

DOI:10.12171/j.1000-1522.20190390

过表达毛白杨线粒体 *APX* 基因烟草 提高抗逆能力的研究

王兵 程子义 张蕾 赵芝婧 陆海 刘頔

(北京林业大学生物科学与技术学院, 林木育种国家工程实验室, 林木、花卉遗传育种教育部重点实验室,
国家林业局树木花卉育种与生物工程重点开放实验室, 北京 100083)

摘要:【目的】为了研究毛白杨线粒体 *APX*(*PtomtAPX*)在抗逆过程中的作用,本研究对过表达 *PtomtAPX* 的转基因烟草进行抗逆研究。【方法】对过表达 *PtomtAPX* 烟草和野生型烟草进行干旱、盐、氧化胁迫处理后,测量相对含水量、叶绿素含量、丙二醛含量、*APX* 活性、AsA 消耗量、NADP/NADPH 比值和 SOD 活性。【结果】通过对比转基因烟草植株与野生型植株的生长差异发现,在氧化胁迫、盐胁迫和干旱胁迫下,转 *PtomtAPX* 基因烟草的 *APX* 活性、相对含水量、叶绿素含量、AsA 消耗量、NADP/NADPH 比值升高量均明显高于野生型,其中转 *PtomtAPX* 基因烟草的 *APX* 活性为野生型的 1.77 倍,平均相对含水量为野生型的 1.15 倍,叶绿素含量为野生型的 1.6 倍,AsA 消耗量为野生型的 1.11 倍,NADP/NADPH 值为野生型的 1.18 倍,表明过表达 *PtomtAPX* 转基因植株清除活性氧的能力更强。【结论】在非生物胁迫下,*PtomtAPX* 能消除 H₂O₂, 防止细胞损伤,在植物抗逆中发挥重要作用。

关键词: 抗坏血酸过氧化物酶;转基因烟草;非生物胁迫;毛白杨

中图分类号: S718.43; S792.117 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2020)07-0033-07

引文格式: 王兵,程子义,张蕾,等.过表达毛白杨线粒体 *APX* 基因烟草提高抗逆能力的研究[J].北京林业大学学报,2020,42(7):33-39. Wang Bing, Cheng Ziyi, Zhang Lei, et al. Tobacco overexpression *Populus tomentosa* mitochondria ascorbate peroxidase improving stress resistance[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2020, 42(7): 33-39.

Tobacco overexpression *Populus tomentosa* mitochondria ascorbate peroxidase improving stress resistance

Wang Bing Cheng Ziyi Zhang Lei Zhao Zhijing Lu Hai Liu Di

(National Engineering Laboratory for Tree Breeding, Key Laboratory of Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants of Ministry of Education, Tree and Ornamental Plant Breeding and Biotechnology Laboratory of State Forestry Administration, School of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] In order to study the role of *Populus tomentosa* mitochondrial *APX* (*PtomtAPX*), the stress resistance of overexpression *PtomtAPX* transgenic tobacco was studied in this paper. [Method] Overexpression *PtomtAPX* transgenic tobacco and wild type tobacco were treated with drought stress, salt stress and oxidative stress. Relative water content, chlorophyll content, malondialdehyde content, *APX* activity, AsA consumption, NADP/NADPH ratio, SOD activity were measured. [Result] In this study, compared wild type plants with overexpression *PtomtAPX*, under oxidative stress, salt stress and drought stress, the *APX* activity, relative water content, chlorophyll content, AsA consumption, and NADP/NADPH

收稿日期: 2019-10-31 修回日期: 2020-04-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(31971618)。

第一作者: 王兵, 博士。主要研究方向: 树木分子生物学。Email: vipwb1519599@163.com 地址: 100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学生物科学与技术学院。

责任作者: 刘頔, 副教授。主要研究方向: 植物发育生物学。Email: liudi@bjfu.edu.cn 地址: 同上。陆海, 教授, 博士生导师。主要研究方向: 杨树抗胁迫和木材发育。Email: luhai1974@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

ratio increase of the tobacco overexpression *PtomtAPX* gene were significantly higher than those of wild type, of which the APX activity of *PtomtAPX* transgenic tobacco was 1.77 times of wild type, the average relative water content was 1.15 times of wild type, the chlorophyll content was 1.6 times of wild type, AsA consumption was 1.11 times of wild type, and the ratio of NADP to NADPH was 1.18 times of the wild type. It suggested that the tobacco overexpressed *PtomtAPX* harbored stronger ROS scavenging ability. [Conclusion] These indicate that mitochondrial APX acts a crucial role of abiotic stress tolerance in plants by eliminating H_2O_2 and preventing cell damage under abiotic stress.

Key words: ascorbate peroxidase; transgenic tobacco; abiotic stress; *Populus tomentosa*

在环境胁迫下,植物会产生大量的活性氧(ROS),主要有 H_2O_2 、超氧阴离子 $O_2^{\cdot-}$ 和一氧化氮等^[1]。此外,ROS 也是重要的信号分子,参与调节植物的许多生长发育过程,包括细胞程序性死亡、激素作用、病原体反应、压力感知和光合作用调节等^[1-5]。然而 ROS 起着双重作用,活性氧浓度过高会导致细胞遭受不可逆转的破坏,最终致死^[1,5-6]。

在植物细胞中存在两种系统共同维持着 ROS 的稳定。当细胞内产生高浓度的 ROS 时,首先, SOD 参与毒性较强的 $O_2^{\cdot-}$ 转化为毒性较弱的 H_2O_2 ^[7], 再通过 CAT 和抗坏血酸-谷胱甘肽循环(AsA-GSH cycle) 将 H_2O_2 清除, APX 参与将 H_2O_2 催化形成 H_2O 的过程^[8]。APX 的表达受到盐胁迫、干旱胁迫、氧化胁迫等^[9] 多种环境刺激的调节,在这些逆境下, APX 的活性明显增强^[10]。

APX 是一个多基因家族,定位在叶绿体基质、叶绿体类囊体、细胞质、微体以及线粒体^[11-14]。不同细胞器中的 H_2O_2 主要是由自身的 APX 清除的^[15-16]。小麦(*Triticum aestivum*)两个 APX 基因的表达受干旱胁迫的影响^[17], 5 个水稻 APX 基因 *OsAPX 1*、*OsAPX 2*、*OsAPX 5*、*OsAPX 6*、*OsAPX 7* 的表达量增加^[18], *OsAPX 8* 的表达量呈现显著下降的趋势。受到盐胁迫时,水稻(*Oryza sativa*)*OsAPX 2*、*OsAPX 7* 和 *OsAPX 8* 这 3 个 APX 基因转录水平的表达出现明显的差异^[19]。在高温和干旱的双重胁迫下,拟南芥 APX1 在蛋白水平和转录水平的表达量都表现出明显上升趋势, APX1 的突变体、野生型拟南芥植株与受胁迫植株相比,上升趋势更为明显^[20]。在植株中过表达 APX 基因通常可以增加植株在逆境中的抗性。转水稻 APX2 基因的拟南芥植株在盐胁迫下表现出更强的耐受性^[21-22]。拟南芥 APX 在烟草中过表达可以促进烟草植株的抗性^[23]。

本研究取野生型烟草植株和过表达 *PtomtAPX* 基因的烟草植株分别进行以下 3 种非生物胁迫处理: 盐胁迫、干旱胁迫和氧化胁迫。测定并记录处理过程中的生理数据的变化,比较野生型植株与 *PtomtAPX*-OE 烟草植株的差异,更加深入地了解

PtomtAPX 在逆境中对植物生长的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

PtomtAPX-OE 烟草植株由实验室前期工作所得^[24], 培养条件为 25 °C, 光照时间 16 h, 光照强度为 250 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。取长势相似且状态良好的野生型烟草与 *PtomtAPX*-OE 作为实验材料, 分别进行盐胁迫、氧化胁迫和干旱胁迫处理, 处理条件如下。

对照植株浇水 50 mL, 干旱胁迫植株不浇水, 盐胁迫植株用 200 mmol/L NaCl 含量的水浇灌 50 mL, 氧化胁迫植株是喷洒 50 mmol/L 甲基紫精(MV)溶液于烟草叶片上。

1.2 实验方法

1.2.1 相对含水量测定

取野生型和转基因烟草叶片, 鲜质量记为 F_w , 饱和鲜质量用 T_w 表示, 于 80 °C 烘箱中烘干, 干质量记为 D_w 。相对含水量 $RWC = (F_w - D_w)/(T_w - D_w) \times 100\%$ 。

1.2.2 测定叶绿素含量

选取 *PtomtAPX*-OE 和野生型烟草叶片, 分别加入 80% 丙酮 5 mL, DMSO 5 mL, 水浴后冷却, 定容至 25 mL, 空白对照为 80% 丙酮, 分别测定 $OD_{663\text{nm}}$ 和 $OD_{645\text{nm}}$ 数值。

$$\text{叶绿素含量} = \text{Chlt} \times 0.025 \times 2.5/W$$

$$\text{Chlt} = 8.02 \times OD_{663\text{nm}} + 20.21 \times OD_{645\text{nm}}$$

$$W = F_w(1 - RWC)$$

式中: W 为叶片干质量, Chlt 为叶绿素总含量。

1.2.3 测定丙二醛含量

分别称量 *PtomtAPX*-OE 和野生型烟草叶片 0.5 g, 用液氮研磨, 分别吸取 625 μL 0.1% TCA 和 0.5% TBA 溶液 625 μL 加入研磨液中, 沸水加热 10 min, 常温冷却, 用转速为 8 000 r/min 离心 10 min; 同时用 0.5% TBA 为空白对照, 分别在 $OD_{660\text{nm}}$ 和 $OD_{532\text{nm}}$ 下进行测定吸光值。

1.2.4 可溶性总蛋白含量测定

Bradford 法测定总蛋白含量。

1.2.5 APX 酶活性测定

取 3 mL 活性测定反应液(0.1 mmol/L EDTA, 50 mmol/L 磷酸缓冲液, pH 7.0, 0.5 mmol/L ASA, 0.1 mmol/L H₂O₂)于试管中,加酶蛋白提取液 50 μ L。空白对照为不加 AsA 的反应液,每隔 1 min 记录 1 次 OD_{290 nm},连续记录 5 次。

1.2.6 SOD 酶活性测定

取 4 mL 活性测定反应液(2.25 mmol/L NBT, 0.1 mmol/L EDTA, 13 mmol/L Met, 60 μ mol/L 核黄素, 50 mmol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液)于试管中,加酶蛋白提取液 20 μ L,以未加酶液的磷酸缓冲液 A₀ 为空白对照,测定 OD_{560 nm} 的变化。

1.2.7 AsA 含量测定

按照 AsA 试剂盒的说明书操作。

1.2.8 测定 H₂O₂ 含量

采用试剂盒(amplex red hydrogen peroxide/peroxidase assay)测定 H₂O₂ 含量。

1.2.9 NADP/NADPH 比值测定

采用 EnzyChrom NADP/NADPH Assay 试剂盒测定 NADP/NADPH 的比值。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫

干旱胁迫下,野生型植株与 *PtomtAPX*-OE 植株的含水量分别下降 62.4% 和 47.4%;比较叶绿素含量发现 *PtomtAPX*-OE 植株是野生型植株的 1.6 倍;可溶性总蛋白明显下降;细胞内 MDA 的增加量为

野生型的 55.1%(图 1)。

在干旱胁迫下, H₂O₂ 含量及 APX 活性都有显著变化。*PtomtAPX*-OE 植株的 H₂O₂ 上升量为野生型的 50.4%, APX 活性的平均增加值是野生型的 1.77 倍。APX 活性的上升会导致 AsA 消耗量的增加,在受到干旱胁迫后野生型植株 AsA 的消耗量为 52.2%,而转基因植株的 AsA 消耗量为 63.5%(图 2)。

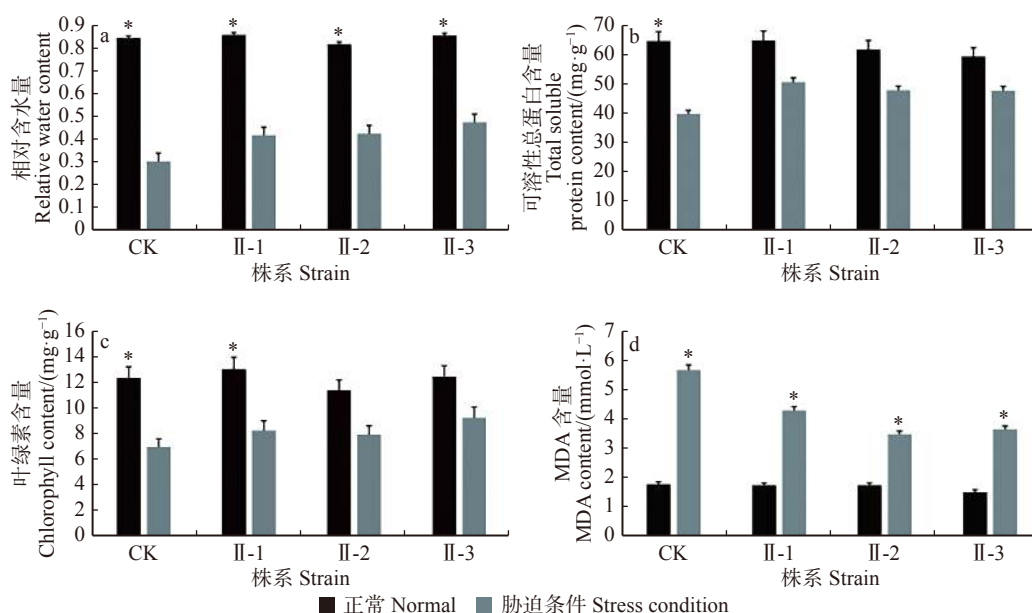
AsA 的再生由 NADPH 作为电子供体,在受到干旱胁迫后,野生型植株与 *PtomtAPX*-OE 植株 NADP/NADPH 值、SOD 值均出现了显著的上升, NADP/NADPH 值分别升高 1.18 和 3.36 倍,转基因植株 SOD 值的升高值为野生型的 1.81 倍(图 3)。

2.2 盐胁迫

在受到盐胁迫后,野生型和 *PtomtAPX*-OE 植株的可溶性总蛋白、相对含水量及叶绿素含量下降,MDA 含量、APX 活性、NADP/NADPH 比值、SOD 酶活性出现了显著的上升。转基因植株中,可溶性总蛋白含量比野生型高 23.1%, APX 活性升高 81.7%, SOD 酶活性升高 57.7%, MDA 含量升高 2.5 倍,相对含水量下降 22.2%,叶绿素含量降低为野生型的 47.2%。在野生型植株中,MDA 含量升高 3.7 倍, APX 活性升高 19%, SOD 酶活性升高 44.8%,相对含水量下降 33.2%(图 4)。

2.3 氧化胁迫

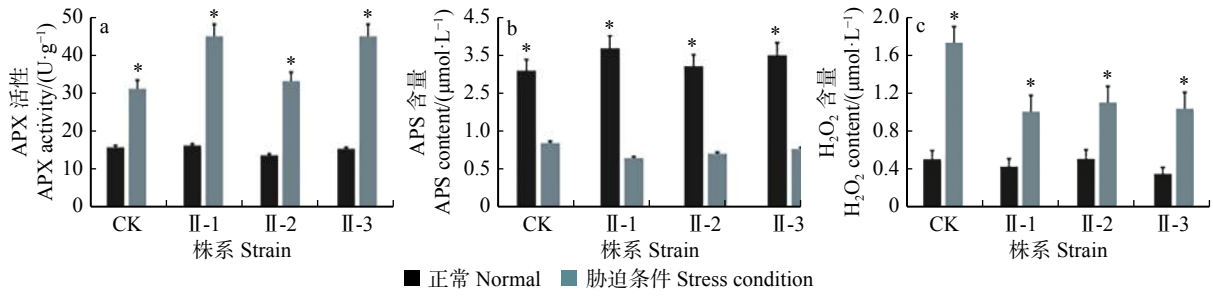
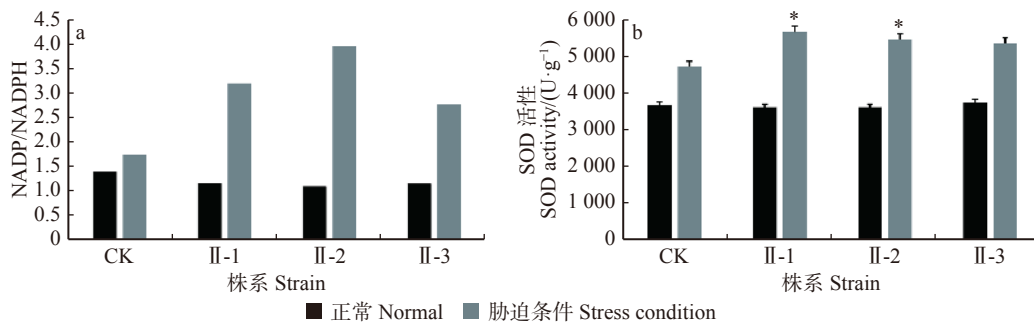
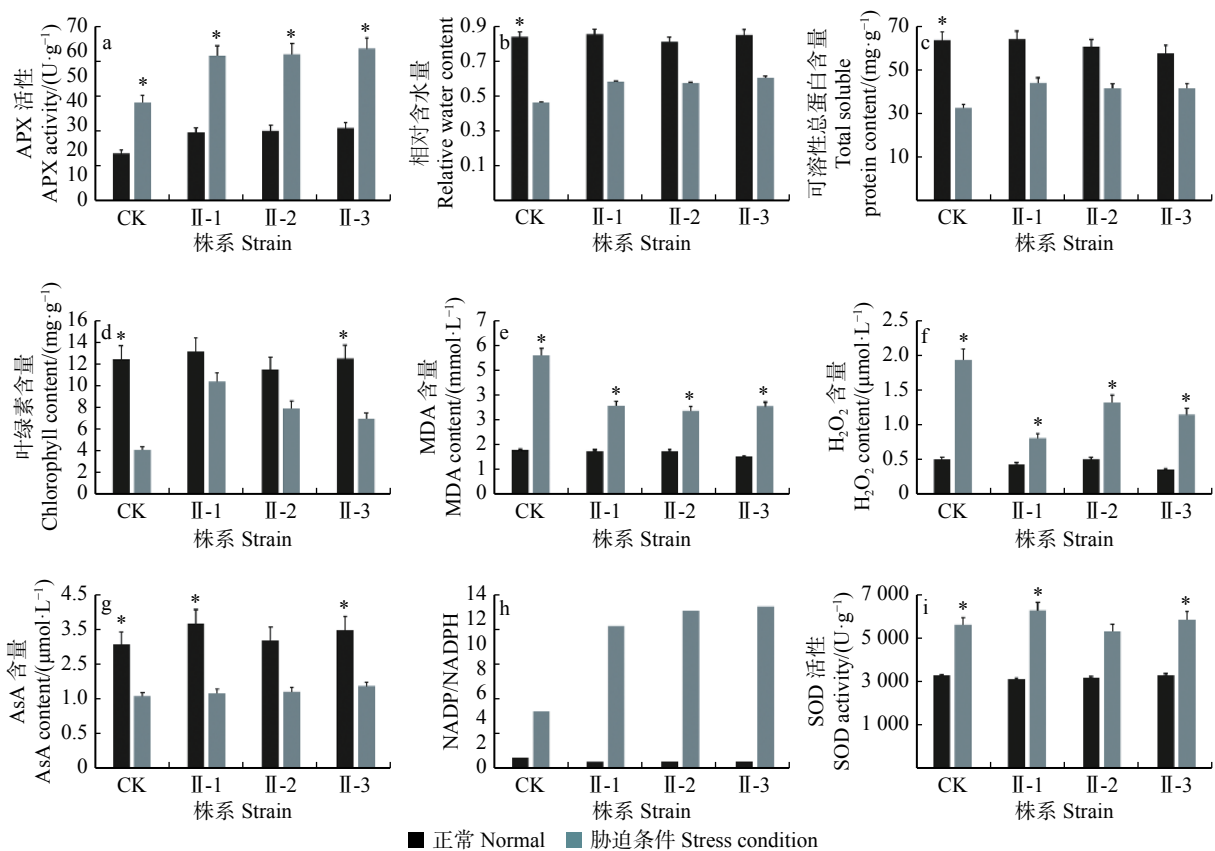
本研究发现,在氧化胁迫下,野生型植株 NADP/NADPH 升高 64%, APX 活性升高 38.5%。在



CK 为对照, II-1 ~ II-3 为过表达烟草 3 个不同的株系。下同。CK is control, II-1 - II-3 represent the three different strains of overexpressed tobaccos. The same below.

图 1 *PtomtAPX*-OE 烟草与野生型烟草在干旱环境下的应答反应

Fig. 1 Responses of overexpressed *APX* transgenic tobaccos and wild type under drought environment

图2 干旱胁迫下野生型与 *PtomtAPX*-OE 烟草的差异Fig. 2 Differences between wild type and *APX*-overexpressed tobaccos under drought stress图3 干旱胁迫下 *PtomtAPX*-OE 烟草与野生型其他生理应答的差异Fig. 3 Differences in physiological responses of *APX*-overexpressed tobacco and wild type under drought stress图4 盐胁迫对 *PtomtAPX*-OE 烟草与野生型烟草叶片的影响Fig. 4 Effects of salt stress on *APX*-overexpressed tobacco and wild type tobacco leaves

PtomtAPX-OE 植株中, 叶绿素含量为野生型的 1.78 倍。APX 活性升高 91%, 相对含水量降低值比野生

型低 14.8%, SOD 酶活性升高值比野生型高 52%, MDA 升高值为野生型的 55.3%, 可溶性总蛋白的降

低值为野生型的 28%, H_2O_2 升高值仅为野生型的 48.2% (图 5)。

与干旱胁迫和盐胁迫类似, 植株在受到氧化胁迫后, *PtomtAPX*-OE 和野生型植株的可溶性总蛋白、相对含水量及叶绿素含量大幅度下降, 分别为野生型的 28%、14.8% 及 1.78 倍, MDA 含量、APX 活性、

NADP/NADPH 比值、SOD 酶活性出现了显著的上升。野生型植株中, APX 活性升高 38.5%, NADP/NADPH 比值升高 64%。*PtomtAPX*-OE 植株中, MDA 升高值为野生型的 55.3%, APX 活性升高 91%, NADP/NADPH 比值升高 2.48 倍。SOD 酶活性升高值比野生型高 52%。

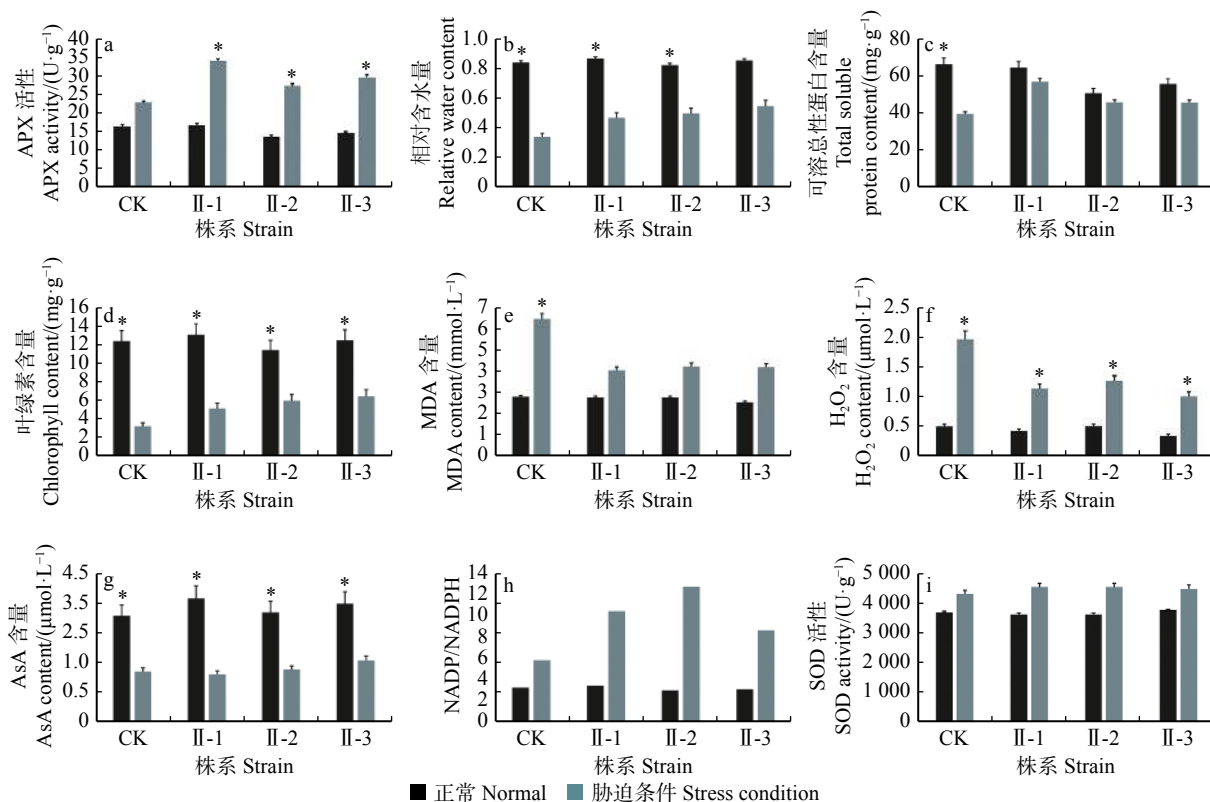


图 5 氧化胁迫对 *PtomtAPX*-OE 烟草与野生型植株的影响

Fig. 5 Effects of oxidative stress on *APX*-overexpressed tobacco and wild type plants

3 讨论与结论

有研究表明, 胁迫环境中产生的 ROS 会严重影响植株的正常生长, 其中细胞膜受损较为严重^[25-27]。由于 ROS 的大量产生, 活性氧消除体系的代谢效率与植株在逆境中的抗性紧密相关^[28-30]。在植物逆境应答中, AsA 对于维持 APX 清除 H_2O_2 的能力至关重要^[31-32]。

本研究通过比较野生型与 *PtomtAPX*-OE 植株中可溶性总蛋白含量、相对含水量、叶绿素含量等生理反应的相关指标, 发现转基因植株在受到胁迫处理后均升高。这些指标检测结果和之前的研究结果几乎一致^[26]。MDA 含量明显较低, 作为细胞损伤程度的指标丙二醛^[27], 在干旱胁迫、盐胁迫和氧化胁迫后, 过表达烟草中的增加值明显比野生型少, 表明烟草有消除胁迫所造成的损伤的能力。此外更多的 AsA 消耗量, 升高的 SOD 酶活性, 降低的 H_2O_2 含量, 增大的 NADP/NADPH 比值, 表明 *PtomtAPX* 具

有 H_2O_2 清除能力, 这使得细胞损伤较小, 在逆境中的耐性更强。

以上结果表明, *PtomtAPX*-OE 提高了烟草的抗逆性, 能够有效降解 H_2O_2 , 对烟草的抗逆具有重要作用。这一结论为 *PtomtAPX* 基因在毛白杨中的研究奠定了研究基础, 为后续研究提供了方向。

参 考 文 献

- [1] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trend in Plant Science*, 2002, 7(9): 405-410.
- [2] Dat J, Vandenebeele S, Vranova E, et al. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2000, 57: 779-795.
- [3] Mullineaux P, Karpinski S. Signal transduction in response to excess light: getting out of the chloroplast[J]. *Current Opinion Plant Biology*, 2002, 5: 43-48.
- [4] Neill S, Desikan R, Hancock J. Hydrogen peroxide signalling[J]. *Current Opinion Plant Biology*, 2002, 5: 388-395.

- [5] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, 55: 373–399.
- [6] Considine M J, Foyer C H. Redox regulation of plant development[J]. *Antioxidants Redox Signal*, 2014, 21: 1305–1326.
- [7] Lustgarten M S, Bhattacharya A, Muller F L, et al. Complex I generated, mitochondrial matrix-directed superoxide is released from the mitochondria through voltage dependent anion channels[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, 422: 515–521.
- [8] Sofó A, Scopa A, Nuzzaci M, et al. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16: 13561–13578.
- [9] Bonifacio A, Martins M O, Ribeiro C W, et al. Role of peroxidases in the compensation of cytosolic ascorbate peroxidase knockdown in rice plants under abiotic stress[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2011, 34(10): 1705–1722.
- [10] Deepesh B, Saurabh C, Sourabh J, et al. Cloning, expression and functional validation of drought inducible ascorbate peroxidase (Ec-apx1) from *Eleusine coracana*[J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, 40(2): 1155–1165.
- [11] Chew O, Whelan J, Millar A H. Molecular definition of the ascorbate-glutathione cycle in *Arabidopsis* mitochondria reveals dual targeting of antioxidant defenses in plants[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278: 46869–46877.
- [12] Teixeira F K, Menezes-Benavente L, Margis R, et al. Analysis of the molecular evolutionary history of the ascorbate peroxidase gene family: inferences from the rice genome[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2003, 59: 761–770.
- [13] Teixeira F K, Menezes-Benavente L, Margis R, et al. Analysis of the molecular evolutionary history of the ascorbate peroxidase gene family: inferences from the rice genome[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2004, 59: 761–770.
- [14] Najami N, Janda T, Barriah W, et al. Ascorbate peroxidase gene family in tomato: its identification and characterization[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2008, 279: 171–182.
- [15] Henzler T, Steudle E. Transport and metabolic degradation of hydrogen peroxide in chara corallina: model calculations and measurements with the pressure probe suggest transport of H₂O₂ across water channels[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51: 2053–2066.
- [16] Anjum N A, Sharma P, Gill S S, et al. Catalase and ascorbate peroxidase-representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23: 19002–19029.
- [17] Secenji M, Hideg E, Bebes A, et al. Transcriptional differences in gene families of the ascorbate-gluta-thione cycle in wheat during mild water deficit[J]. *Plant Cell Reports*, 2010, 29(1): 37–50.
- [18] Rosa S B, Caverzan A, Teixeira F K, et al. Cytosolic APX knockdown indicates an ambiguous redox responses in rice[J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(5): 548–558.
- [19] Teixeira F K, Menezes-Benavente L, Galvão V C, et al. Rice ascorbate peroxidase gene family encodes functionally diverse isoforms localized in different subcellular compartments[J]. *Planta*, 2006, 224(2): 300–314.
- [20] Koussevitzky S, Suzuki N, Huntington S, et al. Ascorbate peroxidase1 plays a key role in the response of *Arabidopsis thaliana* to stress combination[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(49): 34197–34203.
- [21] Hong C Y, Hsu Y T, Tsai Y C, et al. Expression of ASCORBATE PEROXIDASE 8 in roots of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings in response to NaCl[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(12): 3273–3283.
- [22] Badawi G H, Kawano N, Yamauchi Y, et al. Over-expression of ascorbate peroxidase in tobacco chloroplasts enhances the tolerance to salt stress and water deficit[J]. *Physiology Plant*, 2004, 121(2): 231–238.
- [23] Sun W H, Duan M, Shu D F, et al. Over-expression of StAPX in tobacco improves seed germination and increases early seedling tolerance to salinity and osmotic stresses[J]. *Plant Cell Reports*, 2010, 29(8): 917–926.
- [24] 张蕾. 转毛白杨线粒体和细胞质 APX 基因烟草提高抗逆能力的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2014.
- Zhang L. *Populus tomentosa* mitochondria or cytosolic ascorbate peroxidase gene transgenic tobacco plants enhance tolerance to abiotic stress [D]. Beijing: Beijing forestry university, 2014.
- [25] Cattivelli L, Rizza F, Badeck F W, et al. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics[J]. *Field Crops Research*, 2008, 105(1): 1–14.
- [26] Calabrese V, Butterfield D A, Stella A M G. Nutritional antioxidants and the heme oxygenase pathway of stress tolerance: novel targets for neuroprotection in Alzheimer's disease[J]. *The Italian Journal of Biochemistry*, 2004, 52(4): 177–181.
- [27] Goyal M, Kaur N. Low temperature induced oxidative stress tolerance in oats (*Avena sativa* L.) genotypes[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2018, 23(2): 1–9.
- [28] Yoshimura K, Ishikawa T, Nakamura Y, et al. Comparative study on recombinant chloroplastic and cytosolic ascorbate peroxidase isozymes of spinach[J]. *The Italian Journal of Biochemistry*,

- 1998, 353(1): 55–63.
- [29] Nishihara E, Kondo K, Parvez M M, et al. Role of 5-aminolevulinic acid (ALA) on active oxygen-scavenging system in NaCl-treated spinach (*Spinacia oleracea*) [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160(9): 1084–1091.
- [30] Pokora W, Tukaj Z. The combined effect of anthracene and cadmium on photosynthetic activity of three desmodesmus (Chlorophyta) species [J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2010, 73(6): 1207–1213.
- [31] Murshed R, Lopez-Lauri F, Sallanon H. Effect of salt stress on tomato fruit antioxidant systems depends on fruit development stage [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2014, 20(1): 15–29.
- [32] Smirnoff N, Wheeler G L. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function [J]. *Crc Critical Reviews in Biochemistry*, 2000, 19(4): 267–290.

(责任编辑 赵 勃
责任编辑委 蒋湘宁)