

专论与综述 Reviews

植物的脂氢过氧化物裂解酶

赵凌 沈文彪 翟虎渠 万建民*

南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏省植物基因工程中心, 南京 210095

Hydroperoxide Lyase in Plants

ZHAO Ling, SHEN Wen-Biao, ZHAI Hu-Qu, WAN Jian-Min*

National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Plant Gene Engineering Center of Jiangsu Province, Nanjing 210095

提要 介绍植物脂氢过氧化物裂解酶(HPL)的生化性质以及相关的分子生物学特性和生理功能的研究进展, 并对其在植物遗传改良中的应用前景作了评述。

关键词 脂氢过氧化物裂解酶; 脂氢过氧化物; 脂肪酸氧化

脂氢过氧化物裂解酶(hydroperoxide lyase, HPL)是植物脂氧化途径中脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)下游的酶, 催化LOX的反应产物——脂氢过氧化物裂解生成短链醛和含氧酸^[1]。植物HPL的催化产物不仅与抗病、抗虫有关, 同时也是植物特异气味的主要成分之一。由于其催化产物具有芬芳气味, 可作为食品和香水制造的添加剂, 有较高的经济价值。自1996年第一个HPL基因克隆以来, 有关此酶的相关研究逐渐受到人们关注。现就植物HPL的基本特征和近年来的研究进展作些介绍。

1 植物HPL的生化性质

1.1 分类 植物HPL属于细胞色素P450(CytP450)类蛋白质家族。CytP450是一类以分子氧、CytP450还原酶作为辅助因子, 分子量为40~60 kD的血红素-铁硫蛋白。植物CytP450是一个超基因家族, 根据蛋白的氨基酸序列相似性, 分类命名为家族(CYP1、2、3等), 再分类为亚家族(A、B、C等)。植物CytP450一般以可溶性、膜结合两种形态存在于植物细胞内, 大多数分布于膜结构上。此外, 植物CytP450具有组织特异性和可诱导性: 在同一植物不同组织中、不同亚型细胞间或不同发育时期含量不同; 在光、昆虫等外界刺激下可诱导表达, 这是CytP450的重要特征之一^[2]。另外, 不同物种间CytP450具同源性, 有以下一些共同的保守区域: (1)氮端15~20个疏水氨基酸组成的跨膜信号序列; (2)血红素结

合区, 其中Phe、Cys残基高度保守; (3)螺旋K区, 可能与P450电子供体相作用; (4)螺旋I区, 可能和P450与底物分子的结合有关。

HPL作为CytP450家族的成员之一, 也是一类血红素-铁硫蛋白, 具有CytP450家族的普遍特征^[2]。但是, HPL和同属LOX下游的丙二烯氧化物合酶(allene oxide synthase, AOS), 还具有一些共同的特殊性。例如催化的反应时不需要氧和CytP450还原酶等辅助因子来维持活性, 都可以以13-HPOD(hydroperoxy-linoleic acid)作为催化底物等^[1,3]。因此将它们划分为CytP450家族的同一亚家族(CYP74亚家族)。

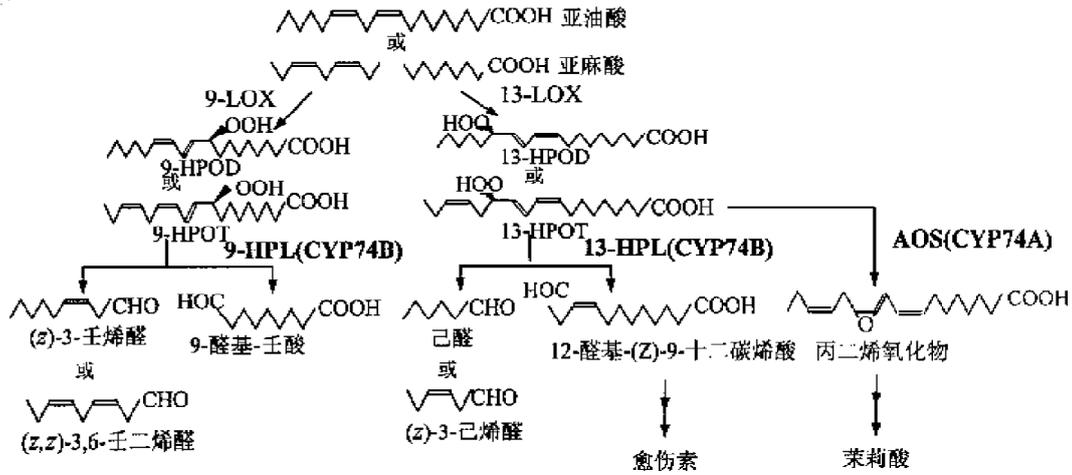
根据底物过氧基位置的差异, 植物HPL分为两类同工酶^[1,4]。其中特异催化13位过氧基断裂的属于第1类同工酶(也命名为13-HPL), 催化产生的醛类物质与植物抗病虫、伤害反应有关^[1,5], 同时也是植物芬芳气味的主要成分; 第2类HPL(也命名为9-HPL)主要裂解9位过氧基, 生成九碳化合物, 目前对其催化产物的功能还不十分清楚, 推测可能也是植物特异气味的组成成分(图1)。

1.2 酶学特征 目前已经从茶的叶片、辣椒果实、

收稿 2003-06-23 修定 2003-10-20

资助 国家“八六三”计划(2001AA241019)和国家自然科学基金(30270817)。

* 通讯作者(E-mail:wanjm@mail.njau.edu.cn, Tel:025-84396516)。

图1 植物LOX/HPL途径^[6,7]

拟南芥叶片、番茄果实和叶片以及黄瓜幼苗等植物器官中纯化了HPL酶。表1显示,植物HPL酶具有一些共同性质:大部分HPL酶最适pH在5.0~7.0;由2~3个分子量在50 kD左右的亚基组成;作为脂类代谢系统的一个重要环节,HPL活性可以被脂类物质的抗氧化剂所抑制;由于活性中心存在铁离子,其催化活性也可以为金属螯合剂抑制。此外,底物浓度对HPL的酶活性也有影响,某些HPL的酶促反应存在底物抑制现象。Suurmeijer等^[12]发现,当13-HPOT (hydroperoxy-linolenic acid)浓度超过300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,HPL的酶促反应速度下降;Matsui和Kajiwara^[11]进一步研究表明,HPL的产物之一2-E-己烯醛通过与HPL活性中心的巯基反应来抑制其活性。

不同植物中含有的HPL同工酶之间有差异。西瓜幼苗、番茄果实和叶片以及茶叶叶片等植物

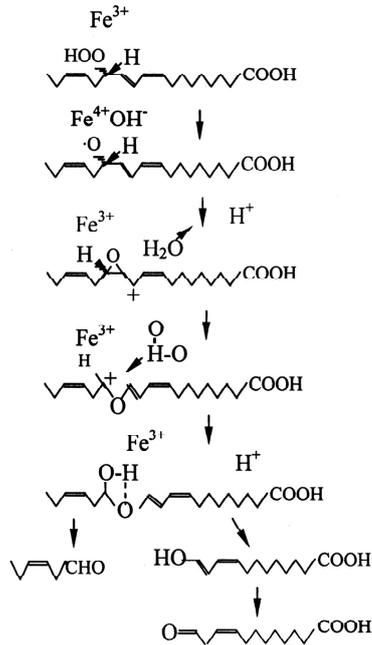
组织中只存在13-HPL^[1],梨中只有9-HPL^[13];而大豆种子和幼苗以及黄瓜幼苗和果实中则同时存在两种HPL活性^[1],紫花苜蓿幼苗中的HPL可以以9-HPOD和13-HPOD作为底物,且活性差别不大^[4]。

1.3 催化机制 与其它CytP450不同,HPL的催化反应是一个循环体系。Noordermeer等^[1]首先提出了HPL可能的催化机制(图2)。HPL活性基团的 Fe^{3+} 与脂氢过氧化物作用,均裂脂氢过氧化物过氧基中的氧-氧键后,形成烷氧基和铁羟络合物(也有人认为HPL中的铁卟啉与脂氢过氧化物相互作用生成铁羟络合物);接着该络合物提供给脂氢过氧化物1个质子,并吸收烷氧基的电子,从而形成带阳离子的烯丙基醚中间产物,最后加水重排并生成 C_6 醛和 C_{12} 烯醇,而 C_{12} 烯醇再经过酮-烯醇互变异构后产生 ω -含氧酸。

1.4 亚细胞定位 许多植物的HPL活性与叶绿体膜

表1 植物HPL的酶学特征

	最适pH	分子量/kD	亚基/kD	$K_m/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (13-HPOT)	抑制剂	文献
辣椒 (<i>Capsicum annuum</i>)	5.5	170	55		脂类物质的	8,9
番茄 (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	6.5	200	73	77 ± 6	抗氧化剂,如:	7
西瓜幼苗 (<i>Citrullus lanatus</i>)		200			杨维生素E、水	
紫花苜蓿 (<i>Medicago sativa</i>)	8.1~8.4		53	54 ± 9	基羟肟酸、异	1
茶叶 (<i>Camellia sinensis</i>)叶片	5.5		62		丁苯丙酸等 ^[1] ;	11
大豆 (<i>Glycine max</i>)幼苗	6~7	240~260			金属螯合剂,	
黄瓜 (<i>Cucumis sativus</i>)幼苗	5.5			12.6	如:单碘代醋酸、	10
甜瓜 (<i>Cucumis melo</i>)	7.5		53	2.6	水杨酸等 ^[10]	

图2 推测的HPL酶促反应机制^[1]

有关, 因此推测 HPL 可能定位在叶绿体膜上^[3]。Froehlich等^[14]发现番茄HPL活性存在于叶绿体囊膜上, Bate等^[3]根据拟南芥和辣椒HPL的同源性

推测拟南芥HPL N端具有一个叶绿体定位肽, 他们进一步在叶绿体膜上也检测到了HPL活性。

此外, HPL酶活性通常采用紫外分光光度法测定。先以大豆和马铃薯(*Solanum tuberosum*)的LOX与亚油酸或亚麻酸的酶促反应制备HPL的底物(HPOD或HPOT)。HPOD和HPOT在234 nm具有特异吸收峰, 可以通过测定单位时间内底物裂解引起的光吸收值的下降反映HPL酶的活性^[3, 15]。

2 植物HPL基因的分子生物学

2.1 已经克隆的植物HPL基因

自1996年Matsui等^[16]首先从辣椒中得到了HPL的cDNA全长序列以来, 人们相继从辣椒果实、拟南芥、黄瓜、甜瓜、紫花苜蓿和马铃薯等多种植物中得到了HPL的cDNA(表2)。除黄瓜Cs15和甜瓜HPL基因的编码产物同时具有9-HPL、13-HPL催化功能外, 其它已经克隆HPL基因的编码产物只具有13-HPL功能(13-HPL基因)。比较13-HPL基因的编码产物表明, 它们具有相似的结构(图3), 尤其在CytP450家族的特征区域具有很高的保守性: 结构域A(I-螺旋区)在酶与底物的相互作用中起重要作用, 其甘氨酸-甘氨酸和苏氨酸残基在不同植物HPL蛋白间非常保守; 结构域D(血红素结合区)

表2 植物HPL基因

植物名称	命名	GenBank登录号	特异性底物	来源部位	文献	
辣椒 (<i>Capsicum annuum</i>)		U51674	13-HPOD (T)	果实	6	
	<i>CaHPL1</i>	AY028374		叶片		
拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtHPL</i>	AF087932	13-HPOD (T)	幼苗、花		
		Z97339	13-HPOD (T)			
黄瓜 (<i>Cucumis sativus</i>)	<i>Cs15</i>	AF229811	9-HPOD (T)	下胚轴	10	
			13-HPOD (T)			
		AF229812	13-HPOD (T)			
紫花苜蓿 (<i>Medicago sativa</i>)	<i>MsHPL</i>	AJ249245	13-HPOD (T)	幼苗	1	
		AJ249246	13-HPOD (T)			
		AJ249247	13-HPOD (T)			
番茄 (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	<i>LeHPL1</i>	AF230372	13-HPOD (T)	果实	6	
		AJ239065				叶片
		AY028373				叶片
番石榴 (<i>Psidium guajava</i>)		AF239670	13-HPOD (T)	未成熟果实	17	
甜瓜 (<i>Cucumis melo</i>)		AF081955	9-HPOD (T)	未成熟果实		
			13-HPOD (T)			
桔子 (<i>Citrus sinensis</i>)	<i>CsHPL</i>	AY242385		叶片	18	
马铃薯 (<i>Solanum tuberosum</i>)		AJ310520		叶片		
大麦 (<i>Hordeum vulgare</i>)		AJ318870				
烟草 (<i>Nicotiana glauca</i>)		AJ414400				

	结构域 A	结构域 B	结构域 C	结构域 D
烟草 HPL	LLILGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW
茴香 HPL	LLILGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW
拟南芥 HPL	LLILGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW
大麦 HPL	LLILGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW
辣椒 HPL	LLILGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW
番石榴 HPL	LLILGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW
马铃薯 HPL	LLILGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW
番茄 HPL	LLILGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW
黄瓜 HPL	LWLAGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW
甜瓜 HPL	LWLAGFMALGGPTEFL	SEKELWQSFVTEILRLSPFY	SDPQVTFQSPKDFVLEKFTKEDGK	PTESNKKDGLAKDQVTLTASLW

图3 不同植物HPL基因编码蛋白的A、B、C、D保守域比较(登录号见表2)

的苯丙氨酸和半胱氨酸残基在不同植物HPL蛋白间也高度保守^[1, 10]。

大多数植物HPL的N端都具有由15~20个疏水氨基酸组成的跨膜信号序列, 但不同植物的HPL蛋白间N端序列有较大差异。如拟南芥和辣椒HPL基因的编码产物N端都具有叶绿体转运肽, 而番茄13-HPL的N端却没有典型的叶绿体转运肽序列^[6, 14]。Noordermeer等^[1]发现紫花苜蓿HPL的N端序没有转运肽富含的丝氨酸和苏氨酸, 而是含有大量转运肽中很少存在的脯氨酸; 如果将N端22个氨基酸缺失后, HPL活性急剧增加, 由此推测HPL是以前体形式存在, 切去N端序列后酶被激活。

最近Mastui等^[10]从黄瓜中克隆到了黄瓜9-HPL, 发现其与同一亚家族的AOS的核苷酸序列的同源性高于同13-HPL的同源性, 但其编码产物并没有AOS活性。用13-HPL片段为探针筛选cDNA文库时, 也未发现9-HPL的阳性克隆, 这暗示9-HPL基因与13-HPL基因的同源性较低^[1]。

2.2 HPL基因的表达特异性和可诱导性 与其它CytP450家族成员类似, 植物HPL也具有发育特异性。植物幼苗期的HPL表达量高于其它生育时期, 花器官中表达量高于其它器官。例如, 马铃薯13-HPL在幼叶中表达水平最高, 老叶中几乎不表达^[18]; 拟南芥13-HPL在开花期中高表达, 而在角果、根、绿色叶片中表达量较低^[3]; 番茄13-HPL在花发育时期高水平表达, 花成熟后表达水平则降低, 老叶片中的表达低于较嫩叶片, 茎、未成熟果实中则检测不到HPL的表达^[6]。Koshio等^[19]认为HPL的催化产物之一——2E-己烯醛在柳杉雄花褐变反应中有重要作用, 因此不排除HPL编码产物调节植物花器官发育的可能。此外, 13-

HPL的表达还具有可诱导性。例如拟南芥13-HPL在伤口周围组织诱导表达, 伤害30 min后其mRNA显著增加^[3]。

植物体内9-HPL与13-HPL活性有不同的变化趋势。Mastui等^[10]检测到黄瓜子叶下胚轴9-HPL和13-HPL活性在秧苗生长期间持续增加, 其中9-HPL活性增加较快; 而紫花苜蓿幼苗中13-HPL活性最大, 其9-HPL活性在萌芽后逐渐减少^[4]。此外, 马铃薯幼叶和老叶中HPL mRNA水平差异很大, 但酶活性差别不大^[18]。表明植物HPL的基因表达除受转录水平调节外, 还可能存在转录后翻译等水平的调控。

3 植物HPL产物的生理功能

植物HPL裂解LOX产物脂氢过氧化物生成六碳醛和十二碳含氧酸(图1), 这些物质在植物生长发育中有重要的生理功能。

3.1 参与抗病虫反应 自然条件下病原菌侵染植物时, 13-HPL的催化产物是植物产生的最主要病原菌抑制剂, 主要分布在细胞间隙和叶表面。Croft等^[5]测定菌丝生长、干物质积累和孢子萌发率等指标时发现13-HPL的催化产物可以抑制真菌的生长; 液体培养基中加入6 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的HPL催化产物E-2-己烯醛, 即明显抑制细菌生长; 当其浓度提高到2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 细菌停止生长, 甚至发生裂解。此外, 己烯醛也是植物对吸食性昆虫、病原菌产生诱导抗性过程的关键因子^[5, 18]。因此13-HPL的催化产物可以作为抗微生物的薰蒸剂运用在种子储存中^[3, 4]。

3.2 作为信号分子 植物被吸食性昆虫损伤后, HPL裂解产生的芳香性成分释放量增加, 其中的六碳物质是拟南芥一系列防御基因的信号分子^[4]; 此外, 这些物质还能够诱导棉花产生抗细菌、真菌、原

生动物等物质^[20, 21]。研究已经证实, 13-HPL 催化 13-HPD 形成的 C₁₂ 产物——愈伤素能够作为伤口愈合反应的信号分子, 诱导伤口细胞的快速生长, 并与植物的伤口应激反应有关^[1, 6]。

3.3 植物特异气味的主要成分或前体 植物果实和叶片中 13-HPL 催化产生的芳香类化合物所散发出特异性的气味是果实和叶片散发特异气味的直接来源^[3, 5]。13-HPL 催化产物之一的己烯醛, 由于其散发出植物特有的清香气味, 已经在食品和香水制造业中被广泛作为添加剂。

3.4 其它 French和Leather^[22]和Gardner等^[23]发现, 13-HPL 催化产生的六碳物质对一些作物和杂草种子的萌发有抑制作用。当空气中己醛超过 0.9 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 大豆种子萌发受抑 50%; 而当浓度达到 1.8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 大豆种子几乎完全不能萌发^[23]。因此推测这些六碳化合物可能是植物化感作用的成分之一, 并与种子休眠有关。

4 LOX/HPL 系统的应用前景展望

LOX 和 HPL 作为植物不饱和脂肪酸氧化途径中的关键酶系统(图 1), 与植物的抗病虫、抗伤害、抗逆反应和贮藏、老化等生理进程有关^[24]。目前 LOX/HPL 的研究主要集中在果蔬类植物, 在禾本科植物中主要对 LOX 进行过大量研究, 但对 HPL 还未见有报道。

4.1 提高植物抗病虫能力 研究表明, 脂氧化途径与植物抗病虫和抗逆反应有关。与 HPL 同一亚家族的 AOS 和 HPL 同是 LOX 下游的酶, 催化与 13-HPL 相同的底物 13-HPD 裂解, 生成在植物体内具有广泛调控作用的植物重要信号分子——茉莉酸。植物在受到病原菌侵染、机械损伤等时, 通过 LOX/AOS 支路, 生成茉莉酸, 激活植物防御系统中相关基因的转录^[24]。目前对植物防御反应中 LOX/AOS 支路的机制研究比较透彻, 但对同属于 LOX 系统的 LOX/HPL 与植物防御反应的研究还很少。

已经证实植物 13-HPL 的催化产物与抗病虫反应有关, 并作为信号分子调控应激反应。病原菌侵染植物后, 破坏寄主植物体内活性氧产生与清除的平衡, 引起活性氧积累, 同时激活 LOX 的表达, 通过 HPL 途径诱导植保素合成来激活植物防卫相关基因的表达^[25]。由此可见, LOX/HPL (AOS) 和植物的抗病虫和抗逆反应有重要关系。

Vancanneyt 等^[18]采用反义 RNA 技术使转基因马铃薯中 13-HPL 的表达水平降低后, HPD 的含量显著提高, 而 HPL 的催化产物——己烯醛含量下降。他们进一步采用 13-HPL 表达下调的转基因马铃薯系饲喂蚜虫, 发现其产卵力提高 15%~31%, 同时形态发育所需时间也显著减少。他们推测是由于转基因马铃薯系中醛类物质含量的降低而使其抗性下降。因此, 进行 HPL 的生化与分子生物学研究, 完善对植物抗病虫性分子机理的了解, 可能会为植物遗传改良, 尤其是农作物的抗病虫遗传改良提供参考。

4.2 改善植物风味物质 由于 HPL 在植物体的催化产物具有芬芳气味, 在食品及农业生产中具有较高的经济价值, 可以作为添加剂用于食品工业和香水制造业。由于这些芳香物质的工业生产困难, 成本昂贵, 现在已有部分纯化的 13-HPL 酶作为生物反应器催化生产工业用途的芳香物质的报道^[26, 27]。此外, 番茄果实中没有 9-HPL 基因, Matsui 等^[7]为了调整番茄果实的香味, 将黄瓜子叶下胚轴中 9-HPL 导入番茄果实并得到了高表达, 但获得的转基因番茄果实中芳香性醛和醇含量却没有显著改变。他们推测是由于番茄果实中亚油酸和亚麻酸的氧化主要由 13-LOX/HPL 途径进行, 9-LOX/HPL 作为副反应途径, 即使具有较高的酶活性, 也不能催化生成大量产物。因此对番茄 13-LOX/HPL 途径进行遗传改良可能会有效改善其果实的香味。由于水稻谷粒中活性最高且与耐贮性密切相关的 LOX-3 是属于 9-LOX^[28, 29], 因此这可能是 9-HPL 在稻米储藏过程中催化产生陈化气味的原因。可以想见, 对水稻抗病虫和贮藏特性的遗传改良来说, 水稻 HPL 的基因克隆和相关分子生物学研究是一个值得考虑的新思路。

参考文献

- 1 Noordermeer MA, Dijken A JHV, Smeekens SCM et al. Characterization of three cloned and expressed 13-hydroperoxide lyase isoenzymes from alfalfa with unusual N-terminal sequences and different enzyme kinetics. FEBS Lett, 2000, 267:2473~2482
- 2 刘宛, 李培军, 周启星等. 植物细胞色素P450酶系的研究进展及其与外来物质的关系. 环境污染治理技术与设备, 2001, 2(5):1~9
- 3 Bate NJ, Sivasankar S, Moxon C et al. Molecular characterization of an *Arabidopsis* gene encoding hydroperoxide lyase, a cytochrome P450 that is wound inducible. Plant Physiol, 1998, 117:1393~1400

- 4 Noordermeer MA, Veldink GA, Vliegthart JFG. Alfalfa contains substantial 9-hydroperoxide lyase activity and a 3Z:2E-enal isomerase. *FEBS Lett*, 1999, 443:201~204
- 5 Croft KPC, Juttner F, Slusarenko AJ. Volatile product of the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris*(L.) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicol*. *Plant Physiol*, 1993, 101:13~24
- 6 Howe GA, Lee GI, Itoh A et al. Cytochrome P450-dependent metabolism of oxylipins in tomato. Cloning and expression of allene oxide synthase and fatty acid hydroperoxide lyase. *Plant Physiol*, 2000, 123:711~724
- 7 Matsui K, Fukutomi S, Wilkinson J et al. Effect of overexpression of fatty acid 9-hydroperoxide lyase in tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *J Agr Food Chem*, 2001, 49:5418~5424
- 8 Shibata Y, Matsui K, Kajiwarra T et al. Purification and properties of fatty acid hydroperoxide lyase from green bell pepper fruits. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36(1):147~156
- 9 Husson F, Belin JM. Purification of hydroperoxide lyase from green bell pepper (*Capsicum annum* L.) fruits for the generation of C6-aldehydes *in vitro*. *J Agr Food Chem*, 2002, 50:1991~1995
- 10 Matsui K, Ujita C, Fujimoto S-H et al. Fatty acid 9- and 13-hydroperoxide lyases from cucumber. *FEBS Lett*, 2000, 481:183~188
- 11 Matsui K, Kajiwarra T. Inactivation of tea leaf hydroperoxide lyase by fatty hydroperoxide. *J Agr Food Chem*, 1992, 40:175~178
- 12 Suurmeijer CNSP, Perez-Gilabert M, Unen DJV et al. Purification, stabilization and characterization of tomato fatty acid hydroperoxide lyase. *Phytochem*, 2000, 53:177~185
- 13 Kim IS, Grosch W. Partial purification and properties of a hydroperoxide lyase from fruits of pear. *J Agr Food Chem*, 1981, 29:1220~1225
- 14 Froehlich JE, Itoh A, Howe GA. Tomato allene oxide synthase and fatty acid hydroperoxide lyase, two cytochrome P450s involved in oxylipin metabolism, are targeted to different membranes of chloroplast envelope. *Plant Physiol*, 2001, 125(7):306~317
- 15 Blee E, Joyard J. Envelope membranes from spinach chloroplast are a site of metabolism of fatty acid hydroperoxides. *Plant Physiol*, 1996, 110:445~454
- 16 Matsui K, Shibutani M, Hase T et al. Bell pepper fruit fatty acid hydroperoxide lyase is a cytochrome P450(CYP74B). *FEBS Lett*, 1996, 394:21~24
- 17 Tijet N, Schneider C, Muller BL et al. Biogenesis of volatile aldehydes from fatty acid hydroperoxides: molecular cloning of a hydroperoxide lyase(CYP74C) with specificity for both the 9- and 13-hydroperoxides of linoleic and linolenic acids. *Arch Biochem Biophys*, 2001, 386(2):281~289
- 18 Vancanneyt G, Sanz C, Farmaki T et al. Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(14):8139~8144
- 19 Koshio K, Takahashi H, Ota Y. Induction of browning of male flowers of *Cryptomeria japonica* by treatment with fatty acids: mechanism and the role of *trans*-2-hexenal. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36:1511~1517
- 20 Zeringue H J. Effect of C6-C10 alkenals and alkanals on eliciting a defence response in the developing cotton boll. *Phytochem*, 1992, 31:2305~2308
- 21 Deng WL, Hamilton-Kemp TR, Nielsen MT et al. Effects of six-carbon aldehydes and alcohols on bacterial proliferation. *J Agr Food Chem*, 1993, 41:506~510
- 22 French RC, Leather GR. Screening of nonanal and related volatile flavor compounds on the germination of 18 species of weed seed. *J Agr Food Chem*, 1979, 27:828~832
- 23 Gardner HW, Dornbos DL, Desjardins AE. Hexanal, *trans*-2-hexenal, and *trans*-2-nonenal inhibit soybean, *Glycine max*, seed germination. *J Agr Food Chem*, 1990, 38:1316~1320
- 24 Porta H, Rocha-Sosa M. Plant lipoxygenase. Physiological and molecular features. *Plant Physiol*, 2002, 130:15~21
- 25 宋凤鸣, 葛秀春, 郑重. 活性氧及膜脂过氧化与棉花对枯萎病抗性的关系. *植物生理学通讯*, 1996, 32(5):377~385
- 26 Cass BJ, Schade F, Robinson CW et al. Production of tomato flavor volatiles from a crude enzyme preparation using a hollow-fiber reactor. *Biotechnol Bioengineer*, 2000, 67(3):372~377
- 27 Noordermeer MA, Goot WVD, Kooij AJV et al. Development of a biocatalytic process for the production of C6-aldehydes from vegetable oils by soybean lipoxygenase and recombinant hydroperoxide lyase. *J Agr Food Chem*, 2002, 50:4270~4274
- 28 Yasumatsu K, Moritaka S. Fatty acid compositions of rice lipid and their changes during storage. *J Agr Biol Chem*, 1964, 28:257~264
- 29 Suzuki Y, Ise K, Li C et al. Volatile components in stored rice [*Oryza sativa*(L.)] of varieties with and without lipoxygenase-3 in seeds. *J Agr Food Chem*, 1999, 47:1119~1124