



## 病原真菌中潜在的铁死亡通路：功能与研究展望

梁美玲<sup>Δ</sup> 黄麟杰<sup>Δ</sup> 刘俏 龙茹慧 邓懿祯<sup>\*</sup>

华南农业大学植物保护学院 群体微生物研究中心 广东 广州 510642

**摘要：**铁死亡是一种铁离子参与、使细胞内脂质过氧化物积累到致死水平的新型程序性细胞死亡形式。目前，铁死亡的作用与机制在动物细胞已广泛、深入研究，而真菌铁死亡研究才刚刚起步。本综述旨在探讨铁离子稳态调控因子、膜脂抗氧化系统及脂质过氧化酶促系统这3种已知的铁死亡调控途径，列举它们在真菌中的同源蛋白的生物学功能。我们推测，病原真菌细胞铁死亡也许广泛参与其生长发育和致病性方面的调控，铁死亡调控通路有可能成为真菌病害防控的新的潜在靶标。

**关键词：**铁离子稳态，膜脂抗氧化系统，脂质过氧化酶促系统，真菌病害

## Potential ferroptosis pathway in pathogenic fungi: reported functions and future perspectives

LIANG Meiling<sup>Δ</sup> HUANG Linjie<sup>Δ</sup> LIU Qiao LONG Ruhui DENG Yizhen<sup>\*</sup>

Integrative Microbiology Research Center, College of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

**Abstract:** Ferroptosis is a new type of programmed cell death, in which elevated level of intracellular iron results in accumulation of lipid peroxides to a lethal level. At present, the functions and regulatory mechanisms of ferroptosis have been widely and extensively investigated in animal (including human) cells, but have just started and in a rather primary stage in fungal cells. In this review article, we aim to discuss the reported biological functions of the fungal orthologs to the regulatory factors involved in ferroptosis, including iron homeostasis, anti-oxidant systems of membrane lipids, and enzyme-catalyzed lipid peroxidation. Overall we infer that ferroptosis may also exist in fungi and be involved in fungal pathogenicity, therefore ferroptosis pathway would potentially be a novel target for prevention and management of fungal diseases.

**Keywords:** iron homeostasis, anti-oxidant systems of membrane lipids, enzyme catalyzed lipid peroxidation, fungal diseases

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (32022070)

<sup>Δ</sup>These authors equally contributed to this work

**\*Corresponding author:** E-mail: dengyz@scau.edu.cn

**Received:** 22-02-2021; **Accepted:** 12-03-2021; **Published online:** 30-03-2021

**基金项目：**国家自然科学基金(32022070)

<sup>Δ</sup>对本文贡献相同

**\*通信作者：**E-mail: dengyz@scau.edu.cn

**收稿日期：**2021-02-22; **接受日期：**2021-03-12; **网络首发日期：**2021-03-30

铁死亡(Ferroptosis)是一种新型的细胞程序性死亡(Programmed Cell Death, PCD)机制,自2012年首次在动物细胞中报道<sup>[1]</sup>以来,在动物细胞中(包括癌细胞)得到广泛深入研究,为开发治疗癌症及其他相关疾病的新策略和候选药物提供了理论依据<sup>[2-4]</sup>。但在动物细胞之外,铁死亡研究的相关报道仍非常有限:铁死亡或类似铁死亡的细胞死亡(Ferroptosis-Like Cell Death)近年来相继在拟南芥、水稻和烟草细胞中被发现报道,分别参与了拟南芥根毛细胞在热胁迫过程中触发的类似铁死亡的细胞死亡、烟草花叶病毒(Tobacco Mosaic Virus, TMV)感染引起的烟草细胞死亡及稻瘟病菌入侵抗病水稻品种引起的水稻超敏反应(Hypersensitive Response, HR)<sup>[5-7]</sup>。在真菌细胞中,明确报道铁死亡存在并行使生物学功能的研究论文,目前仅有近期本课题组与新加坡课题组合作发表的一篇<sup>[8]</sup>。我们的研究从形态和生物化学角度证实稻瘟病菌附着胞发育过程中,分生孢子的3个细胞依次进行程序性死亡,这一程序性死亡本质为铁死亡,并且为后续附着胞介导的侵染宿主所必需。病原真菌铁死亡的作用与机制研究目前尚处于非常初级阶段,但我们有理由相信,作为一类重要的细胞程序性死亡,其所承担的功能也许比目前已知(报道)的更为广泛。

基于动物细胞研究的结果,可知铁死亡调控目前主要集中在3个方面<sup>[3]</sup>:(1)胞内铁稳态调控途径:主要包括膜铁转运蛋白(Ferroportin, FPN)和转铁蛋白受体1(Transferrin Receptor 1, TFR1),分别调控铁输出和吸收,铁反应元件结合蛋白2(Iron Responsive Element 2, IREB2;又称为铁调节蛋白, Iron Regulatory Proteins, IRPs)调节上述铁离子通道蛋白或转铁蛋白的mRNA翻译效率或稳定性,从而控制胞内铁离子浓度,核受体共激活因子4(Nuclear Receptor Coactivator 4, NCOA4)识别并依赖自噬途径降解胞内转铁蛋白,从而释放出游离铁离子。(2)膜脂抗氧化系统:谷胱甘肽过氧化物酶4(Glutathione Peroxidase 4, GPX4)与铁死亡抑制蛋白1(Ferroptosis Suppressor Protein 1, FSP1)是2条平行的膜脂抗氧化途径,对这2个系统的抑制则诱导细胞铁死亡的

发生。(3)脂质过氧化:脂氧合酶(Lipoxygenase, LOXs)和环加氧酶(Cyclo-Oxygenase, COXs)催化生成不饱和脂肪酸,促进膜脂过氧化(Lipid Peroxidation);烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase, NOXs)则通过产生ROS而激发脂质过氧化。我们将上述3个方面归纳,铁死之调控通路简图如图1所示。

除了稻瘟病菌<sup>[8]</sup>,目前在其他病原真菌(包括酵母)中尚无明确报道的细胞铁死亡或类似铁死亡的细胞死亡。但过去大量报道显示,涉及铁死亡调控的上述3个方面中的关键调控因子,在真菌的生长、细胞分化及致病性调控中具有重要作用,提示类似铁死亡机制的存在(表1)。因此本综述重在归纳并讨论病原真菌中,过去我们并未意识到的、可能受铁死亡调控的致病机制,包括胞内铁离子稳态及膜脂的抗氧化系统/过氧化修饰;并在此基础上归纳一些常规的杀真菌剂,它们的作用靶标包括真菌的铁离子稳态调控系统或膜脂的抗氧化/过氧化修饰系统,即可能通过靶向真菌铁死亡通路而起作用。

## 1 真菌铁稳态调控系统

铁是生命活动中的必需微量元素,也是病原真菌细胞分化与致病性的关键调控元素<sup>[40]</sup>。真菌拥有对胞内铁含量作出应激反应的机制:在铁缺少时激活多种代谢通路来吸收外源铁,并调动胞内的铁储备<sup>[41]</sup>;另一方面,铁超载对真菌细胞造成的毒害作用与其激发的胞内过氧化胁迫相关<sup>[42]</sup>,由此引起的细胞死亡有可能是铁死亡。以下分别介绍真菌铁离子转运与调节蛋白的生物学功能。

### 1.1 铁离子通道与转运蛋白

基于蛋白序列同源性,真菌中存在FPN及TFR1蛋白,提示真菌细胞可能通过与动物细胞类似途径控制铁离子外排与吸收;遗憾的是,目前尚无真菌FPN或TFR1同源蛋白的功能研究报道。

另一方面,TFR1受体识别并结合的铁蛋白(Ferritin)主要由2种亚基构成:重链蛋白与轻链蛋白。重链蛋白1(Ferritin Heavy Chain 1, FTH1)是铁蛋白的主要功能元件<sup>[43]</sup>。酵母与大部分真菌中没

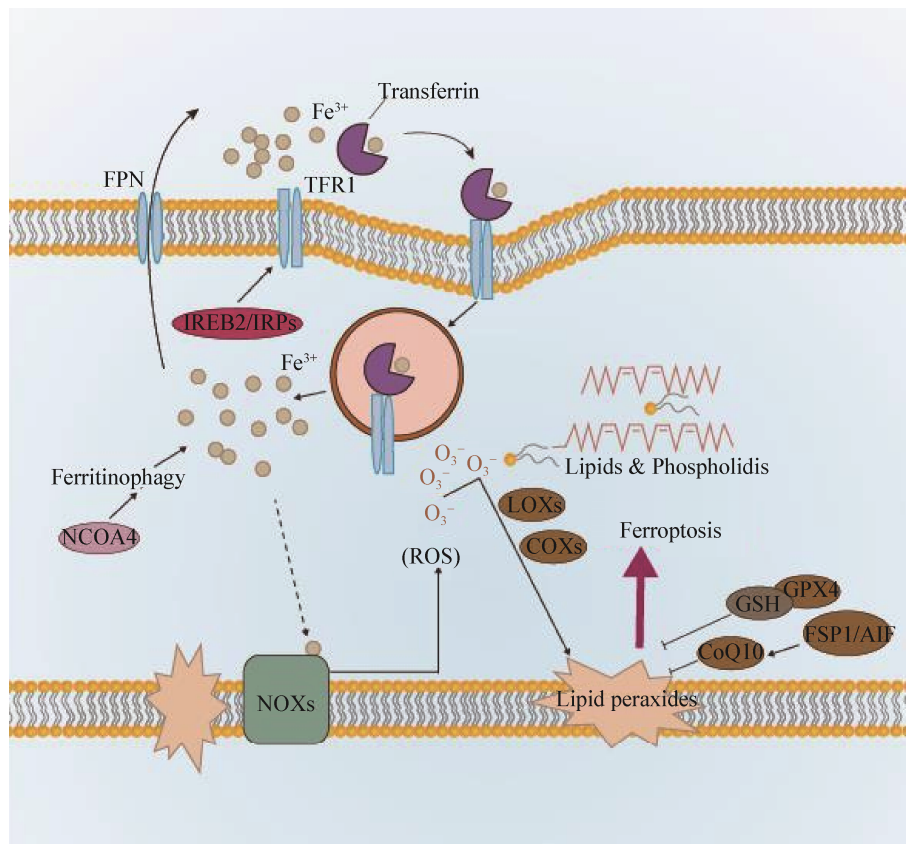


图 1 已报道的铁死亡调控通路简图

Figure 1 Schematic representation of regulatory pathways of ferroptosis

有保守的铁蛋白编码基因。在白色念珠菌中注释到 FTH1 与 TFR1 编码基因, 而且它们的表达均受已知的铁死亡抑制剂环吡酮(Ciclopirox, CPX)抑制, 从而影响其致病性<sup>[15]</sup>, 提示铁死亡可能参与调控白色念珠菌的致病性。除了铁蛋白 FTH1, 真菌铁载体 1 (Siderophore Transporter 1, SIT1)也参与调控病原真菌致病性和抗药性<sup>[13-14]</sup>。

## 1.2 铁离子响应与调节蛋白

动物细胞中调控与铁死亡相关的胞内铁稳态的另外 2 个关键因子: IREB2/IRPs 与 NCOA4, 在真菌中鉴定不到序列相似性>50%的同源蛋白。提示真菌细胞调控铁离子吸收、外排或储存的机制可能不同于 IREB2/IRPs 介导的 mRNA 翻译效率和稳定性调控。虽然在酵母异源表达大鼠的铁调节蛋白 IRP1 和 IRP2 能调控含有铁应答元件(Iron Response Element, IRE)的报告基因 mRNA 的翻译效率,

提示这一调控机制在酵母细胞中也能工作, 但外源铁含量的高低不影响其结合或降解 mRNA 的活性<sup>[44]</sup>, 进一步支持真菌使用不同于 IREB2/IRPs 的机制调控铁离子浓度。酵母中已报道的响应铁缺乏胁迫从而调控铁离子吸收的关键转录因子是 AFT1 和 AFT2 (Activator of Ferrous Transport, AFT)<sup>[10-11]</sup>, 而在白色念珠菌中, AFT2 在调控铁代谢、抗氧化胁迫、宿主表面黏附、菌丝发育等方面起重要作用, 并最终调控病原真菌的致病性<sup>[12]</sup>。

尽管早在 2006 年, Talbot 教授课题组已证实自噬(Autophagy)参与了稻瘟病菌分生孢子程序性死亡的调控<sup>[45]</sup>, 但具体的机制并未明确。我们的研究表明自噬通过调控胞内铁离子浓度而调控稻瘟病菌铁死亡<sup>[8]</sup>, 因而也首次报道了自噬调控真菌细胞铁死亡的可能性。但真菌 NCOA4 同源蛋白的缺乏,

表 1 已知的铁死亡调控因子在真菌中同源物的功能报道

Table 1 The established ferroptosis regulator with reported biological functions in pathogenic fungi

蛋白名 Name of protein		已报道功能的真菌(酵母)同源蛋白 Fungal (yeast) orthologs with reported biological functions	生物学功能 (相关参考文献) Biological functions (references)
铁离子稳态 Iron homeostasis	膜铁转运蛋白 FPN	具有序列同源蛋白; 尚无功能研究报道 Annotated based on sequence homology; without functional characterization	未报道 Not reported
	转铁蛋白受体 1 TFR1	具有序列同源蛋白; 尚无功能研究报道 Annotated based on sequence homology; without functional characterization	未报道 Not reported
	核受体共激活因子 4 NCOA4	未搜索到序列同源蛋白 No sequence homology	未报道 Not reported
	铁反应元件结合蛋白 2/ 铁调节蛋白 IREB2/IRPs	未搜索到序列同源蛋白 No sequence homology	未报道 Not reported
	铁转运激活因子 AFT	酿酒酵母: AFT1-2; 白色念珠菌: AFT2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : AFT1-2 <i>Candida albicans</i> : AFT2	响应铁缺乏胁迫, 调控铁离子吸收 Response to iron deficiency and regulate iron up-take <sup>[9-11]</sup> 调控病原真菌过氧化胁迫耐受、菌丝生长、致病性 Regulate oxidative stress tolerance, mycelial growth and pathogenicity of pathogenic fungi <sup>[12]</sup>
	铁载体 1 SIT1	光滑念珠菌: SIT1 <i>Candida glabrata</i> : SIT1	调控病原真菌抗药性 <sup>[13]</sup> 、致病性 <sup>[14]</sup> Regulate drug resistance and pathogenicity of pathogenic fungi
膜脂抗氧化系统 Anti-oxidant systems of membrane lipids	铁蛋白重链蛋白 1 FTH1	白色念珠菌: FTH1 <i>Candida albicans</i> : FTH1	调控病原真菌铁代谢, 并且是铁死亡抑制剂 Ciclopirox olamine 靶标之一 <sup>[15]</sup> Regulate iron homeostasis of pathogenic fungus; one of acting targets of the established ferroptosis inhibitor, ciclopirox olamine (CPX)
	谷胱甘肽过氧化物酶 4 GPX4	酿酒酵母: GPX1-3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : GPX1-3	调控酵母孢子形成和抗氧化作用 <sup>[16-20]</sup> Regulate spore formation and anti-oxidant in yeast
	铁死亡抑制蛋白 1/细胞 凋亡诱导因子 Fsp1/Aif	酿酒酵母: AIF 稻瘟病菌: AIF 白色念珠菌: AIF <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : AIF <i>Magnaporthe oryzae</i> : AIF <i>Candida albicans</i> : AIF	调控酵母/病原真菌氧化还原反应、细胞生长和过氧化胁迫耐受 <sup>[21-23]</sup> Regulate redox homeostasis, cell growth and tolerance to oxidative stress in yeast/pathogenic fungi
	辅酶 Q 蛋白 10 CoQ10	酿酒酵母: CoQ1-CoQ10 土曲霉: CoQ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : CoQ1-CoQ10; <i>Aspergillus terreus</i> : CoQ	调控病原真菌细胞程序性死亡 <sup>[24-26]</sup> Regulate programmed cell death in pathogenic fungi
		新月弯孢霉: CoQ <i>Magnaporthe oryzae</i> : CoQ1-CoQ10; <i>Aspergillus terreus</i> : CoQ	调控酵母细胞生长和线粒体的呼吸作用 <sup>[27-28]</sup> Regulate cell growth and respiration in yeast
		稻瘟病菌: NOX1、NOX2-NOXR 构巢曲霉、柄孢壳菌、粗糙脉孢菌: NOXA 新月弯孢霉: NOX2 <i>Magnaporthe oryzae</i> : NOX1, NOX2-NOXR <i>Aspergillus nidulans</i> , <i>Podospora anserina</i> , <i>Neurospora crassa</i> : NOXA <i>Curvularia lunata</i> : NOX2	调控病原真菌抗药性 <sup>[29]</sup> Regulate drug resistance in pathogenic fungus
脂质过氧化 Enzyme catalyzed lipid peroxidation	NADPH 氧化酶 NOXs	稻瘟病菌: NOX1、NOX2-NOXR 构巢曲霉、柄孢壳菌、粗糙脉孢菌: NOXA 新月弯孢霉: NOX2 <i>Magnaporthe oryzae</i> : NOX1, NOX2-NOXR <i>Aspergillus nidulans</i> , <i>Podospora anserina</i> , <i>Neurospora crassa</i> : NOXA <i>Curvularia lunata</i> : NOX2	调控稻瘟病菌附着胞的形成和致病性 <sup>[30]</sup> ; 调控稻瘟病菌 F-肌动蛋白在细胞骨架上的重新组合 <sup>[31]</sup> Regulate <i>Magnaporthe oryzae</i> appressorium formation and pathogenicity <sup>[30]</sup> ; regulate reorganization of F-actin on cellular skeleton in <i>M. oryzae</i> <sup>[31]</sup>
	环加氧酶 COX-2	构巢曲霉、烟曲霉菌: PPO 立枯丝核菌: LDS <i>Aspergillus nidulans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> : PPO <i>Rhizoctonia solani</i> : LDS	调控真菌性别分化 <sup>[32-34]</sup> Regulate sexual differentiation of fungi
	脂氧合酶 LOXs	稻瘟病菌: MnLOX 小麦全蚀病菌: MnLOX <i>Magnaporthe oryzae</i> : MnLOX <i>Gaeumannomyces graminis</i> : MnLOX	调控真菌生长发育和致病性 <sup>[35]</sup> Regulate fungal growth, differentiation and pathogenicity
			调控生长发育与分生孢子形成 <sup>[36-37]</sup> Regulate fungal growth and conidiation
			在稻瘟病菌附着胞形成阶段显著表达 <sup>[38]</sup> ; 小麦全蚀病菌菌丝分泌 <sup>[39]</sup> ; 均具有氧化膜磷脂不饱和脂肪酸的生化活性, 未报道其在真菌致病性调控方面是否具有功能 MnLOX encoding gene was specifically expressed in appressorium formation stage in <i>M. oryzae</i> , and in hyphae of <i>G. graminis</i> . It displayed enzymatic activity in catalyzing oxidation of unsaturated fatty acids, but with no reports on its biological function

则提示真菌细胞可能使用不同于 NCOA4 的其他受体蛋白介导自噬调控胞内铁离子储备的释放。

综上所述, 真菌具有与动物细胞同源的铁离子外排通道蛋白 FPN 及吸收受体蛋白 TFR1, 但调控这些通道与转运蛋白的机制可能不同于动物细胞。胞内铁离子稳态对于病原真菌致病性具有重要调控作用, 但除了稻瘟病菌, 目前尚无真菌细胞铁稳态是否与铁死亡相关的报道。

## 2 真菌膜脂抗氧化系统

动物细胞的 2 个膜脂抗氧化系统: GSH-GPX4 系统和 FSP1/AIF-CoQ 系统, 在真菌(包括酵母)中存在并具有重要生物学功能。

### 2.1 GSH-GPX4 抗氧化系统

由谷氨酸、甘氨酸和半胱氨酸组成的谷胱甘肽(Glutathione, GSH)是机体抗氧化系统必不可少的抗氧化剂<sup>[46]</sup>, 能清理细胞内的自由基从而维持细胞的氧化还原动态平衡<sup>[47]</sup>。谷胱甘肽过氧化物酶 GPX 是一种重要的过氧化物分解酶, 以消耗 GSH 为代价减少细胞中的过氧化物。GPX4 主要是通过谷胱甘肽作为辅助因子清除机体中的活性氧自由基(Reactive Oxygen Species, ROS), 催化脂质过氧化物的还原, 抑制脂质氧化酶(Lipoxygenase, LOX)的活性, 并减少细胞和细胞膜发生过氧化<sup>[48-49]</sup>。因此, GSH-GPX4 途径是抑制铁死亡的关键过程。酿酒酵母具有 3 种 GPX 酶同系物: GPX1、GPX2 和 GPX3, 其中 GPX2 存在于细胞质和线粒体中, 参与调控酵母二倍体细胞的孢子形成<sup>[17,20]</sup>。GPX3 主要对抗脂质过氧化<sup>[16]</sup>, 并在镉诱导的氧化应激过程中保护磷脂<sup>[18]</sup>; GPX3 缺失时, 亚油酸过氧化氢导致磷脂丰度降低, 引起细胞毒性<sup>[19]</sup>。更重要的是, 酵母 GPX3 缺失引起的对氧化剂亚油酸氢过氧化物(Linoleic Acid Hydroperoxide, LAOOH)的敏感性与真菌铁调控转录因子 AFT1/2 缺失突变体类似, 因此我们推测酵母细胞更可能通过 GPX3 抑制铁死亡。我们报道的稻瘟病菌分生孢子铁死亡对已知靶向 GSH-GPX4 的铁死亡诱导剂 RSL3 与 Erastin 不敏感<sup>[8]</sup>; 稻瘟菌

基因组也未鉴定到编码 GPX4 的同源基因, 因此我们推测稻瘟病菌可能具有不同于 GSH-GPX4 的铁死亡调控通路。

### 2.2 AIF-CoQ 介导的膜脂过氧化

在动物细胞中最新鉴定到一个独立于 GPX4 的铁死亡抑制因子 FSP1, 作为非线粒体辅酶 Q (Coenzyme Q, CoQ, 也称为泛醌)抗氧化系统的关键成分, 通过还原非线粒体 CoQ10 而阻止脂质氧化<sup>[50-51]</sup>。因此 FSP1-CoQ 还原系统成为与 GSH-GPX4 平行的另一条铁死亡抑制途径。酿酒酵母中 CoQ 的生物合成受 CoQ1-10 等蛋白调控, 并由此调控细胞呼吸<sup>[27-28]</sup>。酵母细胞中定位于线粒体的细胞凋亡诱导因子(Apoptosis-Inducing Factor, AIF)则与哺乳动物 FSP1 具有同源性, 作为保守的氧化还原开关, 具有促进线粒体的呼吸功能和触发细胞死亡的功能<sup>[21]</sup>。有研究报道, AIF 介导酵母细胞在氧化胁迫下的程序性死亡<sup>[22]</sup>。*aif1* 缺失导致酵母细胞对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 敏感性增强, 而 *aif1* 过表达则相反<sup>[23]</sup>。

印度科学家 Muzaffar 等报道<sup>[24]</sup>, 漆树酸(Anacardic Acid, AA)引起的酿酒酵母细胞死亡具备细胞凋亡的形态学特征: 细胞膜皱缩、染色体凝聚、DNA 降解及细胞膜磷脂磷脂酰丝氨酸(Phosphatidylserine, PS)外翻; 但是与保守的细胞凋亡途径不同, AA 诱导的酵母细胞死亡不依赖于半胱氨酸蛋白酶 Caspase, 而由 AIF 介导。另一方面, AA 处理虽然引起胞内 ROS 水平降低, 却导致线粒体膜电势(Mitochondrial Membrane Potential, MMP)显著升高。AA 用于抑制稻瘟病菌分生孢子萌发与附着胞形成, 从而具有抑制稻瘟病的作用, 其机制推测为诱导稻瘟病菌细胞凋亡<sup>[25]</sup>, 然而该报道中, AA 处理导致稻瘟病菌 MMP 降低而不是升高, 与其在酵母细胞中报道的功能相反。针对同个课题组报道的 AA 在稻瘟病菌与酵母中的作用差异, 我们推测可能性包括: (1) AA 浓度不同, 用于处理酵母细胞的 AA 浓度范围是 0.1–0.8 mmol/L, 而处理稻瘟病菌孢子的 AA 浓度为 1–80 mmol/L, 二者差别超过 10 倍, 引起的细胞生理

变化也许无法直接比较; (2) 检测 MMP 的时间点不同, 酵母细胞被 AA 处理的首 20–25 min 时间段, MMP 表现为升高, 但随着细胞死亡进程 MMP 表现为降低; 而在稻瘟病菌的报道中, MMP 在处理 2 h 后进行检测, 也许已经错过了 AA 诱导 MMP 升高的时间窗口。除了酿酒酵母与稻瘟病菌, 靶向 AIF 基因而诱导细胞死亡的药物还见于甘草黄酮(Glabridin) 处理白色念珠菌(*Candida albicans*)的报道<sup>[26]</sup>。这 3 篇关于靶向真菌 AIF 诱导 PCD 的报道, 这类 PCD 均被称为细胞凋亡。主要原因是由于 AIF 家族基因最初被鉴定、最广为人知的功能, 是诱导一类独特的、不依赖于 Caspase 的细胞凋亡<sup>[21,52]</sup>。

然而真菌缺少动物细胞中广泛存在的、保守的 BCL-2 细胞凋亡通路; 少数关于真菌中 BCL-2 家族或 BCL-2 相关的永生基因(BCL-2 Associated Athanogene, BAG)家族介导的细胞程序性死亡的报道中, 其作用模式也不完全与动物细胞中相同, 例如, 不与 Hsp70 蛋白互作<sup>[53]</sup>。因此我们有理由相信, 真菌细胞中这类由 AIF 家族介导的 PCD, 也许并不直接等同于动物细胞的凋亡(尽管具备细胞凋亡的一些形态学特征); 或者, 真菌的这类 PCD 与细胞凋亡具有一定程度的重叠(Overlap)或串扰(Cross-Talk)。与 BCL-2 通路在真菌中普遍缺乏相对应的是, AIF 家族在真菌中广泛存在而且高度保守。AIF 作为线粒体上呼吸作用电子传递链的一个成员, 其生化本质是 NADH 脱氢酶, 可绕过线粒体呼吸链复合物 I 而直接氧化下游的 NADH; 但 AIF 同时也具有还原 CoQ 的功能, 这一 AIF-CoQ 抗氧化途径正是最近报道的不依赖 GPX4 的细胞铁死亡调控新途径<sup>[51]</sup>。因此, AA 通过抑制真菌 AIF 而达到的抗真菌功效, 是由于对真菌细胞凋亡还是细胞铁死亡的干扰有待进一步研究确证。另一方面, MMP 升高也被确立为铁死亡特征之一<sup>[54–55]</sup>。结合 AA 处理酵母细胞短时间内引起 MMP 升高这一现象<sup>[24]</sup>, 我们推测, AA 引起的酵母细胞死亡也许是铁死亡或类似铁死亡(Ferroptosis-Like), AA 也有可能作为铁死亡诱导剂发挥作用。综合真菌(包括酵母)响应靶向

AIF 的药剂处理引起的细胞死亡这 3 篇报道, 我们认为, 应该更有针对性地检测胞内铁离子浓度与脂质过氧化这 2 个关键指标, 进一步确认这类由 AIF 介导的真菌细胞死亡的类型。对于 AA 处理降低稻瘟病菌在水稻叶片形成病斑的作用机制, 我们认为也许不能简单归因为稻瘟病菌“细胞凋亡”(尚有待确证), 特别是, 铁死亡已被报道为水稻抗稻瘟病菌感染的超敏反应的机制<sup>[5]</sup>, 因此 AA 处理水稻叶片可能通过诱导水稻铁死亡从而增强其对稻瘟病的抗性。

通过靶向真菌 AIF-CoQ 脂膜过氧化系统而起作用的药剂还包括已知的抗真菌剂氟康唑(Fluconazole), 转录组分析鉴定其可能通过影响光滑念珠菌(*Candida glabrata*)的麦角甾醇与 CoQ 合成而调控脂质过氧化, 并通过影响铁离子转运系统而调控胞内铁离子稳态, 因此氟康唑的抗真菌作用机制也有可能是诱导真菌铁死亡。然而光滑念珠菌形成生物膜对氟康唑产生抗药性的机制, 则可能是负调控铁死亡相关通路<sup>[56]</sup>。针对紫草醌(Shikonin)处理的土曲霉(*Aspergillus terreus*)的蛋白质组分析, 发现作用靶标包括 GPX 与 CoQ 这 2 个抗氧化系统<sup>[29]</sup>。逐渐积累的研究报道提示, 真菌的膜脂抗氧化系统有可能是多种抗真菌药剂作用的有效靶标(表 2), 提示真菌铁死亡可能参与生长发育和/或致病性调控并成为真菌病害防控的潜在靶标。

### 3 真菌脂质过氧化酶促系统

直接催化膜脂过氧化的 COXs 与 LOXs、或者催化胞内 ROS 产生间接促进膜脂过氧化的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase, NOXs), 在真菌中均有同源蛋白, 并广泛参与调控真菌致病过程。

#### 3.1 还原型辅酶 II 氧化酶(NOXs)

研究发现, ROS 对病原真菌的生长、发育和致病过程至关重要<sup>[57]</sup>, NADPH 氧化酶(NOXs)在控制 ROS 的生成过程中起着核心作用。在真菌中, NOXs 调控 ROS 的合成影响细胞分化、发育和致病过程<sup>[35,58]</sup>。NOXA 可通过生成 ROS 而促进子实

表 2 潜在靶向铁死亡通路的抗真菌药剂  
Table 2 The established anti-fungal drugs potentially targeting to ferroptosis pathway

抗真菌剂 Anti-fungus drugs	作用靶标 Target(s) of action	参考文献 References
漆树酸 Anacardic acid	酵母、稻瘟病菌: AIF	[24-25]
甘草黄酮 Glabridin	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Magnaporthe oryzae</i> : AIF 白色念珠菌: AIF	[26]
氟康唑 Fluconazole	<i>Candida albicans</i> : AIF 光滑念珠菌: 不饱和脂肪酸麦角甾醇合成; CoQ 合成; 铁离子转运系统	[56]
紫草醌 Shikonin	<i>Candida glabrata</i> : Synthesis of ergosterol and CoQ; iron transport system 土曲霉: GPX 和 CoQ <i>Aspergillus terreus</i> : GPX and CoQ	[29]

体发育, 从而影响真菌性别分化<sup>[32-34]</sup>。在稻瘟病菌中, NOX1 和 NOX2 是致病所必需的<sup>[30]</sup>。稻瘟病菌在侵染过程中, 分生孢子会萌发形成附着胞并产生侵染钉刺入宿主表皮细胞, NADPH 氧化酶通过催化产生大量的脂质过氧化物和 ROS 调控 Septin 介导的 F-肌动蛋白在细胞骨架上的重新组合来促进角质层的破裂, 从而加速病原侵入<sup>[30-31]</sup>。本课题组最近的报道则确定了 NOXs 催化产生的 ROS 可诱发稻瘟病菌分生孢子脂质过氧化、进而激发铁死亡<sup>[8]</sup>。我们推测, 其他病原真菌的 NOXs 调控致病性的机制也可能包括细胞铁死亡调控。

3.2 环加氧酶 2 (COX-2)

生物体响应外源环境信号或内源生理信号, 会激发胞内多不饱和脂肪酸氧化形成氧脂素(如前列腺素和茉莉酸等)作为信号分子广泛参与调控动植物的多种生理过程<sup>[59-60]</sup>。环加氧酶 COX 是合成前列腺素类化合物的重要限速酶, COX 有 3 种同工酶: 结构型 COX-1、COX-3 和诱导型 COX-2, 其中 COX-2 主要催化膜磷脂中不饱和脂肪酸发生氧化反应, 执行铁死亡步骤<sup>[61]</sup>。多种真菌中均鉴定到 COX-2 的同源基因, 其编码产物为亚油酸酯二醇合成酶(Linoleate Diol Synthase, LDS), LDS 催化合成的产物主要为 8-羟基十八烷-9Z,12Z-二烯酸(8-Hydroxyoctadeca-9Z, 12Z-Dienoic Acid, 8-HODE)<sup>[62-66]</sup>, 具有调控真菌的有性和无性生命周期、分生孢子形成等生物学功

能<sup>[36-37]</sup>。

3.3 脂氧合酶(LOXs)

脂氧合酶(LOXs)属于非血红素双加氧酶家族, 是一类专一催化多元不饱和脂肪酸加氧反应的含铁或锰的氧化酶<sup>[67]</sup>。LOXs 广泛存在于动物、植物和微生物中<sup>[39,68-69]</sup>, 与植物的生长、发育和抗病性密切联系<sup>[70]</sup>。LOXs 在多种病原真菌及酵母中均鉴定到同源蛋白, 并广泛调控真菌致病性及与植物宿主的互作<sup>[39,67,71-72]</sup>。1998 年, Su 等经研究发现, 小麦根系致病性真菌 *Gäumannomyces graminis* 能分泌一种催化 18C 脂肪酸的含锰脂氧合酶, 并将其命名为 Mn-LOX<sup>[73]</sup>; 后续大量研究表明其催化产物可能干扰宿主细胞在感染时的信号级联, 从而对根细胞造成氧化损伤, 并可能因此促进病原真菌侵染宿主<sup>[39,67,74-75]</sup>。黄曲霉 (*A. flavus*) 和榆枯萎病菌 (*Ceratocystis ulmi*) 中 LOX 催化产生的 Oxylinip 也被认为是群体感应的信号且调控产孢与致病性<sup>[76-77]</sup>。稻瘟病菌在附着胞形成阶段高度表达并分泌脂氧合酶 Mn-LOX<sup>[38]</sup>; 我们报道了在附着胞形成与成熟阶段, 稻瘟病菌分生孢子需经历铁死亡<sup>[8]</sup>, 而此阶段表达并分泌的 Mn-LOX 是否参与调控分生孢子铁死亡有待将来研究解答。

综上所述, NOXs、COX-2 和 LOXs 在真菌中均催化脂质过氧化, 而且与真菌的生长发育、致病性密切相关; 但目前仅在稻瘟病菌中, 明确了 NOXs



可通过调控分生孢子铁死亡而调控侵染能力,尚不明确 COX2 与 LOXs 是否也能调控真菌铁死亡。

#### 4 总结与展望

自 2012 年铁死亡概念首次在动物细胞中提出,不到十年已积累了大量关于动物细胞铁死亡的研究与报道,由此确立了大量诱导或抑制铁死亡的化学药剂、调控铁死亡的信号网络与关键功能基因、明确了铁死亡在多种病理条件下的功能。但在动物细胞之外,铁死亡的研究尚属冷门,特别是真菌(包括酵母)研究领域。通过检索动物细胞铁死亡调控因子在真菌中的同源蛋白及这些同源蛋白的功能研究报道,我们推测铁死亡在病原真菌中可能承担的生理功能,也许并不限于我们首次报道的稻瘟病菌分生孢子程序性死亡与致病过程细胞分化;过去在关于病原真菌报道中的铁离子稳态和/或胞内氧化还原平衡对于致病力调控的机制,也许与细胞铁死亡相关,只是受限于当时并未建立“铁死亡”的概念。因此我们认为,病原真菌中的铁死亡功能目前可能是被低估的,在将来也许能成为研究真菌致病机制的一个新的方向。因此,继续深入研究病原真菌铁死亡,将为病害防控策略的选择与优化提供新的思路;铁死亡的抑制剂或激活剂具有开发成为真菌病害防控药剂的巨大潜力。

#### REFERENCES

- [1] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, Patel DN, Bauer AJ, Cantley AM, Yang WS, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072
- [2] Dixon SJ, Stockwell BR. The role of iron and reactive oxygen species in cell death[J]. *Nature Chemical Biology*, 2014, 10(1): 9-17
- [3] Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, Bush AI, Conrad M, Dixon SJ, Fulda S, Gascón S, Hatzios SK, Kagan VE, et al. Ferroptosis: a regulated cell death *Nexus* linking metabolism, redox biology, and disease[J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285
- [4] Stockwell BR, Jiang XJ, Gu W. Emerging mechanisms and disease relevance of ferroptosis[J]. *Trends in Cell Biology*, 2020, 30(6): 478-490
- [5] Dangol S, Chen YF, Hwang BK, Jwa NS. Iron- and reactive oxygen species-dependent ferroptotic cell death in rice-*Magnaporthe oryzae* interactions[J]. *The Plant Cell*, 2019, 31(1): 189-209
- [6] Distéfano AM, Martín MV, Córdoba JP, Bellido AM, D'Ippólito S, Colman SL, Soto D, Roldán JA, Bartoli CG, Zabaleta EJ, et al. Heat stress induces ferroptosis-like cell death in plants[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2017, 216(2): 463-476
- [7] Macharia M, Das PP, Naqvi NI, Wong SM. iTRAQ-based quantitative proteomics reveals a ferroptosis-like programmed cell death in plants infected by a highly virulent tobacco mosaic virus mutant 24A+UPD[J]. *Phytopathology Research*, 2020, 2(1): 1
- [8] Shen Q, Liang ML, Yang F, Deng YZ, Naqvi NI. Ferroptosis contributes to developmental cell death in rice blast[J]. *The New Phytologist*, 2020, 227(6): 1831-1846
- [9] Martínez-Pastor MT, Perea-García A, Puig S. Mechanisms of iron sensing and regulation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, 33(4): 1-9
- [10] Ramos-Alonso L, Romero AM, Martínez-Pastor MT, Puig S. Iron regulatory mechanisms in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 582830
- [11] Yamaguchi-Iwai Y, Dancis A, Klausner RD. AFT1: a mediator of iron regulated transcriptional control in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *The EMBO Journal*, 1995, 14(6): 1231-1239
- [12] Xu N, Cheng XX, Yu QL, Qian KF, Ding XH, Liu RM, Zhang B, Xing LJ, Li MC. Aft2, a novel transcription regulator, is required for iron metabolism, oxidative stress, surface adhesion and hyphal development in *Candida albicans*[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62367 DOI:10.1371/journal.pone.0062367
- [13] Dietl AM, Misslinger M, Aguiar MM, Ivashov V, Teis D, Pfister J, Decristoforo C, Hermann M, Sullivan SM, Smith LR, et al. The siderophore transporter Sit1 determines susceptibility to the antifungal VL-2397[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2019, 63(10): e00807- e00819
- [14] Nevitt T, Thiele DJ. Host iron withholding demands siderophore utilization for *Candida glabrata* to survive macrophage killing[J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(3): e1001322 DOI:10.1371/journal.ppat.1001322
- [15] Niewerth M, Kunze D, Seibold M, Schaller M, Korting HC, Hube B. Ciclopirox olamine treatment affects the expression pattern of *Candida albicans* genes encoding virulence factors, iron metabolism proteins, and drug resistance factors[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, 47(6): 1805-1817
- [16] Avery AM, Willetts SA, Avery SV. Genetic dissection of the phospholipid hydroperoxidase activity of yeast Gpx3 reveals its functional importance[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(45): 46652-46658



- [17] Conrad M, Kagan VE, Bayir H, Pagnussat GC, Head B, Traber MG, Stockwell BR. Regulation of lipid peroxidation and ferroptosis in diverse species[J]. *Genes & Development*, 2018, 32(9/10): 602-619
- [18] Muthukumar K, Rajakumar S, Sarkar MN, Nachiappan V. Glutathione peroxidase3 of *Saccharomyces cerevisiae* protects phospholipids during cadmium-induced oxidative stress[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2011, 99(4): 761-771
- [19] O'Doherty PJ, Lyons V, Higgins VJ, Rogers PJ, Bailey TD, Wu MJ. Transcriptomic insights into the molecular response of *Saccharomyces cerevisiae* to linoleic acid hydroperoxide[J]. *Free Radical Research*, 2013, 47(12): 1054-1065
- [20] Ukai Y, Kishimoto T, Ohdate T, Izawa S, Inoue Y. Glutathione peroxidase 2 in *Saccharomyces cerevisiae* is distributed in mitochondria and involved in sporulation[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 411(3): 580-585
- [21] Herrmann JM, Riemer J. Apoptosis inducing factor and mitochondrial NADH dehydrogenases: redox-controlled gear boxes to switch between mitochondrial biogenesis and cell death[J]. *Biological Chemistry*, 2021, 402(3): 289-297
- [22] Modjtahedi N, Giordanetto F, Madeo F, Kroemer G. Apoptosis-inducing factor: vital and lethal[J]. *Trends in Cell Biology*, 2006, 16(5): 264-272
- [23] Wissing S, Ludovico P, Herker E, Büttner S, Engelhardt SM, Decker T, Link A, Proksch A, Rodrigues F, Corte-Real M, et al. An AIF orthologue regulates apoptosis in yeast[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2004, 166(7): 969-974
- [24] Muzaffar S, Chattoo BB. Apoptosis-inducing factor (Aif1) mediates anacardic acid-induced apoptosis in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Apoptosis*, 2017, 22(3): 463-474
- [25] Muzaffar S, Bose C, Banerji A, Nair BG, Chattoo BB. Anacardic acid induces apoptosis-like cell death in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(1): 323-335
- [26] Moazeni M, Hedayati MT, Nabili M. Glabridin triggers over-expression of apoptosis inducing factor (AIF) gene in *Candida albicans*[J]. *Current Medical Mycology*, 2018, 4(3): 19-22
- [27] James AM, Cochemé HM, Murai M, Miyoshi H, Murphy MP. Complementation of coenzyme Q-deficient yeast by coenzyme Q analogues requires the isoprenoid side chain[J]. *The FEBS Journal*, 2010, 277(9): 2067-2082
- [28] Jenkins BJ, Daly TM, Morrissey JM, Mather MW, Vaidya AB, Bergman LW. Characterization of a *Plasmodium falciparum* orthologue of the yeast ubiquinone-binding protein, Coq10p[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0152197
- [29] Shishodia SK, Shankar J. Proteomic analysis revealed ROS-mediated growth inhibition of *Aspergillus terreus* by shikonin[J]. *Journal of Proteomics*, 2020, 224: 103849
- [30] Egan MJ, Wang ZY, Jones MA, Smirnov N, Talbot NJ. Generation of reactive oxygen species by fungal NADPH oxidases is required for rice blast disease[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(28): 11772-11777
- [31] Ryder LS, Dagdas YF, Mentlak TA, Kershaw MJ, Thornton CR, Schuster M, Chen JS, Wang ZH, Talbot NJ. NADPH oxidases regulate septin-mediated cytoskeletal remodeling during plant infection by the rice blast fungus[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(8): 3179-3184
- [32] Cano-Domínguez N, Alvarez-Delfín K, Hansberg W, Aguirre J. NADPH oxidases NOX-1 and NOX-2 require the regulatory subunit NOR-1 to control cell differentiation and growth in *Neurospora crassa*[J]. *Eukaryotic Cell*, 2008, 7(8): 1352-1361
- [33] Lara-Ortiz T, Riveros-Rosas H, Aguirre J. Reactive oxygen species generated by microbial NADPH oxidase NoxA regulate sexual development in *Aspergillus nidulans*[J]. *Molecular Microbiology*, 2003, 50(4): 1241-1255
- [34] Malagnac F, Lalucque H, de Lepère G, Silar P. Two NADPH oxidase isoforms are required for sexual reproduction and ascospore germination in the filamentous fungus *Podospira anserina*[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2004, 41(11): 982-997
- [35] Wang F, Gao WD, Sun JY, Mao XW, Liu KX, Xu JR, Fu DD, Yuan MY, Wang HC, Chen N, et al. NADPH oxidase CINOX2 regulates melanin-mediated development and virulence in *Curvularia lunata*[J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 2020, 33(11): 1315-1329
- [36] Oliw EH. Biosynthesis of oxylipins by *Rhizoctonia solani* with allene oxide and oleate 8S,9S-diol synthase activities[J]. *Lipids*, 2018, 53(5): 527-537
- [37] Tsitsigiannis DI, Keller NP. Oxylipins as developmental and host-fungal communication signals[J]. *Trends in Microbiology*, 2007, 15(3): 109-118
- [38] Wennman A, Jernerén F, Magnuson A, Oliw EH. Expression and characterization of manganese lipoxygenase of the rice blast fungus reveals prominent sequential lipoxygenation of  $\alpha$ -linolenic acid[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2015, 583: 87-95
- [39] Oliw EH. Plant and fungal lipoxygenases[J]. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2002, 68/69: 313-323
- [40] Riedelberger M, Penninger P, Tscherner M, Seifert M, Jenull S, Brunnhofer C, Scheidl B, Tsymala I, Bourgeois C, Petryshyn A, et al. Type I interferon response dysregulates host iron homeostasis and enhances *Candida glabrata* infection[J]. *Cell Host & Microbe*, 2020, 27(3): 454-466.e8
- [41] Martínez-Pastor MT, Puig S. Adaptation to iron deficiency in human pathogenic fungi[J]. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA - Molecular Cell Research*, 2020, 1867(10): 186710

- 118797
- [42] Fourie R, Kuloyo OO, Mochochoko BM, Albertyn J, Pohl CH. Iron at the centre of *Candida albicans* interactions[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8: 185
- [43] Sun XF, Ou ZH, Chen RC, Niu XH, Chen D, Kang R, Tang DL. Activation of the p62-Keap1-NRF2 pathway protects against ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Hepatology*: Baltimore, Md, 2016, 63(1): 173-184
- [44] Phillips JD, Guo B, Yu Y, Brown FM, Leibold EA. Expression and biochemical characterization of iron regulatory proteins 1 and 2 in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Biochemistry*, 1996, 35(49): 15704-15714
- [45] Veneault-Fourrey C, Barooah M, Egan M, Wakley G, Talbot NJ. Autophagic fungal cell death is necessary for infection by the rice blast fungus[J]. *Science*, 2006, 312(5773): 580-583
- [46] Harvey CJ, Thimmulappa RK, Singh A, Blake DJ, Ling G, Wakabayashi N, Fujii J, Myers A, Biswal S. Nrf2-regulated glutathione recycling independent of biosynthesis is critical for cell survival during oxidative stress[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2009, 46(4): 443-453
- [47] Zhang HQ, Forman HJ. Glutathione synthesis and its role in redox signaling[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2012, 23(7): 722-728
- [48] Brigelius-Flohé R, De Maorino M. Glutathione peroxidases[J]. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA - General Subjects*, 2013, 1830(5): 3289-3303
- [49] Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, Cheah JH, Clemons PA, Shamji AF, Clish CB, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4[J]. *Cell*, 2014, 156(1/2): 317-331
- [50] Bersuker K, Hendricks JM, Li ZP, Magtanong L, Ford B, Tang PH, Roberts MA, Tong BQ, Maimone TJ, Zoncu R, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 688-692
- [51] Doll S, Freitas FP, Shah R, Aldrovandi M, Da Silva MC, Ingold I, Grocin AG, Da Silva TNX, Panzilius E, Scheel CH, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 693-698
- [52] Lorenzo HK, Susin SA, Penninger J, Kroemer G. Apoptosis inducing factor (AIF): a phylogenetically old, caspase-independent effector of cell death[J]. *Cell Death & Differentiation*, 1999, 6(6): 516-524
- [53] Jain S, Wiemann P, Thill E, Williams B, Keller NP, Kabbage M. A bcl-2 associated athanogene (bagA) modulates sexual development and secondary metabolism in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1316 DOI:10.3389/fmicb.2018.01316
- [54] Gao MH, Yi JM, Zhu JJ, Minikes AM, Monian P, Thompson CB, Jiang XJ. Role of mitochondria in ferroptosis[J]. *Molecular Cell*, 2019, 73(2): 354-363.e3
- [55] Wang H, Liu C, Zhao YX, Gao G. Mitochondria regulation in ferroptosis[J]. *European Journal of Cell Biology*, 2020, 99(1): 151058
- [56] Alves R, Kastora SL, Gomes-Gonçalves A, Azevedo N, Rodrigues CF, Silva S, Demuyser L, Van Dijck P, Casal M, Brown AJP, et al. Transcriptional responses of *Candida glabrata* biofilm cells to fluconazole are modulated by the carbon source[J]. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 2020, 6: 4
- [57] Heller J, Tudzynski P. Reactive oxygen species in phytopathogenic fungi: signaling, development, and disease[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2011, 49(1): 369-390
- [58] Scott B, Eaton CJ. Role of reactive oxygen species in fungal cellular differentiations[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2008, 11(6): 488-493
- [59] Feussner I, Wasternack C. The lipoxygenase pathway[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2002, 53: 275-297
- [60] Wasternack C, Feussner I. The oxylipin pathways: biochemistry and function[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2018, 69: 363-386
- [61] Clemente SM, Martínez-Costa OH, Monsalve M, Samhan-Arias AK. Targeting lipid peroxidation for cancer treatment[J]. *Molecules*, 2020, 25(21): 5144
- [62] Cristea M, Osbourn AE, Oliw EH. Linoleate diol synthase of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*[J]. *Lipids*, 2003, 38(12): 1275-1280
- [63] Jernerén F, Oliw EH. The fatty acid 8,11-diol synthase of *Aspergillus fumigatus* is inhibited by imidazole derivatives and unrelated to PpoB[J]. *Lipids*, 2012, 47(7): 707-717
- [64] Seo MJ, Shin KC, An JU, Kang WR, Ko YJ, Oh DK. Characterization of a recombinant 7,8-linoleate diol synthase from *Glomerella cingulate*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(7): 3087-3099
- [65] Seo MJ, Kang WR, Yang EJ, Shin KC, Ko YJ, Oh DK. Molecular characterization of *Penicillium oxalicum* 6R, 8R-linoleate diol synthase with new regiospecificity[J]. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, 1864(4): 577-586
- [66] Shin KC, Seo MJ, Oh DK. Characterization of a novel 8R, 11S-linoleate diol synthase from *Penicillium chrysogenum* by identification of its enzymatic products[J]. *Journal of Lipid Research*, 2016, 57(2): 207-218
- [67] Heshof R, de Graaff LH, Villaverde JJ, Silvestre AJD, Haarmann T, Dalsgaard TK, Buchert J. Industrial potential of lipoxygenases[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2016, 36(4): 665-674
- [68] Kurakin GF, Samoukina AM, Potapova NA. Bacterial and protozoan lipoxygenases could be involved in cell-to-cell signaling and immune response suppression[J]. *Biochemistry: Moscow*, 2020, 85(9): 1048-1063
- [69] Offenbacher AR, Holman TR. Fatty acid allosteric

- regulation of C-H activation in plant and animal lipoxygenases[J]. *Molecules*, 2020, 25(15): 3374
- [70] Babenko LM, Shcherbatiuk MM, Skaterna TD, Kosakivska IV. Lipoxygenases and their metabolites in formation of plant stress tolerance[J]. *Ukrainian Biochemical Journal*, 2017, 89(1): 5-21
- [71] Bisakowski B, Perraud X, Kermasha S. Characterization of hydroperoxides and carbonyl compounds obtained by lipoxygenase extracts of selected microorganisms[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1997, 61(8): 1262-1269
- [72] Sugio A, Østergaard LH, Matsui K, Takagi S. Characterization of two fungal lipoxygenases expressed in *Aspergillus oryzae*[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2018, 126(4): 436-444
- [73] Su C, Oliw EH. Manganese lipoxygenase: purification and characterization[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(21): 13072-13079
- [74] Brodhun F, Feussner I. Oxylipins in fungi[J]. *FEBS Journal*, 2011, 278(7): 1047-1063
- [75] Kostenko A, Ray K, Iavarone AT, Offebacher AR. Kinetic characterization of the C-H activation step for the lipoxygenase from the pathogenic fungus *Magnaporthe oryzae*: impact of N-linked glycosylation[J]. *Biochemistry*, 2019, 58(29): 3193-3203
- [76] Horowitz Brown S, Zarnowski R, Sharpee WC, Keller NP. Morphological transitions governed by density dependence and lipoxygenase activity in *Aspergillus flavus*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(18): 5674-5685
- [77] Jensen EC, Ogg C, Nickerson KW. Lipoxygenase inhibitors shift the yeast/mycelium dimorphism in *Ceratocystis ulmi*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(8): 2505-2508