

植物萜类化合物生物合成酶及其调控的研究进展

曾英 王仲朗

(中国科学院昆明植物研究所 650204)

植物萜类化合物的种类繁多,用于食品工业和轻化工业的挥发油,抗疟新药青蒿素,抗肿瘤药物冬凌草素、海棠素、雷公藤素等均属于萜类物质。另外,在多种植物中发现了蜕皮激素,从而促进了养蚕业的发展。因此,研究萜类化合物的生物合成具有重要意义。

随着生物化学、植物化学技术的提高以及组织培养、同位素标记化合物的应用,对植物萜类生物合成有了比较深入的研究,确定了碳骨架合成的各步反应酶^[1,2],并开始着手研究各种环化酶、萜类合成酶等。最近 Bach^[3]提出 HMGR (β -hydroxymethyl glutaryl-coenzyme A reductase)在植物细胞周期方面起着重要的调节作用;合成部位的研究从组织定位到细胞定位都取得了比较一致的结果,从而进一步帮助人们认识异戊二烯代谢途径的调控,全面了解上述进展对研究植物萜类化合物的生物合成及其同植物生长发育等方面的关系很有价值。

一、萜类生物合成酶

由 Goodwin^[4]的萜类生物合成图示可将植物萜类化合物的生物合成成分为三个阶段:甲瓦龙酸(1)的生物合成,由甲瓦龙酸形成异戊烯焦磷酸(2),最后通过异戊烯基转移酶、环化酶等形成各种萜类化合物。该途径主干的各步反应酶在以前的文章中有详尽阐述^[1,4],这里介绍 HMGR,异戊烯基转移酶、环化酶等的研究进展。

HMGR 催化 HMG-CoA 还原生成甲瓦龙酸,最先是在豌豆中报道了该酶的活性^[5],随后在菊芋(*Helianthus tuberosus*)、胡萝卜(*D-*

ucus carota)、假荆芥(*Nepeta cataria*)菠菜(*Spinacia oleracea*)等许多植物的质体、线粒体及细胞质中都检测到 HMGR 活性^[3,4,6],但直到 1986 年, Bach 等人首次从萝卜黄化幼苗中成功地分离并纯化得到 HMGR,对该酶的性质和催化特性才有了初步了解,认为 HMGR 是一类与膜结合的疏水蛋白质,分子量 180 KDa,组成亚基 45 KDa,等电点 5.9 左右,在甘油、二硫赤藓糖醇(dithioerythritol, DTE)及聚乙烯醚(polyethylene ether, Bii)的保护下能耐受 67.5℃ 的高温 30 分钟; HMGR 的特异抑制剂 mevinolin(曲霉代谢产物,结构见图 1 的化合物 3)作为分子探针用于植物悬浮培养细胞的萜类合成研究^[3],发现由 mevinolin,造成的生长抑制可因加入甲瓦龙酸而缓解,认为甲瓦龙酸是细胞生长和分裂所必需的物质,植物激素如细胞分裂素、赤霉素等的生成都与合成甲瓦龙酸有关,而 HMGR 被认为是甲瓦龙酸合成途径上的限速反应酶,因此,认为 HMGR 与植物细胞生长周期密切相关。

催化 DMAPP(4)与 IPP 生成 GPP(5)并进一步与 IPP 分子结合使碳链延长的酶统称为异戊烯基转移酶或焦磷酸异戊烯合成酶。Ogura 等最先从南瓜果肉提取并部分纯化了 FPP 合成酶,它不仅能催化 IPP 与 GPP 生成 FPP,还能从 IPP 与 DMAPP 合成 GPP 和 FPP,这种连续催化的特点也表现在来自猪肝和小球藻的异戊烯基转移酶上^[1]。另外,在陆地棉、豌豆、蓖麻植物中也检测到 FPP 合成酶活性^[8,9],蓖麻还用来研究 GPP 合成酶^[8,9],至于合

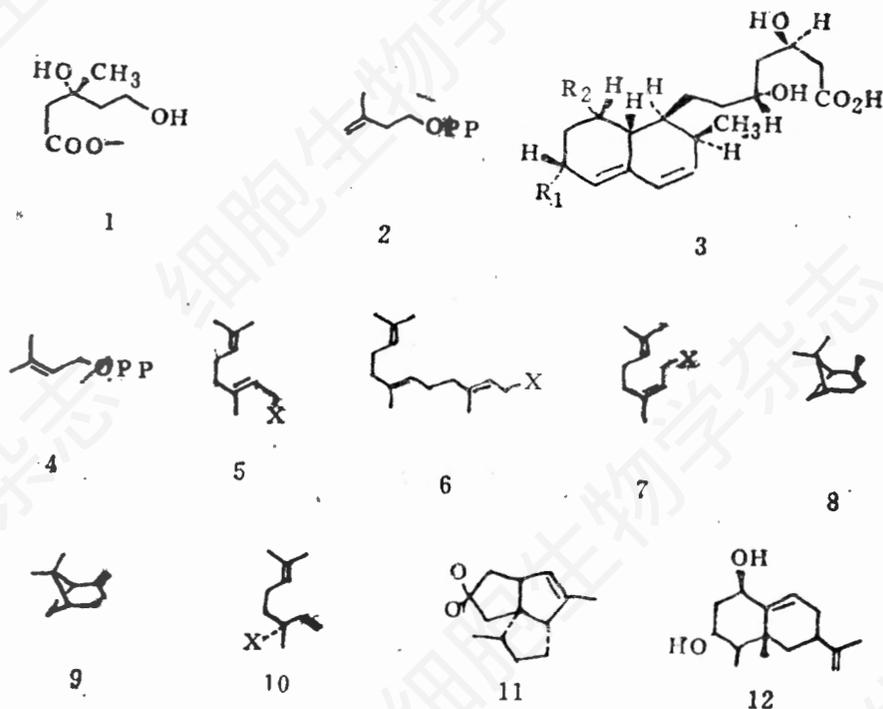
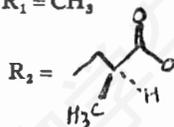


图1 本文提及的萜类化合物骨架结构

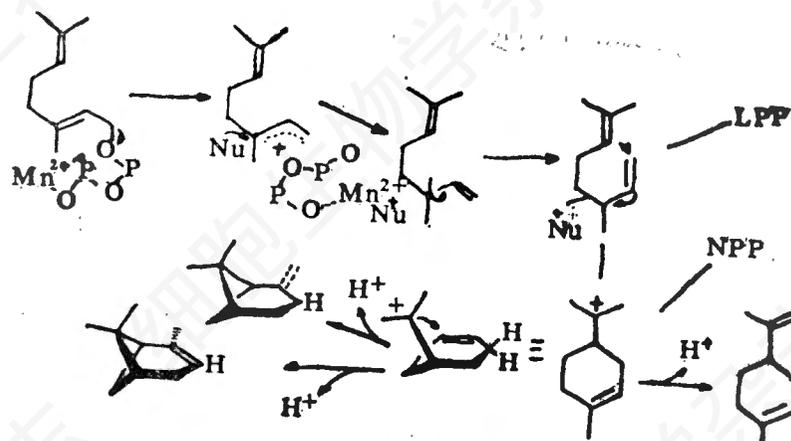
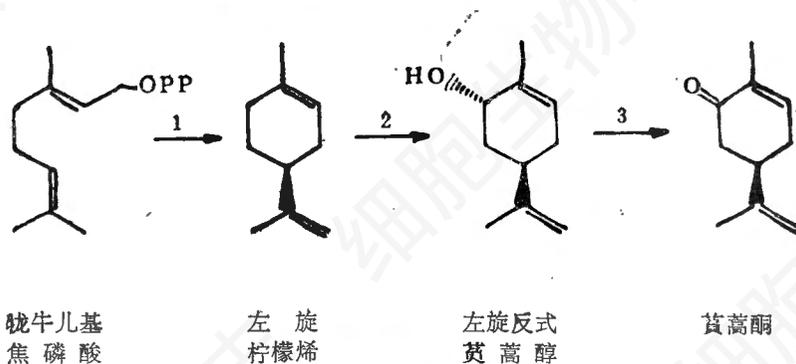
1. 甲瓦龙酸
2. 异戊二烯焦磷酸
3. mevinolin
其中 $R_1 = \text{CH}_3$
4. 二甲丙烯焦磷酸 DMAPP(x 为 -opp 基团)
5. 牻牛儿基焦磷酸 GPP
6. 法呢基焦磷酸 FPP
7. 橙花基焦磷酸 NPP
8. α -蒎烯
9. β -蒎烯
10. 沉香萜基焦磷酸 LPP
11. 并环戊二烯 pentalenene
12. capsidiol



成碳骨架更长的异戊烯基转移酶类, 研究较多的是三叶橡胶的橡胶转移酶^[11](rubber transferase), 而 Madhavan 等首次发现了非乳汁植物银胶菊(*Parthenium argentatum*)的橡胶转移酶活性, 并同榕属、大戟属植物的橡胶转移酶活性作了比较^[12]。

环化酶在萜类生物合成途径中起着合成转化的中心作用, 环化萜类化合物几乎只存在于真核生物和高等植物体内, 在鼠尾草属、茴香属、松属、薄荷属等的植物中报道有环化酶的活性存在, 有的还进行了部分纯化^[13-15]。按照立体化学原则, Z型结构的NPP(7)是最合理的环化前体, 然而用多种植物的无细胞提取物

进行的酶反应表明, 环化酶并没有绝对的底物立体特异性, 可以从NPP或GPP环化生成 α -蒎烯(8), β -蒎烯(9)等, 有人假设GPP在环化前已进行Z-E异构变成了NPP, 但迄今为止, 在生物体内没有发现这一反应的酶学证据^[8]。用富含精油的植物无细胞系统研究单环、二环萜烯的生成^[13], 进一步提出GPP的环化并不丢失C-1上的氢原子, 而且GPP的同分异构体LPP也可用作环化酶的底物, 但还没有确认LPP是一种自由的中间产物。因此, 如图2表示的尽管是环化酶的最合理机制, 却仍然缺乏直接的实验证据。由GPP环化生成并环戊二烯 pentalenene(11)在 *Cane*^[13]

图2 由不同底物形成环状单萜^[13]图3 留兰香萜萜酮的生物合成^[14]

的文章中有详细报道，他们发现了链霉菌 UC 5319 菌株的细胞提取物具有较高的并环戊二烯合成酶活性，用多位点标记的[8-³H₂, 12, 13-¹⁴C] FPP 作为酶反应底物，根据同位素在产物并环戊二烯中的分布情况，推测了反应进程，并且认为两次环化都可能发生在同一活性位点。

从有机化学的角度看，萜类化合物的生物合成需要进行两方面的内容：碳骨架的形成和功能基团的引入。有关碳骨架的生物合成酶系在上面已经谈到，而引入功能基团时发生在生物体内的酶反应机制了解甚微，其主要困难在于得不到一定数量的重要中间产物，结构比较简单的单萜萜萜酮合成酶系已经弄清，合成途径见图3^[14]，其中羟基的引入是靠左旋柠檬烯羟化酶。

二、萜类生物合成定位研究

随着生物合成酶系的深入研究，合成定位也从组织定位发展到细胞定位。一般认为，分泌结构内的萜类化合物是由分泌细胞合成的。由这些细胞的超微结构可以看出它们活跃的分泌代谢活动，比如续随子(*Euphorbia lathyris*)的三萜是由乳汁细胞合成的^[16]，留兰香的萜萜酮仅在腺毛细胞内合成并在此贮存。亚细胞定位研究涉及到原生质体^[9]，白色体^[17]，有色体^[18]，叶绿体^[8]，细胞质及一些特殊结构的未知细胞器^[16]，归结起来可以认为质体是合成萜类化合物的重要细胞器，特别是单萜完全能够由离体的白色体、有色体合成，而倍半萜类可能由细胞质、内质网合成。蓖麻幼苗经诱导产生的抗毒素 casbeen(一种大环二萜化合

物)也是由其胚乳组织的原生质体合成的^[9],而续随子乳汁的三萜化合物可能是在细胞的两个不同部位合成的:由乙酸生成 HMG-CoA 的酶活性存在于细胞可溶性部分;由 HMG-CoA 生成三萜醇却是在一种单层膜包围的细胞器内完成的^[10]。

三、生物合成的调节

细胞通过丰富的膜系统形成胞内隔离,以此调节异戊二烯途径,这是由 Goodwin 在 1958 年首次提出的^[10],合成定位的研究进一步证明了这一普遍的代谢调节机制。分子水平的调节具体到酶和调节剂,这方面的研究在植物才开始不久。HMGR 被认为是甲瓦龙酸合成的限速反应酶,同动物细胞合成胆固醇的调节类似,推测 HMGR 的调节是植物萜类生物合成的粗调控^[3,7]。最近 Chappell^[15]以烟草悬浮培养细胞为材料,研究了甾醇及诱导的倍半萜类抗毒素 capsidiol(12)的生物合成(图 4)测定了 HMGR 和分支位点(鲨烯合成酶、倍半萜环化酶)的酶活性及其同甾醇和 capsidiol

积累的关系,结果没有发现起关键调节作用的酶位点,虽然就甾醇的合成来说,鲨烯合成酶的变化比 HMGR 更能影响到甾醇的合成速率和积累,但 capsidiol 的合成与诱导的 HMGR、环化酶活性及鲨烯合成酶的活性都无关,所以认为烟草悬浮培养细胞的类异戊二烯代谢调节可能更复杂,需要多种酶活性的协调。而 Dudley^[9]认为蓖麻幼苗受真菌侵染后合成 casbene 的最后两步反应酶(GGPP 合成酶和 casbene 合成酶)是感染过程诱导的,因为在不受感染的幼苗中没有检测到它们的活性。由此看来,植物萜类化合物的生物合成调控机制是很复杂的,除了胞内隔离、限速步骤、诱导酶这几种调节外,还可能存在一些更细微的调节方式,有待于进一步的研究。

植物萜类化合物的种类远比动物的复杂,如果进一步克服酶活性水平低、底物缺乏等困难,对植物萜类生物合成的了解也将更加全面深入,值得一提的是,植物萜类生物合成在基因水平的研究尚未见报道。

摘 要

本文综述了植物萜类化合物的生物合成在以下三方面的研究概况:酶系、合成部位及异戊二烯代谢途径的调控。

参 考 文 献

- [1] Betytia, E. D., 1976, *Ann. Rev. Biochem.*, 45: 13.
- [2] Goodwin, T. W., 1983, In: *Introduction to Plant Biochemistry*, ed. by Goodwin, T. W. and E. I. Mercer, p. 424, Pergamon Press.
- [3] Bach, T. J., 1987, *Plant Physiol. Biochem.*, 25: 163.
- [4] Arebalo, R. E. et al., 1984, *Phytochem.*, 23: 13.
- [5] Brooker, J. D. and D. W. Russell, 1975, *Arch. Biochem. Biophys.* 167: 723.
- [6] Schulze-Siebert D. et al., 1987, *Plant Physiol. Biochem.*, 25: 147.
- [7] Bach, T. J., 1986, *Eur. J. Biochem.*, 154: 103.
- [8] Cori, O. M., 1983, *Phytochem.*, 22: 331,

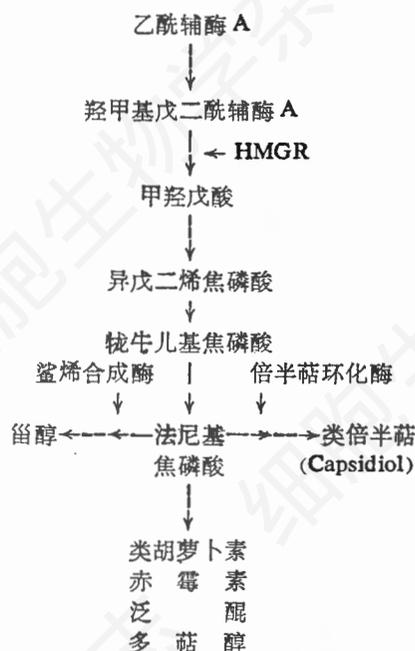


图 4 甾醇、倍半萜类及其他类异戊二烯化合物的生物合成途径^[15]

- [9] Dudley, M. W. et al., 1986, *Plant Physiol.*, 81: 335.
- [10] Green, T. R. and C. A. West, 1974, *Biochem.*, 13: 4720.
- [11] Archer, B. L. and E. G. Cockbain, 1969 *Methods Entomol.*, 15: 476.
- [12] Madhavam S. et al., 1984, *Plant Physiol.*, 75: 908.
- [13] Cane D. E., 1983, *Biochem. Soc. Trans.*, 11: 510.
- [14] Gershenzon, J. et al., 1989, *Plant Physiol.*, 89: 1351.
- [15] Chappell, J. et al. 1989, *Plant Cell reports*, 8: 48.
- [16] Skrukud, C. L. et al., 1988, *Plant Physiol.*, 74: 306.
- [17] Gleizes, M. et al., 1983, *Biochem. Soc. Trans.*, 11: 590.
- [18] Mettal, U. et al., 1988, *Eur. J. Biochem.* 170: 613.
- [19] Goodwin, T. W., 1958, *Biochem. J.*, 70: 612.

梯度场区和同源异型框基因

E.M.De Robertis, E. A. Morita + K.W.Y cho

引言

本文的目的在于提高现代发育生物学家们对形态发生梯度场区 (gradient field) 这个古老概念的关注。图 1 是 1934 年对两栖类神经胚的描绘。实验胚胎学已揭示出在任何分化信息出现以前, 胚胎发育早期已有器官形成场区的存在把蝾螈胚胎的组织块异位移植, 在发育晚期, 这些细胞场区将生成不同的器官如前肢、后肢、尾平衡器以及鳃等。这些“形态发生场区”的细胞均能“调整”, 即经过一系列的人工手术仍可发育为正常结构。例如: 把场区的一部分切除或把未决定的组织移入场区, 都能形成正常结构。假如把场区分成很多部分, 也会得到多个完整的结构。很多书籍提到这种观察结果 (Huxley 和 de Beer, 1934; Weiss, 1939; Child, 1941) 尤其是 Huxley 和 de Beer 的《实验胚胎学的基本原理》有丰富的内容, 值得大力推荐。

在 40 年代胚胎场区的研究逐渐失去了黄金时代。大概因为它们被认为是抽象的、几乎是玄奥的、只能在移植以后才能被揭示的形态发生的动力。这种同样的性质也可用已经引起广泛注意的分级的位置信息 (Positional information) 模型来解释 (Wolpert, 1969, 1989)。对分化中细胞场区分析的另一重大进展是极坐标 (Polar coordinate) 模型的提出 (French et al, 1976), 它能够解释环形和辐射形的一系列位置信息, 不再借用梯度的概念, 在对一个场区经过手术操作后

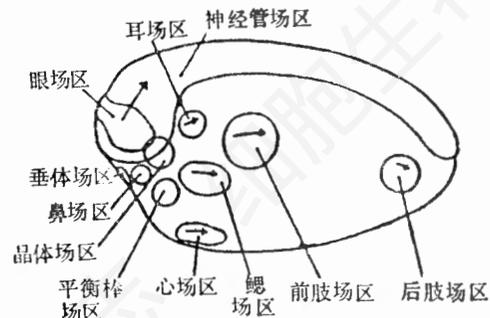


图 1 两栖类神经胚示实验分析发现的主要形态发生场区的位置 (据 Huxley 和 de Beer, 1934)

即可观察到调整现象。

目前, 分子标记的发展使得追踪在发育晚期形成各器官的胚胎细胞场区成为可能。在这方面综述一下胚胎场区的某些特性可能是有用处的。

胚胎中的场区

形态发生场区的概念来源于 Ross Harrison (1918) 对蝾螈前肢发育的研究。他指出在早期神经胚中胚层套 (也称侧板或体壁层) 中有盘状的一群细胞移植到胚胎的不同区域后已经获得了形成前肢芽的潜能。尽管此时侧板中胚层只由完全相同的一层细胞组成, 但产生前肢的区域却占有非常准确的位置, 在第三到第五

• 本文译自 Deve., 1991, 112:669—678.