

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.00307

# 植物非特异脂质转运蛋白研究现状与展望

刘芳, 卢长明

中国农业科学院油料作物研究所, 农业部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 武汉 430062

**摘要:** 植物非特异脂质转运蛋白(nsLTP)是一类含量丰富的小分子碱性蛋白,能够在体外与多种疏水分子可逆地结合。目前已从多种植物中分离到 9 种类型的 *nsLTP* 基因。所有 nsLTP 蛋白质都具有 8 个半胱氨酸残基模体的保守结构,它们的三维结构内部有一个具有脂质结合位点的疏水腔。根据基因结构、表达、调控和体外活性等研究,nsLTP 被认为可能与蜡质合成与运输、抗逆、抗病以及生殖发育等重要生理过程有关。文章全面介绍 *nsLTP* 基因及其蛋白质研究的最新进展,内容包括基本特征、分类、基因表达、基因克隆与功能研究等,最后对今后的研究方向进行了讨论和展望。

**关键词:** 非特异脂质转运蛋白; 家族; 表达; 功能

## An overview of non-specific lipid transfer protein in plant

LIU Fang, LU Chang-Ming

Oil Crop Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Science, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, China

**Abstract:** Plant non-specific lipid transfer proteins (nsLTPs) are a group of abundantly expressed small basic proteins, which can reversibly bind and transport hydrophobic molecules *in vitro*. Nine types of nsLTP have been identified from a variety of plants. All the type of nsLTPs possesses the conserved eight cysteine residue motif with a three-dimensional structure of an internal hydrophobic cavity and the lipid binding site. Based on the growing knowledge about the structure, gene expression, regulation and *in vitro* activity, nsLTPs are considered to play a role in key processes of plant physiology, including wax synthesis and transport, abiotic stress resistance, disease resistance, and plant reproduction. This review aims at presenting comprehensive information of key topics, including basic features, classification, gene cloning, expression profiles, and functional studies of nsLTP. Finally the perspectives were included on the future study of nsLTP family.

**Keywords:** nsLTP; family; expression; function

### 1 植物 nsLTP 的基本特征

植物非特异脂质转运蛋白(nsLTP)是一类小的

(9~10 kDa)、丰富的(占可溶性蛋白的 4%左右)、碱性(pI 8.8~10)分泌型蛋白。植物 nsLTP 具有保守的特征: 包含 4 个二硫键, 8 个半胱氨酸模体(8CM)

收稿日期: 2012-06-04; 修回日期: 2012-07-25

基金项目: 油菜 *KCS* 基因家族底物特异性及异位表达研究项目(编号: 31100190)资助

作者简介: 刘芳, 助理研究员, 博士, 研究方向: 脂类分子生物学。Tel: 18971072210; E-mail: jutus.et.in.cute@163.com

通讯作者: 卢长明, 研究员, 博士, 研究方向: 基因工程与转基因安全。E-mail: cmlu@oilcrops.cn

网络出版时间: 2012-12-19 10:05:55

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20121219.1005.001.html>

(C-Xn-C-Xn-CC-Xn-CXC-Xn-C-Xn-C)以及 2 个一致的五肽模体(Thr/Ser-X1-X2-Asp-Arg/Lys和 Pro-Tyr-X-Ile-Ser)<sup>[1]</sup>。植物nsLTP的三维结构是一个具有正交四螺旋束结构和一个疏水核心的典型球状体,半胱氨酸残基由 4 个二硫键连接以稳定疏水腔的三级结构,疏水腔贯穿整个分子,并能在体外与转运脂肪酸、磷脂、糖脂、乙酰辅酶A/类固醇、芳香衍生物及角质单体等多种疏水分子可逆地结合<sup>[2]</sup>。几乎所有nsLTPs都具有一个由 21~29 个氨基酸组成的N端信号肽,引导蛋白到质体外空间。许多nsLTP还具有一段序列模体,为翻译后的蛋白加上一个糖基(GPI)化锚<sup>[3,4]</sup>。

## 2 植物 nsLTP 的分类

最初,植物nsLTP根据分子量大小分为两类,类型I(10 kDa, 90~95 个氨基酸)和类型II(7 kDa, 约 70 个氨基酸)<sup>[1]</sup>,两者的二级结构基本相同,它们所含的半胱氨酸数目和位置完全相同。两种类型在序列(同源性低于 30%)半胱氨酸的配对模式和脂质转运效率方面具有差异。在类型I中,半胱氨酸残基为 1-6、2-3、4-7、5-8 配对<sup>[5]</sup>,在类型II中,第五和第六半胱氨酸残基转换了配对模式,成为半胱氨酸 1-5、2-3、4-7、6-8 配对<sup>[6]</sup>。类型I的nsLTP具有隧道状疏水腔,类型II的nsLTP具有两个相邻的疏水腔<sup>[6]</sup>,比隧道状疏水穴具更大的可塑性。类型II 比类型I 脂质转运活性高,可能是由于疏水腔可塑性增强,有利于脂质分子的结合和释放<sup>[7]</sup>。有几种花药特异性蛋白与植物nsLTP表现一定的同源性<sup>[8]</sup>被建议作为类型III,和前两种类型不同之处在于交错于 8CM 结构之间的氨基酸残基的数目<sup>[9]</sup>。

通过分析拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)基因组中nsLTP全部基因家族,鉴定出 6 种新类型的nsLTP<sup>[10]</sup>,因此现在共发现 9 类nsLTPs。其中类型VII只在小麦(*Triticum aestivum*)和水稻中存在,而类型IX只在拟南芥中鉴定到<sup>[10]</sup>。水稻、拟南芥和小麦nsLTP的多样性表明,nsLTP在植物中可能支持多种生物学功能。

前面的分类系统主要是根据开花植物nsLTP基因而建立的。Edstam等<sup>[11]</sup>引入早期各种陆地植物的nsLTP,修改了原有的nsLTP分类系统,建立起一个

扩大的分类系统。原有的分类普遍基于序列相似性和成熟蛋白分子量,后来发现从地钱苔(*Marchantia polymorpha*)、小立碗藓苔(*Physcomitrella patens*)以及江南卷柏(*Selaginella moellendorffii*)中鉴定的许多nsLTP具有 8CM结构但与开花植物只有极低的序列相似性。因此序列相似性并不能作为包含非开花植物nsLTP基因在内的分类系统的充分依据。修改后的分类系统考虑内含子的位置、GPI修饰位点的存在、8CM结构中半胱氨酸间距和序列相似性。修改后的分类系统中两个最初建立的亚家族分类:类型I和类型II仍然保留,其余的nsLTP基因分为类型C-K亚家族。其中一些亚家族例如类型D和类型G在苔藓以及维管植物均存在,但其他类型可能只存在于单独的物种<sup>[11]</sup>。

## 3 植物 nsLTP 基因的克隆鉴定

nsLTPs蛋白由多基因家族编码,nsLTP基因已经从许多植物中分离克隆到,包括水稻、小麦、玉米(*Zea mays*)、高粱(*Sorghum Moench*)、黑麦(*Secale cereale*)、拟南芥、油菜(*Brassica napus*)、花生(*Arachis hypogaea*)、野棉花(*Anemone vitifolia* Buch)、烟草(*Nicotiana tabacum*)、芝麻(*Sesamum indicum*)、番茄(*Solanum lycopersicum*)、辣椒(*Capsicum frutescens*)、蓖麻(*Ricinus communis*)等,其中在辣椒中已鉴定到 6 个成员<sup>[12]</sup>,在野棉花中鉴定到 11 个<sup>[13]</sup>,拟南芥中鉴定到 15 个<sup>[14]</sup>,小麦中鉴定到 23 个nsLTP成员<sup>[15]</sup>。以前由于基因信息的缺乏,基因的分离克隆大都采用建立cDNA文库、差减文库的方式,或者根据EST的信息进行同源序列检索,随着测序技术的突飞猛进,拟南芥、水稻(包括粳稻和籼稻亚种)、白菜(*Brassica rapa*)、杨树(*Populus trichocarpa*)以及葡萄(*Vitis vinifera*)等完整的基因组序列的获得大大推进了鉴定复杂多基因家族的能力。Boutrot等<sup>[10]</sup>通过对水稻、拟南芥全基因组序列的分析鉴定了 52 个水稻nsLTP基因和 49 个拟南芥nsLTP基因,包含了完整的nsLTP基因家族,另外通过比对分析水稻nsLTP基因和小麦EST序列,鉴定了 156 个小麦nsLTP。Edstam等<sup>[11]</sup>通过检索蛋白质数据库([www.ebi.ac.uk/Tools/InterProScan/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/InterProScan/))发现在地钱苔中总共有 14 个nsLTP,小立碗藓苔中有 40 个,江南卷柏中

有43个, 铁线蕨(*Adiantum capillus-veneris*)中有6个, 火炬松(*Pinus taeda*)中有43个 $nsLTP$ 。这些研究为各物种 $nsLTP$ 基因家族的组成提供了基本的信息。 $nsLTP$ 类型的多样性对于 $nsLTP$ 基因家族的研究打开了新的视野, 将大大推进未来 $nsLTP$ 基因转录特征、功能分析以及特定的生理功能的鉴定。

## 4 植物 $nsLTP$ 的表达谱

$nsLTP$ 家族成员在不同的发育时期和不同的组织类型中具有不同的表达模式。许多表达研究表明, 根中一般没有 $nsLTP$ 基因表达, 幼嫩组织中比老化组织中表达强, 且在幼花序中有强烈表达。 $nsLTP$ 的表达部位主要是茎、叶和胚的表皮细胞层或果皮<sup>[3, 4, 16-20]</sup>等角质层集中的表皮以及花药的绒毡层细胞<sup>[21-23]</sup>。结果表明,  $nsLTP$ 具有沉积表皮物质即角质合成的功能, 参与植物地上部器官表面以及花粉壁保护性疏水层形成。有的 $nsLTP$ 在种子发芽时的胚乳里高表达, 可能参与胚乳脂质的再循环, 或作为蛋白酶抑制剂在胚乳程序性死亡过程中保护子叶免受蛋白酶的降解以促进种子发育<sup>[24, 25]</sup>。而有的 $nsLTP$ 基因主要在维管束及幼茎中表达, 可能和维管束的分化或防御信号相关<sup>[17, 26, 27]</sup>, 有的 $nsLTP$ 基因在柱头中大量的表达, 表明其参与雌蕊-花粉互作的功能<sup>[28, 29]</sup>。

许多研究表明, 不同的 $nsLTP$ 基因表达对非生物胁迫产生不同响应<sup>[30]</sup>。 $nsLTP$ 转录子常受到低温<sup>[31-34]</sup>、干旱和盐<sup>[19, 33, 35-37]</sup>、高温<sup>[33, 38]</sup>或重金属<sup>[39]</sup>等的诱导表达。例如小麦 $TaLTP1$ 的表达受PEG、NaCl、双氧水、伤害胁迫诱导<sup>[40]</sup>, 芝麻的 $SiLTP2$ 与 $SiLTP4$ 受NaCl、甘露醇诱导<sup>[19]</sup>, 腊梅(*Chimonanthus praecox*)的 $nsLTP$ 基因在冷胁迫条件下表达增高<sup>[41]</sup>。这些结果表明,  $nsLTP$ 在植物对非生物胁迫的反应过程中可能起着重要作用。

另外,  $nsLTP$ 基因也能够对一些信号分子(脱落酸、水杨酸、乙烯等)<sup>[32, 33, 42, 43]</sup>以及病原菌的侵染作出响应, ABA能高水平诱导刚毛怪柳 $ThLTP1$ - $ThLTP14$ 基因的表达<sup>[44]</sup>。Jung等<sup>[45]</sup>报道辣椒在感染黄单胞菌、辣椒疫霉和炭疽病后3个 $nsLTP$ 转录子在叶、茎及果实中积累, 在致病性和非致病性细菌感染后在叶中也强烈诱导。将辣椒接种烟草花叶病毒(TMV)后 $nsLTP$ 表达也增加<sup>[46]</sup>。大麦(*Hordeum vulgare*)接种病原真菌12 h后,  $nsLTP$ 基因上调9倍<sup>[4]</sup>。

## 5 植物 $nsLTP$ 的功能

### 5.1 蜡质合成与运输

体外实验表明,  $nsLTP$ 参与蜡质合成与运输。 $nsLTP$ 蛋白可与多种疏水分子可逆地结合和转运<sup>[2]</sup>, 负责磷脂的膜间转运, 改变膜脂组成并参与膜的生物合成<sup>[33, 47]</sup>, 还可在植物细胞内负责脂质在不同细胞器之间的转运<sup>[36]</sup>。非特异性脂转运蛋白的定义最初就是因此而来。根据体外实验的结果,  $nsLTP$ 被认为可能在体内具有类似功能, 但后来的研究并不支持这一推断。Sterk等<sup>[48]</sup>研究表明,  $nsLTP$ 可以在细胞壁的蜡质合成中转运一些脂质单体到蜡质合成位点。虽然迄今为止尚无直接证据证明 $nsLTP$ 在合成转运蜡质组分中的具体作用, 但已有许多实验结果表明 $nsLTP$ 参与表皮蜡质合成: 如 $nsLTP$ 主要在表皮细胞中表达<sup>[14]</sup>。在干旱、盐、温度等逆境胁迫下,  $nsLTP$ 表达量与蜡质合成同步增加<sup>[18, 49]</sup>。

许多研究表明,  $nsLTP$ 与蜡质沉积有关。拟南芥中一个 $nsLTP$ 类似分子—糖基锚定的 $LTP1$ ( $LTPG1$ )被发现作用于表皮蜡质沉积<sup>[3, 4]</sup>。在拟南芥中,  $LTPG$ 参与角质合成, 在茎表皮中高水平表达, 该基因突变(T-DNA插入到基因的第一个内含子中)导致茎表面的蜡质积累降低<sup>[3]</sup>。Lee等<sup>[4]</sup>报道,  $LTPG$ 的突变(T-DNA插入到基因的第二个外显子中)导致蜡质组成发生变化, 但蜡质总量和角质单体没有变化。 $ltpg1$ 突变体比野生型更容易受真菌黑斑病感染。这些结果表明,  $LTPG1$ 参与表皮蜡质输出和积累。此外, 在干旱胁迫下, 烟树(*Nicotiana glauca* L. Graham)叶片积累角质蜡并伴随 $NgLTP1$ 表达增加, 间接表明了 $NgLTP1$ 参与蜡质积累<sup>[18]</sup>。

### 5.2 抗逆

许多证据表明,  $nsLTP$ 与抗逆及适应不良环境有关, 包括抗冻<sup>[50]</sup>、抗旱<sup>[35, 36, 51, 52]</sup>、耐盐<sup>[36, 52, 53]</sup>、增加机械强度和弹性、增加渗透势耐受性<sup>[36]</sup>等。例如李诚斌<sup>[53]</sup>将巴西旱稻(*Oriza sativa* cv. IAPAR 9)中的 $OsLTP1$ 超量表达转化日本晴, 在盐胁迫条件下, 转基因植株的耐盐能力比对照大为提高。将来自刚毛怪柳(*Tamarix hispida*)的 $ThLTP$ 构建原核表达载体, 对重组菌株进行NaCl和PEG胁迫, 生长曲线表明重组菌株能显著增强大肠杆菌抵抗非生物胁迫的能力;

同时用农杆菌介导的方式将 *ThLTP* 转化山新杨 (*Populus davidiana*), 过量表达 *ThLTP* 在逆境条件下对膜系统有保护作用, 减轻质膜损伤, 具有更强的抗盐胁迫能力<sup>[52]</sup>。最近 Jung 等<sup>[36]</sup>报道, 在拟南芥中超表达辣椒 *nsLTP1* 基因表现出对 NaCl 和干旱胁迫的耐受性增加。这些数据表明, *nsLTP* 对植物适应各种环境变化具有重要作用, 虽然分子机制尚不清楚, 但 *nsLTP* 基因对许多逆境因子 (NaCl、ABA、PEG、甘露醇等) 的应答反应, 表明了 *nsLTP* 基因在植物抗逆中具有重要作用。

### 5.3 抗病

体外实验证明, *nsLTP* 与抗病性有关。在一些实验中体外异源表达和纯化的 *nsLTP* 对多种植物病原菌具有抗性<sup>[47, 54, 55]</sup>。*nsLTP* 属于植物病程相关蛋白 (PRs), 受病原菌诱导表达水平增高, 能抑制病原菌的生长和诱导植物产生系统抗性<sup>[47]</sup>, 通过生物化学的方法以及超量或抑制表达的方法证明, 有些 *nsLTP* 具有协助植物抵抗病原体菌侵袭的功能<sup>[4, 36, 45, 56-58]</sup>。例如 Patkar 等<sup>[54]</sup>在水稻中诱导表达和超表达洋葱 (*Allium cepa*) *Ace-AMP1* 基因, 在不影响其他农艺性状的同时提高了对稻瘟病、纹枯病和白叶枯病的抗性。在烟草中超表达来自于小麦的 *Ltp 3F1* 可提高植株的抗真菌病害性能<sup>[47]</sup>, 在辣椒中抑制表达辣椒 *CALTP1* 及 *CALTPII* 基因, 转基因植株表现出对细菌病害易感, 在烟草中超表达 *CALTP1* 及 *CALTPII* 基因, 转基因烟草抗病性提高, 抗病性的提高程度与表达水平相关<sup>[59]</sup>。有一些研究认为 *nsLTP* 在植物抗病信号路径中具有一定作用<sup>[26, 58-64]</sup>。Maldonado 等<sup>[26]</sup>在拟南芥中发现一个 *nsLTP* (*DIR1*) 在接种番茄丁香疫霉的叶片中参与产生或传导一种至关重要的移动信号; 他们提出 *DIR1* 和一个脂质来源的分子互作以促进长距离信号的传导。超表达 *CALTP1* 及 *CALTPII* 的烟草与野生型互相嫁接的实验表明, *CALTP* 基因参与长途系统信号, 通过激活 SAR 介导的信号路径在植物病原互作中起到重要作用<sup>[59]</sup>。

### 5.4 生殖器官的发育

*nsLTP* 在植物生殖器官 (尤其是雄性生殖器官) 发育过程中具有重要作用。大多数类型 III 的 *nsLTP*, 少数类型 I 的 *nsLTP* 基因属于花药特异表达, 主要在

花药发育初期表达, 如油菜 *E2* 基因, 拟南芥 *AtLTP12* 基因<sup>[65]</sup>, 水稻 *t42* 和 *OsC6* 基因<sup>[22, 66]</sup>。Park 等<sup>[67]</sup>研究发现, 百合 (*Lilium longiflorum*) 的 *nsLTP* 是花粉粘附到柱头所必需的。最近研究表明, *LTP5* 在花粉管顶端生长和种子形成中起到一定作用<sup>[28, 68]</sup>。

### 5.5 其他功能

*nsLTP* 还涉及很多生理过程, 包括促进细胞壁的伸长<sup>[69]</sup>, 在细胞程序化死亡过程当中, 保护细胞免受蛋白酶水解<sup>[25]</sup>, *nsLTP* 还可参与体细胞胚胎发生<sup>[61]</sup>, 防止细胞融合<sup>[70]</sup>, 以及调节果胶降解活性<sup>[71]</sup>。蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula*) 的 *N5* 基因编码的 *nsLTP* 参与蒺藜苜蓿和固氮根瘤菌之间的协同共生<sup>[72]</sup>。另外, *nsLTP* 家族的几个成员还被确定为食物和花粉中主要的过敏原<sup>[73-75]</sup>。

## 6 植物 *nsLTP* 的进化

过去认为 *nsLTP* 基因家族仅存在于种子植物中, 后来 Edstam 等<sup>[11]</sup>发现 *nsLTP* 基因的转录子在苔藓及其他陆地植物中很丰富, 但在藻类中均不存在。主要的 *nsLTP* 亚家族在开花植物中有 4 种, 在苔藓中只有两种。随着陆地植物的进化, 其余的亚家族在之后产生。这些结果表明 *nsLTP* 家族的进化发生在植物征服陆地之后。

通过对禾本科植物 *nsLTP* 基因共表达网络分析推断, *nsLTP* 基因的功能多样性并不是随机的, 而是朝着特定的生物学过程定向进化<sup>[76]</sup>。Wang 等<sup>[77]</sup>比较了水稻和高粱 *nsLTP* 成员的组织特异表达模式, 发现在高选择压下, 通过近端启动子序列的同质化来保存关键的表达模体, 在相对低的选择压下, 产生广泛调控的亚功能化而导致表达水平上的功能分化。Wang 等<sup>[78]</sup>研究小麦的表达谱发现, 同种类型各 *TaLTP* 基因对非生物胁迫有高度相似的反应, 但也观察到每组不同基因间具有不同的表达模式, 还发现同种类型各 *TaLTP* 基因启动子在植物发育过程中驱动的表达模式既有重叠的部分也有差异, 这些结果表明在进化过程中不同生理学功能的亚功能化, 是由调节区退化性突变完成的。

## 7 展望

*NsLTP* 广泛存在于植物中, 大部分的 *nsLTP* 是基



于cDNA或基因序列同源被推断鉴定出来的, 只有少数几个基因通过体外实验证明具有脂质转运或结合功能。在植物体内的功能研究较少, 主要通过基因表达, 组织定位等来推断基因功能, 对于在植物体内nsLTP的配体是什么物质, 是否能在体内结合运输脂类尚无定论, 虽然推测nsLTP可能参与多种生理过程, 但对具体的生物学功能还不清楚。所以, 对nsLTP基因在植物体内功能的研究已经和将会成为研究的趋势和热点。基于拟南芥、水稻基因组序列信息进行的nsLTP基因的全面鉴定与分类极大地拓展了研究该家族成员功能的视野<sup>[10]</sup>。其他物种基因组测序工程的推进, 将促进对nsLTP基因家族的全面研究, 包括nsLTP特定的生物学功能或功能结构域的确定。此外, 虽有大量关于LTP的文献, 但仅仅一小部分是关于nsLTP的表达模式的, 且大多研究调查了仅仅一个或少数nsLTP基因, 对于nsLTP基因家族成员在不同植物组织中不同胁迫条件下的表达只有少量的数据, 而且, nsLTP在一个时间段内的连续动态表达研究还属空白。今后, 对各类型的nsLTP表达模式进行全面研究将为进一步确定nsLTP基因功能奠定基础。

#### 参考文献(References):

- [1] Douliez JP, Michon T, Elmorjani K, Marion D. Mini review: structure, biological and technological functions of lipid transfer proteins and indolines, the major lipid binding proteins from cereal kernels. *J Cereal Sci*, 2000, 32(1): 1–20. DOI
- [2] Hamilton JA. Fatty acid interactions with proteins: what X-ray crystal and NMR solution structures tell us. *Prog Lipid Res*, 2004, 43(3): 177–199. DOI
- [3] DeBono A, Yeats TH, Rose JKC, Bird D, Jetter R, Kunst L, Samuels L. *Arabidopsis* LTPG is a glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein required for export of lipids to the plant surface. *Plant Cell*, 2009, 21(4): 1230–1238. DOI
- [4] Lee SB, Go YS, Bae HJ, Park JH, Cho SH, Cho HJ, Lee DS, Park OK, Hwang I, Suh MC. 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 Physiol*, 2009, 150(1): 42–54. DOI
- [5] Pasquato N, Berni R, Folli C, Folloni S, Cianci M, Pantano S, Helliwell JR, Zanotti G. Crystal structure of peach Pru p 3, the prototypic member of the family of plant non-specific lipid transfer protein pan-allergens. *J Mol Biol*, 2006, 356(3): 684–694. DOI
- [6] Hoh F, Pons JL, Gautier MF, de Lamotte F, Dumas C. Structure of a liganded type 2 non-specific lipid-transfer protein from wheat and the molecular basis of lipid binding. *Acta Crystallogr D*, 2005, 61(4): 397–406. DOI
- [7] Castro MS, Gerhardt IR, Orrù S, Pucci P, Bloch Jr C. Purification and characterization of a small (7.3 kDa) putative lipid transfer protein from maize seeds. *J Chromatogr B*, 2003, 794(1): 109–114. DOI
- [8] Lauga B, Charbonnel-Campaa L, Combes D. Characterization of MZm3-3, a *Zea mays* tapetum-specific transcript. *Plant Sci*, 2000, 157(1): 65–75. DOI
- [9] Boutrot F, Guirao A, Alary R, Joudrier P, Gautier MF. Wheat non-specific lipid transfer protein genes display a complex pattern of expression in developing seeds. *Biochim Biophys Acta Gene Struct Exp*, 2005, 1730(2): 114–125. DOI
- [10] Boutrot F, Chantret N, Gautier MF. Genome-wide analysis of the rice and Arabidopsis non-specific lipid transfer protein (nsLtp) gene families and identification of wheat nsLtp genes by EST data mining. *BMC Genomics*, 2008, 9(1): 86–105. DOI
- [11] Edstam MM, Viitanen L, Salminen TA, Edqvist J. Evolutionary history of the non-specific lipid transfer proteins. *Mol Plant*, 2011, 4(6): 947–964. DOI
- [12] Liu KD, Jiang H, Moore SL, Watkins CB, Jahn MM. Isolation and characterization of a lipid transfer protein expressed in ripening fruit of *Capsicum chinense*. *Planta*, 2006, 223(4): 672–683. DOI
- [13] Feng JX, Ji SJ, Shi YH, Wei G, Zhu YX. Analysis of five differentially expressed gene families in fast elongating cotton fiber. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2004, 36(1): 51–57. DOI
- [14] Arondel V, Vergnolle C, Cantrel C and Kader JC. Lipid transfer proteins are encoded by a small multigene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*, 2000, 157(1): 1–12. DOI
- [15] Boutrot F, Meynard D, Guiderdoni E, Joudrier P, Gautier MF. The *Triticum aestivum* non-specific lipid transfer protein (*TaLtp*) gene family: comparative promoter activity of six *TaLtp* genes in transgenic rice. *Planta*, 2007, 225(4): 843–862. DOI
- [16] Guiderdoni E, Cordero MJ, Vignols F, Garcia-Garrido JM, Lescot M, Tharreau D, Meynard D, Ferrière N, Notteghem J, Delseny M. Inducibility by pathogen attack and developmental regulation of the rice *Ltp1* gene. *Plant Mol Biol*,

- 2002, 49(6): 683–699. [DOI](#)
- [17] Buhtz A, Kolasa A, Arlt K, Walz C, Kehr J. Xylem sap protein composition is conserved among different plant species. *Planta*, 2004, 219(4): 610–618. [DOI](#)
- [18] Cameron KD, Teece MA, Smart LB. Increased accumulation of cuticular wax and expression of lipid transfer protein in response to periodic drying events in leaves of tree tobacco. *Plant Physiol*, 2006, 140(1): 176–183. [DOI](#)
- [19] Choi AM, Lee SB, Cho SH, Hwang I, Hur CG, Suh MC. Isolation and characterization of multiple abundant lipid transfer protein isoforms in developing sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. *Plant Physiol Biochem*, 2008, 46(2): 127–139. [DOI](#)
- [20] Panikashvili D, Shi JX, Bocobza S, Franke RB, Schreiber L, Aharoni A. The *Arabidopsis* DSO/ABCG11 transporter affects cutin metabolism in reproductive organs and suberin in roots. *Mol Plant*, 2010, 3(3): 563–575. [DOI](#)
- [21] Zhang D, Wengier D, Shuai B, Gui CP, Muschietti J, McCormick S, Tang WH. The pollen receptor kinase LePRK2 mediates growth-promoting signals and positively regulates pollen germination and tube growth. *Plant Physiol*, 2008, 148(3): 1368–1379. [DOI](#)
- [22] Zhang DS, Liang WQ, Yin CS, Zong J, Gu FW, Zhang DB. OsC6, encoding a lipid transfer protein, is required for postmeiotic anther development in rice. *Plant Physiol*, 2010, 154(1): 149–162. [DOI](#)
- [23] 刘志勇, 叶雪凌, 李承斌, 冯辉. 大白菜核雄性不育相关基因 *BrLTP1* 的克隆及特征分析. *园艺学报*, 2011, 38(2): 343–352. [DOI](#)
- [24] Edqvist J, Farbos I. Characterization of germination-specific lipid transfer proteins from *Euphorbia lagascae*. *Planta*, 2002, 215(1): 41–50. [DOI](#)
- [25] Eklund DM, Edqvist J. Localization of nonspecific lipid transfer proteins correlate with programmed cell death responses during endosperm degradation in *Euphorbia lagascae* seedlings. *Plant Physiol*, 2003, 132(3): 1249–12591. [DOI](#)
- [26] Maldonado AM, Doerner P, Dixon RA, Lamb CJ, Cameron RK. A putative lipid transfer protein involved in systemic resistance signalling in *Arabidopsis*. *Nature*, 2002, 419(6905): 399–403. [DOI](#)
- [27] Jang CS, Johnson JW, Seo YW. Differential expression of *TaLTP3* and *TaCOMT1* induced by Hessian fly larval infestation in a wheat line possessing *H21* resistance gene. *Plant Sci*, 2005, 168(5): 1319–1326. [DOI](#)
- [28] Chae K, Kieslich C, Morikis D, Kim SC, Lord EM. A gain-of-function mutation of *Arabidopsis* lipid transfer protein 5 disturbs pollen tube tip growth and fertilization. *Plant Cell*, 2009, 21(12): 3902–3914. [DOI](#)
- [29] Chae K, Gonong BJ, Kim SC, Kieslich CA, Morikis D, Balasubramanian S, Lord EM. A multifaceted study of stigma/style cysteine-rich adhesion (SCA)-like *Arabidopsis* lipid transfer proteins (LTPs) suggests diversified roles for these LTPs in plant growth and reproduction. *J Exp Bot*, 2010, 61(15): 4277–4290. [DOI](#)
- [30] Jang CS, Kim DS, Bu SY, Kim JB, Lee SS, Kim JY, Johnson JW, Seo YW. Isolation and characterization of lipid transfer protein (*LTP*) genes from a wheat-rye translocation line. *Plant Cell Rep*, 2002, 20(10): 961–966. [DOI](#)
- [31] Gaudet DA, Laroche A, Frick M, Huel R, Puchalski B. Cold induced expression of plant defensin and lipid transfer protein transcripts in winter wheat. *Physiol Plantarum*, 2003, 117(2): 195–205. [DOI](#)
- [32] Yubero-Serrano E-M, Moyano E, Medina-Escobar N, Muñoz-Blanco J, Caballero J-L. Identification of a strawberry gene encoding a non-specific lipid transfer protein that responds to ABA, wounding and cold stress. *J Exp Bot*, 2003, 54(389): 1865–1877. [DOI](#)
- [33] Wu GH, Robertson AJ, Liu XJ, Zheng P, Wilen RW, Nesbitt NT, Gusta LV. A lipid transfer protein gene *BG-14* is differentially regulated by abiotic stress, ABA, anisomycin, and sphingosine in brome grass (*Bromus inermis*). *J Plant Physiol*, 2004, 161(4): 449–458. [DOI](#)
- [34] Hwang EW, Kim KA, Park SC, Jeong MJ, Byun MO, Kwon HB. Expression profiles of hot pepper (*Capsicum annuum*) genes under cold stress conditions. *J Biosci*, 2005, 30(5): 657–667. [DOI](#)
- [35] Liu KH, Lin TY. Cloning and characterization of two novel lipid transfer protein I genes in *Vigna radiate*. *DNA Seq*, 2003, 14(6): 420–426. [DOI](#)
- [36] Jung HW, Kim KD, Hwang BK. Identification of pathogen-responsive regions in the promoter of a pepper lipid transfer protein gene (*CALTPI*) and the enhanced resistance of the *CALTPI* transgenic *Arabidopsis* against pathogen and environmental stresses. *Planta*, 2005, 221(1): 361–373. [DOI](#)
- [37] Gonorazky AG, Regente MC, de la Canal L. Stress induction and antimicrobial properties of a lipid transfer protein in germinating sunflower seeds. *J Plant Physiol*, 2005, 162(6): 618–624. [DOI](#)
- [38] Oshino T, Abiko M, Saito R, Ichiishi E, Endo M, Kawagishi-Kobayashi M, Higashitani A. Premature progression of anther early developmental programs accompanied by

- comprehensive alterations in transcription during high-temperature injury in barley plants. *Mol Genet Genomics*, 2007, 278(1): 31–42. [DOI](#)
- [39] Gorjanović S, Sužnjević D, Beljanski M, Hranisavljević J. Barley lipid-transfer protein as heavy metal scavenger. *Environ Chem Lett*, 2004, 2(3): 113–116. [DOI](#)
- [40] Jang CS, Lee HJ, Chang SJ, Seo YW. Expression and promoter analysis of the *TaLTP1* gene induced by drought and salt stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Sci*, 2004, 167(5): 995–1001. [DOI](#)
- [41] 郑明. 植物非特异性脂转移蛋白基因的多抗性功能初步研究[学位论文]. 长春: 吉林大学, 2009. [DOI](#)
- [42] Federico ML, Kaeppler HF, Skadsen RW. The complex developmental expression of a novel stress-responsive barley *Ltp* gene is determined by a shortened promoter sequence. *Plant Mol Biol*, 2005, 57(1): 35–51. [DOI](#)
- [43] Maghuly F, Borroto-Fernandez EG, Khan MA. Expression of calmodulin and lipid transfer protein genes in *Prunus incisa* × *serrula* under different stress conditions. *Tree Physiol*, 2009, 29(3): 437–444. [DOI](#)
- [44] Wang C, Yang CP, Gao CQ, Wang YC. Cloning and expression analysis of 14 lipid transfer protein genes from *Tamarix hispida* responding to different abiotic stresses. *Tree Physiol*, 29 (12): 1607–1619. [DOI](#)
- [45] Jung HW, Kim W, Hwang BK. Three pathogen-inducible genes encoding lipid transfer protein from pepper are differentially activated by pathogens, abiotic, and environmental stresses. *Plant Cell Environ*, 2003, 26(6): 915–928. [DOI](#)
- [46] Park CJ, Shin R, Park JM, Lee GJ, You JS, Paek KH. Induction of pepper cDNA encoding a lipid transfer protein during the resistance response to tobacco mosaic virus. *Plant Mol Biol*, 2002, 48(3): 243–254. [DOI](#)
- [47] Kirubakaran SI, Begum SM, Ulaganathan K, Sakthivel N. Characterization of a new antifungal lipid transfer protein from wheat. *Plant Physiol Biochem*, 2008, 46(10): 918–927. [DOI](#)
- [48] Sterk P, Booij H, Schellekens GA, van Kammen A, de Vries SC. Cell-specific expression of the carrot EP2 lipid transfer protein gene. *Plant Cell*, 1991, 3(9): 907–921. [DOI](#)
- [49] Kunst L, Samuels AL. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Prog Lipid Res*, 2003, 42(1): 51–80. [DOI](#)
- [50] Hinch D K. Cryoprotectin: a plant lipid - transfer protein homologue that stabilizes membranes during freezing. *Phil Trans R Soc Lond B*, 2002, 357(1423): 909–916. [DOI](#)
- [51] Riederer M, Schreiber L. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *J Exp Bot*, 2001, 52(363): 2023–2032. [DOI](#)
- [52] 李健. 转脂质转运蛋白基因山新杨抗逆性分析[学位论文]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2010. [DOI](#)
- [53] 李诚斌. 水稻*OsLTP1* 基因的克隆、表达分析及功能鉴定[学位论文]. 南宁: 广西大学, 2004. [DOI](#)
- [54] Patkar RN, Chattoo BB. Transgenic *indica* rice expressing nsLTP like protein shows enhanced resistance to both fungal and bacterial pathogens. *Mol Breed*, 2006, 17(2): 159–171. [DOI](#)
- [55] 唐征, 杨凯, 冯永庆, 曹庆芹, 沈元月, 秦岭. 板栗脂质转运蛋白基因的克隆及表达. *林业科学*, 2010, 46(4): 43–48. [DOI](#)
- [56] Gomes E, Sagot E, Gaillard C, Laquitaine L, Poinssot B, Sanejouand YH, Delrop S, Coutos-Thévenot P. Nonspecific lipid transfer protein genes expression in grape (*Vitis* sp.) cells in response to fungal elicitor treatments. *Mol Plant Microbe Interact*, 2003, 16(5): 456–464. [DOI](#)
- [57] Roy-Barman S, Sautter C, Chattoo BB. Expression of the lipid transfer protein Ace-AMP1 in transgenic wheat enhances antifungal activity and defense responses. *Transgenic Res*, 2006, 15(4): 435–446. [DOI](#)
- [58] de Oliveira Carvalho A, Gomes VM. Role of plant lipid transfer proteins in plant cell physiology: a concise review. *Peptides*, 2007, 28(5): 1144–1153. [DOI](#)
- [59] Sarowar S, Kim YJ, Kim KD, Hwang BK, Ok SH, Shin JS. Overexpression of lipid transfer protein (*LTP*) genes enhances resistance to plant pathogens and LTP functions in long - distance systemic signaling in tobacco. *Plant Cell Rep*, 2009, 28(3): 419–4271. [DOI](#)
- [60] Buhot N, Doulliez J-P, Jacquemard A, Marion D, Tran V, Maume BF, Milat ML, Ponchet M, Mikès V, Kader JC, Blein JP. A lipid transfer protein binds to a receptor involved in the control of plant defence responses. *FEBS Lett*, 2001, 509(1): 27–30. [DOI](#)
- [61] Blein JP, Coutos-Thévenot P, Marion D, Ponchet M. From elicitors to lipid-transfer proteins: a new insight in cell signalling involved in plant defence mechanisms. *Trends Plant Sci*, 2002, 7(7): 293–296. [DOI](#)
- [62] Buhot N, Gomes E, Milat ML, Ponchet M, Marion D, Lequeu J, Delrot S, Coutos-Thévenot P, Blein JP. Modulation of the biological activity of a tobacco LTP1 by lipid complexation. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(11): 5047–5052. [DOI](#)
- [63] Lascombe MB, Bakan B, Buhot N, Marion D, Blein JP, Larue V, Lamb C, Prange T. The structure of “defective in induced resistance” protein of *Arabidopsis thaliana*, DIR1, reveals a new type of lipid transfer protein. *Prot Sci*, 2008, 17(9): 1522–1530. [DOI](#)
- [64] Jung HW, Tschaplinski TJ, Wang L, Glazebrook J, Greenberg JT. Priming in systemic plant immunity. *Science*, 2009, 324(5923): 89–91. [DOI](#)

- [65] Ariizumi T, Amagai M, Shibata D, Hatakeyama K, Watanabe M, Toriyama K. Comparative study of promoter activity of three anther-specific genes encoding lipid transfer protein, xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase and polygalacturonase in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep*, 2002, 21(1): 90–96. [DOI](#)
- [66] Imin N, Kerim T, Weinman JJ, Rolfe BG. Low temperature treatment at the young microspore stage induces protein changes in rice anthers. *Mol Cell Proteomics*, 2006, 5(2): 274–292. [DOI](#)
- [67] Park SY, Jauh GY, Mollet JC, Nothnagel EA, Walling LL, Lord EM. A lipid transfer-like protein is necessary for lily pollen tube adhesion to an *in vitro* stylar matrix. *Plant Cell*, 2000, 12(1): 151–164. [DOI](#)
- [68] Chae K, Zhang KL, Zhang L, Morikis D, Kim ST, Mollet JC, de la Rosa N, Tan K, Lord EM. Two SCA (stigma/ style cysteine-rich adhesin) isoforms show structural differences that correlate with their levels of *in vitro* pollen tube adhesion activity. *J Biol Chem*, 2007, 282(46): 33845–33858. [DOI](#)
- [69] Nieuwland J, Feron R, Huisman BAH, Fasolino A, Hilbers CW, Derksen J, Mariani C. Lipid transfer proteins enhance cell wall extension in tobacco. *Plant Cell*, 2005, 17(7): 2009–2019. [DOI](#)
- [70] Sieber P, Schorderet M, Ryser U, Buchala A, Kolattukudy P, Metraux JP, Nawrath C. Transgenic *Arabidopsis* plants expressing a fungal cutinase show alterations in the structure and properties of the cuticle and postgenital organ fusions. *Plant Cell*, 2000, 12(5): 721–737. [DOI](#)
- [71] Tomassen MMM, Barrett DM, Valk HCPM, Woltering EJ. Isolation and characterization of a tomato non-specific lipid transfer protein involved in polygalacturonase-mediated pectin degradation. *J Exp Bot*, 2007, 58(5): 1151–1160. [DOI](#)
- [72] Pii Y, Astegno A, Peroni E, Zaccardelli M, Pandolfini T, Crimi M. The *Medicago truncatula* N5 gene encoding a root-specific lipid transfer protein is required for the symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti*. *Mol Plant Microbe In*, 2009, 22(12): 1577–1587. [DOI](#)
- [73] Salcedo G, Sanchez-Monge R, Diaz-Perales A, Garcia-Casado G, Barber D. Plant non-specific lipid transfer proteins as food and pollen allergens. *Clin Exp Allergy*, 2004, 34(9): 1336–1341. [DOI](#)
- [74] Lauer I, Dueringer N, Pokoj S, Rehm S, Zoccatelli G, Reese G, Miguel-Moncin MS, Cistero-Bahima A, Enrique E, Lidholm J, Vieths S, Scheurer S. The non-specific lipid transfer protein, Ara h 9, is an important allergen in peanut. *Clin Exp Allergy*, 2009, 39(9): 1427–1437. [DOI](#)
- [75] Zoccatelli G, Pokoj S, Foetisch K, Bartra J, Valero A, Del Mar San Miguel-Moncin M, Vieths S, Scheurer S. Identification and characterization of the major allergen of green bean (*Phaseolus vulgaris*) as a non-specific lipid transfer protein (Pha v 3). *Mol Immunol*, 2010, 47(7–8): 1561–1568. [DOI](#)
- [76] Jang CS, Yim WC, Moon JC, Hung JH, Lee TG, Lim SD, Cho SH, Lee KK, Kim W, Seo YW, Lee BM. Evolution of non-specific lipid transfer protein (*nsLTP*) genes in the Poaceae family: their duplication and diversity. *Mol Genet Genomics*, 2008, 279(5): 481–497. [DOI](#)
- [77] Wang HW, Hwang SG, Karuppanapandian T, Liu AH, Kim W, Jang CS. Insight into the molecular evolution of non-specific lipid transfer proteins via comparative analysis between rice and sorghum. *DNA Res*, 2012, 19(2): 179–194. [DOI](#)
- [78] Wang HW, Kwon HJ, Yim WC, Lim SD, Moon JC, Lee BM, Seo YW, Kim W, Jang CS. Expressional diversity of wheat *nsLTP* genes: evidence of subfunctionalization via *cis*-regulatory divergence. *Genetica*, 2010, 138(8): 843–852. [DOI](#)