

11 Kluge M, Fischer A, Buchanan-Bollig IC. Metabolic control of CAM. In Ting IP, Gibbs M (eds). Crassulacean Acid Metabolism. Amer Soc Plant Physiol, 1982. 31

12 Osmond CB. CO₂ assimilation and dissimilation in the light and dark in CAM plants. In Burris RH, Black CC (eds). CO₂ Metabolism and Plant Productivity. University Park Press, 1976. 217

13 Osmond CB. Crassulacean acid metabolism: A curiosity in context. *Ann Rev Plant Physiol*, 1978, 29 : 379

14 Osmond CB, Holtum JAM. Crassulacean acid metabolism. In Hatch MD, Boardman NK (eds). The Biochemistry of Plants, A Comprehensive Treatise, Vol. 8, Photosynthesis. New York: Academic Press, 1981. 283

15 Tang PS. Regulation and control of multiple pathways of respiratory metabolism in relation to other physiological functions in higher plants; recollections and reflections on fifty years of research in plant respiration. *Amer J Bot* 1981, 68 : 443

16 Ting IP. Crassulacean acid metabolism. *Ann Rev Plant Physiol*, 1985, 36 : 595

17 Ting IP, Gibbs M. Editors' introduction. In Ting IP, Gibbs M (eds). Crassulacean Acid Metabolism. Amer Soc Plant Physiol, 1982. V

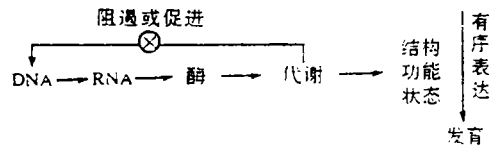
18 Winter K. Regulation of PEP carboxylase in CAM plants. In Ting IP, Gibbs M (eds). Crassulacean Acid Metabolism. Amer Soc Plant Physiol, 1982. 153

植物呼吸代谢多条路线与代谢工程¹

梁 峰 (中国科学院植物研究所, 北京 100044)

郑光植 (中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

早在 50 年代, 汤佩松先生及其同事在对水稻幼苗呼吸作用过程进行深入系统的研究后, 提出了高等植物呼吸代谢多条路线的思想^[9]。在多条路线思想指导下, 对为基因控制的代谢过程, 以及代谢对结构、功能和状态的控制进行了系统的研究。经过“十年”之后, 在极其艰苦的条件下, 于 1979 年在底物水平和末端氧化水平上完整地阐明了呼吸代谢多条路线观点^[6] (又称代谢控制与被控制观点)。这一观点的内容就我们的理解主要包括: (1) 呼吸代谢 (包括底物水平和末端氧化水平) 的途径是多条和多方向的; (2) 植物的代谢为基因所控制, 基因的表达 (结构、功能和状态) 通过代谢 (作为桥梁) 而实现; (3) 基因控制的多条途径的时空有序表达即为植物的发育过程; (4) 代谢 (包括产物、过程、信号、状态等) 对基因表达的调控。根据这些理解, 我们将汤佩松先生提出的代谢控制与被控制的图式^[6]简化为下面图解:



从图解来看, 对“多条路线”观点不能只从字面上简单地理解为呼吸代谢的途径是多条的, 这是不够深入的。“多条路线”的“整体”思想可能是普遍的, 也可能适合于整个生物界, 对指导代谢生理和生命科学的研究, 具有极其重大的意义^[2]。这一思想和汤佩松先生其他一些学术思想 (如细胞的水分运动) 一样, 具有鲜明的超前性, 常常一时难以为人们

收稿 1993-12-02

1 谨以此文庆贺我们的老师汤佩松教授 90 寿辰暨从事生命科学研究教学 63 周年。

所理解和接受。同样的观点和相似的提法只是在1992年《植物生理学和植物分子生物学年评》上才有人提到^[8]。

呼吸代谢多条路线观点是以高等植物初级代谢研究为基础提出来的。我们认为这一思想也完全适合于植物次级代谢。笔者在总结自己和前人工作的基础上,遵循同样的观点和思路,于1978年提出了植物培养细胞次级代谢的全能性和次级代谢多条途径的观点^[7,12]。“全能性”是指任何离体植物细胞在适宜的人工培养条件下都具有亲本的合成次级代谢物的能力,次级代谢物合成的全部遗传信息(转录、翻译、基因表达等)和生理的(酶、底物、代谢组)基础,都存在于一个离体细胞中。植物细胞的这种代谢全能性,或称生理生化全能性已为一些有力的证据所支持。例如,众所周知,托平生物碱是在根部合成的,地上部的托平生物碱是从根部运输来的^[11]。我们以三分三种子萌发的根、茎、叶,以及种皮和花药为材料,在所诱导的各种愈伤组织中均含莨菪碱和东莨菪碱,以及一些在母本植物中未检出的化合物。从根诱导的愈伤组织中的莨菪碱和东莨菪碱的含量并不是最高,而是从茎、叶诱导的愈伤组织中的含量最高^[4]。

植物细胞代谢全能性的另一个清楚的例子是用紫草做的工作^[3]。在新疆紫草,紫草素及其衍生物的生物合成部位定位于根部的木栓层。将新疆紫草种子萌发,待幼苗生长到一定时候,用幼苗的根、胚轴、真叶和子叶诱导的愈伤组织,均能合成萘醌色素,其组份与原植物的基本相同,有的含量则明显超过原植物,如具有抗肿瘤活性的乙酰紫草素。

这些结果表明,在栽培或野生条件下,三分三或紫草地上部的细胞不合成(或合成强度很弱)莨菪碱、东莨菪碱或紫草素,而在组培条件下,合成能力都表现出来,表明这些细胞含有全部合成莨菪碱、东莨菪碱或紫草素

的遗传信息和生理基础,或称为代谢的全能性。

次级代谢的多条性则更是不言而喻,其表现比初级代谢更明显。同一底物可以通过不同的代谢途径合成不同的代谢产物;同一产物可由同一底物经由不同途径产生;同一产物也可由不同底物通过不同途径形成。这些途径在时间上是并行和交错的,在空间上是多方向的(正、反方向和分支)。这种多途径在时间和空间上不同强度和速度的搭配,构成了植物培养细胞次级代谢的不同类型。这里所说的虽然是培养细胞次级代谢的全能性和次级代谢的多条途径,但按照“全能性”的观点,在整体植物上也应如此。

植物细胞全能性是植物细胞代谢工程的基础,也就是说,如果培养细胞不具备代谢全能性,植物次级代谢细胞工程的研究就难以成功。植物细胞次级代谢多条性,表明“全能性”的可调控性,包括含量的提高和成分的改变。所以,植物细胞代谢全能性与途径多条性是相辅相成的,它是进行植物次级代谢工作的理论依据。我们以此作为开展这方面研究的指导思想,其来源正是汤先生的“多条路线”观点。20年来,为了实现应用细胞大量培养,应用代谢工程进行工业化生产次级代谢产物的设想,我们对三分三、云南萝芙木、三七、人参、西洋参、红花、滇紫草等10多种著名中草药进行了研究,特别是以三分三和三七为对象,进行了全面、系统、深入、实用的探索,为在中国开展这一领域的研究提供了成功的模式,推动了我国这方面研究的进展,也为上述“全能性”和“多条途径”观点提供了丰富的证据^[5]。

如果我们把植物细胞培养看作是农业生产的延伸,那么高产优质获得次级代谢产物就不是单纯依赖改善培养条件能够奏效,而需要对代谢过程进行精确调控。高产就是最有效地利用培养基提供的能源,优质就是按人们的需要调控代谢方向,最大限度地获得

所需产物。在弄清产物形成的代谢过程的基础上,利用 DNA 重组技术进行有用药物的代谢工程已取得可喜的进展。例如,已经知道,东莨菪碱是从天仙子胺经过 6 β -羟基天仙子胺合成的^[11],天仙子胺 6 β -羟化酶(H6H)催化天仙子胺羟基化成为 6 β -羟基天仙子胺,后者经环氧化作用生成东莨菪碱。H6H 活性与东莨菪碱/天仙子胺比例呈很好的相关性。因此,H6H 是一个很有希望的“靶”酶,如果它在积累天仙子胺植物中强烈表达,将会使转化植物的东莨菪碱含量增加。东莨菪碱、天仙子胺和阿托平在医药上都是作为“抗释放胆碱试剂”作用于副交感神经系统。市场上对东莨菪碱的需求比天仙子胺和阿托平的总和高 10 倍。利用从天仙子获得的 H6H DNA 克隆,将其引入积累天仙子胺的典型植物颠茄,结果获得了转化天仙子胺为东莨菪碱效率很高的转化植物,东莨菪碱几乎是转化植物的唯一的生物碱,这用传统的育种方法是不能达到的。从这些转基因植物叶片中的总生物碱经过结晶,即可得到纯的东莨菪碱,从而代替了传统的对每种生物碱进行差异提取和层析而获得纯品。这个例子表明,从“多条路线”观点出发,进行更好的药物组分生产的代谢工程是行得通的。将代谢多条途径观点进一步深入延伸到植物的次级代谢和代谢工程,表明“多条路线”观点有普遍意义。

呼吸代谢多条路线思想很重要的内容是代谢对基因(表达)的调控和基因通过代谢对生理功能的调控。对于前者,新近的证据表明,甘油醛-3-磷酸脱氢酶的表达是受代谢状态调控的^[10];对于后者,最近有人^[1]将腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸的 B 亚基的反义 RNA 基因导入马铃薯后,转基因植株的酶活性、淀粉、蔗糖、葡萄糖、水分的含量都发生明显的变化,同时薯块块头减小,块数增加。这清楚表明基因通过代谢而表达为各种生理功能、结构、形态的改变。从这个意义上说,呼吸代谢途径多样性(包括途径的多条,各途径的

时、空、强度的交叉和变化)是生物“多样性”的基础,或者也可以说,“多条路线”是生物“多样性”的前身。于此可以窥见这一观点的博大精深。虽然上述两个方面的思想的证据目前多是在初级代谢水平上进行的,但随着研究的深入,亦将会在次级代谢方面找到很好的证据,并在指导次级代谢工程研究和生产上发挥作用。

参考文献

- 1 许智宏. 植物生理学和生物工程. 中国植物生理学会第六次全国会议学术论文汇编, 1993. 14
- 2 李明启. 景天科酸代谢的碳途径——植物代谢多条途径观点的一个典型例子. 植物生理学通讯, 1994, 30(4): 286
- 3 李国凤, 伍正容, 叶和春等. 离体培养的新疆紫草萘醌色素的诱导形成. 植物学通报, 1988, 5(2): 84
- 4 郑光植, 何静波, 王世林. 三分三愈伤组织的分化对莨菪碱和东莨菪碱含量的影响. 植物生理学报, 1980, 6(4): 376
- 5 郑光植编. 植物细胞培养及其次级代谢. 昆明: 云南大学出版社, 1992. 1
- 6 汤佩松. 高等植物呼吸代谢途径的调控和代谢与生理功能间的相互制约. 植物学报, 1979, 21(2): 93
- 7 梁 峥, 郑光植. 高等植物的次级代谢. 植物生理学通讯, 1981(1): 14
- 8 Hrazdina G, Jensen RA. Spatial organization of enzymes in plant metabolic pathways. *Annu Rev Plant Physiol and Plant Mol Biol.* 1992, 43: 241
- 9 Tang PS, Tai YL, Lee CK. Respiration pathways in rice seedlings and respiration as an adaptive physiological function of the living plant. *Scientia Sinica*, 1956, 5(3): 509
- 10 Yang YI, Kwon HB, Peng HP *et al.* Stress responses and metabolic regulation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 1993, 10(1): 209
- 11 Yun DG, Mashimoto T, Yamata Y. Metabolic engineering of medicinal plants; transgenic *Atropa belladonna* with an improved alkaloid composition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(24): 11799
- 12 Zheng GZ, Liang Z. Callus cultures of the three well-know chinese herbs and their medicinal contents. In *Proceedings of Symposium in Plant Tissue Culture*. Beijing: Science Press, 1978. 376