

药用植物细胞次生代谢产物合成信号转导机制研究进展

徐茂军*

(浙江工商大学资源与环境生物技术研究所, 杭州 310035)

摘要 植物细胞中次生代谢产物的低产现象是制约细胞培养法生产植物次生代谢产物技术产业化应用的核心问题之一。与初生代谢相比,植物次生代谢具有非常强的可调控性。细胞内部的信号转导系统是介导植物次生代谢产物合成的桥梁和纽带。近年来,国内外研究者对植物细胞次生代谢信号转导途径进行了广泛的研究。本文介绍了这一领域的最新研究进展,并结合本课题组的研究结果重点阐述了 NO、SA、JA、ROS 等信号分子(途径)在介导植物细胞次生代谢产物合成中的关系及相互影响。

关键词 植物细胞培养; 次生代谢产物; 信号转导; 代谢调控

高等植物的次生代谢产物是许多天然药物的重要来源,植物药在国际医药市场中占有重要地位。由于许多植物天然活性物质的结构特殊,很难用化学方法全合成,因此这类物质的生产必需依赖天然植物资源。虽然植物是一种可再生资源,但是由于自然资源的破坏、无计划的采挖以及栽培困难等原因,使一些药用植物资源日益匮乏。根据“细胞全能性”原理发展起来的植物细胞培养技术为植物天然活性物质生产提供了一条全新途径,并被视为是解决植物天然药物可持续发展问题的一种新型生物技术,吸引了国内外众多研究者的关注。经过多年的研究攻关后,一些植物天然活性物质,例如:紫草宁(shikonin)、小檗碱(berberine)等已经可以利用细胞培养技术生产^[1]。然而,到目前为止能够采用细胞培养技术进行产业化生产的植物天然活性物质的种类非常有限。制约该项技术产业化应用的核心问题之一是普遍存在的培养细胞中活性物质的低产现象。

针对植物培养细胞中天然活性物质的低产问题,国内外研究者进行了大量的研究探索,包括优质细胞系的选育、培养条件的优化、培养技术改进以及活性物质合成关键酶基因的克隆等^[1,2]。然而,到目前为止植物细胞中天然活性物质的低产问题仍未得到很好解决。植物体内的次生代谢物质的生物合成非常容易受外界因素的影响,而细胞内部的信号转导系统是介导外界因子诱发植物次生代谢产物合成的桥梁和纽带^[3,4]。因此,研究探讨植物细胞中与次生代谢产物合成有关的信号转导机制不但有助于掌握植

物次生代谢的调控规律而且对生产实践中解决植物培养细胞次生产物低产问题具有重要意义。

植物体内的代谢产物按其生物学功能可分为初生代谢产物(primary metabolites)和次生代谢产物(secondary metabolites)两大类^[5]。与初生代谢相比,植物次生代谢更容易受外界环境条件的影响。植物体内次生代谢物质的合成是受细胞内部相关基因调控的一系列复杂的生化反应过程,而环境因子等作为外界信号并不直接参与细胞内的次生代谢过程,因此在植物细胞内必然存在着相关的胞内信号分子和相应的信号转导机制来感受并传递外界因子的刺激信号。研究探讨植物细胞中与次生代谢产物合成调控有关的信号分子及信号转导机制将有助于理解植物细胞中次生代谢产物合成的调控规律,为生产实践中提高植物培养细胞的次生物质产量提供理论基础。

信号转导是植物体内一种常见的生理生化现象,在植物生长发育、抗病、抗逆等过程中起着重要作用。有关植物抗逆、抗病等生理生化过程中的信号转导机制问题国内外已有不少相关的综述报道。本文着重介绍近年来有关植物细胞次生代谢产物合成信号转导机制方面的研究进展,并结合作者近年来的一些研究结果分析讨论了 NO、SA、JA、ROS 等信号分子(途径)在介导药用植物细胞次生代谢产物合

收稿日期: 2009-03-19 接受日期: 2009-07-14

国家自然科学基金(No.30572331, No.30873375)和浙江省自然科学基金(No.302785)资助项目

* 通讯作者。Tel: 0571-88071024, E-mail: maojunxu@163.com

成中的关系及相互影响,并对目前该领域研究中存在的问题及进一步研究方向进行了分析讨论。

1 参与药用植物次生代谢产物合成调控的信号分子

在植物细胞次生代谢产物合成信号转导机制的研究中,首要的任务之一就是研究探讨参与介导植物细胞次生代谢产物合成的信号相关信号分子。目前,被确认参与植物细胞次生代谢产物合成调控的信号分子有一氧化氮(NO)、茉莉酸(JA)、活性氧中间体(ROI)、水杨酸(SA)等。

1.1 NO在介导药用植物细胞次生代谢产物合成中的作用

NO是一种同时具有水、脂溶性的可扩散小分子物质,可以作为细胞内或细胞间信号分子^[5]。NO在人体及动物神经、心血管和免疫系统中的信号调控作用已引起人们的广泛关注^[6]。近年来的研究表明,植物也可以产生NO,而且NO在植物体内具有促进种子萌发及植株根和叶的生长发育以及诱发植物防卫反应和防御基因活化等多种功能^[6]。研究表明,NO是介导植物对生物逆境胁迫防卫反应的重要环节之一^[7]。Dolledonne等^[7]发现将动物细胞的一氧化氮合酶(NOS)导入到烟草细胞中可以诱导抗性相关基因(*PR gene*)的表达。在烟草悬浮细胞中添加NO的前体物质GSNO也可以诱导烟草细胞中抗性相关基因的表达。NO前体SNP可以诱发水稻细胞中*pal*、*prl*和*chi*等防卫基因的表达^[8]。NO的这些功能可被NO淬灭剂cPTIO所抑制^[8]。这些试验结果表明,NO是触发植物防卫反应所必需的信号分子之一。有关NO在植物抗病等领域中的研究进展可以参考相关综述^[9]。

Modolo等^[10]是较早发现NO可能参与植物次生代谢产物合成调控的学者之一。他们以NO处理大豆,发现外源NO可以提高大豆组织中黄酮和异黄酮类物质的含量。进一步试验发现,以*Diaporthe phaseolorum f. sp. meridionalis* (Dpm)制备的真菌诱导子不但可以激活大豆组织中NOS活性,同时还可以促进大豆中植保素类次生产物的合成,而且Dpm诱导子对大豆中植保素类次生产物合成的促进作用可以被NOS抑制剂N^G-硝基-L-精氨酸甲酯、氨基胍和L-N6-(1-亚胺乙基)-赖氨酸抑制^[10]。上述试验结果表明,NOS可能参与Dpm诱导子对大豆组织中黄酮类次生产物合成的促进作用。我们的研究结果

表明^[11],在桔青酶细胞壁诱导子处理约2 h后,红豆杉悬浮细胞中NO开始增加并在6 h左右时达到最高,随后出现下降,表明真菌诱导子可以诱发红豆杉细胞中NO的生物合成。徐茂军等^[11]以NO专一性淬灭剂cPITO和桔青酶细胞壁诱导子同时处理红豆杉细胞,研究结果发现cPITO不仅可以抑制诱导子对NO合成的诱发作用,同时还可以阻断诱导子对红豆杉细胞中紫杉醇合成的促进作用,说明NO合成积累是桔青酶细胞壁诱导子诱发红豆杉细胞中紫杉醇生物合成的必要条件。Xu等^[12]的研究结果同样证实NO是参与植物细胞次生代谢产物合成调控的一个必需信号分子。

1.2 氧化迸发及ROI在药用植物细胞次生代谢产物合成中的作用

氧化迸发(oxidative burst)是烟草、大豆等植物细胞在病原物等生物和非生物逆境胁迫下出现的特征性早期反应之一。由氧化迸发产生的ROI可以参与细胞壁蛋白质的氧化交联作用,调控抗病相关基因的表达及植物细胞的死亡进程,诱发植物细胞的过敏反应(HR)以及直接杀灭入侵的病原物等多种生物学功能^[13]。真菌诱导子不仅可以诱发烟草等植物细胞氧化迸发、活性氧(ROS)产生,同时还可以诱发细胞次生代谢产物的合成^[14,15]。氧化迸发抑制剂和ROS淬灭剂不仅可以抑制氧化迸发作用和活性氧积累,同时还可以阻断真菌诱导子对次生代谢产物合成的促进作用,说明氧化迸发和ROS积累是真菌诱导子诱发植物细胞次生代谢产物合成必需的信号事件(分子)^[15,16]。

O₂⁻和H₂O₂是植物细胞在真菌诱导子等胁迫下产生的两种常见的ROI。由于O₂⁻对细胞具有较高的毒性,而且O₂⁻化学性质十分活泼,其在细胞中的半衰期小于1 s,因此一般认为由氧化迸发产生的H₂O₂是诱发植物防卫反应的信号分子。例如,真菌诱导子对烟草等植物细胞中PAL活化的诱发作用可以被H₂O₂淬灭剂CAT抑制^[13],说明H₂O₂是诱导子诱发烟草等植物细胞中PAL活化所必需的信号分子。然而,Jabs等^[16]研究发现,O₂⁻供体KO₂单独处理欧芹细胞可以诱发抗毒素类次生代谢产物合成,O₂⁻淬灭剂超氧化物歧化酶(SOD)可以抑制真菌诱导子对欧芹细胞次生代谢产物合成的促进作用;而H₂O₂单独却不能诱发欧芹细胞次生代谢产物合成,并且CAT不影响真菌诱导子对欧芹细胞次生代谢产物合成的促进作用^[16]。上述试验结果表明O₂⁻是参与真菌诱导子

诱发欧芹细胞次生代谢产物合成所必需的信号分子。我们的试验结果表明^[14], O_2^- 参与了黑曲霉诱导子对长春花细胞中吲哚生物碱合成的促进作用, 而 H_2O_2 则是介导桔青霉细胞壁诱导子诱发红豆杉细胞中紫杉醇生物合成所必需的信号分子^[17]。由于在不同试验报道中所采用的实验体系不同, 因此造成上述试验结果差异的可能原因是因为植物细胞次生代谢信号调控机制具有一定的种、属特异性。

1.3 JA 在药用植物细胞次生代谢产物合成中的作用

JA 是植物体内的一种重要信号分子, 在植物抗逆信号转导过程中具有重要的作用。JA 以及茉莉酸甲酯(MeJA)还是一类常用的促进植物细胞次生代谢产物合成的化学诱导物^[18,19]。次生代谢产物合成和 JA 积累是植物细胞在真菌诱导子等外界因子处理下普遍产生的早期反应^[18]。研究表明, 在真菌诱导子处理下烟草等植物细胞中的 JA 水平可以快速升高^[18]。真菌诱导子和 JA 衍生物可以诱发欧芹细胞中苯丙烷代谢基因的表达, JA 生物合成抑制剂 IBU 和 NDGA 能够阻断真菌诱导子对苯丙烷合成代谢基因表达的促进作用^[17]。真菌诱导子还可以诱发长春花细胞中 JA 生物合成和萜类生物碱合成酶基因的表达, JA 抑制剂能够抑制真菌诱导子对萜类生物碱合成酶基因表达的促进作用^[19]。在水稻等植物细胞中也有类似的研究报道^[19]。我们的研究结果表明^[21], 由黑曲霉细胞壁制备的真菌诱导子诱发金丝桃等植物细胞中金丝桃素等次生代谢产物的合成, 而 JA 合成抑制剂可以阻断真菌诱导子对细胞中次生产物合成的诱发作用。这些试验结果表明, JA 是介导真菌诱导子诱发植物细胞中次生代谢产物合成所必需的信号分子。

1.4 SA 在药用植物细胞次生代谢产物合成中的作用

虽然 SA 在植物抗逆信号转导中具有十分重要的作用, 但是目前有关 SA 参与植物细胞次生代谢产物合成调控的直接证据还不是很多。我们的试验结果表明^[21,22], 真菌诱导子可以同时诱发粉葛悬浮细胞中 SA 积累和葛根素合成, 虽然真菌诱导子对葛根素合成的促进作用可以被 JA 抑制剂 IBU 抑制, 但 IBU 不能完全阻断诱导子对葛根素合成的诱发作用^[21,22], 说明除了 JA 以外真菌诱导子还可以依赖其他信号分子(途径)诱发葛根素的生物合成。进一步试验发现, 在 JA 合成被抑制的情况下表达 SA 分解酶基因 *NahG*, 不仅可以抑制粉转基因葛细胞中 SA 积累, 同时也可

以抑制真菌诱导子对葛根素合成的促进作用^[21,22], 表明 SA 也参与了葛根素生物合成的诱发作用, 即真菌诱导子至少部分依赖 SA 信号途径介导粉葛细胞中葛根素合成积累。SA 单独处理也可以诱发葛根素生物合成^[34], 进一步验证了上述结论。

1.5 其他信号分子(事件)

除了上述信号分子(途径)外, 离子跨膜运输、蛋白质磷酸化和脱磷酸化等信号转导事件也被证明参与了植物细胞次生代谢调控作用^[23]。生物体内蛋白质的磷酸化和脱磷酸化作用分别在蛋白激酶和蛋白磷酸酶催化下进行。蛋白激酶是一类磷酸转移酶, 其作用是将 ATP 上的磷酸基转移到其底物特定的氨基酸残基上去^[24]。近年来的研究表明, 蛋白激酶级联途径是外界刺激信号从细胞表面传递到细胞核内部的重要信号转导通路^[25]。我们的研究结果表明蛋白激酶抑制剂 K-252a 可以抑制真菌诱导子对长春花细胞次生代谢产物合成的促进作用^[22,26], 表明蛋白激酶可能参与了诱导子对次生产物合成的诱发作用。

2 不同信号分子(途径)在介导药用植物次生代谢产物合成过程中的相互作用

以往大量的研究报道通过各个独立的实验分别证明了 NO、JA、SA、ROS 等是参与介导外界因子诱发植物细胞次生代谢产物合成必需的信号分子, 然而上述信号分子在介导外界因子诱发植物细胞次生代谢产物合成过程中并不完全独立。事实上, 细胞内的各种信号分子往往要通过特定的相互作用或者应答反应(cross-talk), 才能最终实现信号传递的过程。因此, 深入了解不同信号分子在介导植物次生代谢产物合成过程中的互作机制, 对理解植物细胞次生代谢信号转导机制具有重要意义。

然而, 目前对 NO 等各种信号分子在介导药用植物细胞次生产物合成中的 cross-talk 机制所知甚少。近年来, 本课题组对 NO、JA、SA 等细胞信号分子在介导药用植物细胞次生产物合成中的 cross-talk 机制进行了初步的探索, 取得了一些新的结果。

2.1 NO、JA 及 SA 在介导药用植物细胞次生代谢产物合成中的相互作用

徐茂军等^[22,27]研究发现黑曲霉细胞壁诱导子可以同时诱发金丝桃细胞的 NO 迸发、JA 合成和金丝桃素积累。诱导子对 JA 合成的促进作用可以被 NO 专一性淬灭剂阻断; NO 对金丝桃、长春花等植物细胞中次生代谢产物合成的促进作用可以被 JA 合成抑

制剂IBU和NDGA阻断^[22,27],这些试验结果表明JA信号途径可能作用于NO的下游。外源NO单独处理也可以促进金丝桃细胞中JA含量上升^[20],说明NO可以激活细胞中的JA信号途径。上述实验结果表明,真菌诱导子可以依赖JA信号途径诱发金丝桃等植物细胞中次生代谢产物的合成,而NO则作用于JA的上游并对JA信号途径起调控作用。

外源SA单独处理可以诱发粉葛细胞中葛根素合成积累^[21,22],说明SA可以通过特定的信号转导途径促进粉葛细胞中葛根素合成。桔青霉细胞壁诱导子可以同时诱发粉葛细胞的NO迸发和SA合成积累^[21,22]。外源NO单独处理也可以促进细胞中SA含量的提高,而真菌诱导子对粉葛细胞SA合成的促进作用可以被NO专一性淬灭剂cPITO抑制^[21,22]。因此,推测在粉葛细胞中NO可以激活SA信号途径并且至少可以部分通过SA信号途径介导真菌诱导子诱发葛根素合成积累。

我们的研究结果表明^[21,22],外源NO处理可以激活转*NahG*基因粉葛细胞中JA生物合成关键酶LOX活性并促进JA含量的增加,说明NO可以促进细胞中JA的合成。而外源JA处理也可以提高粉葛细胞中NO的含量^[21,22],说明JA也可以促进细胞中NO的合成。上述试验结果表明,NO和JA之间可能存在着一种特殊的自催化作用。由于NO处理可以使*NahG*转基因粉葛细胞中LOX活性提高^[21,22],因此推测NO可能是通过激活细胞中十八烷醇途径促进细胞中JA含量增加。与对照相比,JA处理的*NahG*转基因粉葛细胞中NOS活性未发生显著增加,说明JA不是通过NOS途径促进*NahG*转基因粉葛细胞中NO合成^[22]。

2.2 SA抑制NO对粉葛细胞中JA生物合成的促进作用

NO、JA和SA单独处理均可以诱发植物细胞中次生代谢产物的合成积累^[20,23,28],说明它们都是与植物次生代谢调控有关的信号分子。然而,有关NO、JA及SA在诱发植物细胞次生代谢产物合成中相互关系的研究报道还不多见。我们的试验结果表明,NO处理可以诱发野生型粉葛细胞中SA含量的显著增加^[21],但不影响细胞中JA的水平,这与Huang等^[29]在拟南芥中的试验结果一致。有趣的是,NO虽然不能诱发野生型粉葛细胞中JA的合成积累,但能够显著提高细胞中LOX的活性^[21,22]。在拟南芥中,NO可以诱发LOX2、AOS和OPR3基因的表达水平,但不

增加JA的含量^[29],这些结果暗示NO可能参与了粉葛等植物细胞中JA生物合成途径的调控作用,但是由于受其他因素的制约使NO对JA生物合成的调控作用未能发挥出来。与野生型粉葛细胞不同,NO处理可以诱发*NahG*转基因粉葛细胞中JA水平的显著增加。由于*NahG*转基因粉葛细胞缺乏SA积累能力,因此推测SA的存在可能是导致NO对粉葛细胞中JA生物合成调控作用被抑制的原因^[21,22]。为此,我们考查了SA对NO诱发*NahG*转基因粉葛细胞中JA合成积累的影响。试验结果表明,添加SA可以阻断NO对*NahG*转基因粉葛细胞中JA生物合成的促进作用^[21],这一结果表明SA可能是抑制NO对粉葛细胞中JA生物合成促进作用的主要因素。

JA和SA是植物防御反应中常见的两个信号分子,有关SA和JA在诱发植物防御反应时的相互关系已有报道^[30]。虽然有一些研究报道认为SA和JA在诱发植物防御反应时具有协同效应,然而大多数研究结果表明SA和JA之间具有拮抗作用^[31,32]。SA对JA生物合成的抑制作用已经在许多植物中得到了证实^[33-35],然而目前对SA和JA之间相互影响的分子机制尚不十分了解。值得注意的是在研究NO与JA之间关系时,所获得的试验结果往往因实验材料的差异而不完全相同。例如,黑曲霉细胞壁诱导子可以通过诱发金丝桃细胞的NO迸发促进JA生物合成,而且NO可以诱发金丝桃细胞JA合成^[27];但是NO处理对粉葛等植物细胞中JA水平无显著影响^[21]。考虑到NO可以同时促进植物细胞中SA的合成积累,而SA对JA合成具有抑制作用,因此在探讨NO与JA关系时必须同时测定NO对植物细胞中SA含量的影响。显然,NO对植物细胞中SA合成的促进作用大小至少从一个方面决定了其对细胞中JA水平的影响。

2.3 JA与SA在介导药用植物细胞次生代谢产物合成中的协同互补作用

NO可以诱发转*NahG*基因粉葛细胞(CaM35S启动子)中JA合成,而JA合成抑制剂IBU和NDGA可以抑制NO对转基因粉葛细胞中次生代谢产物合成的促进作用^[21],表明JA可以作用于NO的下游并且介导NO对葛根素合成的促进作用。在*NahG*转基因粉葛细胞(雌二醇诱导型启动子启动子)中,当*NahG*基因未表达时NO处理可以诱发SA合成积累,而且即使在JA合成受抑制的情况下,NO仍然可以诱发葛根素合成^[21]。利用诱导剂雌二醇诱导转基因粉葛细胞中*NahG*基因表达不仅可以降低细胞中SA的含量,

同时还可以抑制 NO 对细胞中次生代谢产物合成的诱发作用^[21,22], 表明 SA 也可以作用于 NO 的下游并且介导 NO 诱发粉葛细胞的次生代谢产物合成。

SA 和 JA 在植物抗病反应中的拮抗作用已经在许多植物中得到了证实^[35]。虽然 NO 可以同时诱发植物细胞中 SA 和 JA 的合成积累^[29], 但是由于 SA 对 JA 具有抑制作用, 因此一般认为 SA 和 JA 在植物细胞次生代谢调控中同样具有拮抗作用。然而, 我们的实验结果表明^[21,22], 在 JA 合成不受抑制的情况下, 通过逐渐增加诱导剂雌二醇的浓度虽然可以使 NahG 转基因粉葛细胞中 SA 含量逐渐降低, 但细胞中 JA 含量却随着 SA 含量的降低逐渐增加, 而 NO 对细胞中次生代谢产物合成的促进作用不受 NahG 基因表达的影响。表明当细胞中 SA 信号途径受阻的情况下, NO 可以通过激活 JA 的生物合成途径并依赖 JA 信号途径诱发细胞中次生代谢产物的合成。上述试验结果表明, SA 和 JA 不仅可以分别作用于 NO 的下游, 而且 JA 和 SA 信号途径之间具有一种特殊的协调互补作用, 即当 SA 信号途径受阻的情况下, 植物细胞可以通过激活 JA 信号途径并替代受阻的 SA 途径介导 NO 诱发次生代谢产物合成。在野生型植物细胞中, SA 可以抑制 NO 对细胞中 JA 合成的促进作用, 但同时也可以逆转 IBU 和 NDGA 对 NO 诱发植物次生代谢产物合成的抑制作用^[21], 说明当细胞中 JA 合成受阻的情况下 SA 也可以替代 JA 信号途径介导 NO 对植物次生代谢产物合成的促进作用。

2.4 NO 信号途径对 ROS 的部分依赖作用

徐茂军等^[17]发现桔青霉细胞壁诱导子可以同时诱发红豆杉细胞 NO 积累和氧化迸发, NO 淬灭剂 cPITO、PBITU 和氧化迸发抑制剂 DPI 不仅可以分别抑制红豆杉细胞的 NO 合成和 ROS 积累, 同时还可以阻断诱导子对紫杉醇合成的促进作用, 说明 NO 和 ROS 是参与桔青霉细胞壁诱导子促进红豆杉细胞中紫杉醇合成调控的信号分子。cPITO 和 PBITU 同时还可以部分抑制诱导子对红豆杉细胞氧化迸发的诱发作用, 而且外源 NO 单独处理也可以促进红豆杉细胞中 ROS 产生^[17,22], 表明氧化迸发及 ROS 合成积累是受 NO 调控的下游信号转导事件。外源 NO 可以诱发红豆杉细胞中紫杉醇合成, DPI 可以抑制 NO 对紫杉醇合成促进作用^[17], 说明 NO 依赖氧化迸发作用诱发紫杉醇生物合成。然而, 即使在红豆杉细胞中 ROS 积累被完全抑制的情况下, NO 对细胞中紫杉醇的合成仍然具有一定的促进作用^[17], 表明虽然 ROS 作

用于 NO 的下游, 但是 NO 对紫杉醇合成的促进作用却并不完全依赖 ROS, 即 NO 可以通过依赖和不依赖 ROS 的两类不同信号途径介导真菌诱导子诱发红豆杉细胞中紫杉醇的生物合成。

3 存在问题及今后进一步研究方向

尽管近年来有关植物细胞次生代谢产物合成信号调控机制方面的研究取得了长足的进展, 但是有关植物细胞次生代谢的信号调控机制仍有许多问题有待进一步研究探讨:

(1) NO 等信号分子广泛参与植物抗逆防御反应、植物生长发育等许多信号转导过程。但是目前对 NO 等信号分子在植物体内如何行使不同功能的详细机制尚不清楚。由于 NO 等许多信号分子的结构简单, 因此它们本身似乎难以直接区分其在植物体内的不同角色。推测在植物体内可能存在着不同的信号分子受体, 这些受体可能起信号分子转换器的作用。例如, 设想植物细胞中可能存在着不同的 NO 受体, 一些受体可以介导 NO 参与次生代谢调控, 一些受体则介导 NO 参与生长发育的信号调控。然而, 目前尚无植物体内确实存在着此类 NO 受体的实验证据。

(2) ROS、JA、SA 等信号途径可以分别作用于 NO 的下游并介导 NO 诱发植物次生代谢产物合成, 但是在不同植物细胞中 NO 对其下游的 ROS 等信号途径的调控作用却不完全相同, 表明植物细胞次生代谢产物合成的信号调控机制可能存在着种、属特异性。但是目前对植物细胞次生代谢信号调控的种属差异规律、产生差异的机制及其生物学意义等尚不清楚。

(3) 除了 JA、ROS 等信号分子外, 还有哪些信号分子或信号转导事件参与了 NO 信号转导途径以及它们与 NO 的关系等问题仍需进一步研究探讨。

(4) 近年来, 植物生长发育、抗逆(包括抗病)反应等信号转导机制研究取得了不俗的进展, 揭示了一些新的信号转导机制, 这无疑将为植物次生代谢信号调控机制研究带来许多便利。然而, 目前对植物次生代谢信号调控网络和植物体内的生长发育及抗逆作用等信号转导系统之间的关系尚不十分了解。由于许多植物信号分子(途径)可以行使多种功能, 因此不同信号转导系统之间必然存在着各种各样的联系, 深入研究植物次生代谢信号调控网络和植物生长发育、抗逆反应等信号转导系统之间的关系对全面了

解植物细胞信号转导机制具有重要意义。

植物细胞次生代谢信号调控是一个十分复杂的系统。虽然近年来有关植物细胞次生代谢产物合成信号调控方面的研究取得了一定的进展,然而目前离完全了解植物次生代谢信号转导机制还有很大距离。植物次生代谢产物不仅在植物与外界因子的互作中扮演重要的角色,而且对人类健康起着十分重要的作用。加强植物细胞次生代谢产物合成信号调控机制的研究,将有助于揭示植物次生代谢的调控规律,对解决植物细胞次生代谢产物低产等问题具有重要的理论和实践意义。

参考文献(References)

- [1] Verpoorte R, Van der Heijden R, Schripsema J, *et al.* Plant cell biotechnology for the production of alkaloids: present status and prospects, *J Nat Prod*, 1993, 56(2): 186-207
- [2] Roberts SC, Shuler ML. Large-scale plant cell culture, *Curr Opin Biotechnol*, 1997, 8(2): 154-159
- [3] 余叔文, 邬阳光. 植物抗病的物质基础. 见: 余叔文, 汤章城主编. *植物生理与分子生物学*, 北京: 科学出版社, 1999, 770-783
- [4] Nürnberg T, Colling C, Hahlbrock K, *et al.* Perception and transduction of an elicitor signal in cultured parsley cells, *Biochem Soc Symp*, 1994, 60: 173-182
- [5] Neill SJ, Desikan R, Hancock JT. Nitric oxide signaling in plants, *New Phytol*, 2003, 159(1): 11-22
- [6] Morot-Gaudry-Talarmain Y, Rockel P, Moureaux T, *et al.* Nitrite accumulation and nitric oxide emission in relation to cellular signaling in nitrite reductase antisense plants, *Planta*, 2002, 215(5): 708-715
- [7] Delledonne M, Xia Y, Dixon RA, *et al.* Nitric oxide functions as a secondary signal in plant disease resistance, *Nature*, 1998, 394(6693): 585-588
- [8] 胡向阳, 方建颖, 蔡伟明, 等. 一氧化氮介导非亲和性激发子诱发水稻悬浮细胞过敏反应, *科学通报*, 2003, 48(2): 157-161
- [9] Hong JK, Yun BW, Kang JG, *et al.* Nitric oxide function and signalling in plant disease resistance, *J Exp Bot*, 2008, 59(2): 147-154
- [10] Modolo LV, Cunha FQ, Braga MR, *et al.* Nitric oxide synthase-mediated phytoalexin accumulation in soybean cotyledons in response to the *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* elicitor, *Plant Physiol*, 2002, 130(3): 1288-1297
- [11] 徐茂军, 董菊芳, 朱睦元. NO参与真菌诱导子对红豆杉悬浮细胞中PAL活化和紫杉醇生物合成的促进作用, *科学通报*, 2004, 49(7): 667-672
- [12] Xu M, Dong J. Elicitor-induced nitric oxide burst is essential for triggering catharanthine synthesis in *Catharanthus roseus* suspension cells, *Appl Microbiol Biotech*, 2005, 67(1): 40-44
- [13] Baker CJ, Orlandi EW, Mock NM. Harpin, an elicitor of the hypersensitive response in tobacco caused by *Erwinia amylovora*, elicits active oxygen production in suspension cells, *Plant Physiol*, 1993, 102(4): 1341-1344
- [14] Xu M, Dong J. O_2^- from elicitor-induced oxidative burst is necessary for triggering phenylalanine ammonia-lyase activation and catharanthine synthesis in *Catharanthus roseus* cell culture, *Enzyme Microb Technol*, 2005, 36(2-3): 280-284
- [15] Yuan Y, Li C, Hu Z, *et al.* Signal transduction pathway for oxidative burst and taxol production in suspension cultures of *Taxus chinensis* var *mairei* induced by oligosaccharide from *Fusarium oxysporum*, *Enzyme Microb Technol*, 2001, 29(6-7): 372-379
- [16] Jabs T, Tschöpe M, Colling C, *et al.* Elicitor-stimulated ion fluxes and O_2^- from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin synthesis in parsley, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(9): 4800-4805
- [17] 徐茂军, 董菊芳. 一氧化氮分别通过依赖和不依赖活性氧的信号途径介导桔青霉细胞壁诱导子促进红豆杉悬浮细胞中紫杉醇生物合成, *科学通报*, 2006, 51(14): 1675-1682
- [18] Creelman RA, Mullet JE. Biosynthesis and action of jasmonates in plants, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, 48: 355-381
- [19] Menke FLH, Parchmann S, Mueller MJ, *et al.* Involvement of the octadecanoid pathway and protein phosphorylation in fungal elicitor-induced expression of terpenoid indole alkaloid biosynthetic genes in *Catharanthus roseus*, *Plant Physiol*, 1999, 119(4): 1289-1296
- [20] Nojiri H, Sugimori M, Yamane H, *et al.* Involvement of jasmonic acid in elicitor-induced phytoalexin production in suspension-cultured rice cells, *Plant Physiol*, 1996, 110(2): 387-392
- [21] 徐茂军, 董菊芳. NO可以通过水杨酸(SA)或者茉莉酸(JA)信号途径介导真菌诱导子对粉葛悬浮细胞中葛根素生物合成的促进作用, *中国科学*, 2006, 36(1): 66-75
- [22] 徐茂军. NO对植物细胞次生代谢产物合成的促进作用及其信号转导机制研究, *浙江大学博士学位论文*, 2005
- [23] 梅兴国. *红豆杉细胞培养生产紫杉醇*, 武汉: 华中科技大学出版社, 2003
- [24] 孙大业, 郭艳林, 马力耕. *细胞信号转导*, 北京: 科学出版社, 2000
- [25] Shenolinkar S, Nairn AC. Protein phosphatases: recent progress, *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res*, 1991, 23(1): 1-121
- [26] Xu M, Dong J. Nitric oxide stimulates indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* cell suspension cultures through a protein kinase-dependent signal pathway, *Enzyme Microb Technol*, 2005, 37(1): 49-53
- [27] Xu MJ, Dong JF, Zhu MY. Nitric oxide mediates the fungal elicitor-induced hypericin production of *Hypericum perforatum* cell suspension cultures through a jasmonic acid-dependent signal pathway, *Plant Physiol*, 2005, 139(2): 991-998
- [28] Yukimune Y, Tabata H, Higashi Y, *et al.* Methyl jasmonate-induced overproduction of paclitaxel and baccatin in *Taxus* cell suspension cultures, *Nature Biotechnol*, 1996, 14(9): 1129-1132
- [29] Huang X, Stettmaier K, Michel C, *et al.* Nitric oxide is induced by wounding and influences jasmonic acid signaling in *Arabidopsis thaliana*, *Planta*, 2004, 218(6): 938-946
- [30] Kunkel BN, Brooks DM. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense, *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5(4): 325-331
- [31] Seo S, Sano H, Ohashi Y. Jasmonic acid in wound signal

- transduction pathways, *Physiol Plant*, 1997, 101(4): 740-745
- [32] Li J, Brader G, Palva ET. The WRKY70 transcription factor: a node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense, *Plant Cell*, 2004, 16(2): 319-331
- [33] Spoel SH, Koornneef A, Claessens SM, *et al.* NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol, *Plant Cell*, 2003, 15(3): 760-770
- [34] Gupta V, Willits M G, Glazebrook J. *Arabidopsis thaliana* EDS4 contributes to salicylic acid (SA)-dependent expression of defense responses: evidence for inhibition of jasmonic acid signaling by SA, *Mol Plant-Microbe Interact*, 2000, 13(5): 503-511
- [35] Niki T, Mitsuhashi I, Seo S, *et al.* Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves, *Plant Cell Physiol*, 1998, 39(5): 500-507

Progress in Signal Transduction Mechanism of Secondary Metabolite Biosynthesis in Medical Plant Cells

Mao-Jun Xu*

(Institute of Resources and Environmental Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract The intracellular signal systems play important roles in plant secondary metabolite biosynthesis induced by multiple biotic and abiotic elicitors. Many signal molecules such as nitric oxide (NO), jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA), and reactive oxygen species (ROS) have been demonstrated to be involved in mediating the elicitor-induced secondary metabolite biosynthesis of plant cells. Furthermore, the cross-talking of NO-, SA-, JA-, and ROS-dependent signaling pathways in elicitor-induced secondary metabolite production has been characterized in plants. Moreover, a few recent studies have suggested that a signal network responsible for the regulation of the biosynthesis of secondary metabolites may exist in plant cells. The newest progress in the signal mechanism of secondary metabolite biosynthesis of plant cells has been reviewed in this paper.

Key words plant cells culture; secondary metabolites; signal transduction; metabolic regulation

Received: March 19, 2009 Accepted: July 24, 2009

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30572331, No.30873375) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.308785)

*Corresponding author. Tel: 86-571-88071024, E-mail: maojunxu@163.com