

转哺乳动物 *cyp2e1* 基因矮牵牛耐甲醛胁迫的生理机制

王 嫚, 向太和*, 宋亚玲, 黄盈盈, 韩依萱, 孙 扬

(杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310036)

摘 要: 细胞色素 P450 CYP2E1 酶主要存在于哺乳动物肝细胞中, 在代谢异源有机物方面起着重要作用。前期研究发现, 转 *cyp2e1* 矮牵牛显著提高了对甲醛的抗性。以转 *cyp2e1* 矮牵牛为试验材料, 分析其对甲醛胁迫响应的相关生理指标。结果显示, 在甲醛胁迫下, 转 *cyp2e1* 矮牵牛细胞中的 MDA 含量低于转 *gus* 和野生型矮牵牛, SOD 和 POD 活性均高于转 *gus* 和野生型, 乙醇脱氢酶 (ADH) 活性稍有增强, 且消耗更多的谷胱甘肽。此外, 在甲醛胁迫下, 转 *cyp2e1* 矮牵牛的 IAA、ZRs 和 ABA 含量呈现下降而 GA 含量呈现上升趋势; 但转 *gus* 和野生型矮牵牛 IAA、ZRs 和 ABA 含量呈现上升而 GA 含量呈现下降趋势。转 *cyp2e1* 矮牵牛在含有 50 mg · L⁻¹ 甲醛的处理液中孵育 72 h 后, 处理液中甲醛含量接近为 0; 而转 *gus* 和野生型处理液中仍有近 50% 的甲醛。

关键词: 矮牵牛; *cyp2e1* 基因; 甲醛; 胁迫; 生理效应

中图分类号: S 681.9

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2015) 04-0713-08

The Physiological Mechanism of *Petunia hybrida* Harboring Mammalian *cyp2e1* Gene Improving Resistance to Formaldehyde

WANG Man, XIANG Tai-he*, SONG Ya-ling, HUANG Ying-ying, HAN Yi-xuan, and SUN Yang

(College of Life and Environment Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China)

Abstract: The cytochrome P450 CYP2E1 enzyme mainly exists in mammalian liver cells. It plays an important role in metabolism of heterologous organics. Precious research has shown that *cyp2e1* transgenic *Petunia hybrida* significantly improved the resistance to formaldehyde. In the paper, the various physiological characteristics of *cyp2e1* transgene, *gus* transgene and wild-type (non-transgenic) *P. hybrida* were analyzed under formaldehyde stress. The results show that malondialdehyde (MDA) content of *cyp2e1* transgenic *P. hybrida* was lower than those of *gus* transgene and wild-type *P. hybrida* under formaldehyde stress, while both of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) enzyme activity were higher, alcohol dehydrogenase (ADH) activity slightly enhanced and more glutathione was metabolized. In addition, levels of IAA, ZRs and ABA in *cyp2e1* transgenic *P. hybrida* decreased under formaldehyde stress, but level of GA increased. However, levels of IAA, ZRs and ABA in *gus* transgene and wild type *P. hybrida* were increased but level of GA was declined. When the *cyp2e1* transgenic

收稿日期: 2015-01-27; 修回日期: 2015-03-19

基金项目: 杭州市科技发展计划项目 (20140432B05); 浙江省新苗人才计划项目 (2013R421008)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: xthcn@163.com)

P. hybrida was incubated in liquid medium plus $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ formaldehyde for 72 h, the formaldehyde content in medium was decrease to zero, while those with *gus* transgene and wild-type *P. hybrida* were still nearly half of formaldehyde content.

Key words: *Petunia hybrida*; *cyp2e1* gene; formaldehyde; stress; physiological effect

细胞色素 P450 酶是一类能与重金属结合的血红蛋白, 在代谢异源有机物方面起着重要作用。P450 酶家族成员之一 P450 2E1 (CYP2E1, 其编码基因为 *cyp2e1*) 主要分布在哺乳动物肝细胞中, 在动物体内催化乙醇氧化和苯胺对羟基化等, 具有非常重要的解毒功能 (Lieber, 1997; 冷欣夫和邱星辉, 2001; Gonzalez, 2007)。

虽然部分植物对甲醛有一定的清除能力, 但效率通常较低; 而利用转基因技术可以培育对环境有机污染物进行高效修复的植物 (Abhilash et al., 2009)。美国华盛顿大学 Doty 课题组最先开展 *cyp2e1* 基因转化植物的研究 (Doty et al., 2000)。前期 Zhang 等 (2011) 利用发根农杆菌 K599 介导的转基因方法, 将兔肝细胞 *cyp2e1* 基因转入矮牵牛 (*Petunia hybrida*) 中, 转基因矮牵牛对甲醛的抗性显著提高; 李佩菡等 (2012) 的研究表明, 转 *cyp2e1* 烟草内源型的 NADPH-P450 氧化还原酶和细胞色素 b5 酶起到哺乳动物体内的 NADPH-P450 氧化还原酶和细胞色素 b5 的功能, 参与 CYP2E1 酶催化过程的电子传递链, 与转入的 CYP2E1 酶在烟草体内发挥解毒功能有关。但目前有关 *cyp2e1* 基因提高矮牵牛对甲醛胁迫耐性的细胞生理机制尚不明确。本研究中对前期获得的转 *cyp2e1* 基因矮牵牛进行甲醛处理, 分别对转 *cyp2e1* 基因矮牵牛、转 *gus* 基因矮牵牛和野生型矮牵牛进行细胞生理分析, 探讨转 *cyp2e1* 基因矮牵牛对甲醛胁迫的生理响应。

1 材料与方法

1.1 试验材料及前处理

试验于 2013—2014 年间在杭州师范大学植物学重点实验室进行。转 *cyp2e1* 基因、转 *gus* 基因和野生型 (未转基因) 矮牵牛由前期研究所得 (Zhang et al., 2011), 以在 1/2MS 培养基上继代繁殖约 15 d 且生长健壮一致的组培苗为试验材料。

取 0.5 g 组培苗的上部枝条, 分别置于含有 40 mL 的甲醛处理液 (MS 培养基 + $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醛) 或 40 mL MS 液体培养基的安瓶中 (图 1), (20 ± 2) °C 连续光照, 光照强度 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡培养 24 h。

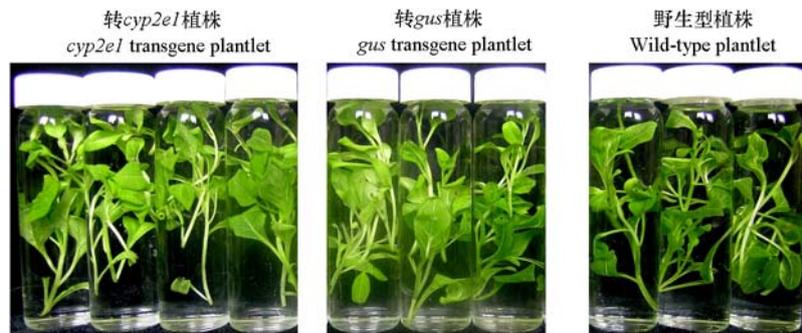


图 1 试验材料的前处理

Fig. 1 Pre-treatment of samples

取出样品洗净后吸干多余水分置于预冷的匀浆器中, 加入 2 mL $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 预冷的磷酸缓冲液 (pH 7.8) 冰浴匀浆, 制成 20% 的匀浆液, 在 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $4\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 20 min。取上清液 (粗酶液) 用于后续相关生理指标的检测。

1.2 丙二醛 (MDA) 含量的测定

利用植物丙二醛 (MDA) 酶联免疫分析试剂盒 (上海信然生物技术有限公司) 测定粗酶液中 MDA 的含量。用纯化的植物 MDA 抗体包被微孔板制成固相抗体, 往包被单抗的微孔中依次加入 MDA, 再与辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的 MDA 抗体结合, 形成抗体—抗原—酶标抗体复合物, 经过彻底洗涤后加底物四甲基联苯胺 (TMB) 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成黄色。颜色的深浅和样品中的 MDA 呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度 (OD 值), 绘制标准曲线, 通过标准曲线计算样品中植物 MDA 的浓度。

1.3 超歧氧化酶 (SOD) 活性的测定

利用总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 测试试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 测定粗酶液中 T-SOD 的含量。通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子自由基, 并氧化形成亚硝酸盐, 在显色剂的作用下呈现紫红色, 用可见光分光光度计测其吸光度。当被测样品中含 SOD 时, 则对超氧阴离子自由基有专一性的抑制作用, 使形成的亚硝酸盐减少, 比色时测定管的吸光度值低于对照, 通过计算求出被测样品中的 SOD 活力。以每克组织在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率大于 50% 时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位 (U)。

1.4 过氧化物酶 (POD) 活性的测定

利用植物过氧化物酶 (POD) 酶联免疫分析试剂盒 (上海信然生物技术有限公司) 测定粗酶液中 POD 的含量。用纯化的 POD 抗体包被微孔板, 制成固相抗体, 往包被单抗的微孔中依次加入 POD, 再与 HRP 标记的 POD 抗体结合, 形成抗体—抗原—酶标抗体复合物, 经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成黄色。颜色的深浅和样品中的植物 POD 呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定 OD 值, 通过标准曲线计算样品中植物 POD 含量。

1.5 乙醇脱氢酶 (ADH) 活性的测定

利用植物乙醇脱氢酶 (ADH) 酶联免疫分析试剂盒 (上海信然生物技术有限公司) 测定粗酶液中 ADH 的含量。其余操作同过氧化物酶 (POD) 活性的测定。

1.6 谷胱甘肽含量的测定

使用谷胱甘肽测试试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 测定粗酶液中谷胱甘肽的含量。DTNB [5,5' - 二巯基 - 双 (2 - 硝基苯甲酸)] 和谷胱甘肽 (GSH) 反应, 生成 2 - 硝基 - 5 - 硫代苯甲酸 (2-nitro-5-thiobenzoic acid) 以及氧化型谷胱甘肽 (GSSG)。2 - 硝基 - 5 - 硫代苯甲酸为黄色产物, 通过测量其在 405 nm 处的 OD 值就能确定样品中 GSH 的浓度。GSSG 在谷胱甘肽还原酶作用下生成 GSH, 然后再和 DTNB 反应再次生成 2 - 硝基 - 5 - 硫代苯甲酸, 循环反应, 测定样品中总谷胱甘肽的含量。

1.7 植物激素含量的测定

利用植物激素酶联免疫分析试剂盒（上海信然生物技术有限公司）分别测定粗酶液中 IAA、ZR_s、ABA 和 GA 等的含量。用纯化的植物相关激素抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入相关激素，再与 HRP 标记的相关激素抗体结合，形成抗体—抗原—酶标抗体复合物，经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成黄色。颜色的深浅和样品中的植物相关激素呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定 OD 值，通过标准曲线计算样品中植物相关激素浓度。

1.8 甲醛吸收含量的测定

参照国家环境保护标准（HJ601-2011，水质甲醛的测定乙酰丙酮分光光度法）（<http://www.zhb.gov.cn/gkml/hbb/bgg/201102/W020110216389531775025.pdf>）测定甲醛处理液中甲醛的剩余含量，每 8 h 测定 1 次，测定至 72 h。

2 结果与分析

2.1 转基因矮牵牛 MDA 含量的变化

转 *cyp2e1* 基因矮牵牛与对照野生型和转 *gus* 基因矮牵牛分别在 MS + 50 mg · L⁻¹ 甲醛处理液中处理 24 h 后，MDA 含量显著升高（表 1），但转 *cyp2e1* 基因矮牵牛升高幅度明显低于野生型和转 *gus* 基因植株（ $P < 0.05$ ）。

表 1 甲醛处理后矮牵牛 MDA 含量的变化
 Table 1 Changes of MDA content in *Petunia hybrida* on formaldehyde treated

甲醛处理/ (mg · L ⁻¹) Formaldehyde treatment	材料 Sample	株系 Line	MDA 含量/ (nmol · g ⁻¹ FW) MDA content
0	野生型 Wild type		0.199 ± 0.01 a
	转 <i>gus</i> 基因 <i>gus</i> transgene		0.198 ± 0.01 a
	转 <i>cyp2e1</i> 基因 <i>cyp2e1</i> transgene	Line 1	0.190 ± 0.01 b
		Line 2	0.189 ± 0.01 b
Line 3		0.184 ± 0.01 b	
50	野生型 Wild type		0.217 ± 0.01 b
	转 <i>gus</i> 基因 <i>gus</i> transgene		0.227 ± 0.01 a
	转 <i>cyp2e1</i> 基因 <i>cyp2e1</i> transgene	Line 1	0.197 ± 0.01 c
		Line 2	0.194 ± 0.01 c
Line 3		0.191 ± 0.01 c	

注：同列不同字母表示同一处理间差异显著（ $P < 0.05$ ）。

Note: Different letters in the same column of the same treatment meant significant different among treatment at 0.05 level.

2.2 转基因矮牵牛 SOD、POD 和 ADH 酶活性的变化

与野生型和转 *gus* 基因植株相比，转 *cyp2e1* 基因矮牵牛 SOD 活性提高（图 2）；在甲醛胁迫下转 *cyp2e1* 基因、转 *gus* 基因和野生型中 SOD 活性均呈现增强趋势（ $P < 0.01$ ）。

转 *cyp2e1* 基因矮牵牛 POD 酶活性（图 2）高于对照野生型和转 *gus* 基因，但在 50 mg · L⁻¹ 甲醛胁迫下 POD 酶活性均有所下降（ $P < 0.01$ ）。

与野生型和转 *gus* 基因相比，转 *cyp2e1* 基因型矮牵牛 ADH 酶的活性（图 2）稍有提高，而甲醛胁迫后对照和转 *cyp2e1* 基因的 ADH 酶的活性均稍有增强（ $P < 0.05$ ）。

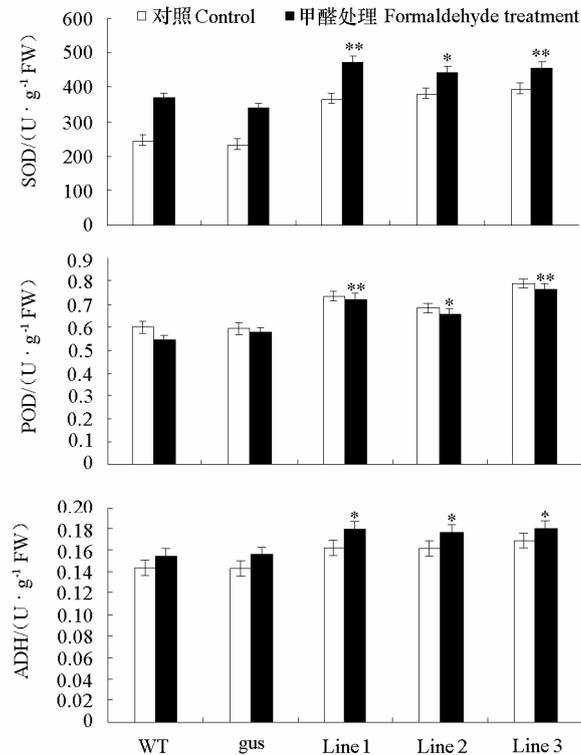


图 2 野生型、转 *gus* 和转 *cyp2e1* 矮牵牛甲醛处理后 SOD、POD 和 ADH 酶活性的变化

WT: 野生型; *gus*: 转 *gus* 植株; Line 1、Line 2 和 Line 3: 转 *cyp2e1* 不同株系。

*和**表示 *t* 检验转基因株系和 WT 差异显著性在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 。

Fig. 2 Changes of SOD, POD and ADH enzyme activity in wild-type, *gus* transgene and *cyp2e1* transgene *Petunia hybrida* under formaldehyde treated

WT: Wild-type plantlet; *gus*: *gus* transgene plantlet; Line 1, Line 2 and Line 3: Different *cyp2e1* transgene plantlets. * and ** designate a significant difference between transgenic lines and wild-type plants at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels respectively based on *t* test.

2.3 转基因矮牵牛中谷胱甘肽含量的变化

甲醛处理前, 转 *cyp2e1* 基因矮牵牛谷胱甘肽总含量 (表 2) 低于对照; 甲醛胁迫下矮牵牛中谷胱甘肽总含量均有所下降, 但这种下降趋势在转 *cyp2e1* 基因矮牵牛中更明显 ($P < 0.05$)。

表 2 甲醛处理后矮牵牛总谷胱甘肽含量的变化

Table 2 Changes of total GSH contents in *Petunia hybrida* on formaldehyde treated

甲醛处理/ (mg·L ⁻¹) Formaldehyde treatment	材料 Sample	株系 Line	GSH 总含量/ (μmol·g ⁻¹ FW) Total GSH content
0	野生型 Wild type		132.818 ± 6.64 a
	转 <i>gus</i> 基因 <i>gus</i> transgene		114.427 ± 5.72 b
	转 <i>cyp2e1</i> 基因 <i>cyp2e1</i> transgene	Line 1	76.983 ± 3.85 c
		Line 2	93.020 ± 4.65 c
		Line 3	85.002 ± 4.25 c
50	野生型 Wild type		112.588 ± 5.63 a
	转 <i>gus</i> 基因 <i>gus</i> transgene		93.737 ± 4.69 b
	转 <i>cyp2e1</i> 基因 <i>cyp2e1</i> transgene	Line 1	44.542 ± 2.23 c
		Line 2	40.864 ± 2.04 c
Line 3		50.519 ± 2.53 c	

注: 同列不同字母表示同一处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters in the same column of the same treatment meant significant different among treatment at 0.05 level.

2.4 转基因矮牵牛中植物激素含量的变化

甲醛胁迫导致植物内源激素的含量发生变化。与甲醛处理前相比，在 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醛胁迫下，转 *cyp2e1* 矮牵牛的 IAA、ZR_s 和 ABA 呈现下降而 GA 呈现上升趋势；野生型和转 *gus* 矮牵牛的 IAA、ZR_s 和 ABA 呈现上升而 GA 呈现下降趋势 ($P < 0.05$)。

表 3 植物内源激素 IAA、ZR_s、ABA 和 GA 的含量
 Table 3 Contents of IAA, ZR_s, ABA and GA plant hormone

甲醛处理/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Formaldehyde treatment	材料 Sample	株系 Line	IAA/ ($\text{pmol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)	ZR _s / ($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)	ABA/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)	GA/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)
0	野生型 Wild type		$0.194 \pm 0.01 \text{ c}$	$133.952 \pm 6.70 \text{ b}$	$1.667 \pm 0.08 \text{ b}$	$2\ 097.535 \pm 104.88 \text{ c}$
	转 <i>gus</i> 基因 <i>gus</i> transgene		$0.225 \pm 0.01 \text{ c}$	$122.208 \pm 6.11 \text{ b}$	$1.756 \pm 0.09 \text{ b}$	$1\ 999.706 \pm 99.99 \text{ c}$
	转 <i>cyp2e1</i> 基因 <i>cyp2e1</i> transgene	Line 1	$0.239 \pm 0.01 \text{ b}$	$188.701 \pm 9.44 \text{ a}$	$1.894 \pm 0.09 \text{ a}$	$2\ 093.912 \pm 104.69 \text{ b}$
		Line 2	$0.241 \pm 0.01 \text{ b}$	$179.547 \pm 8.97 \text{ a}$	$1.889 \pm 0.09 \text{ a}$	$2\ 086.665 \pm 104.33 \text{ b}$
		Line 3	$0.263 \pm 0.01 \text{ a}$	$198.200 \pm 9.91 \text{ a}$	$1.879 \pm 0.09 \text{ a}$	$2\ 307.687 \pm 115.38 \text{ a}$
	50	野生型 Wild type		$0.216 \pm 0.01 \text{ b}$	$142.933 \pm 7.15 \text{ b}$	$1.775 \pm 0.08 \text{ a}$
转 <i>gus</i> 基因 <i>gus</i> transgene			$0.242 \pm 0.01 \text{ a}$	$154.677 \pm 7.73 \text{ b}$	$1.827 \pm 0.09 \text{ a}$	$1\ 811.295 \pm 90.56 \text{ c}$
转 <i>cyp2e1</i> 基因 <i>cyp2e1</i> transgene		Line 1	$0.203 \pm 0.01 \text{ c}$	$177.648 \pm 8.88 \text{ a}$	$1.679 \pm 0.08 \text{ a}$	$2\ 209.858 \pm 110.49 \text{ b}$
		Line 2	$0.191 \pm 0.01 \text{ c}$	$172.984 \pm 8.64 \text{ a}$	$1.745 \pm 0.09 \text{ a}$	$2\ 195.364 \pm 109.77 \text{ b}$
		Line 3	$0.176 \pm 0.01 \text{ d}$	$164.694 \pm 8.23 \text{ a}$	$1.664 \pm 0.08 \text{ a}$	$2\ 517.838 \pm 125.89 \text{ a}$

注：同一处理同列不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters in the same column of the same treatment meant significant different among treatment at 0.05 level.

2.5 处理液中甲醛含量的变化

在含有甲醛的培养液中预处理矮牵牛，起始 8 h，转 *cyp2e1* 基因矮牵牛，处理液中的甲醛剩余含量与对照相比差异不明显，随着处理时间延长至 72 h，预处理转 *cyp2e1* 基因矮牵牛的处理液中甲醛含量接近为 0，而对照和转 *gus* 矮牵牛预处理液中仍含有近 50% 的甲醛 (图 3)。

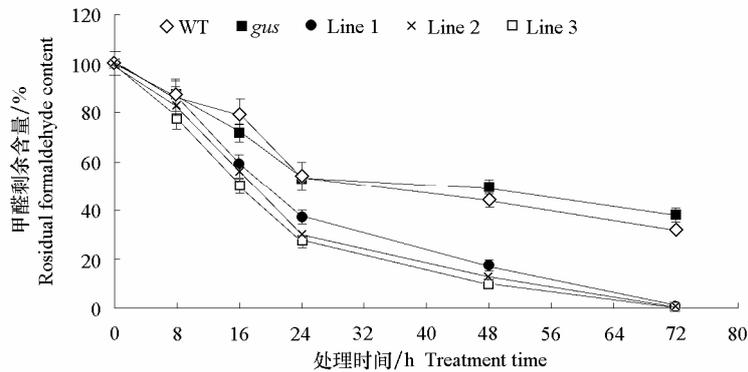


图 3 处理液中甲醛含量的变化

WT: 野生型植株; *gus*: 转 *gus* 植株; Line 1、Line 2 和 Line 3: 转 *cyp2e1* 不同株系。

Fig. 3 Changes of residual formaldehyde contents in treatment solution

WT: Wild type plantlet; *gus*: *gus* transgene plantlet;
 Line1, Line 2 and Line 3: Different *cyp2e1* transgene plantlets.

3 讨论

细胞色素 P450 CYP2E1 酶主要存在于哺乳动物肝脏细胞中, 在动物体内参与代谢多种活化及失活的前毒物、前致癌物和部分药物, 具有介导自由基生成引发氧化应激反应的特征 (刘晨晖和乐江, 2010)。研究表明, 转 *cyp2e1* 基因烟草显著提高了对三氯乙烯 (trichloroethylene) 和二溴化乙烯 (ethylene dibromide) 的代谢能力, 在植物体内 CYP2E1 酶能将三氯乙烯分解为三氯乙醛 (chloral) 和三氯乙醇 (trichloroethanol), 将二溴化乙烯分解为中间体溴化乙醛 (bromoacetaldehyde) 和溴离子 (Doty et al., 2000)。本研究的结果显示, 在甲醛胁迫下, 转 *cyp2e1* 基因矮牵牛细胞中 MDA 含量低于野生型和转 *gus* 基因, 减轻甲醛胁迫对细胞膜的伤害, 维持了细胞膜的完整性。

SOD 和 POD 酶是细胞清除过剩氧自由基的抗氧化酶类 (Barreto et al., 2014), 转 *cyp2e1* 基因矮牵牛 SOD 和 POD 酶活性均有所提高, 有利于保护细胞的完整结构。有研究指出, 在植物自身体内存在代谢内源性甲醛的脱氢酶 (Sakamoto et al., 2002), 该脱氢酶即为乙醇脱氢酶 (ADH), 且为谷胱甘肽依赖型, 催化 $\text{HCHO} + \text{GSH} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{S-甲酰谷胱甘肽} + \text{NADH} + \text{H}^+$ (Thompson et al., 2010)。与野生型和转 *gus* 基因矮牵牛相比, 转 *cyp2e1* 基因矮牵牛 ADH 酶活性稍有增强; 甲醛胁迫后, 转 *cyp2e1* 基因矮牵牛和对照的 ADH 酶活性均稍有增强, 提示细胞内源性的 ADH 酶参与了外源性的甲醛代谢过程。而且, 转 *cyp2e1* 基因矮牵牛在甲醛胁迫下有更多的谷胱甘肽被消耗, 可能是转 *cyp2e1* 基因矮牵牛有更多的 ADH 酶参与甲醛代谢, 因为在行使代谢甲醛功能时, ADH 酶需要谷胱甘肽的参与 (Thompson et al., 2010), 谷胱甘肽本身也具有抗氧化功能 (Choe et al., 2013)。

在含有甲醛的培养液中处理 72 h 后, 放置转 *cyp2e1* 基因矮牵牛的处理液中甲醛含量接近为 0, 表明 *cyp2e1* 基因可能主要是启动了细胞内代谢甲醛的酶系统并将进入细胞内的甲醛进行代谢, 而不是将甲醛拒之于细胞膜之外。但是, 该研究尚不能解释进入细胞内的甲醛是被彻底分解还是与其它物质结合形成复合物。另外, 与对照相比, 转 *cyp2e1* 基因矮牵牛 ADH 酶的活性并没有出现特别显著的提高, 但转 *cyp2e1* 基因矮牵牛在添加 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甲醛培养液中依然能正常生长, 对甲醛的抗性却显著提高 (Zhang et al., 2011)。Kang 等 (2010) 报道, 用三氯乙烯处理后, 转 *cyp2e1* 基因杨树与未转基因的植株相比, 有更多的基因上调或下调表达, 并认为上调或下调的基因参与到三氯乙烯的代谢过程中。转 *cyp2e1* 基因矮牵牛在甲醛胁迫下是否也启动了类似的基因并参与到矮牵牛代谢外源甲醛? 尚需深入探讨。

在环境胁迫条件下, 激素平衡的改变导致植物产生相对应的与胁迫相关的形态和生理变化 (Hey et al., 2010)。甲醛处理后, 转 *cyp2e1* 基因矮牵牛的 IAA、ZR 和 ABA 呈现下降而 GA 呈现上升趋势; 转 *gus* 基因和野生型正好相反, IAA、ZR 和 ABA 呈现上升而 GA 呈现下降趋势。这提示 *cyp2e1* 基因影响多种植物激素信号途径, 进而抵抗甲醛等外界胁迫, 其具体机制尚待进一步探讨。

References

- Abhilash P C, Jamil S, Singh N. 2009. Transgenic plants for enhanced biodegradation and phytoremediation of organic xenobiotics. *Biotechnol Adv*, 27 (4): 474 - 488.
- Barreto P, Okura V K, Neshich I A, Maia Ide G, Arruda P. 2014. Overexpression of UCPI in tobacco induces mitochondrial biogenesis and amplifies a broad stress response. *BMC Plant Biol*, 14: 144.
- Choe Y H, Kim Y S, Kim I S, Bae M J, Lee E J, Kim Y H, Park H M, Yoon H S. 2013. Homologous expression of γ -glutamylcysteine synthetase increases grain yield and tolerance of transgenic rice plants to environmental stresses. *J Plant Physiol*, 170 (6): 610 - 618.
- Doty S L, Shang Q T, Wilson A M, Westergreen A D, Newman L A, Strand S E, Gordon M P. 2000. Enhanced metabolism of halogenated

- hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian cytochrome P450 2E1. Proc Natl Acad Sci USA, 97 (12): 6287 - 6291.
- Gonzalez F J. 2007. The 2006 Bernard B. Brodie award lecture, *cyp2e1*. Drug Metab Dispos, 35 (1): 1 - 8.
- Hey S J, Byrne E, Halford N G. 2010. The interface between metabolic and stress signaling. Ann Bot, 105 (2): 197 - 203.
- Kang J W, Wilkerson H W, Farin F M, Bammler T K, Beyer R P, Strand S E, Doty S L. 2010. Mammalian cytochrome CYP2E1 triggered differential gene regulation in response to trichloroethylene (TCE) in a transgenic poplar. Funct Integr Genomics, 10 (3): 417 - 424.
- Leng Xin-fu, Qiu Xing-hui. 2001. The structure, function and the application prospects of cytochrome P450 enzyme system. Beijing: Science Press: 45 - 50. (in Chinese)
- 冷欣夫, 邱星辉. 2001. 细胞色素 P450 酶系的结构、功能与应用前景. 北京: 科学出版社: 45 - 50.
- Li Pei-han, Xiang Tai-he, Xie Jun, Feng Ting, Lu Wen-yi. 2012. Transgenic plant regeneration of tobacco (*Nicotiana tabacum*) harboring mammalian *cyp2e1* gene. Chin J Biotech, 28 (10): 1195 - 1204. (in Chinese)
- 李佩菡, 向太和, 谢军, 冯婷, 陆文怡. 2012. 转哺乳动物 *cyp2e1* 基因烟草植株再生及其分析. 生物工程学报, 28 (10): 1195 - 1204.
- Lieber C S. 1997. Cytochrome P-4502E1: Its physiological and pathological role. Physiol Rev, 77 (2): 517 - 544.
- Liu Chen-hui, Yue Jiang. 2010. Progress of research on characteristics of cytochrome P-450 CYP2E1 in protein structure and regulation mechanisms. Chin J Pharmacol Toxicol, 24 (2): 155 - 160. (in Chinese)
- 刘晨晖, 乐江. 2010. 细胞色素 P450 CYP2E1 酶构型特征及其表达调控机制的研究进展. 中国药理学与毒理学杂志, 24 (2): 155 - 160.
- Sakamoto A, Ueda M, Morikawa H. 2002. *Arabidopsis* glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase is an S-nitrosoglutathione reductase. FEBS Lett, 515 (1 - 3): 20 - 24.
- Thompson C M, Ceder R, Grafström R C. 2010. Formaldehyde dehydrogenase: Beyond phase I metabolism. Toxicol Lett, 193 (1): 1 - 8.
- Zhang D X, Xiang T H, Li P H, Bao L M. 2011. Transgenic plants of *Petunia hybrida* harboring the *CYP2E1* gene efficiently remove benzene and toluene pollutants and improve resistance to formaldehyde. Genet Mol Biol, 34 (4): 634 - 639.

通知

“中国园艺学会 2015 年学术年会”征文通知

“中国园艺学会 2015 年学术年会”即日起征集：①研究论文摘要，②有关园艺学进展的综述。经审查合格的摘要将收入《园艺学报》2015 年增刊，综述将收入 2015 年正刊（刊期待定），均于会前出版。

征文内容：有关果树、蔬菜、西瓜甜瓜、观赏园艺植物及其它园艺植物的种质资源、遗传育种、生物技术、栽培技术与生理、采后技术与生理等方面未曾发表过的研究论文摘要和文献综述。

投稿要求：摘要稿件需将电子文件发送至本刊电子邮箱（ivfyxb@caas.cn），综述稿件需登录本刊网站（<http://www.ahs.ac.cn>）在线投稿，同时均需将纸质稿件一式两份寄送到：北京中关村南大街 12 号《园艺学报》编辑部（邮编 100081），并请交纳审稿费 320 元（邮局汇款地址：北京中关村南大街 12 号中国农业科学院蔬菜花卉研究所，邮编 100081，收款人《园艺学报》编辑部）。对于录用的稿件，将及时通知参会作者，未录用的稿件恕不退回。联系电话：010-62192388。

综述写作要求与《园艺学报》正刊相同。摘要写作要求：

每篇限 A4 纸 1 页（单倍行距，标准字间距），不写英文和参考文献，不用图表。

题目（黑体，2 号字）

作者姓名（仿宋，4 号字）

（作者单位，城市名 邮编）（宋体，小 5 号字）

内容包括目的与意义，材料与方法，研究结果（宋体，5 号字）

关键词：

基金项目：

E-mail:

Tel:

中国园艺学会