



2017 漆酶内容 相关读书报告

《Laccase: new functions for an old enzyme》 (《漆酶：旧酶的新功能》)

报告人：李岚宇
2017年8月19日

相关 文献



PERGAMON

Phytochemistry 60 (2002) 551–565

PHYTOCHEMISTRY

www.elsevier.com/locate/phytochem

Review

Laccase: new functions for an old enzyme

Alfred M. Mayer^{a,*}, Richard C. Staples^b

^aDepartment of Botany, The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem 91904, Israel

^bBoyce Thompson Institute, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA

Received 8 January 2002; received in revised form 2 May 2002

《Phytochemistry “Review”》（《植物化学“评论”》）

ISSN	期刊名	影响因子	中科院分区	大类学科	小类学科	SCI/SCIE
0031-9422	PHYTOCHEMISTRY PHYTOCHEMISTRY	3.205	3区	生物	生化与分子生物学	SCI SCIE
1874-3900	Phytochemistry Letters PHYTOCHEM LETT	1.418	4区	生物	生化与分子生物学	SCIE
1568-7767	PHYTOCHEMISTRY REVIEWS PHYTOCHEM REV	3.393	3区	生物	植物科学	SCIE

之所以在**Review**上打上引号是因为在确定文献基本信息时，发现有三个带着“植物化学”标签的文献，不同的是第一个是英国发行的，后两个是荷兰发行的。

目录

CONTENTS

虽然年代久远，但是文章内容详实，是现在很多像我一样刚入门研究漆酶的人的“启蒙”读物。

01

漆酶的简介

02

漆酶的发生与表征

03

漆酶VS木质素

04

漆酶的毒理性

05

漆酶的相关应用

01

漆酶简介

(1) 历史悠久的漆酶

(2) 人丁兴旺的漆酶

漆酶的简介--- (1) 历史悠久的漆酶

※生漆(天然漆), 俗称“土漆”, 又称“国漆”或“大漆”它是从漆树上采割的乳白色胶状液体, 一旦接触空气后转为褐色, 数小时后表面干燥硬化而生成漆皮。



发现

1883年, 日本人吉田在研究生漆液成份时发现这种酶成份, 但当时他误为淀粉酶物质(diastatic matter)



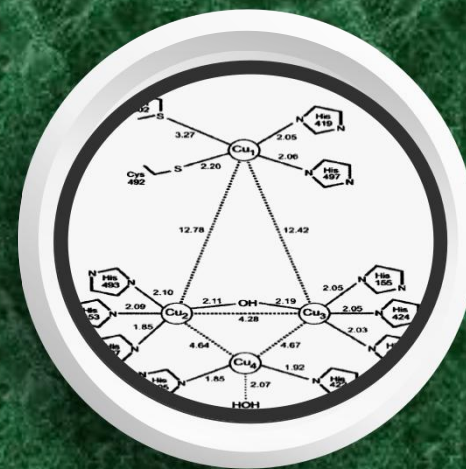
研究

1898年, 法国人 Bertrand 在研究越南产漆液的时候, 首次提出了漆酶(laccase)的概念并沿用至今



我国

杜予民(著名生物资源化学家)等对漆酶及漆树液全成份的分离纯化作了很好的工作



他国

Morpurgo(意大利), Solomon(美国)等对漆酶铜原子中心的研究作出了各自的贡献。



漆酶

植物漆酶

漆酶由于首次从日本漆树的汁液中分离而得，对漆酶的研究首先就是从漆树开始的。但**高等植物漆酶**的报道**相对较少**。在我国科学家和世界同行的共同努力下，我们发现已完成测序水稻基因组中也含有数个漆酶基因。

微生物漆酶

与较少的关于植物漆酶的报告相反，微生物（尤其是真菌）中漆酶发生的调查似乎更为多见。微生物漆酶，包括真菌漆酶和细菌漆酶，已经被大量的研究和报道，尤其是**真菌漆酶**，据估计，已经报道产漆酶真菌不下于**1000种**。

动物漆酶

相对来讲，动物体中发现的漆酶很少。目前有报道的有猪肾、麻蝇、烟草天蛾、绿头苍蝇、蚊子和双翅目的迁移类蝗虫，昆虫等不过对于此类漆酶还是要小心对待，因为很有可能是一些具有类似催化性能的**多酚氧化酶**，而不是漆酶。

漆酶本身分子量超过12万，因而结构异常复杂，不同来源的漆酶异形体相当多。

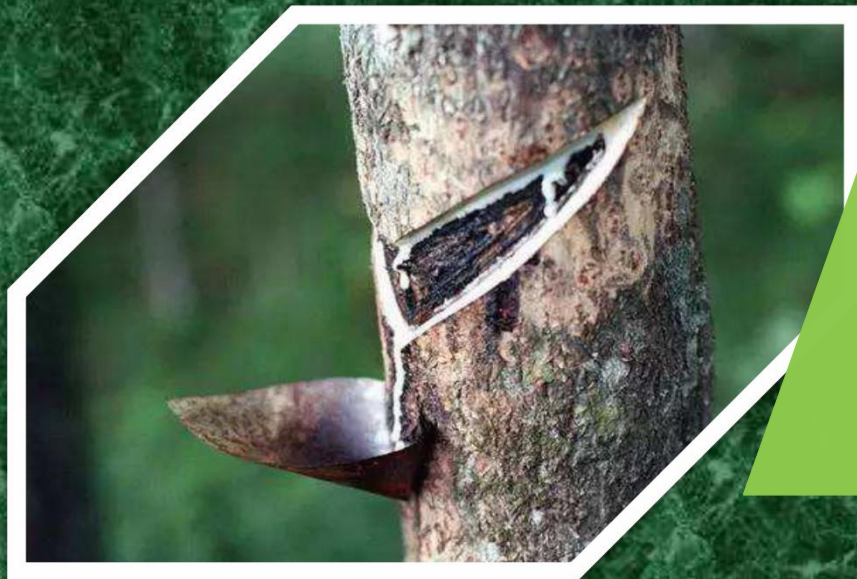
02

漆酶的发生与表征

(1) 高等植物中的漆酶

(2) 微生物中的漆酶

(3) 漆酶的催化作用



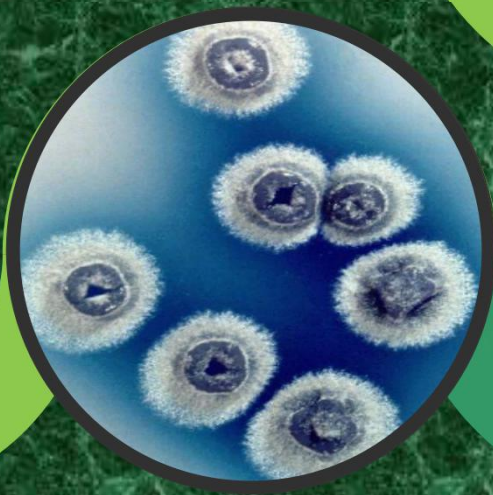
在日本漆树分泌的汁液中,有60%~65%的漆酚、6.5%~10%的糖分、20%~25%的水,漆酶所占的比重可达0.1%~1%。漆树的汁液(主要成分是漆酚,毒性较大)经常被用来研究植物对真菌和昆虫的防卫反应,漆酶氧化漆酚形成高聚物对汁液的固化起了非常重要的作用。

除了漆树科植物外,在拟南芥、水稻、火炬松、黄杨等物种也有产生漆酶的报道。在百叶菊叶子和茶叶绿色芽中存在漆酶以及欧亚槭树的细胞培养物产生和分泌漆酶,其他的高等植物物种似乎也含有漆酶,尽管它们的表征不太令人信服。



原核生物和真核生物同样具有生产漆酶的能力，包括很多革兰氏阳性及阴性细菌；**细菌漆酶**发现较晚，但却具有真菌漆酶无法比拟的优势，如**热稳定性好、不需糖基化、酶活性的最适pH范围广及Cu²⁺抗性**。

放线菌 (*Streptomyces cyaneus* CECT3335) 所产的漆酶与真菌漆酶性质相似;枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 中的CotA蛋白表现出了漆酶的活性和特征。



担子菌(Basidiomycota)担子菌亚门的白腐真菌是自然界中漆酶的主要生产者，大部分的白腐真菌分泌的漆酶为胞外漆酶。

多孔菌(Polyporus)子囊菌(Ascomycotina)脉孢菌(*Neurospora*)、柄孢壳菌 (*Podospora*)和曲霉菌 (*Aspergillus*)等属种同样可以生产漆酶。

漆酶的发生与表征--- (3) 漆酶的催化作用 (表征)

※由于分子中糖基的差异, 漆酶的分子量随来源不同会有很大差异, 甚至来源相同的漆酶分子量也会不同。

漆酶是一种**糖蛋白**, 肽链一般由500个左右氨基酸组成, 糖配基占整个分子的10%~45%。

漆酶的**抑制剂大多是铜离子螯合剂**, 有卤化物、半胱氨酸、EDTA和SDS等, 离子强度的不同也会影响酶的活力。不同来源的漆酶最适pH范围不同。

一些漆酶能高效地氧化抗坏血酸, 另外一些真菌漆酶能**催化木质素**和甲氧基酚酸的脱甲基反应。

能催化许多化合物的氧化反应, 底物比较广泛, 包括许多与**对二酚**结构类似的化合物, 如**氨基苯酚, 邻、对苯二酚, 多酚, 多胺, 木质素和芳基二胺**等。

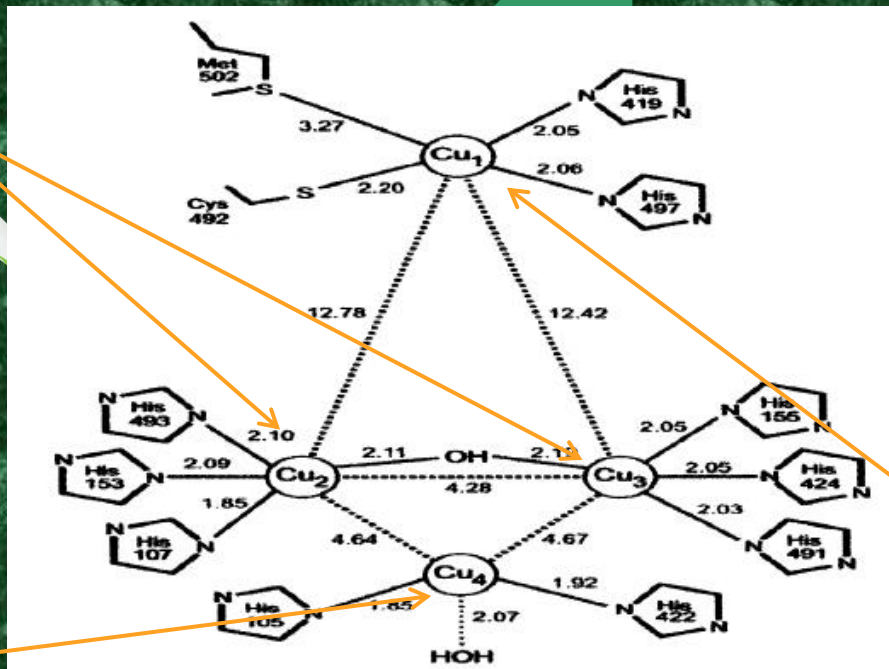
Coriolus hirsutus (毛革盖菌) pH 3.5 ~ 4.5,
Schinus molle (加州胡椒树) pH 6.2,
Rhizoctonia praticola (丝核菌) pH 6.0 ~ 7.0,
Coriolus versicolor (采绒革盖菌) pH 4.0 ~ 5.0。

必须注意的是**过氧化物酶**和其他一些**多酚氧化酶**也可以催化类似的反应, 但**这些酶不会利用分子氧作为第二底物**。

※因此测定催化反应中氧吸收速率可以作为漆酶活性的可靠证据。

第三类铜离子
(Cu3a, Cu3b)与三个组
氨酸分子和一个氢氧化
物分子形成受阻四面体
几何构型

通过对漆酶蛋白质晶体结构的研究,
发现漆酶具有3个铜离子结合位点
(T1, T2, T3), **共结合有 4 个铜离子**, 根
据它们的氧化还原电势、光学和磁学
特征划分为三种类型。



尽管漆酶的氨基酸序列
同源性差异很大,一般
不同来源的漆酶同源性
低于 50%,但其催化位
点序列还是非常保守的。

第二类铜离子(Cu2)是由两分子的咪唑
和一分子的水配位形成松散的扭曲四面
体几何构型,所以**很容易除去,有氧条件
下则不易除去。**

第一类铜离子(Cu1)**能与包括水在
内的溶剂作用**,各种铜离子络合剂
能将其除去导致酶的活性大大减
少,在X射线研究漆酶蛋白晶体结
构时常用汞取代Cu1。

03

漆酶VS木质素

(1) 木质素酶一览

(2) 漆酶对木质素的应用

木质素酶包括**木质素过氧化物酶**、**锰过氧化物酶**及**漆酶**.这类酶能够降解木质素及多环芳烃等有机化合物

木质素过氧化物酶(LiP)是木质素的生物降解过程中的主要木质素降解酶类。

锰过氧化物酶 (MnP) 是一种含铁血红素的糖基化过氧化物酶, 在 Mn^{2+} 和 H_2O_2 存在时, MnP能氧化分解芳香环多聚体, 被认为是木质素降解的关键酶之一。

漆酶 (Laccase) 是一种含铜的多酚氧化酶可以使漆酶催化邻对苯二酚、多酚、对苯二胺、抗坏血酸等物质, 同时将分子氧还原成水。

木质素降解





环境

造纸黑液：造纸工业的碱法(烧碱法和硫酸盐法)制浆工艺产生的废水中含有**大量的木质素**，呈黑褐色，故称作黑液。黑液中含有大量的悬浮性固体、有机污染物和有毒物质，直接排放到水体中会造成严重的污染。

香烟

香烟质量提升：烟草废弃物（叶柄，碎叶渣等**富含木质素**）液态发酵香料生产，并将产物香料添加入香烟中提升其香气及感官评价并降低有害物质产生。



04

漆酶的毒理性

(1) 漆酶在人类病原菌中的毒理性

(2) 漆酶与植物相关的毒理性

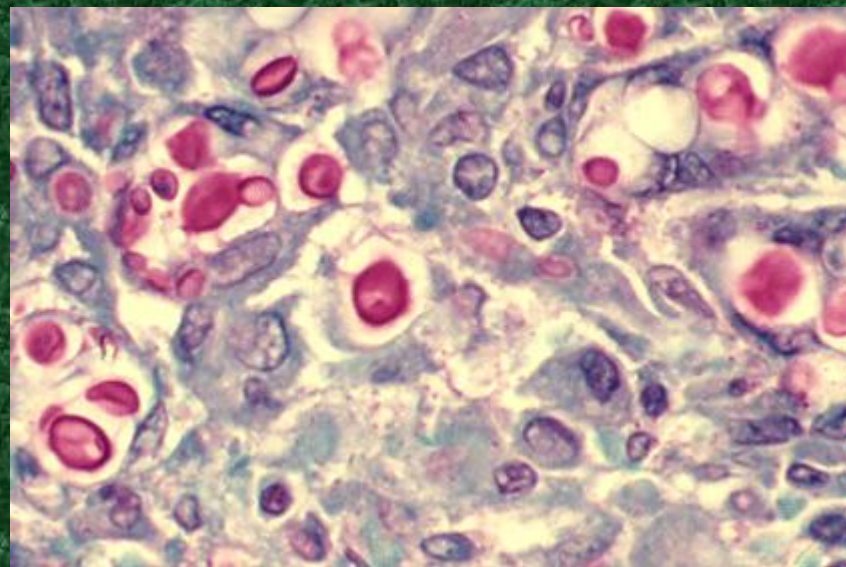
(3) 漆酶调控真菌毒力的方式

新生隐球菌（机会致病菌）

新生隐球菌是一种包在荚膜内的真菌，在免疫功能低下的患者，特别是感染人免疫缺陷病毒（如HIV）的人群中已经成为威胁生命的感染。在一篇综述中描述了漆酶及其产品黑色素作为新生隐球菌的重要毒力因子。推测，在人类患者中，黑色素可以通过作为抗氧化剂或与细胞壁表面相互作用来保护新生隐球菌，从而抵抗许多细胞免疫细胞的保护。漆酶的铁氧化酶活性可以通过将吞噬体铁氧化成Fe（III）从肺泡巨噬细胞中保护新生隐球菌。

新生隐球菌是免疫功能低下和免疫功能不良患者致命性感染的唯一严重病原体。

机会致病菌：正常菌群与宿主之间、正常菌群之间相互制约，维持着良好的生存平衡。在一定条件下这种平衡关系被打破，原来不致病的正常菌群中的细菌可成为致病菌，称这类细菌为机会性致病菌，也称条件致病菌。

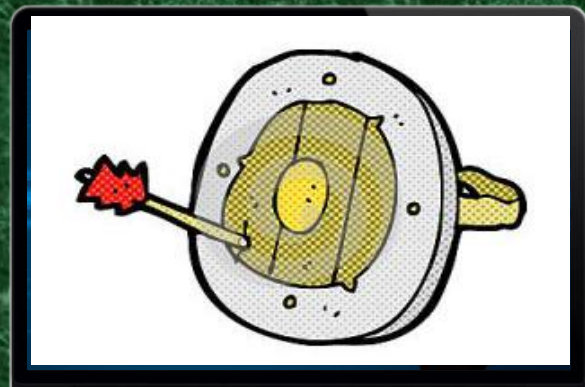


漆酶是一种多酚氧化酶，其底物的全部范围是未知的。



植物防御

漆酶在微生物感染之前存在于植物组织中的抗生素化合物和在感染期间由预先形成的成分产生的抗生素化合物。



真菌抵抗

真菌能够抵抗具有不同结构的植物防御化合物的毒性效应，例如茚，异黄酮，香豆素和倍半萜烯。灰霉菌分泌的漆酶作为一种**解毒酶**，以保护真菌免受毒性代谢物的影响，并**减少宿主的木质素活性**。



毒理应用

白藜芦醇可以作为由漆酶转化成抑制真菌的化合物的杀真菌剂。

漆酶的表达受到感染真菌病原体的真菌病毒的存在调节，并且可以上调和下调真菌毒力。

上调

并非所有的真菌病毒都能减少真菌宿主的毒力。报告显示dsRNA可以上调人参根腐病的致病真菌根赤壳属丛赤壳菌的真菌毒力。固化测试显示，6.0-kbp dsRNA的存在与真菌中的高毒力，孢子形成，漆酶活性和色素沉着相关的事实数据。当dsRNA通过菌丝吻合再次引入固化菌株时，毒力恢复。

生物化学分析表明dsRNA可能通过涉及cAMP（环磷酸腺苷）依赖性蛋白激酶和蛋白激酶C的信号转导途径调节真菌毒力。

下调

*C.parasitica*的菌株在自然界中发生已经以降低的毒力（低毒素）用于控制疾病进展的水平，菌株已被证明是用dsRNA真菌病毒感染的。转化了一种没有病毒dsRNA的*C.parasitica*菌株，转化后，转基因菌株获得了低毒素性状，包括色素沉着减少，漆酶积累减少和抑制分生孢子。

*C.parasitica*产生两个细胞外漆酶，LAC1和LAC3，以及细胞内漆酶LAC2，**病毒降低了酶的活性**，病毒通过减少氨基酸缺乏的转录干扰Lac1的诱导。



05

漆酶的相关应用

(1) 漆酶在生产中的作用

(2) 漆酶在环境保护上的作用

生产与生活



酿酒

固定在可以再生的铜螯合载体上的漆酶成功地用于从白葡萄中除去酚类，避免酚类化合物与蛋白质聚合导致二次浑浊。

乙醇生产

酚类化合物常作为发酵抑制剂，为了改善可再生原料生产燃料乙醇，来自白腐真菌紫荊属的漆酶在木质纤维素水解产物中增加其对酚类抑制剂的抗性。

烘焙

增加面包体积，改善柔软度，提高面团机械强度与稳定性

药物分析

同时区分吗啡与可待因，漆酶可以氧化吗啡，不能氧化可待因。吗啡被检测到在32 nM和100 μ M之间。技术允许在注射后1分钟内快速准确区分吗啡和可待因

环境保护

漆酶已被证明可用于各种持久性环境污染物的降解。

负责降解的许多酶是细胞外的，并且在本质上涉及木材的降解。

固定在亚克力（有机玻璃（丙烯酸塑料））上的来自侧耳菇粗糙漆酶可用于去除酚类污染物。

染料脱色，用固定化漆酶脱色的纺织品可以用于染色，并且对大多数染料有效。

除草剂降解，异恶唑草酮是在土壤和植物中活化的除草剂，在两种真菌的漆酶可以将二酮转化成酸，从而保护环境。



2017 感谢聆听 批评指导

THANK YOU TO LISTEN TO CRITICISM GUIDANCE