色氨酸合成酶的 α 亚基基因发生突变)中亚麻芥素的含量则无明显变化(Tsuji等1993)。这些研究虽然排除了色氨酸直接参与亚麻芥素合成的可能,但迄今始终未能确切预测哪种物质直接参与了亚麻芥素的合成。

本世纪以来,代谢突变体的筛选成为亚麻芥素生物合成途径研究的新突破口。研究者在 $cyp79B2/cyp79B3$ 突变体拟南芥中鉴定出2个基因位点,它们所编码的细胞色素P450酶CYP79B2和CYP79B3都能催化色氨酸转化为吲哚-3-乙醛肟(Hull等2000; Mikkelsen等2000)。吲哚-3-乙醛肟是多种含吲哚环代谢产物的前体,能为CYP83B1酶催化而进一步合成吲哚芥子油苷(Bak等2001; Hansen等2001),同时吲哚-3-乙醛肟也是生长素的一种前体(Bak等2001),而且还是芸苔素(brassinin)及其衍生的植保素的前体(Pedras等2001)。拟南芥 $cyp79B2/cyp79B3$ 双缺失突变体中不仅完全缺少吲哚芥子油苷,生长素的含量也明显下降(Zhao等2002)

在上述研究的基础上,人们用 $cyp79B2/cyp79B3$ 突变体重新研究了亚麻芥素的合成过程。由于亚麻芥素与芸苔素结构相似,人们曾猜测它们具有相似的合成途径,还有研究者猜测亚麻芥素是由吲哚芥子油苷合成的。用硝酸银(硝酸银能够诱导亚麻芥素的合成)处理 $cyp79B2/cyp79B3$ 突变体拟南芥后,莲座叶中几乎完全不能积累亚麻芥素;另外,吲哚-3-乙醛肟能够高效地掺入到亚麻芥素的合成过程,因此认为亚麻芥素是通过色氨酸转化为吲哚-3-乙醛肟后合成的(Glawischnig等2004)。完全缺失吲哚芥子油苷的 $sur1$ 突变体能够诱导合成亚麻芥素,表明亚麻芥素不是由芥子油苷合成的(Glawischnig等2004; Mikkelsen等2004)。虽然吲哚-3-乙醛肟是由CYP79B2和CYP79B3两种酶催化形成的,但用硝酸银处理(Glawischnig等2004)以及用芸薹链格孢菌(*Alternaria brassicicola*) (Narusaka等2003; van Wees等2003)和丁香假单胞菌(Glazebrook等2003)侵染拟南芥后,CYP79B2基因的表达量显著提高,而CYP79B3基因的表达量

仅有微小变化。同时,在 $cyp79B2$ 单缺失突变体中,亚麻芥素含量比野生型减少近50%,而在 $cyp79B3$ 单缺失突变体中亚麻芥素含量则接近野生型(Glawischnig等2004)。以上结果表明,不同代谢途径中CYP79B2和CYP79B3基因的调控和表达是有差异的,在亚麻芥素诱导合成过程中发挥主要作用的是CYP79B2基因。CYP79B2基因过表达植株中的亚麻芥素含量并未上升,说明亚麻芥素合成的限速步骤在吲哚-3-乙醛肟的下游(Glawischnig等2004)。

虽然已经证明亚麻芥素合成过程中的吲哚-3-乙醛肟是来源于色氨酸,但色氨酸则以很低的效率掺入到亚麻芥素的合成过程,并且 $trp2-1$ 和 $trp3-1$ 突变体中亚麻芥素含量下降并不明显,所以这些问题仍然困扰着研究者。CYP79B2和CYP79B3酶是在亚麻芥素合成过程中第一个得到鉴定的细胞色素P450酶,据此研究者猜测可能还有其它细胞色素P450酶参与后续代谢反应,如下文所述的吲哚-3-乙醛肟向吲哚-3-乙腈的转化和二氢亚麻芥酸向亚麻芥素的转化。

3 吲哚-3-乙醛肟转化为吲哚-3-乙腈

随着CYP79B2和CYP79B3酶功能的鉴定,近年来吲哚-3-乙醛肟在亚麻芥素合成过程中的转化过程又得到确认,其可为细胞色素P450酶CYP71A13催化为吲哚-3-乙腈。

吲哚-3-乙醛肟转化过程的研究同样是以筛选突变体进行的。拟南芥中CYP71A13基因突变后,植株对芸薹链格孢菌即明显表现出易感性,并且被芸薹链格孢菌和丁香假单胞菌侵染后,亚麻芥素含量显著低于野生型(Nafisi等2007)。将该基因转入大肠杆菌(*Escherichia coli*)后,其编码的细胞色素P450单加氧酶CYP71A13即能催化吲哚-3-乙醛肟脱水形成吲哚-3-乙腈,将CYP79B2和CYP71A13基因同时转入烟草(*Nicotiana benthamiana*)后,它们的瞬时表达能将色氨酸转化为吲哚-3-乙腈,此外,向 $cyp71A13$ 突变体施加外源吲哚-3-乙腈也能恢复亚麻芥素的合成(Nafisi等2007)。野生型拟南芥基因表达模式的研究表明,CYP71A13基因的表达与亚麻芥素合成的另一种基因CYP71B15的表达有显著的相关性(Nafisi等2007)。以上研究表明,在亚麻芥素合成过程中,CYP71A13酶催化吲哚-3-乙醛肟向吲哚-3-乙腈转化。采用硝酸银处理拟南芥

dgd1 突变体(其吲哚-3-乙腈含量是野生型拟南芥的45倍)(Dormann等1995; Fiehn等2000)后, 诱导产生的亚麻荠素含量并不比野生型的高, 说明CYP71A13酶催化吲哚-3-乙醛肟产生吲哚-3-乙腈并不是亚麻荠素合成的限速步骤(Nafisi等2007)。

正常拟南芥植株中有一定含量的吲哚-3-乙腈(Ilic等1996), 它参与许多代谢反应, 不但是亚麻荠素合成的中间体, 还在许多十字花科植物中被腈水解酶(nitrilase)转化为生长素(Pollmann等2006)。拟南芥在正常状态下含有一定水平的生长素, 而亚麻荠素是在拟南芥受诱导后合成的, 因此, 吲哚-3-乙腈向亚麻荠素与生长素的转化过程可能会受到环境因子与植物自身的严格调控, 但其中的调控机制还不清楚。

4 亚麻荠素噻唑环的引入

吲哚-3-乙腈经过几步转化后形成的未知中间体与半胱氨酸缩合后, 亚麻荠素的中间体即转入噻唑环。

Browne等(1991)曾提出亚麻荠素是由半胱氨酸和吲哚-3-甲醛(indole-3-carboxaldehyde)缩合后经环化和脱羧形成的。用³⁵S-半胱氨酸和³⁵S-甲硫氨酸分别饲喂受玉米圆斑病菌(*Cochliobolus carbonum*)感染的拟南芥后, 掺入到亚麻荠素合成过程的半胱氨酸量比甲硫氨酸高10倍, ³⁵S-半胱氨酸和¹⁴C-半胱氨酸也可以同等的效率掺入到亚麻荠素的合成过程, 从而证实亚麻荠素的噻唑环前体是半胱氨酸(Zook和Hammerschmidt1997)。参与这一缩合过程的另一种物质是吲哚-3-甲醛的推测迄今尚未得到证实, 因为施加外源吲哚-3-甲醛并不能恢复*cyp79B2/cyp79B3*双缺失突变体的亚麻荠素合成能力(Schuhegger等2006), 并且催化这一缩合反应的相关酶也未得到鉴定。

5 二氢亚麻荠酸转化为亚麻荠素

具有噻唑环的未知中间体经过数步转化后形成二氢亚麻荠酸, 二氢亚麻荠酸在细胞色素P450酶CYP71B15的催化下形成终产物亚麻荠素。

二氢亚麻荠酸转化是亚麻荠素合成的最后一步反应, 其研究是以亚麻荠素代谢突变体*pad3*进行的。*pad3*是研究亚麻荠素功能中筛选得到的低含量亚麻荠素突变体(Glazebrook和Ausubel1994; Glazebrook等1997), 正因为这一突变体的组成型亚麻荠素含量低, 所以它对病原体和诱导剂是不依赖

的, 因此在拟南芥和病原体相互作用的研究中得到广泛的应用(Glazebrook和Ausubel1994; Thomma等1999; Roetschi等2001; Ferrari等2003; Mert-Turk等2003; Bohman等2004)。Zhou等(1999)采用图位克隆(positional clone)技术鉴定*PAD3*基因(*CYP71B15*基因)发现它编码细胞色素P450酶CYP71B15。

近期的研究表明, 将*CYP71B15*基因转入酵母后, CYP71B15酶能催化二氢亚麻荠酸转化为亚麻荠素; 此外, 用硝酸银处理*pad3*突变体和野生型拟南芥后, *pad3*突变体中的二氢亚麻荠酸含量约是野生型的5倍; 同时, 向*cyp79B2/cyp79B3*双缺失突变体施加外源二氢亚麻荠酸后, 此种突变体的亚麻荠素诱导合成能力即恢复(Schuhegger等2006)。这些研究表明, CYP71B15酶能催化亚麻荠素合成中的最后一步反应, 即二氢亚麻荠酸转化为亚麻荠素(Schuhegger等2006)。从*CYP71B15*基因过表达型拟南芥和用硝酸银处理后的野生型拟南芥中分离的微粒体(microsome)也能催化上述反应, 而从*pad3*突变体中分离的微粒体则不能, 从而证实CYP71B15酶在亚麻荠素合成中是有作用的(Schuhegger等2006)。CYP71B15酶可以催化二氢亚麻荠酸的氧化脱羧反应, 这一反应在促使底物脱羧的同时引入了C-C键, 这是在植物中最早发现细胞色素P450酶可以催化这类反应的工作(Schuhegger等2006)。*CYP71B15*基因过表达型拟南芥受硝酸银处理后, 其亚麻荠素含量并不比野生型高出许多, 说明亚麻荠素合成的最后一步反应也不是整个反应的限速步骤(Schuhegger等2006)。

6 结语

随着合成中间体吲哚-3-乙醛肟的确认, 越来越多的中间体和催化酶得到鉴定, 由此亚麻荠素合成的研究日渐深入清晰, 可以预见未来还会发现更多的细胞色素P450酶参与亚麻荠素的合成。但亚麻荠素合成的限速步骤还未查明, 以致亚麻荠素代谢工程的研究受到了一定的限制。另一方面, 多数植物的防御物质都依赖于水杨酸、茉莉酸和乙烯等介导的信号转导途径, 而亚麻荠素则表现出不依赖于这些信号转导途径的特性(Glazebrook等1996; Nawrath和Metraux1999; van Wess等2003), 因而亚麻荠素合成的上游调控研究始终没有太多进展。如果能鉴定出专一调控亚麻荠素的调节因子, 则可能为这一领域的研究找出新的突破口。从亚麻荠

素的研究历程来看, 分离和鉴定各种突变体可能仍然是亚麻芥素研究的最有效手段。

参考文献

- Bak S, Tax FE, Feldmann KA, Galbraith DW, Feyereisen R (2001). CYP83B1, a cytochrome P450 at the metabolic branch point in auxin and indole glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 13: 101~111
- Bohman S, Staal J, Thomma BPHT, Wang M, Dixelius C (2004). Characterisation of an *Arabidopsis-Leptosphaeria maculans* pathosystem: resistance partially requires camalexin biosynthesis and is independent of salicylic acid, ethylene and jasmonic acid signalling. *Plant J*, 37: 9~20
- Bouizgarne B, El-Maarouf-Bouteau H, Frankart C, Rebutier D, Madiona K, Pennarun AM, Monestiez M, Trouverie J, Amiar Z, Brault M et al (2006). Early physiological responses of *Arabidopsis thaliana* cells to fusaric acid: toxin and signalling effects. *New Phytol*, 169: 209~218
- Browne LM, Conn KL, Ayer WA, Tewari JP (1991). The camalexins: new phytoalexins produced in leaves of *Camelina sativa* (Cruciferae). *Tetrahedron*, 47: 3909~3914
- Callaway A, Liu W, Andrianov V, Stenzler L, Zhao J, Wettlaufer S, Jayakumar P, Howell SH (1996). Characterization of cauliflower mosaic virus (CaMV) resistance in virus-resistant ecotypes of *Arabidopsis*. *Mol Plant Microbe Inter*, 9: 810~818
- Dempsey DA, Pathirana MS, Wobbe KK, Klessig DF (1997). Identification of an *Arabidopsis* locus required for resistance to turnip crinkle virus. *Plant J*, 11: 301~311
- Dormann P, Hoffmann-Benning S, Balbo I, Benning C (1995). Isolation and characterization of an *Arabidopsis* mutant deficient in the thylakoid lipid digalactosyl diacylglycerol. *Plant Cell*, 7: 1801~1810
- Ferrari S, Plotnikova JM, De Lorenzo G, Ausubel FM (2003). *Arabidopsis* local resistance to *Botrytis cinerea* involves salicylic acid and camalexin and requires EDS4 and PAD2, but not SID2, EDS5 or PAD4. *Plant J*, 35: 193~205
- Fiehn O, Kopka J, Dormann P, Altmann T, Trethewey RN, Willmitzer L (2000). Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nat Biotechnol*, 18: 1157~1161
- Glawischnig E, Hansen BG, Olsen CE, Halkier BA (2004). Camalexin is synthesized from indole-3-acetaldoxime, a key branching point between primary and secondary metabolism in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 8245~8250
- Glazebrook J, Ausubel FM (1994). Isolation of phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana* and characterization of their interactions with bacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91: 8955~8959
- Glazebrook J, Chen W, Estes B, Chang HS, Nawrath C, Metraux JP, Zhu T, Katagiri F (2003). Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. *Plant J*, 34: 217~228
- Glazebrook J, Rogers EE, Ausubel FM (1996). Isolation of *Arabidopsis* mutants with enhanced disease susceptibility by direct screening. *Genetics*, 143: 973~982
- Glazebrook J, Zook M, Mert F, Kagan I, Rogers EE, Crute IR, Holub EB, Hammerschmidt R, Ausubel FM (1997). Phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis* reveal that *PAD4* encodes a regulatory factor and that four *PAD* genes contribute to downy mildew resistance. *Genetics*, 146: 381~392
- Hansen CH, Du L, Naur P, Olsen CE, Axelsen KB, Hick AJ, Pickett JA, Halkier BA (2001). CYP83B1 is the oxime-metabolizing enzyme in the glucosinolate pathway in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 276: 24790~24796
- Hull AK, Vij R, Celenza JL (2000). *Arabidopsis* cytochrome P450s that catalyze the first step of tryptophan-dependent indole-3-acetic acid biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 2379~2384
- Ilic N, Normanly J, Cohen JD (1996). Quantification of free plus conjugated indoleacetic acid in *Arabidopsis* requires correction for the nonenzymatic conversion of indolic nitriles. *Plant Physiol*, 111: 781~788
- Kishimoto K, Matsui K, Ozawa R, Takabayashi J (2006). Analysis of defensive responses activated by volatile *allo-ocimene* treatment in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 67: 1520~1529
- Mert-Turk F, Bennet MH, Mansfield JW, Holub EB (2003). Camalexin accumulation in *Arabidopsis thaliana* following abiotic elicitation or inoculation with virulent or avirulent *Hyaloperonospora parasitica*. *Physiol Mol Plant Pathol*, 62: 137~145
- Mezencev R, Mojzis J, Pilatova M, Kutschy P (2003). Antiproliferative and cancer chemopreventive activity of phytoalexin: focus on indole phytoalexins from crucifers. *Neoplasma*, 50: 239~245
- Mikkelsen MD, Hansen CH, Wittstock U, Halkier BA (2000). Cytochrome P450 CYP79B2 from *Arabidopsis* catalyzes the conversion of tryptophan to indole-3-acetaldoxime, a precursor of indole glucosinolates and indole-3-acetic acid. *J Biol Chem*, 275: 33712~33717
- Mikkelsen MD, Naur P, Halkier BA (2004). *Arabidopsis* mutants in the C-S lyase of glucosinolate biosynthesis establish a critical role for indole-3-acetaldoxime in auxin homeostasis. *Plant J*, 37: 770~777
- Nafisi M, Goregaoker S, Botanga CJ, Glawischnig E, Olsen CE, Halkier BA, Glazebrook J (2007). *Arabidopsis* cytochrome P450 monooxygenase 71A13 catalyzes the conversion of indole-3-acetaldoxime in camalexin synthesis. *Plant Cell*, 19: 2039~2052
- Narusaka Y, Narusaka M, Seki M, Ishida J, Nakashima M, Kamiya A, Enju A, Sakurai T, Satoh M, Kobayashi M et al (2003). The cDNA analysis using an *Arabidopsis pad3* mutant reveals the expression profiles and classification of genes induced by *Alternaria brassicicola* attack. *Plant Cell Physiol*, 44: 377~387
- Nawrath C, Metraux JP (1999). Salicylic acid induction-deficient mutants of *Arabidopsis* express *PR-2* and *PR-5* and accumulate high levels of camalexin after pathogen inoculation. *Plant Cell*, 11: 1393~1404
- Pedras MS, Montaut S, Xu Y, Khan AQ, Loukaci A (2001).

- Assembling the biosynthetic puzzle of crucifer metabolites: indole-3-acetaldoxime is incorporated efficiently into phytoalexins but glucobrassicin is not. *Chem Commun*, 7: 1572~1573
- Pollmann S, Muller A, Weiler EW (2006). Many roads lead to "auxin": of nitrilases, synthases, and amidases. *Plant Biol*, 8: 326~333
- Roetschi A, Si-Ammour A, Belbahri L, Mauch F, Mauch-Mani B (2001). Characterization of an *Arabidopsis-Phytophthora* pathosystem: resistance requires a functional PAD2 gene and is independent of salicylic acid, ethylene and jasmonic acid signalling. *Plant J*, 28: 293~305
- Schuhegger R, Nafisi M, Mansourova M, Petersen BL, Olsen CE, Svatos A, Halkier BA, Glawischnig E (2006). CYP71B15 (PAD3) catalyzes the final step in camalexin biosynthesis. *Plant Physiol*, 141: 1248~1254
- Smith CJ (1996). Accumulation of phytoalexins: defence mechanism and stimulus response system. *New Phytol*, 132: 1~45
- Thomma BP, Nelissen I, Eggermont K, Broekaert WF (1999). Deficiency in phytoalexin production causes enhanced susceptibility of *Arabidopsis thaliana* to the fungus *Alternaria brassicicola*. *Plant J*, 19: 163~171
- Tsuji J, Jackson EP, Gage DA, Hammerschmidt R, Somerville SC (1992). Phytoalexin accumulation in *Arabidopsis thaliana* during the hypersensitive reaction to *Pseudomonas syringae* pv *syringae*. *Plant Physiol*, 98: 1304~1309
- Tsuji J, Zook M, Somerville SC, Last RL, Hammerschmidt R (1993). Evidence that tryptophan is not a direct biosynthetic intermediate of camalexin in *Arabidopsis thaliana*. *Physiol Mol Plant Pathol*, 43: 221~229
- van Wees SCM, Chang HS, Zhu T, Glazebrook J (2003). Characterization of the early response of *Arabidopsis* to *Alternaria brassicicola* infection using expression profiling. *Plant Physiol*, 132: 606~617
- Zhao Y, Hull AK, Gupta NR, Goss KA, Alonso J, Ecker JR, Normanly J, Chory J, Celenza JL (2002). Trp-dependent auxin biosynthesis in *Arabidopsis*: involvement of cytochrome P450s CYP79B2 and CYP79B3. *Genes Dev*, 16: 3100~3112
- Zhou N, Tootle TL, Glazebrook J (1999). *Arabidopsis* PAD3, a gene required for camalexin biosynthesis, encodes a putative cytochrome P450 monooxygenase. *Plant Cell*, 11: 2419~2428
- Zook M, Hammerschmidt R (1997). Origin of the thiazole ring of camalexin, a phytoalexin from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 113: 463~468