

# H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 参与冷激处理对番茄果实抗冷性及抗氧化酶活性的影响

欧阳丽喆<sup>1</sup>, 申琳<sup>1</sup>, 陈海荣<sup>1</sup>, 范蓓<sup>1</sup>, 郑杨<sup>1</sup>, 孙建军<sup>2</sup>, 生吉萍<sup>1,\*</sup>

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 山东省菏泽信息工程学校, 山东 菏泽 274006)

**摘要:** 本研究以“佳粉1号”番茄为试材, 研究了H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>参与冷激处理对番茄果实抗冷性及抗氧化酶活性的影响。结果表明冷激处理降低了果实的冷害发生率和冷害指数, 诱导了冷藏初期番茄果实中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的升高, 延缓了丙二醛的增加, 提高了低温下果实内过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性。用二甲基硫脲(DMTU)抑制内源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能够削弱冷激处理所诱导的番茄果实冷害发生率的降低及对MDA累积的延缓作用, 且CAT和APX的活性在冷藏初期受到抑制。结果表明, 冷激处理可以有效提高番茄的耐冷性, 减少低温对细胞膜系统的伤害, 提高抗氧化酶的活性, 而抑制内源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>后有效抑制了由冷激诱导的耐冷性的提高, 说明冷藏初期内源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>参与了冷激介导番茄果实抗冷性的提高。

**关键词:** 番茄; 冷激; 冷害; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 抗氧化酶

Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on Cold Tolerance and Antioxidant Enzyme Activities of Tomato by Cold-shock Treatment

OUYANG Li-zhe<sup>1</sup>, SHEN Lin<sup>1</sup>, CHEN Hai-rong<sup>1</sup>, FAN Bei<sup>1</sup>, ZHENG Yang<sup>1</sup>, SUN Jian-jun<sup>2</sup>, SHENG Ji-ping<sup>1,\*</sup>

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. Heze Information Engineering School of Shandong Province, Heze 274006, China)

**Abstract:** The effects of hydrogen peroxide on the increased cold tolerance of tomato by cold-shock treatment and metabolism of dynamic changes of antioxidant enzyme system were studied. Cold-shock treatment reduced the chilling injury rate and chilling injury index, enhanced the endogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content in the beginning of storage, postponed the increases of MDA and increased the activities of CAT and APX. The MDA content increased after pretreatment with dimethylthiourea before cold-shock treatment. Furthermore, the activities of CAT and APX were inhibited. These results indicated that cold-shock increases cold tolerance of tomato, reduces the effects on the injury of cell membrane and increases the activities of the antioxidant enzymes. Pretreatment with dimethylthiourea (a trap for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) remarkably inhibits cold tolerance induced by cold-shock. All the results showed that endogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> may improve the tolerance cold shock-enhanced tomatoes.

**Key words:** tomato; cold-shock; chilling injury; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; antioxidant enzyme

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0031-05

温度是果实采后贮藏环境中的重要因素。一般认为, 低温贮藏是新鲜果实贮藏保鲜最有效的方法<sup>[1]</sup>。但冷敏感性果实(如许多热带、亚热带果实)在冰点以上的低温逆境中容易造成代谢失调和细胞伤害, 即所谓的冷害<sup>[2]</sup>。对果实采后低温逆境生理的研究一直是国内外采后生理研究中的热点。

近年来H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的信号转导作用已经被越来越多的实验证实<sup>[3-4]</sup>。有研究表明, 低温胁迫可诱导H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累<sup>[5-6]</sup>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可能作为细胞内转导低温信号的第二信使提高植物

的抗冷性<sup>[7]</sup>。在香蕉幼苗上喷施H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和Ca<sup>2+</sup>可提高其抗冷性, 并诱导抗氧化酶活性的提高<sup>[8]</sup>。上述研究表明, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>参与了果实采后冷害及耐冷性诱导。冷激处理是对采后果实作不致发生冷害和冻害的极短时间的低温处理, 从而提高果实抗冷性的方法<sup>[9]</sup>。Ogata等<sup>[10]</sup>研究发现, 对冷敏感的果实, 用0℃的冰水冷激处理可延缓果实的成熟。此后Iwata<sup>[11]</sup>也发表了类似冷激效应的报道。虽已有研究发现冷激能够提高冷敏感果实的抗氧化酶活性, 抑制膜脂过氧化, 但关于其在采后果实冷害

收稿日期: 2007-05-14

\*通讯作者

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30571296; 30671471); 中澳合作项目(ACIAR PHT/1999/081)

作者简介: 欧阳丽喆(1981-), 女, 硕士研究生, 主要从事果蔬采后生理与生物技术研究。

方面应用的报道很少。

本研究旨在通过研究冷激处理及冷激处理前抑制内源 $H_2O_2$ 处理对番茄果实抗冷性及抗氧化酶的调控,说明冷激处理是否能够减轻番茄采后冷害,并进一步探讨冷激处理提高番茄果实抗冷性是否需要前期 $H_2O_2$ 信号的参与及其对 $H_2O_2$ 相关代谢酶体系的调控。

## 1 材料与方法

### 1.1 试材处理

实验选用“佳粉1号”番茄(*Lycopersicon esculentum*),于北京市东北旺土井村蔬菜大棚采摘绿熟期(花期为40d左右)番茄,采后迅速置于2℃冷库预冷。采摘、运输过程中避免机械伤害。挑选大小均匀、成熟度相对一致、无病虫害、无机械伤的番茄果实进行处理。试材分3组,第1组为对照组(control),蒸馏水处理;第2组为冷激处理;第3组用二甲基硫脲(DMTU)抑制内源 $H_2O_2$ 后再进行冷激处理(冷激+DMTU),DMTU处理浓度为5mmol/L。冷激处理方法:以0℃的冰水混合物为冷却介质,用0.01mm的聚乙烯薄膜袋包装番茄,排出袋内气体并封口,将果实完全浸入冰水中,冷激2.5h,处理完毕后,在自然状态下充分晾干。溶液处理方法:将番茄放入盛有处理溶液(或蒸馏水)的大型干燥器中,用真空泵抽真空,达到-0.04MPa的压强后保持30s,真空渗透后在常压下浸透2min,进行溶液与果实之间的固相和液相之间的平衡。自然晾干,置于清洁塑料筐中,冷藏于2±1℃冷库中。每个处理每次取30个果,每个处理做3个平行。其中10个果测定生理生化等品质指标,其余20个果在常温下放置2d后调查番茄的冷害指数和冷害发生率。

### 1.2 测定方法

#### 1.2.1 冷害指数和冷害发生率的测定<sup>[12]</sup>

番茄冷害症状表现为:表面凹陷斑或水浸斑、褐斑,有果柄一端开始腐烂,果实不能正常转红成熟。根据以上症状分级:0级无冷害,1级冷害面积小于1/4,2级冷害面积1/4~1/2,3级冷害面积1/2~3/4,4级冷害面积大于3/4。

$$\text{冷害发生率(\%)} = \frac{\text{冷害发生数量}}{\text{调查总数量}} \times 100$$

$$\text{冷害指数} = \frac{\sum (\text{冷害级别} \times \text{该级别果数})}{4 \times \text{总果数}}$$

#### 1.2.2 丙二醛(MDA)含量的测定

采用硫代巴比妥酸法<sup>[13]</sup>。

#### 1.2.3 $H_2O_2$ 含量的测定

参照Brennan<sup>[14]</sup>方法。

#### 1.2.4 抗氧化酶活性测定

称取1.0g果皮,用5ml样品提取液含(pH7.0、50mmol/L磷酸缓冲液;1mmol/L EDTA和1% PVP)冰浴研磨匀浆,12000×g(4℃)离心15min,上清液用于酶活测定。三次重复。过氧化氢酶(CAT)活性的测定参照Aebi<sup>[15]</sup>方法。抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定。参照Nakano<sup>[16]</sup>方法。

#### 1.2.5 数据处理

采用Excel软件对检测数据进行统计分析与制图,采用t检验差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 番茄冷藏期间冷害指数和冷害发生率的变化

冷害发生率的变化由图1可以看出,冷藏期间,随着贮藏时间的延长,冷害发生率是急剧增加的。在冷藏第4d时,除了冷激处理果实没有表现出表现的冷害症状,另外两种处理对照果实和冷激前抑制内源 $H_2O_2$ 处理(冷激+DMTU处理)果实均出现了冷害症状,冷害级别为1级。从冷藏第7d开始,冷害发生率增加速度加快,在冷藏第13d时,对照果实的冷害发生率为82%,冷激+DMTU处理果实的冷害发生率为94%,而冷激处理的则明显低于对照和冷激+DMTU处理的果实,仅为对照的63.4%,冷激+DMTU处理的55.3%。

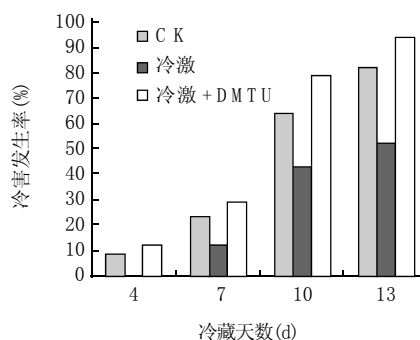


图1 冷激处理对2℃冷藏番茄果实冷害发生率的影响

Fig.1 Effects of cold-shock treatment on chilling injury rate of tomato fruit during 2 °C storage

冷害指数的变化与冷害发生率的变化趋势类似。如图2所示,随着冷藏时间的延长,冷害指数呈上升趋势,冷害的发生在逐渐加重。冷藏第4d对照果实和冷激+DMTU处理果实出现冷害症状,冷害指数分别为0.024和0.046,冷激处理的果实冷害指数为0,即果实没有发生冷害症状。从冷藏第7d开始,对照果实和冷激+DMTU处理果实的冷害发生情况急剧加重,到冷藏第13d时,冷激处理的果实冷害指数为0.523,而对照果

实和冷激+DMTU处理果实则分别为冷激处理的1.46倍和1.58倍,显著高于冷激处理的果实。

上述结果表明,冷激处理在番茄的低温贮藏过程中可以很好的延缓冷害的发生和发展。而抑制了内源 $H_2O_2$ 的产生后再进行冷激处理,对冷害的产生没有明显的减缓作用,说明 $H_2O_2$ 在冷激处理诱导抗冷性的过程中起到重要的作用。

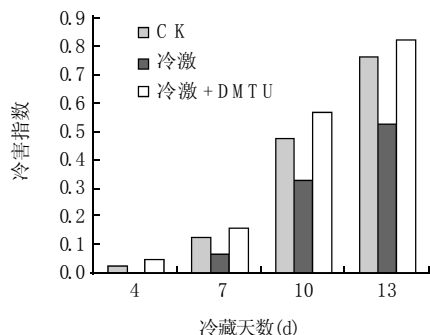


图2 冷激处理对2℃冷藏番茄果实冷害指数的影响

Fig.2 Effects of cold-shock treatment on chilling injury index of tomato fruit during 2 °C storage

## 2.2 番茄冷藏期间 $H_2O_2$ 含量的变化

从冷藏过程中 $H_2O_2$ 含量的变化可以看出(图3),对照组 $H_2O_2$ 含量在冷藏过程中先升高后降低。冷激处理在冷藏第1d番茄果实中 $H_2O_2$ 含量急剧升高,与对照和冷激+DMTU处理的差异达显著水平( $p < 0.05$ ),随后从第4d开始, $H_2O_2$ 含量逐渐降低,且一直低于对照。而冷激+DMTU处理的果实在冷藏第1d $H_2O_2$ 含量低于对照和冷激处理,但随后 $H_2O_2$ 含量开始急剧上升,在冷藏第7d后 $H_2O_2$ 含量均高于对照和冷激处理,且差异达极显著水平( $p < 0.01$ )。这说明 $H_2O_2$ 能够被冷激处理诱导而引起短暂的应激升高,随后其作为信号分子调控下游相关代谢体系和其他生理生化反应过程,使番茄果实的抗冷性增强。

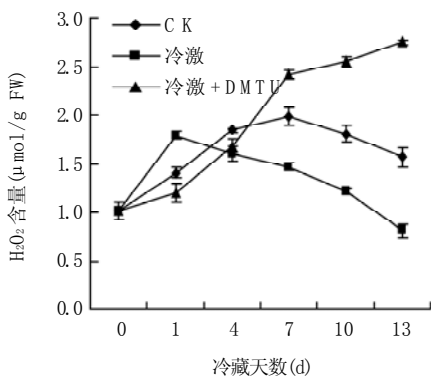


图3 冷激处理对2℃冷藏番茄果皮 $H_2O_2$ 含量的影响

Fig.3 Effects of cold-shock treatment on  $H_2O_2$  content of tomato fruit pericarp during 2 °C storage

## 2.3 番茄冷藏期间丙二醛(MDA)含量的变化

MDA是膜质过氧化的产物,其浓度高低可在一定程度上反映细胞膜损伤程度的大小。从图4可以看出,在整个冷藏过程中,MDA的含量是先升高后降低的,各处理间存在着差异。冷激处理MDA含量一直显著低于对照和冷激+DMTU处理,与对照差异达极显著水平( $p < 0.01$ )。冷激+DMTU处理MDA含量在冷藏第4d后降低缓慢。可见冷激处理能够减少膜质过氧化,降低冷害的发生,且该过程需要前期 $H_2O_2$ 信号的参与。

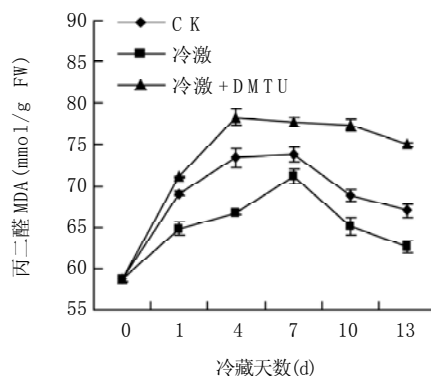


图4 冷激处理对2℃冷藏番茄果皮MDA含量的影响

Fig.4 Effects of cold-shock treatment on MDA content of tomato fruit pericarp during 2 °C storage

## 2.4 番茄冷藏期间抗氧化酶活性的变化

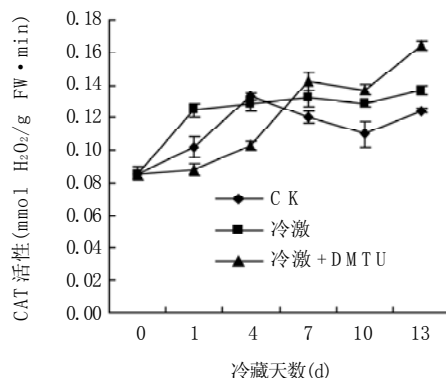


图5 冷激处理对2℃冷藏番茄果皮CAT活性的影响

Fig.5 Effects of cold-shock treatment on CAT activities of tomato fruit pericarp during 2 °C storage

由图5可见,对照组的CAT活性在冷藏过程中是先升高后降低,并在冷藏第4d达到最大值。冷激处理在冷藏前7dCAT活性上升迅速,冷藏后期活性变化较小,但一直维持一个较高水平。冷激+DMTU处理的番茄果实在冷藏的前7dCAT活性低于对照,冷藏7d后CAT活性急剧上升,并明显高于对照,差异达显著水平( $p < 0.05$ )。

对照组的APX活性在整个冷藏过程中逐渐降低(图

6)。冷激处理并不能在较短的冷藏时间内提高 APX 活性,在冷藏前 4 d 其 APX 活性与对照无明显差异,冷藏 4 d 后对照 APX 活性迅速下降,而冷激处理 APX 活性则有所上升然后再降低,且其活性明显高于对照,差异达极显著水平( $p < 0.01$ )。冷激+DMTU 处理的番茄果实 APX 活性先急剧下降后逐渐上升,并在冷藏第 7 d 后高于对照。

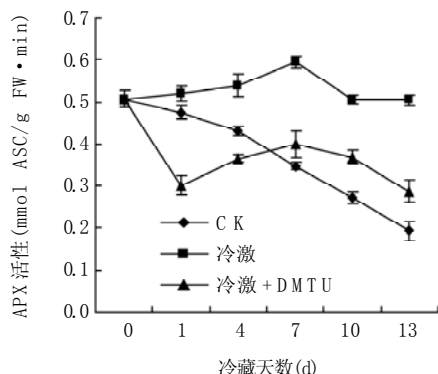


图6 冷激处理对2℃冷藏番茄果皮 APX 活性的影响

Fig.6 Effects of cold-shock treatment on APX activities of tomato fruit pericarp during 2 °C storage

### 3 讨论

已有研究表明冷激处理能够提高油桃<sup>[17]</sup>、黄桃<sup>[18]</sup>等冷敏感果实的抗氧化酶的活性,抑制膜脂过氧化。本研究以“佳粉1号”番茄为试验材料,得到了相同的结论。结果表明,冷激处理能够有效提高番茄耐冷性,减少低温对细胞膜系统的伤害,提高抗氧化酶活性,从而降低由冷害导致的冷害胁迫。

研究发现, $H_2O_2$ 可作为一种逆境反应中的信号分子,在信号转导中调控下游信号流<sup>[19-20]</sup>,从而激活和调控植物体内各种胁迫相关基因的表达<sup>[21]</sup>。实验结果表明,冷激处理可以使番茄果皮中 $H_2O_2$ 含量在冷藏初期显著增加,而抑制内源 $H_2O_2$ 后有效抑制了由冷激诱导的番茄耐冷性的提高。冷激处理诱导的短暂应激升高的 $H_2O_2$ 可能作为信号级联中的一分子,调控下游相关代谢体系和其他生理生化反应过程,使番茄果实的抗冷性增强,说明初期内源 $H_2O_2$ 在冷激诱导的果实抗冷性中发挥重要作用,其可能参与冷激介导番茄果实抗冷性。

保护植物不受氧化胁迫的伤害是植物的抗逆机制之一,且保护能力的高低与抗氧化酶活性的高低密切相关。通过提高抗氧化酶活性可使低温胁迫下植物体内的 $H_2O_2$ 积累减少<sup>[22-23]</sup>。实验中发现,冷激处理显著增加了番茄冷藏初期 $H_2O_2$ 的含量,同时也提高了CAT、APX活性。而冷激+DMTU处理在冷藏初期,CAT和APX都处于低活性状态,这与初期内源 $H_2O_2$ 受到抑制有密切

关系,同时这也可能是造成番茄冷害的重要原因。推测CAT、APX是冷激处理响应的一个方面,且也是冷激处理影响活性氧代谢体系的重要因子。冷激+DMTU处理在冷藏后期CAT和APX均逐渐升高,但两种酶活性高峰时期有所不同。实验中CAT活性的激活要晚于APX,这可能与两种酶在细胞中清除 $H_2O_2$ 的顺序有关。即初期低浓度 $H_2O_2$ 的清除可能主要是由APX在线粒体和叶绿体中通过抗坏血酸-谷胱甘肽循环进行,而当 $H_2O_2$ 达到一定浓度后则细胞内启动主要存在于过氧化物酶体系中的CAT参与作用。

作为植物信号转导中重要的第二信使, $H_2O_2$ 在多种环境胁迫间的交叉抗性中的信号作用已被证实<sup>[24-25]</sup>,但对其在生物胁迫和非生物胁迫的交叉抗性中的信号转导机制和基因调控模式并不十分清楚。本实验研究的冷激处理有提高果实抗冷性的作用,但是该处理对相关代谢酶体系的调节机理还有待于深入研究,并为研究更加实用有效的调控技术措施提供依据。

### 参考文献:

- [1] 王晖,周守标,钮艳.影响果品采后贮藏的因素[J].安徽农学通报,2006,12(8):64-66.
- [2] 王善广.果蔬贮藏冷害研究进展[J].保鲜与加工,2004(4):3-5.
- [3] NEILL S, DESIKAN R, HANCOCK J. Hydrogen peroxide signaling [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2002(5):388-395.
- [4] ELISA Z, STIJN M, JAMES D, et al. Nitric oxide and hydrogen peroxide responsive gene regulation during cell death induction in tobacco [J]. Plant Physiology, 2006, 141(2):404-411.
- [5] PRASAD T K. Evidence for chilling induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide [J]. The Plant Cell, 1994(6):65-74.
- [6] DAT J, VANDENBEELE 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.
- [7] KANG G Z, WANG Z X, SUN G C. Enhancement of cold tolerance by salicylic acid in banana seedlings is related to  $H_2O_2$  metabolism [J]. Acta Bot Sin, 2003, 45(5):567-573.
- [8] 康国章,陶均,孙谷畴,等. $H_2O_2$ 和 $Ca^{2+}$ 对受低温胁迫香蕉幼苗抗冷性的影响[J].园艺学报,2002,29(2):119-122.
- [9] 邵志鹏,应铁进,王阳光.番茄果实采后冷激处理的生理研究[J].南京农业大学学报,2002,25(2):97-100.
- [10] OGATA K, SAKAMOTO T. Cold-shock effect on keeping quality of Japanese apricot fruits and tomato fruits [J]. St Inst Hort Kyoto Univ, 1979(9):146-150.
- [11] IWATA T. Cold shock effect on harvested vegetables and fruits [J]. J Inst Cold Chain, 1984, 10(4):107-112.
- [12] 熊兴森,饶景萍,戴思琴,等.冷激处理对油桃贮藏品质和抗氧化酶活性的影响[J].西北植物学报,2006,26(3):473-477.
- [13] 肖红梅,周光宏.热处理对冷藏番茄活性氧代谢的调节[J].食品科学,2004,25(10):331-335.
- [14] BRENNAN T C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear [J]. Plant Physiol, 1977, 59(2):411-416.
- [15] AEBI I I. Catalase in vitro [J]. Methods Enzymol, 1984, 105:121-126.
- [16] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate

# 葡萄多糖的抑菌作用研究

王忠民, 程明冬, 王有平

(新疆农业大学食品科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

**摘 要:** 用葡萄多糖对食品中三种常见微生物进行抑菌性实验, 结果表明: 葡萄多糖对大肠杆菌抑制效果较好, 枯草杆菌次之, 对金黄色葡萄球菌无抑制作用。同一品种的葡萄, 粗多糖好于分级多糖; 多糖的分子量越大, 其抑菌作用越强; 不同品种的葡萄, 无核白葡萄抑菌效果优于火焰红葡萄。葡萄多糖对原乳中细菌总数有一定的抑制作用, 对芽孢总数和耐热芽孢数没有明显的影响。4℃条件下, 添加 VLP-B<sub>0</sub> 乳样可贮藏 7 d, 比未加多糖的原乳延长 3 d, 比室温(22℃)下保存的原乳延长 5 d。

**关键词:** 葡萄多糖; 抑菌作用; 鲜乳

Study on Antimicrobial Activity of *Vitis* L. Ploysaccharide

WANG Zhong-min, CHENG Ming-dong, WANG You-ping

(College of Food Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

**Abstract:** Antimicrobial activity of *Vitis* L. ploysaccharide(VLP) were tested against 3 bacteria in food. The results showed that there are stronger antimicrobial effects on *E. scherichia coli* than on *Bacillus sttbtilis* except *Staphy lococcus aureus*. To the same species of grape, the antibiotic activity is enhanced with the increase of average molecular weight of VLP; while to different kinds, the white grape antibiotic activity is better than the red one. The inhibition effects of VLP against milk microbers were then studied. VLP shows significant inhibitant activity against the medium baterial count, but the milk VLP has little inhibitant activity against antimicrobial activity to the total bacillus and also thermophilic bacillus. In 4℃, the milk added to VLP-B<sub>0</sub> can help restore 7 days, 3 days longer than the milk without VLP or 5 days longer than the fresh milk in 22℃.

**Key words** *Vitis* L. ploysaccharide; antimicrobial activity; fresh milk

中图分类号: Q532.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0035-04

收稿日期: 2006-07-12

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(200421115)

作者简介: 王忠民(1964-), 男, 教授, 博士, 主要从事食品科学和天然成分化学、食品安全等研究。

specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant Cell Physiol*, 1981, 22: 867-880.

- [17] 黄漫青, 韩涛, 李丽萍, 等. 温度调节对贮藏番茄冷害及相关生理变化的影响[J]. *中国食品学报*, 2006, 6(3): 89-94.
- [18] 陈留勇, 孟宪军, 宋义忠, 等. 冷激处理对黄桃保鲜效果的影响[J]. *食品工业科技*, 2003, 24(11): 67-69.
- [19] DESIKAN R, CHEUNG M K, BRIGHT J, et al. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells[J]. *J Exp Bot*, 2004, 55: 205-212.
- [20] PLETJUSHKINA O Y, FETISOVA E K, LYAMZAEV K G, et al. Hydrogen peroxide produced inside mitochondria takes part in cell-to-cell transmission of apoptotic signal[J]. *Biochemistry*, 2006, 71(1): 60-67.
- [21] MARTHA L, OROZCO-Cárdenas, JAVIER Narváez-Vásquez, et al.

Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate[J]. *The Plant Cell*, 2001, 13: 179-191.

- [22] 谭卫萍, 陈建业, 张慧, 等. 果实采后对低温逆境的适应性响应及信号转导(综述)[J]. *亚热带植物科学*, 2006, 35(1): 67-70.
- [23] CORDENUNSI B R, GENOVESE M I, OLIVEIRA J R, et al. Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars[J]. *Food Chem*, 2005, 91: 113-121.
- [24] BOLWELL C, FLUHR R. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2000 (5): 241-245.
- [25] XTONG L M, SCHUMAKER K, ZHU J K. Cell signaling during cold, drought and salt stress[J]. *The Plant Cell*, 2002, 14: 165-183.