

doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2021.01.013

哺乳动物谷胱甘肽转移酶研究进展

杨 晨,耿月攀,田 然

(南京师范大学生命科学学院,江苏 南京 210023)

[摘要] 谷胱甘肽转移酶(谷胱甘肽硫转移酶)(GSTs)是一类广泛分布于微生物、植物、昆虫、鱼以及哺乳动物,在诸多生物学过程中发挥重要作用的蛋白超家族,具有解毒和清除过氧化物双重功能.近年来,国内外研究人员进一步对 GST 在生物化学、结构生物学、分子生物学、进化生物学以及基因组学等层面进行了大量的分析和研究.本文将针对有关 GST 的研究展开综述,以期为进一步开展哺乳动物 GST 基因适应和进化研究提供借鉴.

[关键词] 谷胱甘肽转移酶,抗氧化,解毒

[中图分类号]Q71 [文献标志码]A [文章编号]1001-4616(2021)01-0091-08

Advance in Mammalian Glutathione Transferase Research

Yang Chen, Geng Yuepan, Tian Ran

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Glutathione transferases (Glutathione S-transferases) (GSTs) are a classic proteins superfamily, which are widely distributed in microorganisms, plants, insects, fish and mammals. These enzymes play important roles in many biological processes, with dual functions of detoxification and scavenging peroxide. In recent years, researchers have conducted a lot of studies on GST in the areas of biochemistry, structural biology, molecular biology. Here, we review these GST researches in order to provide a reference for further investigation on adaptation and evolution of mammalian GST genes.

Key words: glutathione transferases, anti-oxidation, detoxification

1 GST 的发现

对 GSTs 的研究最早可追溯到 1961 年,Booth 等^[1]在小鼠肝脏细胞提取液中发现一种能催化 GSH 与 2 氯-4 硝基苯反应的酶;1978 年,Lawrence 等^[2]确定小鼠肝脏组织中存在一种不含硒的谷胱甘肽过氧化物酶,命名为谷胱甘肽转移酶,标志着第一个哺乳动物 GST 基因的发现,开启了 GST 分子生物学研究的先河.

2 GST 的分类和命名

哺乳动物 GST 目前分为 3 类:可溶性胞质 GST (cytosolic)、线粒体 GST (mitochondrial) 和微粒体 GST (microsomal). 可溶性胞质 GST 是由两个亚基构成的同源或者异源二聚体,每个亚基分子量约为 23 kDa~30 kDa,由 199~244 个氨基酸组成.亚基的不同组合形成多种同工酶,大大增加了 GST 在哺乳动物中的多样性,据现有研究报道,哺乳动物具有 15~20 个可溶性胞质 GST^[3]. 尽管对于 GST 的分类目前没有统一的标准,但前人根据染色体位置、亚基结构、氨基酸序列的相似性以及酶学特性等,将哺乳动物可溶性胞质 GST 分为 alpha(α)、mu(μ)、pi(π)、theta(θ)、sigma(σ)、omega(ω) 和 zeta(ζ) 等 7 类,同一类序列相似性大于 40%,而各类间序列相似性小于 25%.

可溶性胞质 GST 每个亚基均由独立的基因编码.例如: α 、 μ 、 π 、 θ 、 σ 、 ω 和 ζ 分别由 GSTA、GSTM、GSTP、GSTT、GSTS 和 GSTZ 编码,每个基因分别由 7、8、7、5、5、5 和 8 个外显子组成.随着基因组测序技术的发展

收稿日期:2020-03-16.

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(31900310)、中国博士后科学基金面上项目(2018M642278).

通讯作者:田然,博士,研究方向:进化基因组学. E-mail:tianrannjnu@163.com

以及生物信息学研究工具的开发,越来越多的基因注释和染色体图谱的构建,揭示了 GST 基因在生物体中的基因组分布. 以人为例,人 α -GST 同工酶由 5 个功能基因(GSTA1-5)和 7 个假基因(GSTAP1-7)编码,聚为一簇,位于 6 号染色体上. μ -GST 包含 5 个成员,由 GSTM1-5 基因编码,位于 1 号染色体,表明 GST 基因由基因复制进化而来,形成不同的 GSTs. π 、 θ 、 σ 、 ω 和 ζ -GST 分别位于 11、22、4、10 和 14 号染色体上,并由 1 (GSTP1)、3 (GSTT1、GSTT2、GSTT2B)、1 (GSTS1)、2 (GSTO1-2) 和 1 (GSTZ1) 个基因编码^[4]. 随着越来越多的 GST 同工酶的发现,为了避免混乱,人们采用统一的哺乳动物 GSTs 命名系统^[5],包括物种名前缀、GST 类型以及亚基类型等,例如:HsaGSTM1 表示该基因编码人 μ 类 GST 的 1 亚基.

线粒体 GST 仅包含 Kappa 类同工酶,是由 226 个氨基酸组成的二聚体蛋白,由 GSTK1 基因编码,具有 8 个外显子,位于人 7 号染色体上,在哺乳动物中为单拷贝^[6].

微粒体 GST 是 GST 超蛋白家族中特殊的亚家族,与可溶性 GST 序列相似度较低 (<10%),约 150 个氨基酸,包含 I、II、III 和 IV 四类成员,其中 I、II 和 IV 类同工酶存在于哺乳动物中,并与类花生酸的合成密切相关,因此,也称为类花生酸与谷胱甘肽代谢膜相关蛋白(membrane associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism, MAPEG). 人具有 6 个 MAPEG 基因,根据序列相似性,将 MGST2、白三烯 C4 合成酶(leukotriene C4 synthase, LTC4S)和脂氧合酶激活蛋白(5-lipoxygenase-activating protein, FLAP)归为 I 类;MGST1 和前列腺素 E2 合成酶(prostaglandin E2 synthase 1, PGES1)列入 IV 类;II 类仅包含 MGST3. 微粒体 GST 亚基组成方式比较多样化,如:MGST1、LTC4S 和 PGES1 主要以同源三聚体的形式存在^[7-9],而 FLAP 则能形成单体、二聚体和三聚体等多种形式^[10].

3 GST 结构特征以及酶促反应

尽管不同类型 GST 具有很大的序列差异性,但其二级结构和高级结构是极其相似的. 可溶性胞质 GST 每个亚基均由包含 $\beta\alpha\beta\alpha\beta\alpha$ 结构基元($\beta 2-\alpha 1-\beta 1-\alpha 2-\beta 3-\beta 4-\alpha 3$)的 N 末端结构域(结构域 I)和一个纯 α 螺旋($\alpha 4$)的 C 末端结构域(结构域 II)组成. 相比之下,线粒体 GST 则是在 $\beta\alpha\beta$ 基序增加了螺旋结构域,以负责结合亲电子底物,同时,提示可溶性胞质和线粒体 GST 在晶体结构上的平行进化^[11]. 可溶性 GST 整个 N 末端结构域被认为是由硫氧还蛋白超家族折叠结构进化而来,如硫氧还蛋白和谷氧还蛋白等. 每个 GST 亚基都具有独立的 GST 的催化活性位点:结构域 I 主要提供 GSH 结合位点,称为 G 位点,在哺乳动物中高度保守,例如: α /mu/ π -GST 中的第七位均为酪氨酸(Tyr)以及 θ / ζ 第 17 位均为丝氨酸(Ser);结构域 II 负责绑定疏水底物,即 H 位点,结构可变性较大^[12-13]. 在催化反应中,GST 与 GSH 的结合遵循酶和底物的“契合诱导机制”,即底物与酶结合后,诱导酶蛋白的构象发生相应的变化,从而使酶和底物契合而形成酶-底物络合物,并引起底物发生反应;当反应结束,产物从酶上脱落下来后,酶的活性中心又恢复原来的构象. 保守的 G 位点可促进酪氨酸/丝氨酸的羟基与 GSH 的硫醇基之间形成氢键而离子化,从而产生硫醇盐阴离子;而可变的 H 位点在结合疏水底物(亲电子化合物)后,参与由硫醇盐阴离子驱动的一系列反应^[14]. 线粒体 GST 与可溶性 GST 具有相似的催化功能.

研究表明,微粒体 GST 具有 3~4 个跨膜结构域,蛋白质的氨基和羧基末端突出到膜的腔侧,而 GSH 和底物结合的位点可能位于面向胞质溶胶的环中^[15-17]. 以上结果仅仅是对微粒体 GST 结构学上的预测,微粒体 GST 详尽的蛋白晶体结构仍有待进一步研究.

4 GST 的表达和功能意义

随着生命科学的发展,研究领域的不断扩展,越来越多的新基因被逐步发现,而确定新基因的功能和遗传信息已成为极其重要的一项内容,因此,对哺乳动物 GST 功能的探究也成为科学家们所关注的热点. GST 作为机体解毒系统中重要的组成部分,负责催化 GSH 与各种亲电子外源化合物(如:药物、工业中间体、杀虫剂、除草剂、环境污染物、致癌物等)的结合,在多药耐药相关蛋白(multidrug resistance-associated proteins, MRP)的作用下将谷胱甘肽共轭物排出体外,从而防止亲电试剂在生物转化过程中与细胞生物大分子发生共价结合,起到解毒作用^[3]. 尽管 GST 家族成员起源于同一祖先,但随着基因复制、重组和突变的累积,不同类别的 GST 在催化活性发挥上又表现出底物特异性和功能多样性. 例如,在人肝脏和肾脏中表达的 α 类成员 GSTA1-4,虽具有高度同源的序列以及蛋白结构,但彼此却有着截然不同的底物结合

特性. GSTA1、GSTA2 和 GSTA3 倾向于结合 2,4-二硝基氯苯(CDNB),对该类底物的催化活性显著高于烯醛类底物;相反,GSTA4 则偏爱烯醛类化合物,对烯醛类化合物的催化活性是 GSTA1 的近 200 倍^[18]. 研究表明,GSTA1 和 GSTA4 具有特殊的底物结合口袋,位于 $\alpha 1$ - $\beta 1$ 环和 C 末端的 $\alpha 4$ 螺旋区中,该区域氨基酸的组装和位置决定了底物结合口袋的形状和特征,因此,也决定了二者底物识别的特异性^[18]. 此外,Björnstedt 等人还报道了 GSTA1 第 Arg15 和 Tyr9 位点在绑定和激活 GSH,维持酶活性上具有重要意义^[19]. 进一步的研究同样揭示了多个影响 GSTA4 对烯醛类催化活性的关键位点,包括 $\alpha 1$ - $\beta 1$ 环的 Gly12, $\alpha 4$ 螺旋区的 Ile107(Leu)、Met108(Leu)和 Phe111(Val)以及 C 末端的 Pro208(Met)、Tyr212(Ser)、Val213(Leu)、Val 216(Ala)和 Pro222(Phe)等^[18-19],促进了人们对其催化机制的理解.

此外,GST 还具有非催化功能,例如 GSTO1 能调节兰尼碱受体,是一种内质网钙离子蛋白,通过抑制其活性,从而避免细胞凋亡^[20]. pi-gst 主要在胎盘、红细胞、乳房、肺和前列腺中表达. pi-gst 是调节 C-Jun 氨基端激酶 1(JNK1)的抑制剂,通过抑制 MAP 激酶信号通路的亚类——JNK 信号通路活性从而调控细胞凋亡、应激反应和细胞增殖等. Mu-gst 成员 GSTM1 是细胞凋亡信号调节激酶 1(apoptosis signal-regulating kinase 1,ASK1)的内源性抑制剂,通过抑制 ASK1 活性,并阻止其进行低聚反应,调控压力胁迫或细胞因子诱导的细胞凋亡^[21].

尽管大部分可溶性胞质 GST 同工酶分布于细胞质中,但也有部分同工酶位于线粒体、细胞膜或细胞核中. 例如,线粒体 GSTA4 就曾在人和小鼠中被报道. 研究表明,线粒体 GSTA4 高度磷酸化;并在分子伴侣 Hsp70 的帮助下进行翻译和定位到线粒体中;进一步研究显示,这种线粒体定位信号位于 C 末端 20 位氨基酸区域且需要蛋白激酶 A(Ser-189)或蛋白激酶 C(Thr-193)碳末端磷酸化位点的激活^[22-23]. 相似地,在人肝脏微粒体中还发现一种与人 GSTA1 高度同源的同工酶,称为 M-GSTA,该酶与细胞膜抗氧化损伤密切相关^[24]. 另有,小鼠 GSTO1^[25]和 GSTT2^[26]在细胞核中的表达也相继被报道.

不同于可溶性 GST 的组织特异性表达,Kappa 类同工酶在各种组织中广泛表达,包括肝脏、肾脏、胃以及心脏等,并证实与肝脏、肾脏线粒体有关^[27],提示线粒体 GST 是细胞代谢的基础^[28]. GSTK1 不仅存在于线粒体中,同时还存在于过氧化物酶体中,鉴于这两种细胞器在脂类物质代谢中的重要意义,提示 GSTK1 可能参与脂肪酸 β 氧化活化/转移以及脂类过氧化物解毒^[6]. 此外,Morel 等研究还发现,GSTK1 的 C 末端 Ala-Arg-Leu 序列是过氧化物酶体靶向定位信号,提示 C 末端在过氧化物酶体定位中具有重要作用^[6]. 尽管有研究表明 GSTK1 可能在分子伴侣热休克蛋白(Hsp60)的帮助下^[11],或者借助线粒体导肽 N 末端的切割位点进入线粒体^[6],但将 GSTK1 定位到线粒体的具体过程还有待进一步研究.

微粒体 GST 由于家族成员的复杂性,其功能也多样化,不仅具有 GSH 依赖性转移酶功能,同时还与一系列疏水化合物的合成和转运密切相关. 例如,MGST1 主要负责与 GSH 有关的转移酶和同工酶催化反应,与可溶性 GST 功能类似. 研究发现,MGST1 不仅在催化 GSH 与卤代芳烃(halogenated arenes)和多卤代不饱和烃(polyhalogenated unsaturated hydrocarbons)的偶合过程中具有重要作用^[29],同时也参与脂质过氧化物(lipid hydroperoxides)的代谢(如脂肪酸过氧化物、磷脂过氧化物等)^[30-31],提示 MGST1 是有机体不可或缺的解毒酶,尤其是针对外源有毒化合物以及氧化应激产物的解毒,具有重要意义. 此外,白三烯 C4 合成酶(leukotriene C4 synthase,LTC4S)、脂氧合酶激活蛋白(5-lipoxygenase-activating protein,FLAP)和前列腺素 E2 合成酶(prostaglandin E2 synthase 1,PGES1)分别参与类二十烷酸、白三烯和前列腺素的合成,在类花生酸合成通路中起作用,而 MGST2 和 MGST3 基因则负责降低(S)-5-过氧氢-8,11,14-6-反式二十碳四烯酸^[32].

5 GST 多态性与疾病

近年来,广泛开展的 GST 基因多态性与疾病的研究有助于了解其在致癌物代谢、抗诱变、抗肿瘤以及细胞凋亡调节中的重要作用,并对开发新的疾病防御措施和提高整体治疗水平具有重要意义. 早在 1988 年,Seidegård 等通过传统的分子克隆的方法,在人的肝脏组织中鉴定出 GSTM1 具有 3 个等位基因,分别为 GSTM1*0、GSTM1*A、GSTM1*B. GSTM1 主要在肝脏中表达,而其他成员则在肝脏外表达. 进一步分析发现,40%~60%的人群 GSTM1*0 等位基因发生了纯合缺失^[33],使得该类人群具有较高的风险罹患肺癌和结肠癌^[34-35]. 随后,GSTM3 也鉴定出两个等位基因:GSTM3*A 和 GSTM3*B^[36],并且两个内含子 SNP

在 GSTM4 中也被报道^[37]. GSTP 主要在肝外组织和肿瘤细胞中高表达^[38],人群中具有两个 SNP 位点(I105V 和 A114V)和四种等位基因,分别是:GSTP * A(I105/A114)、GSTP * B(V105/A114)、GSTP * C(V105/V114)和 GSTP * D(I105/V114)^[39-40]. Val-105 位变异体提高对芳香环氧化物的催化活性^[41],且此类人群易患睾丸癌和膀胱癌^[42]. 两个 GSTT 等位基因在人群中被报道:GSTT1 * 0 和 GSTT1 * 1^[43],前者在人群中完全丢失. 此外,20%高加索人等位基因纯合丢失^[44],使得这类人更易患结肠癌、星形细胞瘤和骨髓增生异常综合症^[45-47]. GSTZ 在人群中具有 3 个等位基因,包含 2 个 SNP 位点:GSTZ1 * A(A94~A124)、GSTZ1 * B(A94~G124)和 GSTZ1 * C(G94~G124),不同的变异蛋白具有不同的底物结合特性^[48]. MGST1 具有 4 个多态性位点,其中 2 个位于内含子中,1 个位于 3'非编码区,另外一个位于启动子区;且具有 GG/GG(102G>A/16416G>A)基因型的人群患结肠癌的风险较高^[49].

6 GST 的动物基因工程

研究表明,小鼠 GSTA4 对 4-羟基壬烯(4-HNE)具有很强的催化活性. 4-HNE 是一种强的亲电体,为米迦勒受体脂质过氧化反应的产物,与蛋白质、核酸和磷脂形成共价加合物. Engle 等报道,带有 GSTA4 纯合突变的小鼠更易受细菌感染,增加对百草枯(一种除草剂)的敏感性;并且基因敲除小鼠在大脑、心脏等组织中,GSH 与 4-羟基壬烯醛(4-HNE)的共轭活性显著降低,提示 GSTA4 基因的敲除降低了小鼠的解毒功能^[50]. 然而,抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)相关基因表达的上调可能是 GSTA4 基因敲除的另一补偿机制^[51]. 进一步的生物信息学分析表明,GSTA4 基因 5'上游具有与小鼠醌氧化还原酶 1(NADPH)基因相似的 ARE,该结构促进 4-HNE 新陈代谢,提高机体 GSTA4 水平,暗示小鼠 GSTA4 基因在抗脂质过氧化中的重要作用^[52-53].

GSTM5 基因主要编码大脑/睾丸中的转移酶,但关于基因敲除后对小鼠的表型产生哪些影响,目前尚不清楚^[54].

Pi-GST 在小鼠中具有两个编码基因,即 GSTP1 和 GSTP2,二者在致癌物,尤其是针对多环芳香烃类(PAH)化合物的解毒过程中发挥主要作用. GSTP1 和 GSTP2 突变小鼠的肝脏丧失对尿酸的转移酶活性. 另有研究表明,GSTP1/P2^{-/-}小鼠二羟甲基丁酸和对苯二甲酸诱发的乳突瘤数量是正常小鼠的近 3 倍,提示 GSTP 在抵抗外源化合物致癌过程中发挥重要作用^[55]. 令人惊奇的是,GSTP1/P2^{-/-}小鼠对镇痛剂乙酰氨基酚所致的肝毒性具有更强的抵抗力,这可能跟双基因敲除小鼠肝脏具有更快的 GSH 再生能力有关^[56]. 此外,鉴于 π -GST 在促进对乙酰氨基酚代谢物-苯醌亚胺(NAPQI)的氧化还原循环过程中的作用,推断 π -GST 的缺失会削弱 NAPQI 的氧化还原循环,从而减少 GSH^[56].

Sigma-GST 编码造血型或 GSH 依赖型前列腺素 D2 合成酶(HPGDS),负责催化合成一种在免疫反应中起重要作用的类花生酸——前列腺素 D2;较野生型小鼠而言,该基因敲除小鼠呈现相对较弱的过敏反应^[57].

GSTZ1 基因编码马来酰乙酰乙酸异构酶(maleylacetoacetate isomerase, MAAI),在苯基丙氨酸/酪氨酸代谢通路中参与马来酰乙酰乙酸异构化,是酪氨酸代谢的倒数第二步催化反应. 生化水平研究显示,GSTZ1^{-/-}小鼠酶活反应降低,削弱对底物马来酰丙酮和氯氟乙酸的识别^[58]. 病理生理学研究进一步揭示,GSTZ1^{-/-}小鼠同时降低了对琥珀酰丙酮和其他马来酰乙酰乙酸衍生代谢物的代谢能力^[59]. 有趣的是,尽管 GSTZ1 同工酶缺失小鼠(3%丙基苯胺酸喂养 BALB/c 小鼠)会导致一系列病理学反应,如肝坏死、脂肪变形和外周白血病等,但同时引起 α 、 μ 和 π 类 GST 以及醌氧化还原酶(NQO1)表达量的增加,可能是酪氨酸降低产物的堆积导致. 值得注意的是,这些表达量升高的基因都具有 ARE(抗氧化反应元件)或 EpRE(亲电反应元件),因此,推测 zeta-GST 还具有抗氧化和亲电子防御作用. 总的来说,酪氨酸代谢功能的紊乱是 GSTZ1^{-/-}小鼠肝脏解毒能力和抗氧化能力降低的主要诱因^[59].

微粒体 GST 在哺乳动物中也具有多种功能,例如:MGST1、MGST2 和 MGST3 具有解毒功能,FLAP、LTC4S 和 PGES1 各自在合成脂氧合酶、白三烯 C4 和前列腺素 E2 中起作用;此外,MGST2 和 MGST3 也具有合成白三烯 C4 的功能^[60]. 目前,第 I 和 IV 类微粒体 GST 在基因工程小鼠中的研究不断被报道,显示 MAPEG 基因在过敏和炎症反应中的重要作用,但关于其在氧化应激中的功能目前尚未被报道. 在由酵母聚糖 A 引起的腹膜炎实验中发现,白三烯 C4 未在突变小鼠腹腔灌洗液中合成,却在野生型小鼠中显著增

加,提示 FLAP 基因敲除小鼠丧失白三烯合成功能.重要的是,在 FLAP 基因敲除小鼠中并未发现 5-脂肪氧合酶通路的代谢产物,例如:5 羟基二十烷四烯酸(5-HETE)和白三烯 A4 等^[61].由于 5-脂肪氧合酶可将花生四烯酸转化为白三烯 A4,并进一步转化为 5-HETE,或与 GSH 结合生成半胱氨酸白三烯,因此,上述研究结果提示 FLAP 在整个白三烯合成过程中发挥至关重要的作用^[61]. LTC4S 基因敲除会降低 LTA4 和 GSH 的结合能力,同样影响白三烯的合成^[62].与野生型小鼠相比,IV 类 PTGES 基因敲除小鼠的巨噬细胞丧失了前列腺素 E2 合成能力;鸡 II 型胶原蛋白诱导的胶原性关节炎免疫实验中发现,PTGES 基因突变小鼠对纤维增生、炎症、蛋白多糖损伤、细胞浸润和软骨损伤相关疾病具有一定的防御能力^[63].PTGES 基因敲除小鼠神经元发热反应研究显示,实验小鼠虽具有完善的发热能力,但在感染细菌脂多糖后并未出现发热反应,且未有前列腺素 E2 的合成,提示 PTGES 是免疫诱发性发热的中枢开关,并有望成为治疗发热的靶向目标^[64].

7 结论

谷胱甘肽转移酶是由多个基因编码,在机体生物转化、免疫等防御系统中具有解毒和抗氧化等多重功能的超家族蛋白酶. GSTs 广泛存在于各种生物体内的各种组织细胞中,与细胞损伤、缺氧、中毒、衰老等多种疾病过程的发生有关.但由于其存在多种亚型、具有表达组织特异性和底物特异性、与其他抗氧化酶产生相互作用,从而使其研究工作进展缓慢.随着分子生物学技术和生物信息学的不断发展和应用,哺乳动物 GSTs 的序列、进化多样性、分子结构、抗氧化的具体机制等都能得到更好的阐明和实施.

[参考文献]

- [1] BOOTH J,BOYLAND E,SIMS P. An enzyme from rat liver catalysing conjugations with glutathione[J]. *Biochemical journal*, 1961,79(3):516.
- [2] LAWRENCE R A,PARKHILL L K,BURK R F. Hepatic cytosolic non selenium-dependent glutathione peroxidase activity:its nature and the effect of selenium deficiency[J]. *The journal of nutrition*,1978,108(6):981-987.
- [3] HAYES J D,FLANAGAN J U,JOWSEY I R. Glutathione transferases[J]. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 2005(45):51-88.
- [4] WHALE N R,BOYER T D. Human glutathione S-transferases[J]. In *seminars in liver disease*,1998,18(4):345-358.
- [5] MANNERVIK B,AWASTHI Y C,BOARD P G, et al. Nomenclature for human glutathione transferases[J]. *Biochemical journal*, 1992,282(1):305-306.
- [6] MOREL F,RAUCH C,PETIT E, et al. Gene and protein characterization of the human glutathione S-transferase kappa and evidence for a peroxisomal localization[J]. *Journal of biological chemistry*,2004,279(16):16246-16253.
- [7] THORÉN S,WEINANDER R,SAHA S. Human microsomal prostaglandin E synthase-1 purification,functional characterization, and projection structure determination[J]. *Journal of biological chemistry*,2003,278(25):22199-22209.
- [8] SCHMIDT K I,MITSUOKA K,HIRAI T, et al. The three-dimensional map of micro-somal glutathione transferase 1 at 6 Å resolution[J]. *EMBO journal*,2000,19(23):6311-6316.
- [9] SCHMIDT K I,KANAOKA Y,MILLS D J, et al. Human leukotriene C4 synthase at 4.5 Å resolution in projection[J]. *Structure*,2004,12(11):2009-2014.
- [10] MANDAL A K,SKOCH J,BACSKAI B J, et al. The membrane organization of leukotriene synthesis[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*,2004,101(17):6587-6592.
- [11] ROBINSON A,HUTTLEY G A,BOOTH H S, et al. Modelling and bioinformatics studies of the human Kappa class glutathione transferase predict a novel third transferase family with homology to prokaryotic 2-hydroxychromene-2-carboxylate iso-merases[J]. *Biochemical journal*,2004,379(3):541-52.
- [12] ARMSTRONG R N. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases[J]. *Chemical research in toxicology*,1997,10(1):2-18.
- [13] ARMSTRONG R N. Mechanistic imperatives for the evolution of glutathione transferases[J]. *Current opinion in chemical biology*,1998,2(5):618-623.
- [14] DIRR H,REINEMER P,HUBER R. X-ray crystal structures of cytosolic glutathione S-transferases. Implications for protein ar-

- chitecture, substrate recognition and catalytic function[J]. *European journal of biochemistry*, 1994, 220(3):645-661.
- [15] LAM B K, PENROSE J F, XU K, et al. Site-directed mutagenesis of human leukotriene C4 synthase[J]. *Journal of biological chemistry*, 1997, 272(21):13923-13928.
- [16] BUSENLEHNER L S, CODREANU S G, HOLM P J, et al. Stress sensor triggers conformational response of the integral membrane protein microsomal glutathione trans-ferase 1[J]. *Biochemistry*, 2004, 43(35):11145-11152.
- [17] BRESELL A, WEINANDER R, LUNDQVIST G, et al. Bioinformatic and enzymatic characterization of the MAPEG superfamily[J]. *FEBS journal*, 2005, 272(7):1688-1703.
- [18] BURNS C M, HUBATSCH I, RIDDERSTRO M M, et al. Human glutathione transferase A4-4 crystal structures and mutagenesis reveal the basis of high catalytic efficiency with toxic lipid peroxidation products[J]. *Journal of molecular biology*, 1999, 288(3):427-439.
- [19] BJÖRNESTEDT R, STENBERG G, WIDERSTEN M, et al. Functional significance of arginine 15 in the active site of human class alpha glutathione transferase A1-1[J]. *Journal of molecular biology*, 1995, 247(4):765-773.
- [20] DULHUNTY A, GAGE P, CURTIS S, et al. The glutathione transferase structural family includes a nuclear chloride channel and a ryanodine receptor calcium release channel modulator[J]. *Journal of biological chemistry*, 2001, 276(5):3319-3323.
- [21] CHO S G, LEE Y H, PARK H S, et al. Glutathione S-transferase mu modulates the stress-activated signals by suppressing apoptosis signal-regulating kinase 1[J]. *Journal of biological chemistry*, 2001, 276(16):12749-12755.
- [22] GARDNER J L, GALLAGHER E P. Development of a peptide antibody specific to human glutathione S-transferase Alpha 4-4(hGSTA4-4) reveals preferential localization in human liver mitochondria[J]. *Archives of biochemistry and biophysics*, 2001, 390:19-27.
- [23] ROBIN M A, PRABU S K, RAZA H, et al. Phosphorylation enhances mitochondrial targeting of GSTA4-4 through increased affinity for binding to cytoplasmic Hsp70[J]. *Journal of biological chemistry*, 2003, 278(21):18960-18970.
- [24] PRABHU K S, REDDY P V, JONES E C, et al. Characterization of a class alpha glutathione S-transferase with glutathione peroxidase activity in human liver micro-somes[J]. *Archives of biochemistry and biophysics*, 2004, 424(1):72-80.
- [25] KODYM R, CALKINS P, STORY M. The cloning and characterization of a new stress response protein. A mammalian member of a family of class glutathione S-transferase-like proteins[J]. *Journal of biological chemistry*, 1999, 274(8):5131-5137.
- [26] HAYES J D, MCLELLAN L I. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress[J]. *Free radical research*, 1999, 31(4):273-300.
- [27] THOMSON R E, BIGLEY A L, FOSTER J R, et al. Tissue-specific expression and subcellular distribution of murine glutathione S-transferase class Kappa[J]. *Journal of histochemistry and cytochemistry*, 2004, 52(5):653-62.
- [28] JOWSEY I R, THOMSON R E, ORTON T C, et al. Biochemical and genetic characterization of a murine class Kappa glutathione S-transferase[J]. *Biochemical journal*, 2003, 373(2):559-569.
- [29] ANDERSSON C E, MOSIALOU E, WEINANDER R, et al. Enzymology of microsomal glutathione S-transferase[J]. *Advances in pharmacology*, 1994, 27:19-35.
- [30] MORGENSTERN R, DEPIERRE J. Microsomal glutathione transferase: purification in unactivated form and further characterization of the activation process, substrate specificity and aminoacid composition[J]. *European journal of biochemistry*, 1983, 134:591-597.
- [31] MOSIALOU E, PIEMONTE F, ANDERSSON C, et al. Microsomal glutathione transferase: lipid-derived substrates and lipid dependence[J]. *Archives of biochemistry and biophysics*, 1995, 320(2):210-216.
- [32] JAKOBSSON P J, MANCINI J A, RIENDEAU D, et al. Identification and characterization of a novel microsomal enzyme with glutathione-dependent transferase and peroxidase activities[J]. *Journal of biological chemistry*, 1997, 272(36):22934-22939.
- [33] SEIDEGÅRD J, VORACHEK W R, PERO R W, et al. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion[J]. *Proceedings of the national academy of sciences*, 1988, 85(19):7293-7297.
- [34] MCWILLIAMS J E, SANDERSON B J, HARRIS E L, et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) deficiency and lung cancer risk[J]. *Cancer epidemiology and prevention biomarkers*, 1995, 4(6):589-594.
- [35] ZHONG S, WYLLIE A H, BARNES D, et al. Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer[J]. *Carcinogenesis*, 1993, 14(9):1821-1824.

- [36] INSKIP A, ELEXPERU C J, BUXTON N, et al. Identification of polymorphism at the glutathione S-transferase, GSTM3 locus: evidence for linkage with GSTM1 * A [J]. *Biochemical journal*, 1995, 312(3): 713-716.
- [37] EMAHAZION T, JOBS M, HOWELL W M, et al. Identification of 167 polymorphisms in 88 genes from candidate neurodegeneration pathways [J]. *Gene*, 1999, 238(2): 315-324.
- [38] HAYES J D, PULFORD D J. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance part I [J]. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 1995, 30(6): 445-520.
- [39] AHMAD H, WILSON D E, FRITZ R R, et al. Primary and secondary structural analyses of glutathione S-transferase π from human placenta [J]. *Archives of biochemistry and biophysics*, 1990, 278(2): 398-408.
- [40] ALI-OSMAN F, AKANDE O, ANTOUN G, et al. Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants: evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins [J]. *Journal of biological chemistry*, 1997, 272(15): 10004-10012.
- [41] SUNDBERG K, JOHANSSON A S, STENBERG G, et al. Differences in the catalytic efficiencies of allelic variants of glutathione transferase P1-1 towards carcinogenic diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Carcinogenesis*, 1998, 19(3): 433-436.
- [42] HARRIES L W, STUBBINS M J, FORMAN D, et al. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer [J]. *Carcinogenesis*, 1997, 18(4): 641-644.
- [43] SPRENGER R, SCHLAGENHAUFER R, KERB R, et al. Characterization of the glutathione S-transferase GSTT1 deletion: discrimination of all genotypes by polymerase chain reaction indicates a trimodular genotype-phenotype correlation [J]. *Pharmacogenetics and genomics*, 2000, 10(6): 557-565.
- [44] EL-MASRI H A, BELL D A, PORTIER C J. Effects of glutathione transferase theta polymorphism on the risk estimates of dichloromethane to humans [J]. *Toxicology and applied pharmacology*, 1999, 158(3): 221-230.
- [45] CHENEVIXTRENCH G, YOUNG J, COGGAN M, et al. Glutathione s-transferase m1 and t1 polymorphisms: susceptibility to colon cancer and age of onset [J]. *Carcinogenesis*, 1995, 16(7): 1655-1657.
- [46] ELEXPURU C J, BUXTON N, KANDULA V, et al. Susceptibility to astrocytoma and meningioma: influence of allelism at glutathione S-transferase (GSTT1 and GSTM1) and cytochrome P-450 (CYP2D6) loci [J]. *Cancer research*, 1995, 55(19): 4237-4239.
- [47] CHEN H W, SANDLER D P, TAYLOR J A, et al. Increased risk for myelodysplastic syndromes in individuals with glutathione transferase theta 1 (GSTT1) gene defect [J]. *The lancet*, 1996, 347(8997): 295-297.
- [48] BLACKBURN A C, TZENG H F, ANDERS M W, et al. Discovery of a functional polymorphism in human glutathione transferase zeta by expressed sequence tag database analysis [J]. *Pharmacogenetics and genomics*, 2000, 10(1): 49-57.
- [49] ZHANG H, LIAO L H, LIU S M, et al. Microsomal glutathione S-transferase gene polymorphisms and colorectal cancer risk in a Han Chinese population [J]. *International journal of colorectal disease*, 2007, 22(10): 1185-1194.
- [50] ENGLE M R, SINGH S P, CZERNIK P J, et al. Physiological role of mGSTA4-4, a glutathione S-transferase metabolising 4-hydroxynonenal: generation and analysis of mGsta4 null mouse [J]. *Toxicol appl pharmacol*, 2004, 194(3): 296-308.
- [51] TJALKENS R B, LUCKEY S W, KROLL D J, et al. α , β -Unsaturated aldehydes mediate inducible expression of glutathione S-transferase in hepatoma cells through activation of the antioxidant response element (ARE) [J]. *Advances in experimental medicine and biology*, 1999, 463: 123-131.
- [52] RUSHMORE T H, MORTON M R, PICKETT C B. The antioxidant responsive element. Activation by oxidative stress and identification of the DNA consensus sequence required for functional activity [J]. *Journal of biological chemistry*, 1991, 266(18): 11632-11639.
- [53] NIOI P, MCMAHON M, ITOH K, et al. Identification of a novel Nrf2-regulated antioxidant response element (ARE) in the mouse NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 gene: reassessment of the ARE consensus sequence [J]. *Biological journal*, 2003, 374(2): 337-348.
- [54] TCHAIKOVSKAYA T, FRAIFELD V, ASRAF I, et al. mGSTM5 KO mice as a potential model for brain studies [J]. *Neural plasticity*, 2002, 9: 119.
- [55] HENDERSON C J, SMITH A G, URE J, et al. Increased skin tumorigenesis in mice lacking pi class glutathione S-transferases [J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 1998, 95(9): 5275-5280.
- [56] HENDERSON C J, WOLF C R, KITTERINGHAM N, et al. Increased resistance to acetaminophen hepatotoxicity in mice lacking

- glu-tathione S-transferase Pi [J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2000, 97(23): 12741–12745.
- [57] URADE Y, EGUCHI N, ARITAKE K, et al. Functional analyses of lipocalin-type and hematopoietic prostaglandin synthases [J]. Folia pharmacologica japonica, 2004, 123(1): 5–13.
- [58] FERNANDEZ C J M, BAETSCHER M W, FINEGOLD M, et al. Maleylacetoacetate isomerase (MAAI/GSTZ)-deficient mice reveal a glutathione-dependent nonenzymatic bypass in tyrosine catabolism [J]. Molecular and cellular biology, 2002, 22: 4943–4951.
- [59] LIM C E L, MATTHAEI K I, BLACKBURN A C, et al. Mice deficient in glutathione transferase zeta/maleylacetoacetate isomerase exhibit a range of pathological changes and elevated expression of alpha, mu and pi class glutathione transferases [J]. American journal of pathology, 2004, 165(2): 379–393.
- [60] JAKOBSSON P J, MORGENSTERN R, MANCINI J, et al. Common structural features of MAPEG—a widespread superfamily of membrane associated proteins with highly divergent functions in eicosanoid and glutathione metabolism [J]. Protein science, 1999, 8(3): 689–692.
- [61] BYRUM R S, GOULET J L, GRIFFITHS R J, et al. Role of the 5-lipoxygenase-activating protein (FLAP) in murine acute inflammatory responses [J]. Journal of experimental medicine, 1997, 185(6): 1065–1075.
- [62] KANAOKA Y, MAEKAWA A, PENROSE J F, et al. Attenuated zymosan-induced peritoneal vascular permeability and IgE-dependent passive cutaneous anaphylaxis in mice lacking leukotriene C4 synthase [J]. Journal of biological chemistry, 2001, 276(25): 22608–22613.
- [63] TREBINO C E, STOCK J L, GIBBONS C P, et al. Impaired inflammatory and pain responses in mice lacking an inducible prostaglandin E synthase [J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2003, 100(15): 9044–9049.
- [64] ENGBLOM D, SAHA S, ENGSTROM L, et al. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is the central switch during immune-induced pyresis [J]. Nature neuroscience, 2003, 6(11): 1137–1138.

[责任编辑:黄敏]